

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Ivana D. Vukoje

**SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I
PRIMENA NANOČESTICA SREBRA NA
MAKROPOROZNOM POLIMERNOM
NOSAČU**

Doktorska disertacija



Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Ivana D. Vukoje

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND
APPLICATION OF SILVER
NANOPARTICLES ON A
MACROPOROUS POLYMER SUPPORT**

Doctoral dissertation



Beograd, 2017

Mentor:

dr Enis Džunuzović, van. prof. Tehnološko-
metalurškog fakulteta Univeziteta u Beogradu

Članovi komisije:

dr Suzana Dimitrijević, red. prof. Tehnološko-
metalurškog fakulteta Univeziteta u Beogradu

dr Dušan Antonović, red. prof. Tehnološko-
metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Vesna Vodnik, naučni savetnik Instituta za
nuklearne nauke "Vinča"

dr Jovan Nedeljković, naučni savetnik Instituta za
nuklearne nauke "Vinča"

Datum odbrane:

Doktorska disertacija je urađena u Laboratoriji za radijacionu hemiju i fiziku Instituta za nuklearne nauke "Vinča" i Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Posebnu zahvalnost želim da uputim dr Jovanu Nedeljkoviću, naučnom savetniku Instituta za nuklearne nauke "Vinča" na ukazanom poverenju, velikoj pomoći i korisnim savetima koji su olakšali izradu ove doktorske disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem svom mentoru, dr Enisu Džunuzoviću, vanrednom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na beskrajnoj pomoći, korisnim idejama i sugestijama, nesebičnoj posvećenosti i strpljenju koji su doprineli uspešnom savladavanju svih prepreka u toku izrade ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se dr Vesni Vodnik, naučnom savetniku Instituta za nuklearne nauke "Vinča" na "prvim laboratorijskim koracima", kao i na korisnim savetima i sugestijama prilikom finalizacije ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se dr Suzani Dimitrijević, redovnom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na velikoj pomoći i zalaganju, pruženim savetima i sugestijama tokom izrade i finalizacije ove doktorske disertacije.

Posebno se zahvaljujem dr Dušanu Antonoviću, redovnom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na pruženoj pomoći i ukazanom poverenju prilikom izrade ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se svojim prijateljima i kolegama dr Mili Vranješ, dr Mariji Radoičić, dr Jeleni Spasojević, dr Vuku Spasojeviću, dr Vesni Lazić, dr Dušanu Sredojeviću i Aleksandru Stajčiću koji su svojom podrškom i osmesima učinili izradu ove teze mnogo lakšom.

Neizmernu zahvalnost dugujem svojoj porodici, roditeljima Draganu i Gordani, sestri Maši, tetki Slavici i teći Aleksandru bez čije bezuslovne podrške i pomoći, a iznad svega pružene ljubavi izrada ove doktorske disertacije ne bi bila moguća. Njima je od srca i posvećujem.

REZIME:

Sinteza, karakterizacija i primena nanočestica srebra na makroporoznom polimernom nosaču

U ovoj doktorskoj disertaciji prikazan je postupak dobijanja nanočestica srebra (Ag) na umreženom makroporoznom kopolimernom nosaču poli(glicidilmetakrilatu-*ko*-etilenglikol dimetakrilatu) (poli(GMA-*ko*-EGDMA)). Umreženi makroporozni kopolimer sintetisan je suspenzionom kopolimerizacijom preko slobodnih radikala u prisustvu inertne komponente (smeša ciklodekanola i tetradekanola). Prisustvo inertne komponente unutar reakcione smeše bilo je neophodno za dobijanje makroporoznog kopolimera sa permanentnom poroznošću. Sintetisani poli(GMA-*ko*-EGDMA) modifikovan je sa amonijakom, 1,2-dietilenaminom, 1,8-dietilenoktanom i argininom. Reaktivnost poli(GMA-*ko*-EGDMA) potiče od prisustva epoksidne grupe u molekulu GMA koja se lako može prevesti u hidroksilnu, karboksilnu, keto ili amino grupu. Izbor modifikatora izvršen je tako da sa jedne strane, odabrani molekuli imaju sposobnost da stupe u hemijsku reakciju sa epoksidnim grupama na površini makroporoznog kopolimera, a sa druge strane preko neproreagovalih funkcionalnih grupa redukuju Ag⁺ jone do metala i imobilišu nanočestice Ag za kopolimerni nosač. Modifikacija polaznog kopolimera uvođenjem slobodne -NH₂ grupe dovela je do stvaranja polimernog nosača sa novim svojstvima, a samim tim otvorila mogućnosti za nove primene.

Za određivanje svojstava dobijenih materijala korišćene su sledeće metode: difrakcija rendgenskih zraka, visoko-rezoluciona transmisiona elektronska mikroskopija, skanirajuća elektronska mikroskopija, živina porozimetrija, refleksiona spektroskopija, infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom, emisiona spektroskopija i elementarna analiza. Antimikrobna aktivnost nanočestica Ag imobilisanih na makroporoznom nosaču ispitivana je određivanjem smanjenja broja mikrobnih ćelija Gram-negativne bakterije *E. coli*, Gram-pozitivne bakterije *S. aureus* i gljivice *C. albicans*.

Cilj ovog rada je bio razvoj sintetskih metoda koje omogućavaju dobijanje nanočestica Ag na umreženom makroporoznom kopolimeru poli(GMA-ko-EGDMA). Modifikacija kopolimera amonijakom i diaminima omogućava prisustvo slobodne amino grupe na polimernom lancu. Amino grupa predstavlja slabo redukciono sredstvo koje se u koloidnoj hemiji koristi za dobijanje nanočestica Ag. Ovakav sintetski pristup omogućava "in situ" dobijanje nanočestica Ag imobilisanih na polimernom nosaču. Na osnovu rezultata transmisiona elektronske mikroskopije sintetisanih uzoraka, jasno je pokazano prisustvo velikog broja zasebnih nanočestica Ag sfernog oblika čija se veličina kretala u opsegu od 6 do 12 nm. Homogena raspodela nanočestica Ag po celom uzorku ukazuje da su pore korišćenog nosača imale ulogu nanoreaktora u kom se odigravala sinteza samih čestica kao i njihova stabilizacija. Pokazano je da dobijeni materijali inhibiraju rast patogenih mikroorganizama (*E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*).

Ključne reči: makroporozni kopolimer, amonijak, 1,2-diaminoetan, 1,8-diaminooktan, arginin, nanočestice srebra, antimikrobna efikasnost

Naučna oblast: Hemijske nauke

Uža naučna oblast: Hemija

UDK: 620.3:546.57:678.86

ABSTRACT:**Synthesis, characterization and application of silver nanoparticles on a macroporous polymer support**

In this doctoral dissertation is provided a method of obtaining silver (Ag) nanoparticles on a crosslinked macroporous copolymer support poly(glycidylmethacrylate-*co*-ethyleneglycol dimethacrylate) (poly(GMA-*co*-EGDMA)). Crosslinked macroporous copolymer made up of monomer units GMA and EGDMA was synthesized by suspension copolymerization by free radicals in the presence of inert component (mixture of cyclodecanol and tetradecanol). The presence of inert component within the reaction mixture was necessary for the preparation of macroporous copolymer with permanent porosity. Synthesized poly(GMA-*co*-EGDMA) is modified with ammonia, 1,2-diaminoethane, 1,8-diaminooctane and arginine. Reactivity of poly(GMA-*co*-EGDMA) originates from the presence of epoxy groups in the molecule of GMA which can be easily be converted to a hydroxyl, carboxyl, keto and amino group. The choice of modifiers is achieved so that the selected molecules have the ability to initiate the chemical reaction with the epoxy groups on the surface of macroporous copolymer GMA, after that via unrelated functional groups reduce Ag⁺ ions to metal state and immobilize formed Ag nanoparticles on a polymer carrier. Modification of a starting copolymer by introduction of free -NH₂ groups has led to the formation of a polymer carrier with new properties, and consequently opened possibilities for its new applications. For determining the properties of the obtained materials the following methods were used: x-ray diffraction, transmission electron microscopy, scanning electron microscopy, mercury porosimetry, reflection spectroscopy, infrared spectroscopy with Fourier transform, emission spectroscopy, elemental analysis. Antimicrobial activity of composites is tested by the degree of the reduction of Gram-negative bacteria *E. coli*, Gram-positive bacteria *S. aureus*, and yeast *C. albicans*.

The goal of this study was the development of synthetic methods that enables obtaining composites based on crosslinked macroporous copolymer poly(GMA-co-EGDMA) and Ag nanoparticles. Modification of the copolymers with ammonia and diamines provides the presence of the free amino groups on the polymer chain. It is known that the amino group is a poor reducing agent which is used in colloidal chemistry for the preparation of Ag nanoparticles. This synthetic approach allows "*in situ*" preparation of Ag nanoparticles immobilized on a polymer support. Based on results of transmission electron microscopy of synthesizes samples, the presence of a large number of separate Ag nanoparticles spherical shape with a size that ranged from 6 to 12 nm is shown. The homogeneous distribution of Ag nanoparticles throughout the sample indicates that the macroporous pores played a role of the nanoreactor where the formation of Ag nanoparticles took place, as well as their stabilization. It is shown that obtained materials have the major affect on the inhibition grow of pathogenic microorganisms (*E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans*).

Key words: macroporous copolymer, ammonia, 1,2-diaminoethane, 1,8-diaminooctane, arginine, silver nanoparticles, antimicrobial efficiency

Scientific area: Chemistry sciences

Field: Chemistry

UDC: 620.3:546.57:678.86

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Teorijski deo	3
2.1. Polimerni materijali	3
2.1.1. Opšte karakteristike umreženih makroporoznih kopolimera	5
2.1.2. Suspenziona polimerizacija	7
2.1.3. Mehanizam nastajanja umreženih makroporoznih kopolimera	10
2.1.4. Sinteza, modifikacija i primena umreženih makroporoznih kopolimera	13
2.2. Metalne nanočestice	17
2.2.1. Optičke karakteristike metalnih nanočestica	19
2.2.2. Metode sinteze metalnih nanočestica	25
2.2.3. Sinteza nanočestica srebra	26
2.2.4. Primena nanočestica srebra	29
2.2.5. Antimikrobna svojstva nanočestica srebra	31
2.2.6. Mehanizam dejstva srebra na mikroorganizme	35
2.2.7. Građa mikroorganizama	37
2.3. Sinteza i primena metalnih nanočestica na polimernom nosaču	39
3. Eksperimentalni deo	43
3.1. Materijali	43
3.2. Sinteza umreženog makroporoznog kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA) postupkom suspenziona polimerizacije	43
3.3. Modifikacija umreženog makroporoznog kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA)	44
3.3.1. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) amonijakom	44
3.3.2. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) 1,2-diaminoetanom	45
3.3.3. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) 1,8-diaminooktanom	45
3.3.4. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) argininom	45
3.4. Sinteza nanočestica Ag na modifikovanom umreženom makroporoznom kopolimernom nosaču	46

3.5. Metode karakterizacije	47
3.5.1. Difrakcija rendgenskih zraka (XRD)	47
3.5.2. Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM).....	47
3.5.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM).....	48
3.5.4. Metoda živine porozimetrije	48
3.5.5. UV-Vis spektroskopija	48
3.5.6. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR) ...	48
3.5.7. Atomska emisiona spektroskopija (ICP-AES).....	49
3.5.8. Elementarna analiza.....	49
3.5.9. Ispitivanje antimikrobnih svojstava nanočestica srebra sintetisanih na makroporoznom polimernom nosaču.....	49
4. Rezultati i diskusija	52
4.1. Sinteza i karakterizacija nemodifikovanog makroporoznog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA)	52
4.2. Modifikacija makroporoznog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA)	59
4.2.1. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa amonijakom.....	61
4.2.2. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,2-diaminoetanom	64
4.2.3. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,8-diaminooktanom.....	67
4.2.4. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa argininom	70
4.2.5. Karakterizacija amino-funkcionalizovanih makroporoznih kopolimera GENH ₂ , GEC2, GEC8 i GEArg.....	75
4.3. Sinteza nanočestica Ag na funkcionalizovanom makroporoznom nosaču.....	76
4.3.1. Sinteza nanočestica Ag na GENH ₂	77
4.3.2. Sinteza nanočestica Ag na GEC2.....	82
4.3.3. Sinteza nanočestica Ag na GEC8.....	92
4.3.4. Sinteza nanočestica Ag na GEArg	97
4.4. Određivanje antimikrobnih svojstava nanočestica Ag na funkcionalizovanom makroporoznom nosaču	103
4.4.1. Antimikrobna svojstva GEC2/ Ag	103
4.4.2. Antimikrobna svojstva GEArg/ Ag	106
4.4.3. Zavisnost antimikrobnih svojstava GEC2/ Ag, GEC8/ Ag i GENH ₂ / Ag u funkciji veličine nanočestica Ag	112
5. Zaključak.....	115
6. Literatura.....	118

<i>Biografija</i>	131
<i>Изјава о ауторству</i>	132
<i>Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада</i>	133
<i>Изјава о коришћењу</i>	134

1. Uvod

Materijali čija bar jedna od dimenzija leži u opsegu od 1 do 100 nm nazivaju se nanomaterijali. Zbog dimenzija nanomaterijala, veliki broj atoma/molekula od kojih su izgrađeni nalazi se na njihovoj površini, usled čega se fizička i hemijska svojstva materijala nanometarskih dimenzija u velikoj meri razlikuju od svojstava istog materijala makroskopskih dimenzija. Činjenica da površinske pojave imaju značajan uticaj na fizička i hemijska svojstva nanomaterijala, pruža mogućnost da se promenom samo veličine i oblika nanomaterijala mogu kontrolisano menjati njihova fizička i hemijska svojstva.

Nanostrukturni materijali na bazi polimera i neorganskih čestica poslednjih decenija predstavljaju jednu od najznačajnijih grupa nanomaterijala. Polimeri se najčešće koriste kao kontinualna faza u procesu dobijanja polimernih nanokompozita. Sem toga, polimeri koji sadrže odgovarajuće reaktivne funkcionalne grupe mogu se koristiti kao nosači za različite vrste neorganskih nanočestica. Polimeri čiji molekuli sadrže funkcionalne grupe sposobne da dalje reaguju nazivaju se reaktivni polimeri. Željene funkcionalne grupe u polimer se mogu uvesti polimerizacijom monomera koji već sadrži te funkcionalne grupe ili hemijskom modifikacijom nekih već postojećih funkcionalnih grupa u polimeru. Nosači na bazi reaktivnih makroporoznih polimera predstavljaju dobar izbor za "in situ" sintezu metalnih nanočestica na polimernom nosaču, jer oni poseduju permanentnu poroznost, a sinteza i stabilizacija formiranih nanočestica metala odvija se u porama polimernog nosača koje imaju ulogu nanoreaktora.

Poznato je da srebro poseduje antimikrobna svojstva širokog spektra, a sinteza nanočestica Ag na različitim organskim nosačima omogućava njihovu imobilizaciju, brzu i laku separaciju iz reakcione smeše i kontrolu brzine oksidacije, tj. otpuštanja jona srebra. Takođe je poznato da amino grupa predstavlja slabo redukciono sredstvo koje se u koloidnoj hemiji koristi za dobijanje nanočestica Ag. Umreženi makroporozni kopolimer glicidilmetakrilata (GMA) i etilenglikoldimetakrilata (EGDMA), poli (GMA-ko-EGDMA) pogodan

je za hemijsku modifikaciju zbog prisustva epoksidne grupe u molekulu GMA koja lako reaguje sa različitim jedinjenjima. Reakcijama poli (GMA-ko-EGDMA) sa amonijakom i diaminima dobijaju se amino-funkcionalizovani kopolimeri sa slobodnim amino grupama, koje imaju sposobnost da redukuju Ag^+ jone do metala i koordinišu/imobilišu nastale nanočestice Ag za polimerni nosač.

Cilj ovog rada je bio da se ispita mogućnost "*in situ*" sinteze i imobilizacije nanočestica srebra na amino-funkcionalizovanom makroporoznom kopolimernom nosaču bez prisustva dodatnog redukcionog sredstva, kao i da se ispita uticaj korišćenog modifikatora na svojstva dobijenih materijala i mogućnost njihove primene kao antimikrobnih agenasa.

2. Teorijski deo

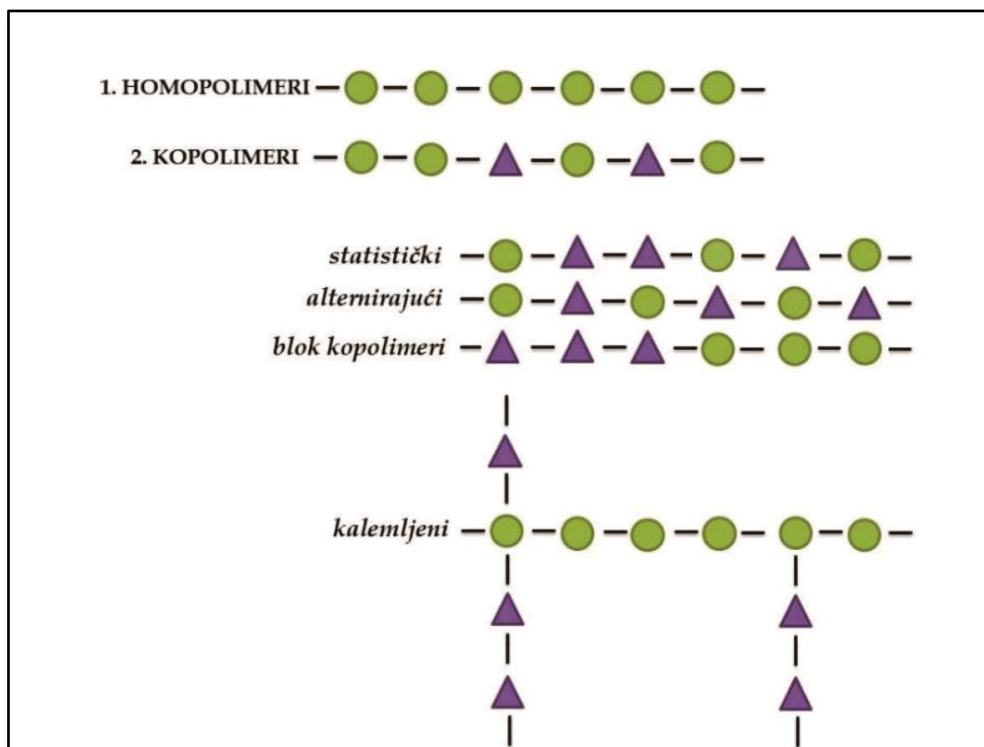
2.1. Polimerni materijali

Polimeri su supstance čiji su molekuli nastali hemijskim povezivanjem velikog broja malih molekula (monomera) [1-4]. Polimerni molekuli se odlikuju višestrukim ponavljanjem konstitutivnih jedinica duž makromolekulskog lanca koji je toliko veliki da mu se fizička i hemijska svojstva značajno ne menjaju ako se sa lanca otkine ili u njega ugradi nekoliko konstitutivnih jedinica [1-3]. Polimeri predstavljaju supstance koje se sastoje od makromolekula. Dva makromolekula iste hemijske strukture su retko iste dužine, odnosno polimeri su polidisperzni u odnosu na molarnu masu, pa se za definisanje veličine makromolekula umesto molarne mase uvodi pojam srednje molarne mase (M). U zavisnosti od eksperimentalne metode određivanja i načina usrednjavanja razlikujemo srednju brojnu (M_n), srednju masenu (M_w), srednju z-vrednost (M_z) i srednju viskozimetrijsku vrednost molarne mase (M_η).

S obzirom na složenost makromolekulskih sistema, polimeri se mogu klasifikovati na osnovu različitih kriterijuma: prema poreklu i sastavu, mehanizmu reakcije polimerizacije, odnosno načinu povezivanja monomera u makromolekule, prema svojstvima i načinu prerade, oblastima primene, itd. [1]. Na osnovu porekla, polimeri se dele u dve osnovne grupe na prirodne i sintetske, dok na osnovu sastava mogu biti organski i neorganski. Na osnovu mehanizma reakcije polimerizacije izvršena je podela polimera na one sintetisane stupnjevitim reakcijama polikondenzacije ili poliadicije i one koji su sintetisani lančanim reakcijama u koje spadaju radikalna, katjonska, anjonska i koordinaciona polimerizacija. Lančana reakcija polimerizacije se sastoji od više stupnjeva. Početni stupanj polimerizacije je inicijacija, a zatim dolazi do rasta polimernog lanca, reakcije propagacije, i završetka polimerizacije reakcijom kuplovanja i/ili disproporcionacije.

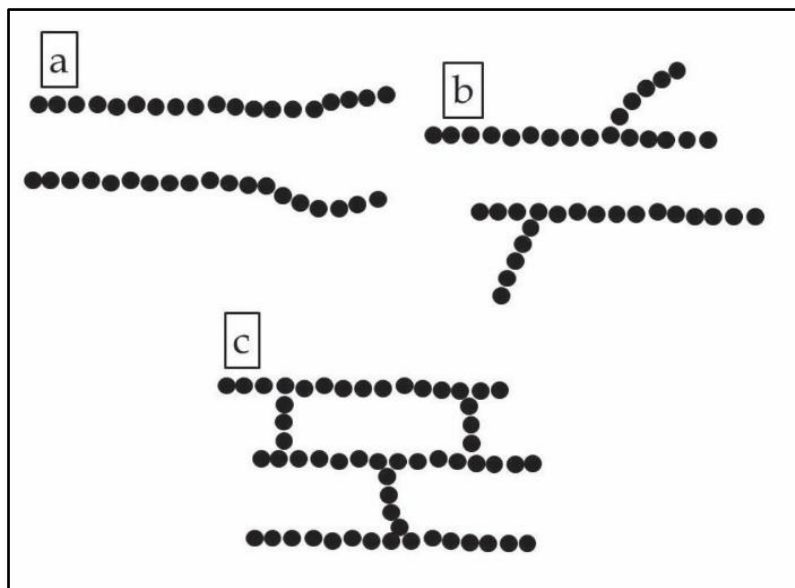
Osnovna podela polimera prema vrsti osnovnih strukturnih jedinica u makromolekulskom lancu je na homopolimere i kopolimere. Polimeri čiji su

molekuli izgrađeni od jedne vrste monomera predstavljaju homopolimere, dok su kopolimeri dobijeni polimerizacijom dva različita monomera. Prema načinu povezivanja komonomera, kopolimere delimo na statističke, alternirajuće, kalemljene i blok-kopolimere (Slika 1).



Slika 1 Šematski prikaz strukture kopolimera

U zavisnosti od funkcionalnosti monomera i načina polimerizacije, mogu se dobiti polimeri i/ili kopolimeri sa linearnim, razgranatim ili umreženim makromolekulima (Slika 2). Kod razgranatih makromolekula na osnovnom lancu se mogu javiti duže ili kraće bočne grane, dok kod umreženih polimera dolazi do stvaranja hemijskih veza između polimernih lanaca usled čega se formiraju umrežene makromolekulske strukture. Polimeri sa umreženim makromolekulskim strukturama se ne rastvaraju, već samo bubre u određenim rastvaračima u zavisnosti od stepena umreženosti [1].



Slika 2 Šematski prikaz strukture linearnih (a), razgranatih (b) i umreženih makromolekula (c)

2.1.1. Opšte karakteristike umreženih makroporoznih kopolimera

Umreženi makroporozni kopolimeri se definišu kao klasa materijala sa permanentnom, jasno definisanom poroznom strukturom [5] i koriste se kao polazne supstance za dobijanje jonoizmenjivačkih smola, kao inertni nosači za neke tipove hromatografija, kao nosači enzima, za sorpciju teških i plemenitih metala, itd. [5-10]. Najzastupljeniji metod sinteze makroporoznih kopolimera je suspenziono polimerizacija preko slobodnih radikala [1,11,12]. Tehnika suspenziono polimerizacije za dobijanje umreženih makroporoznih struktura predstavlja reproduktibilnu metodu kako u laboratorijskim tako i u industrijskim uslovima. Prvi umreženi sistemi na bazi polistirena dobijeni su kopolimerizacijom stirena (ST) i divinilbenzena (DVB) suspenziono polimerizacijom iniciranom slobodnim radikalima [13]. Sintetisane čestice poli(ST-ko-DVB) su staklasto-transparentne, pravilnog sfernog oblika sa mogućnošću bubrenja u "dobrim rastvaračima" pri čemu ne dolazi do njihovog rastvaranja. Bubrenje dovodi do formiranja prostora unutar samih čestica kopolimera što omogućava pristup malim molekulima u unutrašnjost polimerne

matrice. Pristup molekula unutar polimerne matrice predstavlja preduslov za kontrolisano odigravanje hemijskih reakcija na željenom mestu. Step en bubrenja može se podešavati korišćenjem različitih količina umreživača tokom sinteze kopolimera [13]. Materijal će bubriti do dostizanja elastičnog maksimuma same mreže, svaka dalja ekspanzija je ograničena umreženošću polimernog materijala. Dakle, kopolimerizacijom ST i DVB u prisustvu inicijatora polimerizacije dobija se polimer koji ograničeno bubri u odgovarajućim rastvaračima. Kada se nalazi u nabubrelom stanju kopolimer poseduje određenu poroznost. Veličina pora i raspodela veličine pora zavise od međusobnog odnosa monomera. Poroznost koja se javlja samo u nabubrelom stanju naziva se prividna poroznost. S obzirom da se poroznost javlja kao rezultat bubrenja materijala, korišćenje neodgovarajućih rastvarača ograničava mogućnost njihove primene [6].

Krajem pedesetih godina prošlog veka otkrivena je nova tehnika polimerizacije kojom su sintetisani umreženi kopolimeri na bazi polistirena sa poroznom strukturom u suvom stanju [14,15]. Odigravanje suspenzione polimerizacije ST i DVB u prisustvu određenog organskog rastvarača (inertne komponente) kao krajnji rezultat dovodi do formiranja čestica promenjene unutrašnje strukture. Do promene morfologije čestica dolazi usled uticaja organskog rastvarača, porogena, na sam tok reakcije polimerizacije. Po svojim svojstvima neophodno je da inertna komponenta (porogen) bude rastvorna u monomernoj smeši, a da ne rastvara nastali kopolimer. Po završetku reakcije polimerizacije dobija se heterogena, neuniformna polimerna matrica koju u određenim delovima čine međusobno isprepleteni umreženi polimerni lanci. Uklanjanjem porogena i naknadnim sušenjem dobijaju se krute, neprozirne čestice koji ne moraju da se podvrgavaju procesu bubrenja kako bi se omogućila difuzija molekula u unutrašnjost polimernih čestica, jer materijal poseduje permanentnu poroznu strukturu. Ovakvi materijali su po definiciji "makroporozni" materijali. Treba napomenuti da se sam termin "makroporozni" ne odnosi na veličinu pora, već na klasu materijala koji poseduju permanentnu poroznost i u suvom, nenabubrelom stanju [16]. Da bi se održala makroporozna

struktura materijala, do razdvajanja faza mora doći prilikom procesa umrežavanja kako bi dvofazna struktura ostala fiksirana u toku daljeg formiranja umrežene strukture [15]. Inertna komponenta može biti rastvarač, nerastvarač ili linearni polimer. U zavisnosti od korišćene inertne komponente dobijaju se kopolimeri sa različitom raspodelom veličine pora [10,15,17]. Faza bogata porogenom unutar makroporoznih čestica predstavlja šablon po kome će biti formirana porozna struktura. Takođe je neophodno da inertna komponenta bude nerastvorna u vodi, odnosno korišćenom disperznom sredstvu, da poseduje inertnost prema reaktivnim grupama koje su prisutne u molekulima monomera kao i dovoljno visoku temperaturu ključanja. U kom trenutku će doći do razdvajanja faza zavisi od prirode samog porogena i njegove kompatibilnosti sa polimernom matricom. Porozna struktura sintetizovanih kopolimera zavisi od sastava i udela inertne komponente u reakcionoj smeši, udela umreživača u smeši monomera kao i od temperature odigravanja kopolimerizacije [10,18-21]. Menjanjem navedenih parametara može se sintetisati kopolimer istog hemijskog sastava, ali različite poroznosti i veličine čestica.

2.1.2. Suspenziona polimerizacija

Tehnika suspenziona polimerizacije predstavlja jedan od mogućih načina sinteze umreženih kopolimera. Metod suspenziona polimerizacije su 1909. godine razvili Hoffman i Delbruch [22], dok su 1931. godine Bauer i Lauth prvi put uspešno izveli eksperiment suspenziona polimerizacije akrilnih monomera [23]. Suspenziona polimerizacija predstavlja postupak u kom, u prvom koraku, dolazi do formiranja emulzije monomera u rastvaraču intenzivnim mešanjem, a potom razlaganjem inicijatora na povišenoj temperaturi, koji je rastvoran samo u monomeru, započinje reakcija polimerizacije slobodnim radikalima.

Suspenziona polimerizacija je specifičan način izvođenja reakcije slobodno-radikalske polimerizacije u masi [1]. Na početku odigravanja suspenziona polimerizacije u reaktor se unosi određena zapremina vode (disperziono sredstvo), koja je dva do deset puta veća od zapremine monomera

i stabilizatora emulzije ulja u vodi. Prisustvo stabilizatora emulzije je neophodno, jer se u nastavku odigravanja reakcije suspenzione polimerizacije dodaje monomer koji je nemešljiv sa vodom. Mešanjem se monomer disperguje u vodi u kapi određenog prečnika. Zatim, uz pomoć inicijatora radikalske polimerizacije, koji je rastvoran samo u monomeru, na povišenoj temperaturi započinje reakcija polimerizacije. Prečnik dispergovanih kapi zavisi od brzine mešanja, temperature odigravanja reakcije, kao i od prirode stabilizatora. Mehanizam odigravanja reakcije suspenzione polimerizacije je isti kao i kod polimerizacije u masi, s tim da svaka kap monomera čini poseban mikro-reaktor u kome se odigrava reakcija.

Prilikom polimerizacije estara akrilne i metakrilne kiseline, stirena i drugih monomera dobija se polimer koji je rastvoran u monomeru u vidu prozračnih čestica sfernog oblika (perli). Ovaj postupak polimerizacije se naziva perl-polimerizacija. U slučaju polimerizacije vinilhlorida i akrilonitrila nastaje polimer nerastvoran u monomeru, koji se taloži u kapima monomera. Ovo je primer suspenzione taložne polimerizacije. Dobijene čestice polimera su nepravilnog oblika i nisu transparentne.

Prednosti suspenzione polimerizacije u odnosu na polimerizaciju u masi se ogledaju u lakom izdvajanju polimera iz reakcione smeše i većoj graničnoj površini monomer/voda što omogućava kontrolisano izvođenje reakcije polimerizacije i odvođenje toplote koja se oslobodi u toku reakcije polimerizacije.

Kao disperziono sredstvo prilikom izvođenja suspenzione polimerizacije najčešće se koristi voda. U slučaju hidrofilnih monomera koriste se hidrofobni organski rastvarači kao što su toluen, benzen, itd.

Prilikom izvođenja suspenzione polimerizacije neophodno je prisustvo stabilizatora emulzije kako bi se sprečila pojava koalescencije (spajanja) kapljica monomera. Na osnovu hemijske građe razlikuju se dve grupe stabilizatora: neorganski prahovi (Pickering stabilizatori) i vodorastvorne makromolekulske supstance. Neorganski prahovi su delimično kvašljivi i vodom i monomerom, pa se nakon dodavanja u reakcionu smešu nalaze na granici monomer/voda

dovodeći do stabilizacije kapi monomera. Kao neorganski stabilizatori koriste se magnezijum hidroksid, cink oksid, kalcijum karbonat, barijum karbonat, hidroksiapatit.

Makromolekulski stabilizatori su makromolekulske supstance rastvorne u vodi, ali nerastvorne u monomerima, koji se apsorbuju na granici faza monomer/voda doprinoseći stabilnosti emulzije monomera u vodi. Dakle, vodorastvorni polimeri imaju ulogu da onemoguće sudare kapi monomera koji uzrokuju njihovo trajno povezivanje u veće kapi (pojava koalescencije), kao i da spreči nastajanje agregata polimernih čestica kasnije u toku izvođenja polimerizacije.

Hidrofobni delovi makromolekulskih lanaca se nalaze adsorbovani na hidrofobnoj površini kapi monomera, dok su hidrofilni delovi makromolekulskih lanaca solvatisani i nalaze se u vodi. Makromolekulski stabilizatori mogu biti prirodni polimeri (skrob, agar-agar, natrijum alginat), modifikovani prirodni polimeri (karboksimetilceluloza, etri skroba), sintetički homopolimeri i kopolimeri kao što su poli(vinilalkohol), poli(vinilacetat), poli(vinilpirolidon), itd.

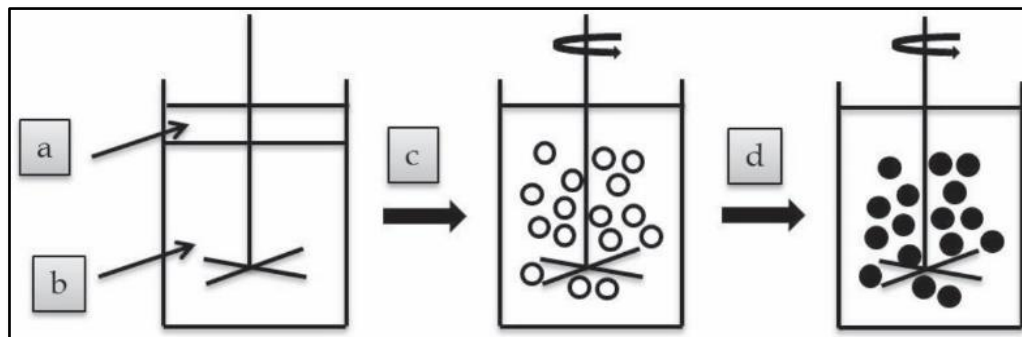
Suspenziona polimerizacija se najčešće izvodi diskontinualnim postupkom u reaktoru sa mešalicom. Prvo se u reaktor uvodi vodena faza sa stabilizatorom, zatim se mešalica pušta u rad i unosi monomer sa inicijatorom. Posle određenog vremena mešanja monomer se disperguje u vodenoj fazi u kapi sfernog oblika. Veličina i raspodela kapi monomera zavise od vrste i koncentracije stabilizatora, viskoznosti tečnih faza, brzine mešanja, temperature kao i oblika mešalice i reaktora. U sistemima u kojima ne dolazi do pojave koalescencije srednja veličina kapljica kao i njihiva raspodela veličina se ne menja tokom polimerizacije, pa se po završetku reakcije polimerizacije dobijaju čestice sa uskom raspodelom veličina čestica. Međutim, pri izvođenju suspenzione polimerizacije ne može se izbeći koalescencija u početnoj fazi reakcije, pa usled stalnih sudara kapi dolazi do formiranja agregata koji na kraju koalesciraju u velike kapi. Međutim, ako je energija mešanja dovoljno velika, dolazi do

ponovnog redispergovanja velikih kapi do početnih veličina. Veličina monomernih kapi je određena dinamičkom ravnotežom koja se uspostavlja pri procesima flokulacije i koalescencije kao i deflokulacije i dispegovanja. Dispergovanje, za razliku od koalescencije, zavisi od procesa mešanja čiji intezitet nije isti u svim delovima reaktora, te veličina kapi monomera zavisi od mesta formiranja u reaktoru. U toku polimerizacije u svakoj kapi monomera dolazi do formiranja makromolekula, pa u slučaju da je polimer rastvoran u monomeru, sa povećanjem stepena konverzije reakcije dolazi do povećavanja viskoznosti smeše polimer/monomer i za nekoliko redova veličine. To ima za posledicu otežano dispergovanje i povećanje dimenzija kapljica. Na kraju reakcije polimerizacije dobijaju se čestice polimera većeg prečnika od prvobitno formiranih kapi na početku reakcije. Nakon dostizanja određenog stepena konverzije koji je definisan uslovima izvođenja eksperimenta dolazi do prestanka i koalescencije i dispergovanja kapi. Taj stepen konverzije se naziva tačkom identiteta čestica. Dalje odigravanje reakcije polimerizacije ne dovodi do promene broja kapi i njihove veličine. Pre dostizanja tačke identiteta, lepljivost kapi smeše polimer/monomer se povećava sa povećanjem stepena konverzije. Navedena pojava predstavlja kritičnu fazu pri odigravanju suspenzione polimerizacije u kojoj može doći do formiranja sekundarnih agregata čestica. Pažljivi izbor brzine mešanja, vrste i koncentracije stabilizatora omogućava prevazilaženje ovog problema.

2.1.3. Mehanizam nastajanja umreženih makroporoznih kopolimera

Za sintezu umreženih makroporoznih kopolimera suspenzionom kopolimerizacijom koristi se smeša monovinilnih i divinilnih komonomera, pri čemu divinilni komonomeri služe kao umreživači [10,24,25]. Na početku reakcije suspenzione kopolimerizacije u reakcionoj smeši su prisutne vodena faza, odnosno vodeni rastvor makromolekulskog stabilizatora i organska faza koju čine smeša komonomera (Slika 3) [5]. Na određenoj temperaturi inicijator se razlaže na primarne radikale koji započinju reakciju. Inertna komponenta, sa

jedne strane treba da bude mešljiva sa komonomerima, a sa druge strane da ne rastvara nastali kopolimer.



Slika 3 Šematski prikaz procesa suspenzione kopolimerizacije: organska komonomerna smeša sa porogenom i inicijatorom (a), vodena faza sa rastvorenim stabilizatorom (b), formiranje komonomernih tečnih kapi (c), formiranje kopolimernih čestica (d) [5]

Nakon određenog vremena od trenutka započinjanja reakcije dolazi do formiranja trodimenzionalne umrežene strukture, odnosno sistem iz tečnog stanja prelazi u čvrsto stanje. Usled prisustva umreživača, u toku reakcije kopolimerizacije dolazi do smanjanja količine rastvornih komponenti na račun formiranja frakcije umreženih lanaca kopolimera. Po završetku reakcije, u dispergovanoj (organskoj) fazi će jedino zaostati umreženi kopolimer u prisustvu inertne komponente sa kojom se ne meša [6]. Momenat izdvajanja nove faze zavisi od koncentracije umreživača, sastava i udela inertne komponente u organskoj fazi i temperature odigravanja reakcije [26]. Prema Dušek-u [27] razdvajanje faza predstavlja osnovni razlog za formiranje porozne strukture. Razdvajanje faza može biti uslovljeno povećanjem udela umreživača u smeši komonomera, kao i povećanjem udela inertne komponente u organskoj fazi.

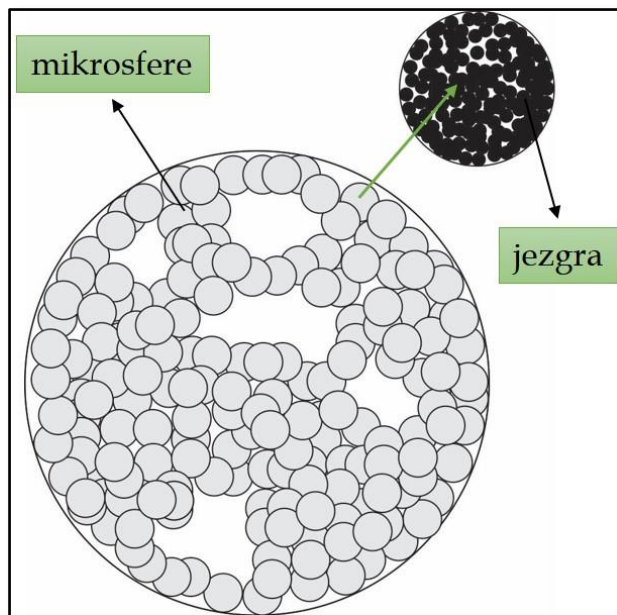
Ukoliko se kao porogen prilikom suspenzione polimerizacije preko slobodnih radikala koristi nerastvarač ili linearni polimer, do razdvajanja faza može doći i pre nego što sistem pređe iz tečnog u čvrsto stanje. U tom slučaju, polimer nastao tokom reakcije polimerizacije se izdvaja u obliku čvrste faze unutar tečne (kontinualne) faze koju predstavlja homogena smeša monomera i

porogena. Najpre dolazi do izdvajanja umreženih kopolimernih čestica (jezgra) čijom aglomeracijom nastaju veći klasteri (mikrosfere). Sa povećanjem stepena konverzije, raste broj klastera, polimerna faza postaje kontinualna, a na kraju reakcije sistem se sastoji od umreženog polimera i porogena. Uklanjanjem porogena formira se makroporozna struktura sintetisanog materijala. Kada se nerastvarač ili linearni polimer koriste kao porogen do stvaranja porozne strukture dolazi usled nekompatibilnosti umreženih segmenata polimera i molekula porogena [6].

Navedeni mehanizam formiranja porozne strukture kopolimera sintetisanog suspenzionom polimerizacijom preko slobodnih radikala dovodi do nastajanja kopolimera koji se sastoji od aglomerata čestica različitih dimenzija. Kao posledica toga, umreženi makroporozni kopolimeri se karakterišu širokom raspodelom dimenzija pora u opsegu od mikropora do makropora.

Proces formiranja porozne strukture kopolimera dobijenog suspenzionom polimerizacijom preko slobodnih radikala može se podeliti u tri faze, a šematski prikaz nastalog makroporoznog kopolimera dat je na Slici 4 [6].

1. Prvo dolazi do stvaranja jezgra koje čine manje čestice dimenzija prečnika od oko 100 Å. Kompaktne čestice se formiraju procesom ciklizacije i reakcije umrežavanja tokom rane faze reakcije polimerizacije. Jezgra ne poseduju poroznu strukturu.
2. Zatim, dolazi do aglomeracije jezgara u strukture koje se nazivaju mikrosfere čija je veličina oko 1000 Å. Između jezgara dolazi do formiranja mikropora dimenzija od oko 20 Å.
3. Aglomeracijom mikrosfera u veće strukture nepravilnog oblika, dimenzija u opsegu od 2500 do 10000 Å, formira se konačna porozna struktura. Mezopore dimenzija u opsegu od 20 do 500 Å obrazuju se između čestica u okviru jednog aglomerata mikrosfera. Između aglomerata mikrosfera nalaze se makropore (veće od 500 Å).



Slika 4 Šematski prikaz porozne strukture makroporoznog kopolimera dobijenog suspenzionom polimerizacijom preko slobodnih radikala [6].

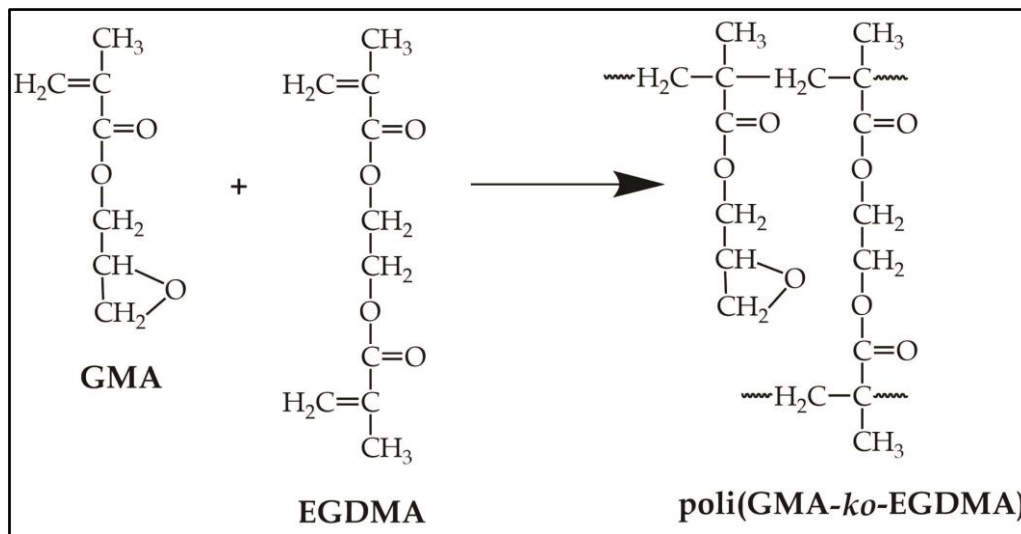
2.1.4. Sinteza, modifikacija i primena umreženih makroporoznih kopolimera

Makroporozni kopolimeri imaju veliku mogućnost primene zahvaljujući, ne samo svojoj poroznoj strukturi, već i činjenici da se oni mogu koristiti kao reaktivni polimeri [28]. Makroporozni umreženi kopolimeri predstavljaju pogodne sisteme za uvođenje različitih funkcionalnih grupa, odnosno hemijsku modifikaciju. Pored hemijske modifikacije, aktivna grupa se može uvesti u polimer odabirom strukturnih monomernih jedinica koje već u sebi sadrže odgovarajuće funkcionalne grupe [2,4]. Primenom navedenih metoda modifikacije polimera ili kombinacijom postupaka u zavisnosti od svojstava polimera i njihove namene dobijamo funkcionalizovane polimere sa otvorenim mogućnostima dalje primene. Jedan od faktora koji utiče na mehanizam reakcija umreženih kopolimera jeste dostupnost reaktivnih grupa molekulima reaktanata. Kod umreženih polimera sa prividnom poroznošću, reaktivne grupe su dostupne reaktantima nakon što polimer dovoljno nabubri u odgovarajućem rastvaraču, odnosno kada su lanci polimera međusobno dovoljno razmaknuti. Ukoliko polimer ne bubri u odabranom rastvaraču, reakcija se može odigrati

samo na funkcionalnim grupama koje se nalaze na spoljnoj površini čestice, odnosno na onim grupama koje su dostupne molekulima reaktanta. Funkcionalne grupe koje se nalaze u unutrašnjosti čestice ostaju nedostupne za molekule reaktanta, pa ne dolazi do reakcije modifikacije. Ukoliko se koriste umreženi makroporozni kopolimeri, kopolimeri sa permanentnom poroznošću, tada dostupnost funkcionalnih grupa reaktantima i mogućnost odigravanja hemijske reakcije ne zavise od izbora rastvarača u tolikoj meri kao što je to slučaj kod kopolimera sa prividnom poroznošću.

GMA predstavlja jedan od najpogodnijih komonomera za direktno dobijanje reaktivnih kopolimera zahvaljujući svom sastavu, odnosno prisustvu epoksidne grupe [29,30]. Epoksidna grupa se relativno lako prevodi u hidroksilnu, karboksilnu, keto ili amino grupu [31]. U literaturi se može naći veći broj radova koji se odnose na kopolimerizaciju GMA sa različitim monomerima kao što su: etilendimetakrilat (EDMA), etilenglikoldimetakrilat (EGDMA), stiren (ST), divinilbenzen (DVB), itd., u cilju dobijanja funkcionalizovanog materijala koji se može koristiti za različite namene [9,32-35]. Osim kopolimera na bazi GMA ispitivana su i svojstva terpolimera na bazi MMA, GMA i DVB odnosno poly(MMA-GMA-DVB) korišćenog za uklanjanje jona teških metala kao i separaciju biomolekula [36-38].

U poslednje vreme sve veću pažnju privlače kopolimeri na bazi GMA (monovinilni monomer) i EGDMA (divinilni monomer-umreživač), poli(GMA-ko-EGDMA), čija je strukturna formula prikazana na Slici 5. Dobijanje umreženog makroporoznog poli(GMA-ko-EGDMA) suspenzionom kopolimerizacijom opisali su Švec i saradnici sredinom 70-tih godina prošlog veka [28].



Slika 5 Šematski prikaz procesa formiranja poli(GMA-ko-EGDMA)

Kao inertna komponenta korišćena je smeša cikloheksanola i dodekanola koji se dobro mešaju sa monomerima, a ne rastvaraju se u vodi [28,30]. Kao makromolekulski stabilizator korišćen je poli(vinilpirolidon) (PVP). Na osnovu rezultata koje su objavili Švec i saradnici, a koji se odnose na ispitivanje sinteze poli(GMA-ko-EGDMA) suspenzionom polimerizacijom, ustanovljeno je da dodekanol može biti uspešno zamenjen u inertnoj komponenti nekim drugim alifatskim alkoholom [39,40]. Kakvi će biti parametri porozne strukture makroporoznog poli(GMA-ko-EGDMA) u prisustvu smeše cikloheksanola i dodekanola zavisi od udela inertne komponente u reakcionoj smeši, kao i od udela dodekanola u inertnoj komponenti [28,30]. Kao što je ranije pomenuto, kopolimerizacija se može izvoditi u prisustvu nerastvarača kao inertne komponente gde do razdvajanja faza dolazi ranije tokom procesa polimerizacije. Lanci kopolimera su isprepletani te kao rezultat imamo kopolimer sa velikom zapreminom pora, manjom specifičnom površinom i relativno velikim srednjim prečnikom pora [26]. Međutim, inertna komponenta može biti smeša rastvarača i nerastvarača. U tom slučaju lanci kopolimera su u jezgrima manje isprepleteni usled veće moći solvatacije inertne komponente. Pri većem udelu cikloheksanola, inertna komponenta je bolji rastvarač za kopolimer, lanci kopolimera su u

jezgrima manje isprepletani i do razdvajanja faza dolazi kasnije tokom polimerizacije. Nastale mikrosfere sadrže veći broj manjih pora, odnosno manju ukupnu zapreminu, a samim tim veću specifičnu površinu i manji srednji prečnik pora nego u slučaju kada je kao inertna komponenta korišćen čist nerastvarač. Najveći uticaj na parametre porozne strukture poli(GMA-*ko*-EGDMA) pored sastava i udela inertne komponente ima i udeo umreživača EGDMA u monomernoj fazi [28,30,41].

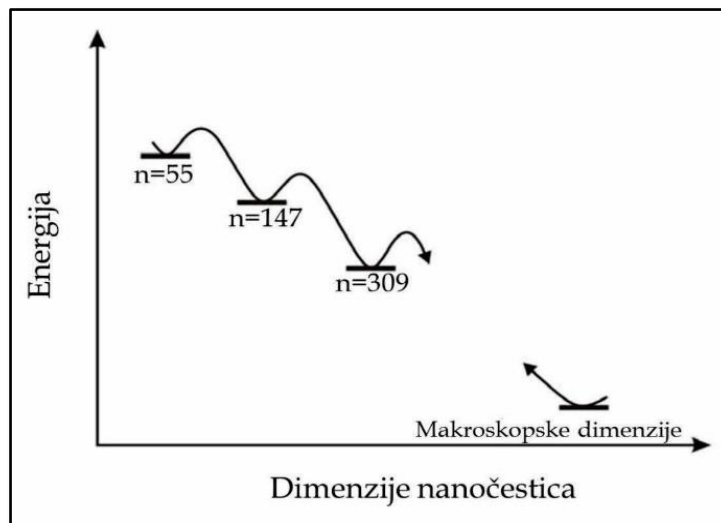
Umreženi makroporozni kopolimeri koriste se kao nosači katalizatora [5], polazne sirovine za dobijanje jonoizmenjivačkih smola i sorbenta [6], kao i materijali za biomedicinsku primenu [7,42,43]. Korišćenje makroporoznih kopolimera na bazi ST i DVB kao jonoizmenjivačkih smola uslovljeno je prethodnom podvrgavanju reakcijama sulfonovanja i hlormetilovanja, a nakon toga procesu aminovanja [25]. Ford i saradnici su ispitali mogućnosti primene makroporoznih kopolimera za heterogenu katalizu [44]. Makroporozne čestice polistirena korišćene su kao nosači za benzil-3-n-butilfosfonijum jone koji katalizuju reakciju 1-bromoktana u vodenom rastvoru natrijum cijanida. Prednost korišćenja makroporoznih polimera kao nosača potiče upravo od prirode samog materijala, odnosno od mogućnosti reaktanata da difunduju unutar porozne polimerne matrice. Imobilizacijom enzima na površini poroznih polimera omogućava se njihova uspešna separacija iz reakcione smeše [10]. Polimerna matrica doprinosi većoj stabilnosti imobilisanih enzima, omogućavajući njihovu primenu u kontinualnim prosecima kao i bolju kontrolu u katalitičkim reakcijama [45]. U literaturi se mogu naći reakcije poli(GMA-*ko*-EGDMA) sa etilendiaminom [9,46], amonijakom, n-butilaminom, n-oktilaminom [47,48], jedinjenjima pirazola [49], fenolom [50], itd. Ukoliko se izvodi u neutralnoj ili baznoj sredini, reakcija epoksidne grupe iz ostatka GMA makroporoznog poli(GMA-*ko*-EGDMA) sa diaminima odigrava se tako što atom azota napada manje zaštićen atom ugljenika u sastavu epoksidne grupe [47]. Modifikacija polaznog kopolimera na bazi GMA dovodi do stvaranja polimernog nosača sa novim svojstvima, a samim tim otvara mogućnosti i za nove primene.

Reakcijom poli(GMA-ko-EGDMA) sa diaminima dolazi do uvođenja funkcionalne amino grupe na polimerni nosač. Amino grupa se može ponašati kao donor elektrona [51], odnosno predstavlja redukciono sredstvo. Modifikovani materijal ima ulogu medijatora pri sintezi nanočestica srebra s obzirom da reaktivni amino centri imaju sposobnost da redukuju jone srebra sa ciljem dobijanja čestica željenih morfoloških svojstava [51-53].

2.2. Metalne nanočestice

Fizička i hemijska svojstva materijala dispergovanih tako da im se bar jedna dimenzija reda veličine od 1 do 100 nm, se u velikoj meri razlikuju od svojstava istog materijala makroskopskih dimenzija [54-56]. Smanjenje dimenzija materijala do nanometarskog nivoa dovodi do promena njegovih optičkih, termičkih, mehaničkih, električkih i magnetnih karakteristika [57-61]. Nanočestice predstavljaju skup 10^3 - 10^9 atoma ili molekula međusobno povezanih hemijskim vezama. Komparativnu prednost nanočestica u odnosu na čestice većih dimenzija predstavlja mnogo veći odnos između površine i zapremine, tako da se veliki deo od ukupnog broja atoma koji ulaze u sastav nanočestice nalazi na površini čestice. Pored veličine, svojstva nanočestica zavise i od njihovog oblika i sredine u kojoj se nalaze.

Površinski atomi se razlikuju od atoma u unutrašnjosti čestice, jer su koordinisani manjim brojem susednih atoma te se nalaze u višem energetsom stanju. Stanje više energije podrazumeva veću hemijsku reaktivnost te se može zaključiti da su nanočestice hemijski reaktivnije od makroskopskih čestica iste supstance [62]. Na Slici 6 je šematski prikazano smanjenje energije nanočestica sa povećanjem njihove veličine.



Slika 6 Zavisnost energije nanočestica od njihove veličine

Visoke vrednosti površinske energije imaju za posledicu tendenciju nanočestica za agregacijom pod dejstvom van der Waals-ovih sila u cilju smanjenja ukupne energije čitavog sistema. Jasno je da se sa smanjenjem dimenzija nanočestica povećava njihova tendencija za aglomeracijom. Da bi se iskoristila specifična svojstva nanočestica neophodno je sprečiti njihovu aglomeraciju. U principu, stabilnost koloidnih rastvora ovih čestica se može povećati na dva načina: sternom ili elektrostatičkom stabilizacijom [63,64]. Sterna stabilizacija je zasnovana na korišćenju molekula površinski aktivnih supstanci kao i molekula polimera koji adsorbovani na površini nanočestica sprečavaju njihov dalji rast i aglomeraciju. U osnovi elektrostatičke stabilizacije koloida je dugodometna elektrostatička interakcija dvostrukih električnih slojeva čestica. Podešavanjem pH vrednosti koloidnog rastvora ili vezivanjem liganada za površinu nanočestica, može se uticati na intenzitet elektrostatičkog odbijanja nanočestica [64-66].

S obzirom na veličinu nanočestica, njihova svojstva se ne mogu objasniti zakonima klasične fizike, već uz pomoć kvantne mehanike. Dimenzije nanočestica metala duž određenog pravca mogu biti manje od De Broglie-evih talasnih dužina nosioca naelektrisanja [67]. Kod metala, De Broglie-eve talasne dužine elektrona su reda veličine 10 nm. Kretanje elektrona je ograničeno

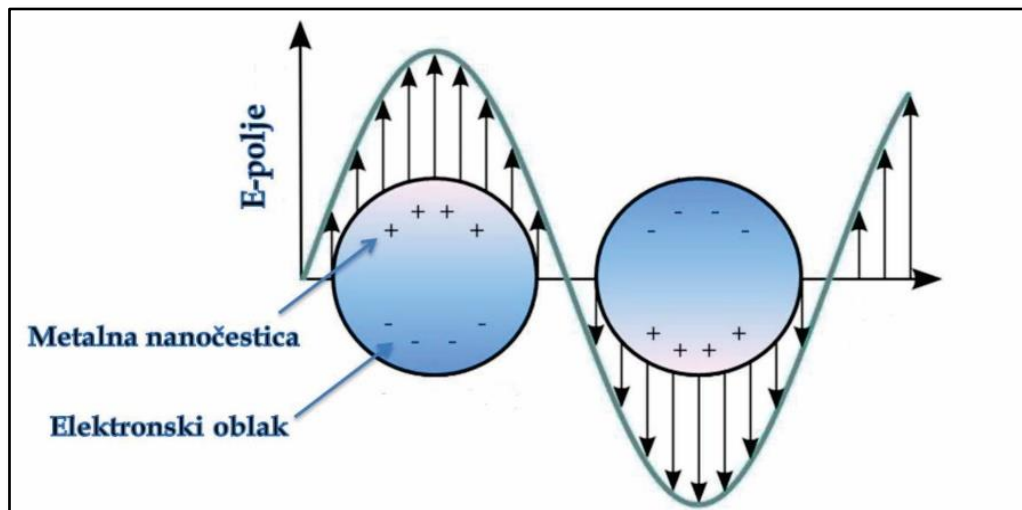
dimenzijama nanočestica što za posledicu ima pojavu kvantnih efekata nanočestica na njihova optička, magnetna i druga svojstva. Kod metalnih nanočestica dimenzija većih od 5 nm, kvantni efekti bivaju anulirani termičkim kretanjem elektrona [68]. Kod metalnih nanočestica dolazi do pojave kolektivnih oscilacija – plazmona [69]. Za objašnjenje plazmonske oscilacije moguće je primeniti klasičnu teoriju slobodnih elektrona bez obzira što se nalazimo u oblasti gde prevashodno vladaju kvantno-mehanički zakoni.

2.2.1. Optičke karakteristike metalnih nanočestica

Veliki broj značajnih primena metalnih nanočestica se zasniva na njihovim optičkim svojstvima. Interakcija elektromagnetnog polja upadne svetlosti sa metalnim česticama dovodi do koherentnih oscilacija elektrona iz provodne zone čestica koje apsorbiraju i/ili rasejavaju zračenje određene frekvencije. Ova frekvencija predstavlja rezonanciju površinskog plazmona nanočestica metala, a manifestuje se pojavom apsorpcionog maksimuma u vidljivoj oblasti spektra elektromagnetnog zračenja. [57,69,70]. Rezonancija površinskog plazmona je najintenzivnija za plemenite metale (Au, Ag) i Cu i nalazi se u vidljivoj oblasti spektra (380-780 nm), dok većina prelaznih metala pokazuje široke ili veoma slabe apsorpcione maksimume, najčešće u ultravioletnoj oblasti [71].

Položaj, oblik, intenzitet i broj apsorpcionih maksimuma zavisi od više različitih faktora: veličine i oblika nanočestica, međučestičnog rastojanja, dielektričke konstante okruženja u kome se čestice nalaze, gustine nosilaca naelektrisanja, elektronskih interakcija stabilizacionih liganada i nanočestica (mogu dovesti do promene elektronske gustine unutar samih nanočestica) [61,70,72-75]. Zavisnost optičkih karakteristika metalnih nanočestica od veličine i oblika može se vizuelno uočiti jer dovodi do promene intenzivnog obojenja koloidnih rastvora [76]. Promena obojenja se može objasniti promenom rezonantne frekvencije površinskog plazmona na kojoj osciluju provodni elektroni sa promenom veličine i oblika metalnih nanočestica.

Ponašanje provodnih elektrona u metalu, najčešće se objašnjava Drudeovim modelom slobodnih elektrona [74,77]. Prema pomenutom modelu, provodni elektroni ne interaguju sa trodimenzionalnom rešetkom metalnih jona, odnosno kreću se slobodno kao elektronski oblak unutar kristalne rešetke. Metalna nanočestica se može posmatrati kao geometrijski uredjen skup pozitivnih jezgara oko kojih se elektroni slobodno kreću. Elektromagnetno polje upadne svetlosti deluje na slobodne elektrone pomerajući ih ka površini nanočestice, tako da na jednoj strani dolazi do akumuliranja negativnog naelektrisanja, dok višak pozitivnog naelektrisanja ostaje na drugoj strani nanočestice, formirajući dipol.

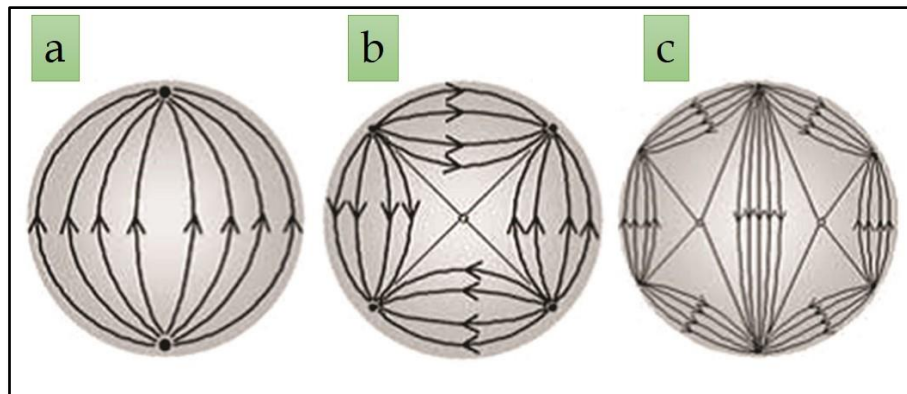


Slika 7 Šematski prikaz plazmonske oscilacije sfernih metalnih nanočestica i razdvajanje elektronskog oblaka od jezgra pod dejstvom elektromagnetnog polja [60]

Pod dejstvom spoljašnjeg polja, dolazi do promene položaja centra naelektrisanja oblaka slobodnih elektrona u metalnoj čestici u odnosu na jezgro atoma. Električni dipol formira električno polje unutar same čestice koje je suprotnog smera u odnosu na pobudno električno polje (Slika 7) [60].

Po prestanku dejstva pobudnog električnog polja Coulomb-ova interakcija između jezgra i elektrona dovodi do oscilovanja elektronskog oblaka u odnosu na osnovni položaj. U najjednostavnijem slučaju, ove promene su za sve

elektrone dipolne oscilacije u istoj fazi i karakteristične su za sferne metalne čestice prečnika manjeg od talasne dužine upadne svetlosti. Pored dipolnih oscilacija, mogu se javiti i viši modovi kao što je kvadrupolni, gde se pola elektroskog oblaka kreće paralelno sa primenjenim poljem, a pola normalno na spoljašnje polje (Slika 8) [70].



Slika 8 Šema električnog polja unutar čestice usled delovanja dipolne (a), kvadrupolne (b) i multipolne rezonancije (c) [1]

Kao što je prethodno rečeno, kolektivne oscilacije provodnih elektrona unutar metalnih čestica, koje apsorbuju i rasejavaju svetlost određene frekvence jesu površinski plazmoni ili dipolne plazmonske resonance čestica. Kombinovanjem Drude-ovog modela i Mie-teorije apsorpcije metalnih čestica, mogu se objasniti njihova optička svojstva u zavisnosti od veličine i okruženja u kome se nalaze [78]. Prema Mie teoriji, fizičko objašnjenje porekla jake apsorpcije svetlosti metalnih nanočestica potiče od koherentnih oscilacija provodnih elektrona usled interakcije sfernih čestica sa elektromagnetnim poljem. Kada se frekvenca elektromagnetnog zračenja nađe u rezonanci sa koherentnim kretanjem elektrona, javlja se apsorpcija u spektru, odakle potiče intenzivno obojenje koloidnih rastvora. Kako bismo objasnili apsorpcione spektre koloidnih rastvora metalnih čestica potrebno je odrediti poprečni presek ekstinkcije σ_{ext} (eng. *extinction cross section*), koji predstavlja zbir poprečnih preseka apsorpcije i rasejanja svetlosti od strane metalnih nanočestica [78]. Analitički izraz za

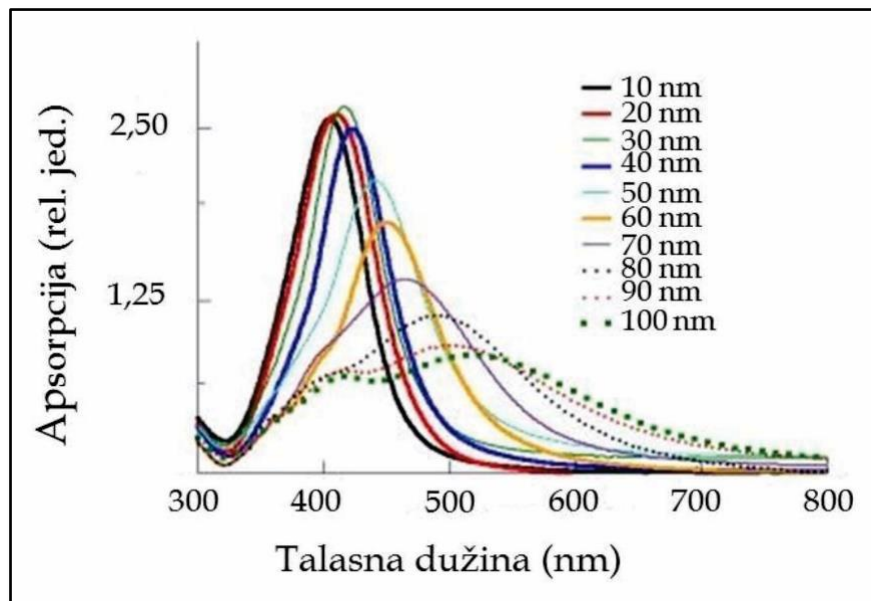
izračunavanje σ_{ext} sfernih čestica razvio je Mie rešavajući Maxweell-ovu jednačinu apsorpcije i rasejanja elektromagnetnih talasa sfernih čestica. Radi pojednostavljenja uvedene su određene aproksimacije. Dipolna aproksimacija podrazumeva da su dimenzije metalnih nanočestica mnogo manje u odnosu na talasnu dužinu upadnog elektromagnetnog zračenja. Kako se radi o talasima u vidljivom delu spektra elektromagnetnog zračenja (380-780 nm), uslov je ispunjen ako su dimenzije nanočestica manje od 50 nm. U ovom slučaju električno polje unutar nanočestice se može smatrati uniformnim.

$$\sigma_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 \epsilon_m^{\frac{3}{2}}}{\lambda} \frac{\epsilon_2}{(\epsilon_1 + 2\epsilon_m) + \epsilon_2^2} \quad (1)$$

gde je λ talasna dužina svetlosti, ϵ_m dielektrična konstanta sredine, ϵ_1 i ϵ_2 predstavljaju realni i imaginarni deo Drude-ove dielektrične funkcije metala.

Henglein je ispitivao optička svojstva metalnih nanočestica, srebra i zlata [66]. Na osnovu rezultata njegovih istraživanja potvrđena je zavisnost položaja površinskog plazmona od veličine i oblika nanočestica. Kod sfernih nanočestica javlja se jedan maksimum plazmonske apsorpcije, a sa povećanjem veličine čestica njegov položaj se pomera ka većim talasnim dužinama.

Na Slici 9 prikazan je apsorpcioni spektar nanočestica srebra u zavisnosti od njihove veličine [79]. Sa povećanjem prečnika nanočestica dolazi do pomeranja apsorpcionog maksimuma ka većim talasnim dužinama. Kod čestica veličine preko 80 nm više ne važi dipolna aproksimacija i javlja se dodatni apsorpcioni maksimum na nižim talasnim dužinama, koji je posledica kvadrupolne rezonance.

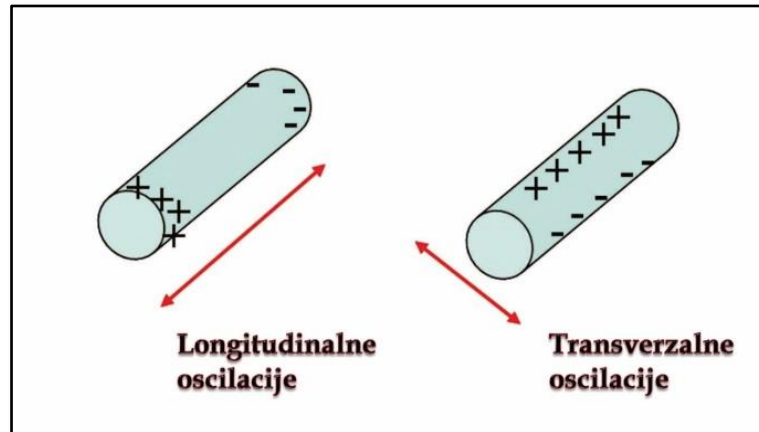


Slika 9 Apsorpcioni spektri nanočestica srebra različitih dimenzija [79]

Kod metala, valentna i provodna zona se preklapaju, dajući kontinualni spektar mogućih elektronskih stanja slobodnih elektrona. Kod nanočestica, koje sadrže mali broj atoma energetske zone nisu u potpunosti formirane. Zbog toga može doći do unutrašnje tranzicije elektrona, na sličan način kao kod poluprovodničkih materijala [80]. Prelasci elektrona između unutrašnjih energetskih nivoa odgovaraju kraćim talasnim dužinama te se često preklapaju sa rezonantnim plazmonskim pikom (Slika 9).

Jedna od najinteresantnijih pojava vezanih za optička svojstva metalnih nanočestica je mogućnost njihovog podešavanja promenom oblika samih čestica. Karakteristična veličina za čestice štapićastog oblika je odnos longitudinalne i transverzalne dužine ose čestica [73]. Sa povećanjem dužine jedne od osa, karakterističan plazmonski pik se deli na dve komponente. Zbog toga nanočestice štapićastog oblika poseduju dva površinska plazmona koja potiču od transverzalnih i longitudinalnih elektronskih oscilacija (Slika 10). Transverzalni pik koji se javlja u visokoenergetskom delu apsorpcionog spektra posledica je oscilacija elektrona usmerenih normalno na glavnu osu čestice, dok

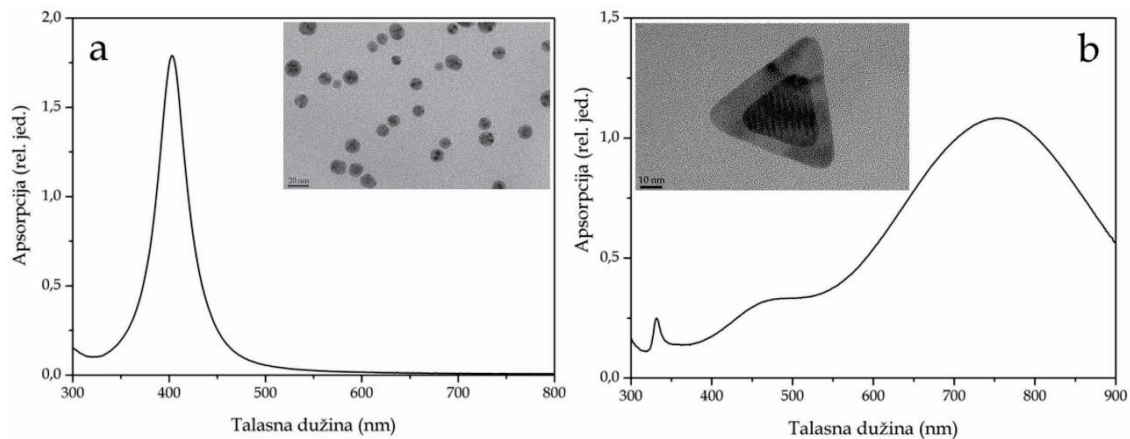
longitudinalni pik poseduje nižu energiju i odgovara oscilacijama elektrona duž glavne ose [71,73].



Slika 10 Šematski prikaz akumulacije naelektrisanja kod nanočestica štapićastog oblika koja dovodi do longitudinalnih i transverzalnih oscilacija

Longitudinalne oscilacije su veoma osetljive na odnos dužina osa čestice, tako da veoma mala odstupanja od sferne geometrije dovode do promene boje koloidnog rastvora, odnosno do promene frekvencije na kojoj osciluju provodni elektroni pod dejstvom spoljašnjeg elektromagnetnog polja [71,73].

Za razliku od sfernih nanočestica srebra čiji apsorpcioni spektar sadrži jedan apsorpcioni maksimum (Slika 11a), sa smanjenjem simetrije čestica raste broj apsorpcionih pikova. Na primer, apsorpcioni spektar nanoprizmi srebra sadrži tri apsorpciona maksimuma koja potiču od dipolne rezonancije u ravni i kvadrupolne rezonancije u ravni i izvan nje i predstavlja potvrdu uticaja geometrije samih čestica na izgled apsorpcionog spektra (Slika 11b) [81-83].



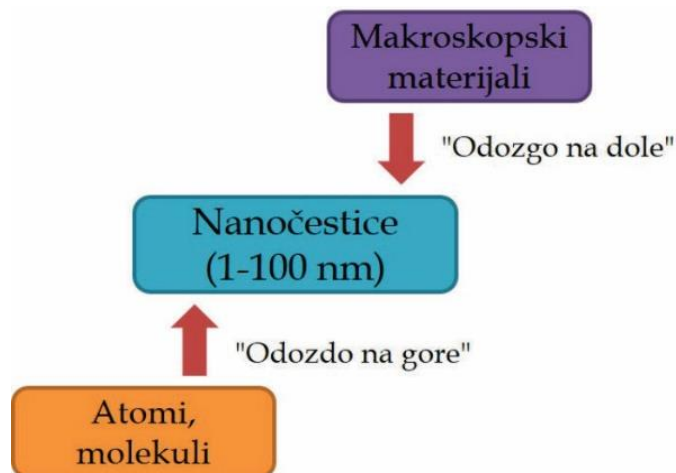
Slika 11 Apsorpcioni spektar sfernih nanočestica srebra sa umetnutim TEM snimkom (a), apsorpcioni spektar nanoprizmi srebra sa umetnutim TEM snimkom (b)

Optičke karakteristike nanočestica takođe zavise od sredine u kojoj se nalaze, odnosno od njene dielektričke konstante. Mulvaney je ispitivao uticaj sredine na optička svojstva nanočestica i ustanovio u kojoj meri položaj maksimuma rezonantne plazmonske apsorpcije zavisi od promene dielektrične konstante okruženja [72].

2.2.2. Metode sinteze metalnih nanočestica

Postoje brojni načini sinteze metalnih nanočestica. Generalno, sve sintetske metode pripadaju jednom od dva osnovna pristupa pripreme nanostrukturnih materijala (Slika 12). Prvi pristup je takozvani "odozgo na dole" (eng. *top-down*) ili disperzioni metod, koji se zasniva na usitnjavanju kompaktnih materijala do čestica nanometarskih dimenzija. Najčešće korišćene metode koje pripadaju pristupu odozgo na dole su litografija elektronskim snopom (eng. *electron beam lithography-EBL*) i mlevenje fokusiranim jonskim snopom (eng. *focused ion beam-FIB*) [84,85]. Navedene tehnike dobijanja nanočestica imaju limitiranu rezoluciju od oko 20 nm, pa se ne mogu koristiti za dobijanje manjih nanočestica. Drugi pristup je takozvani "odozdo na gore" (eng. *bottom-up*), tj. metod agregacije ili kako se često naziva metod kondenzacije, kojim se nanostrukturni materijali dobijaju spontanom organizacijom i povezivanjem

manjih, osnovnih jedinica građe (atoma) u stabilne, strukturno definisane agregate [86,87].



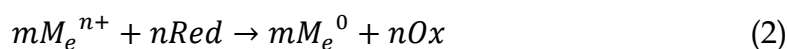
Slika 12 Šematski prikaz dva osnovna principa formiranja nanostrukturnih materijala

Hemijske metode redukcije prekursorskih soli metala su najčešće korišćene agregacione metode za sintezu metalnih nanočestica, gde je pored pomenutih prekursorskih soli i redukcionog sredstva, po potrebi, neophodno i prisustvo sredstava za stabilizaciju formiranih nanočestica [88-90].

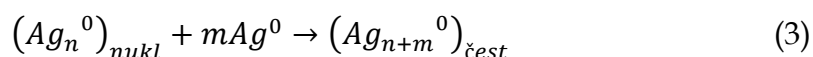
Poslednjih godina dolazi do sve veće primene "zelenih" metoda kojima se izbegava upotreba tradicionalnih redukcionih sredstva za sintezu. Ove metode se zasnivaju na formiranju nanočestica pomoću biomolekula [91], polisaharida [92,93], ili mikroorganizama [94].

2.2.3. Sinteza nanočestica srebra

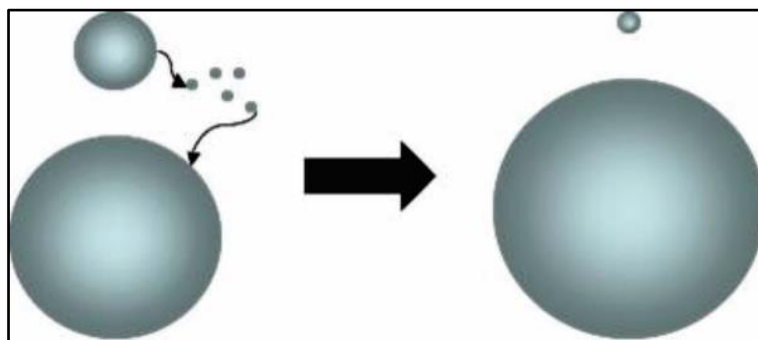
Metoda sinteze sfernih nanočestica srebra zasnovana na pionirskom radu Lee-Miesel-a i Creighton-a [95-97] se bazira na redukciji jona metala redukcionim sredstvom, odnosno donorom elektrona, do metalnog stanja prema jednačini 2:



Vrednost standardnog redoks potencijala srebra iznosi $E^0=+0.799$ V prema vodoničnoj elektrodi, te da bi reakcija bila termodinamički moguća, redoks potencijal redukcionog sredstva mora biti za 0,3-0,4 V negativniji od redoks potencijala srebra [95]. Novonastali atomi srebra Ag^0 se spajaju formirajući klaster. Klasteri dalje reaguju sa zaostalim atomima metala obrazujući nukleuse $(Ag_n^0)_{nukl}$ koji rastu do formiranja termodinamički stabilne čestice (jednačina 3).



Formiranje koloidnih sistema redukcijom jona srebra se odvija u dva stupnja, nukleacije i rasta nastalih nukleusa, od kojih zavisi veličina i oblik sintetisanih nanočestica. Da bi se dobili monodisperzni koloidni sistemi neophodno je istovremeno formiranje svih nukleusa, kao i da se proces nukleacije završi pre otpočinjanja procesa rasta nanočestica. Pod ovim uslovima verovatnoća da će nukleusi biti iste veličine i da će rasti istom brzinom je najveća. Ukoliko dođe do preklapanja procesa nukleacije i rasta onda će dobijeni koloidni sistem biti polidisperzan.



Slika 13 Šematski prikaz procesa Ostvaldovog ukрупnjavanja

Nakon nukleacije i formiranja nanočestica dolazi do procesa starenja koloida. Proces starenja koloidnih rastvora se zasniva na takozvanom "Ostvaldovom ukрупnjavanju", odnosno rastu većih čestica na račun manjih (Slika 13). Rast

većih čestica na uštrb manjih je pospešen većom rastvorljivošću manjih čestica [98].

Nukleacija, rast nukleusa do kritične veličine i formiranje stabilnih čestica mogu se kontrolisati promenom temperature reakcije na kojoj se reakcija izvodi, koncentracije prekursora, pH vrednosti, vremenom odigravanja reakcije, izborom redukcionog sredstva (natrijum borhidrid, etilen glikol, hidrazin), kao i izborom stabilizatora [88-90,99-101]. Najčešće korišćenu hemijsku metodu sinteze nanočestica srebra je razvio Creighton sa saradnicima koja omogućava dobijanje čestica veličine od 5 do 20 nm, pri čemu se kao redukciono sredstvo koristi natrijum borhidrid [97]. Primena Lee-Miesel-ove metode, koja se zasniva na korišćenju citratnih jona i kao redukcionog sredstva i kao stabilizatora, dovodi do formiranja koloidnih rastvora sa širom raspodelom velična čestica [96]. Hoonacker je sa saradnicima proučavao uticaj natrijum borhidrida i citrata na raspodelu veličina dobijenih nanočestica kao i na njihovu stabilnost [85]. Došli su do zaključka da korišćenjem jakog redukcionog sredstva (natrijum borhidrida) dolazi do formiranja manjih čestica, dok se upotrebom slabijeg redukcionog sredstva (natrijum citrata) dobijaju čestice većih dimenzija. Upotrebom oleilamina kao redukcionog sredstva mogu se sintetisati nanočestice srebra visoke uniformnosti, pri čemu se srebro nitrat koristi kao prekursor, a parafin kao rastvarač [102]. Visoka temperatura ključanja parafina (300 °C) omogućava izvođenje reakcije na različitim temperaturama pri čemu se dobijaju monodisperzne nanočestice.

Sinteza nanočestica srebra nesferičnog oblika odvija se u prisustvu površinski aktivnih supstanci koje pored uloge stabilizatora favorizuju rast čestica duž određenog kristalografskog pravca [103,104]. Jedan od sintetskih pristupa za dobijanje nanoštapića srebra i zlata se zasniva na korišćenju prethodno sintetisanih sfernih nanočestice Ag i Au koje predstavljaju klice rasta. Sinteza se odigrava u prisustvu cetiltrimetilamonijum bromida (CTAB) i odgovarajućeg redukcionog sredstva [105,106]. Nanoprizme srebra mogu biti sintetisane metodom koja ne zahteva prisustvo prethodno sintetisanih klica, i to

u vodenom rastvoru koji sadrži srebro nitrat, jone citrata, vodonik peroksid, natrijum borhidrid i PVP [81]. Nakon dodavanja redukcionog sredstva, natrijum borhidrida, dolazi do vidljive promene boje rastvora u svetlo žutu, što ukazuje na odvijanje procesa nukleacije i formiranja nanočestica srebra. Nakon određenog vremenskog perioda boja koloidnog rastvora se menja od tamno žute, preko narandžaste i roze, i na kraju plave. Plava boja koloidnog rastvora ukazuje na završetak hemijske reakcije, odnosno formiranje nanoprizmi srebra.

Monodisperzne nanokocke srebra sintetisane su redukcijom srebra nitrata pomoću etilen glikola u prisustvu polivinil pirolidona (PVP) [107,108]. Etilen glikol je imao ulogu i redukcionog sredstva i rastvarača. Molski odnos PVP-a u odnosu na srebro nitrat predstavlja ključni parameter koji određuje geometrijski oblik i veličinu čestica srebra.

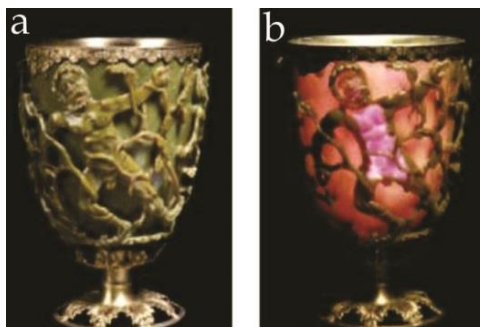
Anizotropnost, tj. oblik i veličina nesferičnih nanočestica srebra mogu se kontrolisati podešavanjem eksperimentalnih uslova pri kojima se reakcija odigrava (odnos koncentracije metalnog prekursora i stabilizatora, koncentracija klica, temperatura, vreme odigravanja reakcije, itd.) [107].

Pored hemijske redukcije, kao najzastupljenije metode, redukcija Ag^+ jona do metalnih nanočestica može se ostvariti elektrohemijski [99,107], kao i putem fotohemijske redukcije [100,109].

2.2.4. Primena nanočestica srebra

Korišćenje čestica submikronskih ili nanometarskih veličina datira još od antičkog doba. Ilustrativan primer predstavlja Likurgov pehar [110] (eng. *Lycurgus cup*) koji je izrađen od bronzne i obložen je obojenim staklom, a potiče iz perioda starogr Rima. Obojeno staklo je imalo sposobnost rasejanja zelene svetlosti pri direktnom osvetljavanju (Slika 14a) i propuštanja svetlosti crvene rubin boje (Slika 14b) ukoliko se izvor svetlosti nalazio unutar pehara. Prema studiji naručenoj od strane Britanskog muzeja u Londonu gde se pehar i nalazi, staklo čine čestice legura srebra (70 %) i zlata (30 %) veličine 70 nm. Sada je poznato da sferne nanočestice srebra ove veličine rasejavaju zelenu a, propuštaju

narandžastu svetlost, pri čemu prisustvo nanočestica zlata pomera položaj apsorpcione trake ka većim talasnim dužinama, što dovodi do izraženog dihromatizma. Koloidne čestice srebra i zlata su korišćene u srednjem veku za izradu vitražnog stakla intenzivnih boja [111,112]. Navedene primene nanočestica, prevashodno metalnih, u starom i srednjem veku su slučajne, bez razumevanja uzroka koji dovode do ostvarenih optičkih efekata.



Slika 14 Likurgov pehar posmatran u a) refleksiji i b) transmisiji

Majkl Faradej je 1850. godine sproveo prvo značajno naučno istraživanje optičkih svojstava suspenzija metalnih čestica i ultratankih metalnih filmova [113]. Imajući u vidu sposobnost izuzetno tankih filmova zlata da propuštaju zelenu svetlost, Faradej je pretpostavio da dolazi do jake interakcije između materijala i svetlosti ukoliko su dimenzije materijala mnogo manje od talasne dužine vidljive svetlosti. Mie teorija je početkom 20. veka objasnila površinsku plazmonske rezonanciju koja predstavlja uzrok navedenih optičkih efekata. Intenzivan tehnološki razvoj ovih sistema omogućava široku primenu nanočestica u raznorodnim oblastima. Upotreba nanočestica Ag koja je zasnovana na njihovim specifičnim optičkim svojstvima omogućava pojačavanje signala u optičkoj spektroskopiji [114,115], kao i Ramanskoj spektroskopiji [116]. Takođe, korišćenje nanočestica Ag u dijagnostici i u funkciji biosenzora, posledica je postojanja plazmonske apsorpcije u vidljivom delu spektra [117,118]. Svakako, pored korišćenja specifičnih optičkih svojstava nanočestica Ag, jedna

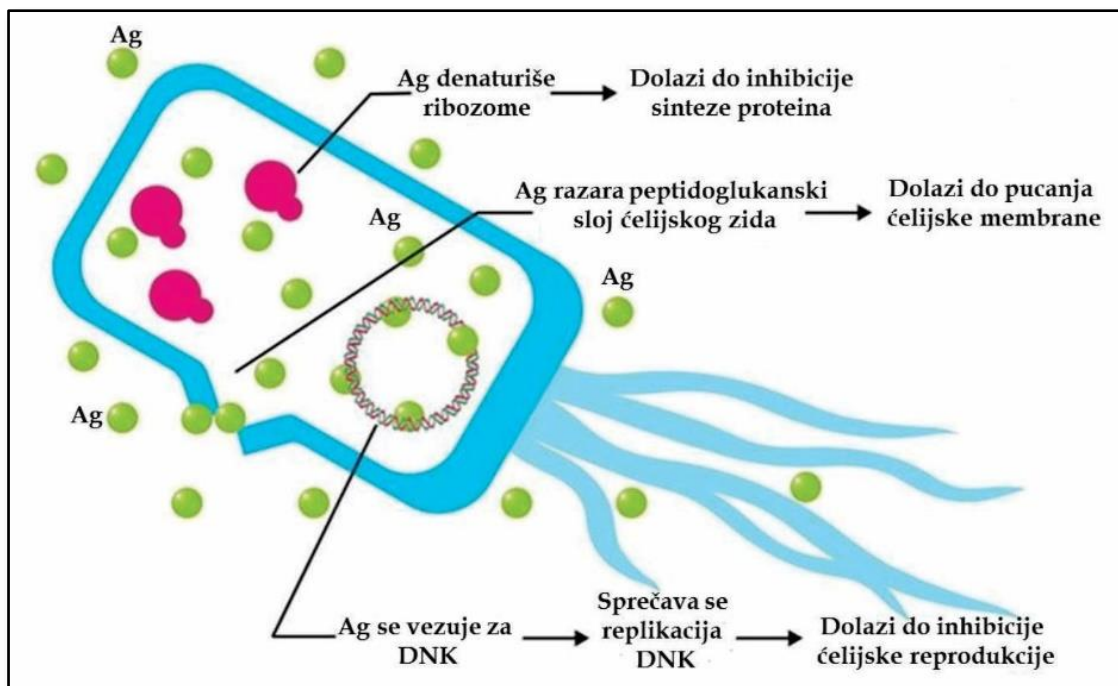
od značajnijih primena ovih nanočestica jeste njihova upotreba kao antimikrobno sredstvo.

2.2.5. Antimikrobna svojstva nanočestica srebra

Još od 19. veka poznato je da su mikroorganizmi uzročnici velikog broja bolesti. Počev od tog perioda značajan napor ulagan je u razvoj preventivnih mera kao i pronalaženje najefikasnijeg rešenja u vidu vakcina, poboljšavanja opštih higijenskih uslova i pronalazak antibiotskih lekova [119]. Upotreba antibiotika pomogla je milionima ljudi u lečenju različitih vrsta infekcija. Međutim, tokom vremena mikroorganizmi su razvili mehanizam rezistencije prema antibioticima, koji je doveo do njihove ograničene upotrebe [120-122]. Penicilin je prvi put korišćen početkom 1940-tih u borbi protiv infekcija izazvanih bakterijom *S. aureus*, da bi već 1942. godine bili izolovani sojevi *S. aureus* rezistentni na penicilin [119]. Kao posledica komercijalizacije novih antibiotskih proizvoda do rezistencije je dolazilo nakon 1-3 godine upotrebe [123,124]. Sve veća rezistencija na antibiotike uslovlila je smanjenje sredstava koje su farmaceutske kuće ulagale u razvoj novih lekova, pa je pitanje suzbijanja bakterijskih infekcija postalo jedan od većih izazova današnjice [124-126].

Među netradicionalim antimikrobnim sredstvima, nanočestice Ag predstavljaju optimalne kandidate u borbi protiv patogenih mikroorganizama prethodno tretiranim konvencionalnim antibioticima zahvaljujući njihovom širokom spektru delovanja [127-129]. Do sve veće upotrebe nanočestica Ag kao antimikrobnog agensa došlo je razvojem sintetskih metoda za sintezu čestica sa kontrolisanim fizičko-hemijskim karakteristikama [130]. Mnogi proizvodi koji su u svakodnevnoj upotrebi, u svom sastavu imaju nanočestice Ag počev od garderobe do filtera za vodu, kozmetičkih preparata i igraćaka za decu [131,132]. Takođe, nanočestice Ag koriste se i u biomedicinske svrhe [133-135]. Međutim, uprkos rasprostranjenosti upotrebi, efekti koje nanočestice Ag imaju na mikroorganizme nisu u potpunosti razjašnjeni. Kao glavni nedostatak navodi se odsustvo jasno definisanog mehanizma delovanja na molekulskom nivou [119].

Morones i saradnici [136] su ispitivali baktericidni efekat nanočestica Ag dimenzija od 1 do 100 nm. Pokazali su da pri koncentraciji nanosrebra od 75 $\mu\text{g/ml}$ dolazi do inhibicije rasta testiranih bakterijskih sojeva bez obzira na veličinu samih čestica. Na osnovu rezultata skenirajuće elektronske mikroskopije ustanovljeno je da se nanočestice dimenzija od 1 do 10 nm vezuju za površinu bakterija i dovode do oštećenja i promene funkcije ćelijske membrane kao i da je ovaj efekat znatno manje izražen kod nanočestica većih dimenzija. Ova pojava objašnjena je činjenicom da sa smanjenjem dimenzija dolazi do povećanja specifične površine, a samim tim i reaktivnosti nanočestica.



Slika 15 Različiti mehanizmi ispoljavanja antimikrobne aktivnosti srebra [131,137,138]

Interakcijom nanočestica Ag i bakterija formiraju se kanali u samoj membrani koji utiču na njenu permeabilnost (Slika 15) [131,137,138]. Akumulirane nanočestice prodiru u unutrašnjost bakterije, stupaju u interakciju sa intracelularnim proteinima i molekulom DNK.

Takođe je utvrđeno da, otpušteni Ag^+ joni sa površine nanočestica doprinose ukupnom baktericidnom efektu na sličan način kao i same nanočestice

Ag. Iako se ne može sa sigurnošću reći tačan razlog zbog kojeg dolazi do oštećenja membrane u smislu fizičko-hemijskih interakcija, generalno je prihvaćeno da doprinos baktericidnog efekta potiče i od nanočestica Ag i od Ag^+ jona [139-142]. Choi i Hu [143] takođe su se bavili ispitivanjem međusobnog odnosa koji se može javiti između dimenzija nanočestica i njihovog mehanizma delovanja. Sintetisali su nanočestice Ag dimenzija od 5 do 21 nm i utvrđivali korelaciju između veličine i intracelularnog stvaranja reaktivnih vrsta kiseonika (eng. *Reactive Oxygen Species, ROS*). Inhibicija rasta bakterijskih sojeva testirana je pomoću nanočestica Ag, AgCl koloida i Ag^+ jona gde je pronađeno da su nanočestice Ag najefikasnije. Frakcija nanočestica srebra dimenzija od 5 nm imala je veću toksičnost od bilo koje druge ispitivane forme srebra. Autori su navedeno svojstvo doveli u korelaciju sa olakšanim transportom kroz ćelijsku membranu nenaelektrisanih nanočestica Ag u poređenju sa naelektrisanim jonima srebra. Na osnovu svojih ispitivanja pokazali su da nanočestice Ag, AgCl koloidi i Ag^+ joni dovode do stvaranja reaktivnih vrsta kiseonika, s tim da je ROS koncentracija zavisila od krajnje koncentracije srebra, ali ne i od forme, kao i da je integritet ćelijske membrane ostao sačuvan pri koncentraciji srebra od 1 mg/l što je bilo u suprotnosti sa prethodnim ispitivanjima [136]. Choi i Hu su predložili da je toksičnost nanočestica Ag striktno povezana sa stvaranjem ROS vrsta i da je krajnja koncentracija srebra ključni parametar bez jasnih dokaza da li su nanočestice Ag ili Ag^+ joni više zaslužni za formiranje ROS vrsta. S obzirom da nanočestice imaju tendenciju ka aglomeraciji koja dovodi do smanjenja biocidnog efekta, ispitivan je uticaj stabilnosti nanočestica na njihova antibakterijska svojstva [144-146]. Nanočestice su površinski modifikovane različitim polimerima i surfaktantima kao što su natrijum dodecilsulfat (SDS), polioksietilensorbitan monooleat (Tween 80), polivinilpirolidon (PVP), anjonski i katjonski ligandi funkcionalizovani hidroksilnim grupama u cilju njihove stabilizacije i povećanja antibakterijske aktivnosti [144,147,148]. Nanočestice Ag površinski modifikovane SDS-om su pokazale značajno povećanje antibakterijske aktivnosti gde je minimalna inhibitorna koncentracija iznosila

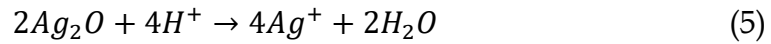
manje od 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [144]. Međutim, suspenzije nekih nanočestica iako stabilne i monodisperzne pokazivale su slabu antimikrobnu aktivnost usled blokiranja površine samih čestica i otežanog oslobađanja Ag^+ jona [149].

Oblik nanočestica srebra predstavlja jedan od faktora koji utiče na njihovu antibakterijsku aktivnost. Prema Pal-u i saradnicima [150] nanoprizme Ag sa zaobljenim vrhovima i (111) kristalografskim ravnima zastupljenim na njihovoj površini, pokazivale su najveće biocidno dejstvo prema *E. coli* u poređenju sa nanočestima srebra sfernog i cilindričnog oblika i rastvorom AgNO_3 . Velika gustina elektrona u (111) ravnima utiče na reaktivnost i dovodi do povećanja toksičnosti nanočestica Ag. Pojava poboljšane antimikrobne aktivnosti se javlja kao rezultat veće reaktivnosti nanočestica. Površina kristalne rešetke nanočestica ima uticaja na antibakterijska svojstva koja može dovesti do brže oksidacije čestica i stvaranja Ag^+ jona.

Veliki napori uloženi su u razumevanje antimikrobnih svojstava i mehanizma delovanja nanočestica Ag [139,144,149,151-155]. Prihvaćeno je da što su nanočestice manjih dimenzija to pokazuju veći inhibitorni efekat rasta mikroorganizama usled veće reaktivne površine, kao i da biocidni efekat potiče usled oštećenja ćelijske membrane, stvaranja ROS vrsta i blokiranja ćelijskog disanja.

Međutim, uprkos velikom broju publikovanih radova, još uvek nije u potpunosti objašnjen mehanizam toksičnosti, odnosno tačna uloga koju imaju nanočestice Ag, a koju Ag^+ joni koji se formiraju otpuštanjem sa površine čestica. U skorašnjim istraživanjima Xiu i saradnici [156] predložili su da antibakterijski efekat koji se javlja kod nanočestica Ag, kao i kod materijala koji u svom sastavu imaju nanočestice Ag, potiče od oksidacije i oslobađanja Ag^+ jona sa površine nanočestica. Antibakterijsko dejstvo ispitivano je pod anaerobnim uslovima u kojima ne dolazi do oksidacije čestica i pod navedenim uslovima toksičnost nanočestica Ag prema *E. coli* nije zabeležena. Nanočestice se mogu smatrati depoom Ag^+ jona. Do formiranja slobodnih Ag^+ jona može doći usled oksidacije na površini nanočestica i stvaranja srebra oksida (Ag_2O) (jednačina 4), koji u

reakciji sa protonom iz spoljašnje sredine formira slobodni Ag^+ jon (jednačina 5) [157].



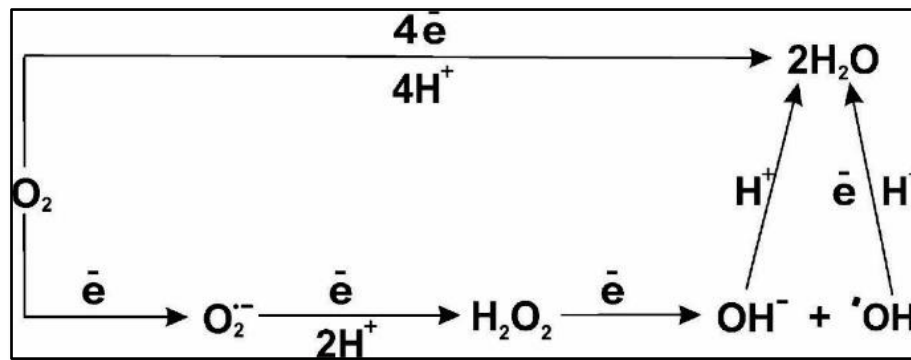
Fizičko-hemijske karakteristike nanočestica Ag (veličina i oblik čestica) prisustvo stabilizatora i liganada, pH i jonska jačina koloidnih rastvora indirektno utiču na toksičnost, preko mehanizma kojim se reguliše otpuštanje Ag^+ jona sa površine čestica. Brzina formiranja Ag^+ jona je generalno proporcionalna specifičnoj površini samih čestica, pa će se proces mnogo brže odigravati kod nanočestica u poređenju sa makroskopskim materijalima [119,158,159].

2.2.6 Mehanizam dejstva srebra na mikroorganizme

U prethodnom odeljku rečeno je da antimikrobna svojstva nanočestica Ag potiču od aerobnog otpuštanja Ag^+ jona koji su primarni uzročnici njihove toksičnosti. Mehanizmi delovanja odnose se na direktno oštećenje ćelijske membrane od strane Ag^+ jona, formiranje reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) indukovanih prisustvom Ag^+ jona kao i na negativan uticaj koji Ag^+ joni imaju na replikaciju molekula DNK, funkcionisanje respiratornog lanca i proizvodnju adenozin trifosfata (ATP-a) [139,144,149,151-155].

Direktno oštećenje ćelijske membrane od strane Ag^+ jona potkrepljeno je nizom literaturnih podataka [136,149,152,153,160,161]. Na osnovu TEM analize jasno su primećena fizička oštećenja membrane u vidu ulegnuća i otvora. Jedno od mogućih objašnjenja delovanja Ag^+ jona na ćelijski zid bakterija i gljivica jeste reakcija sa tiolnim (-SH) grupama proteina koji su prisutni u ćelijskom zidu mikroorganizama, što dovodi do njihove denaturacije [136]. Sve interakcije membranskih proteina i Ag^+ jona dovode do drastične promene permeabilnosti membrane razgradnjom lipopolisaharida i proteina gde kao kranji rezultat dolazi

do rasipanja protonskog gradijenta [161-163]. Intracelularni Ag^+ joni mogu se vezati za proteine respiratornog lanca usled čega dolazi do razdvajanja procesa disanja, odnosno transporta elektrona kroz membranske proteine, sa puta oksidativne fosforilacije [127,164]. Takođe, utvrđeno je da intracelularni Ag^+ joni dovode do povećanja frekvencije mutacije DNK lanca. Toksični efekti Ag^+ jona mogu se javiti i usled formiranja reaktivnih vrsta kiseonika, ROS vrsta [143,165]. Višak reaktivnih vrsta kiseonika uslovljava formiranje oksidativnog stresa usled povećanja koncentracije slobodnih radikala koji mogu oštetiti molekule lipida i DNK [166,167]. Ag^+ joni u kombinaciji sa rastvorenim molekulima kiseonika mogu reagovati kao katalizatori, stvarajući povišenu koncentraciju reaktivnih vrsta kiseonika. Oksidativni stres predstavlja stanje u kome dolazi do promene ustaljene koncentracije reaktivnih vrsta kiseonika, odnosno dolazi do neravnoteže i promene ćelijskog metabolizma i njegove regulacije, što za posledicu ima oštećenja ćelijskih komponenata [168]. Kod svih aerobnih organizama može doći do stvaranja reaktivnih vrsta kiseonika. Mogu nastati kao nusprodukti mitohondrijskog transporta elektrona tokom procesa aerobnog disanja ili putem delovanja enzima oksidoreduktaza. Reaktivne vrste kiseonika su slobodni radikali nastali parcijalnom redukcijom molekularnog kiseonika [168]. Tu spadaju: superoksidni anjon (O_2^-), vodonik peroksid (H_2O_2), hidroksilni radikal ($\cdot\text{OH}$), hidroksilni jon (OH^-). Slobodni radikali predstavljaju atome, molekule ili jone sa nesparenim elektronima iz poslednje popunjene elektronske ljuske, a samim tim se ubrajaju u veoma reaktivne supstance [169]. Formirane reaktivne vrste kiseonika mogu prelaziti iz jednog oblika u drugi. Najčešće, molekulski kiseonik se redukuje tokom mitohondrijskog transporta elektrona gde se kao krajnji produkt dobija voda. Uzastopnim dodavanjem jednog elektrona molekulskom kiseoniku dolazi do formiranja (O_2^-), koji se dalje redukuje do H_2O_2 i na kraju do $\cdot\text{OH}$ i OH^- . Lančana reakcija se završava formiranjem molekula vode, adicijom elektrona i protona na $\cdot\text{OH}$ (Slika 16) [168].



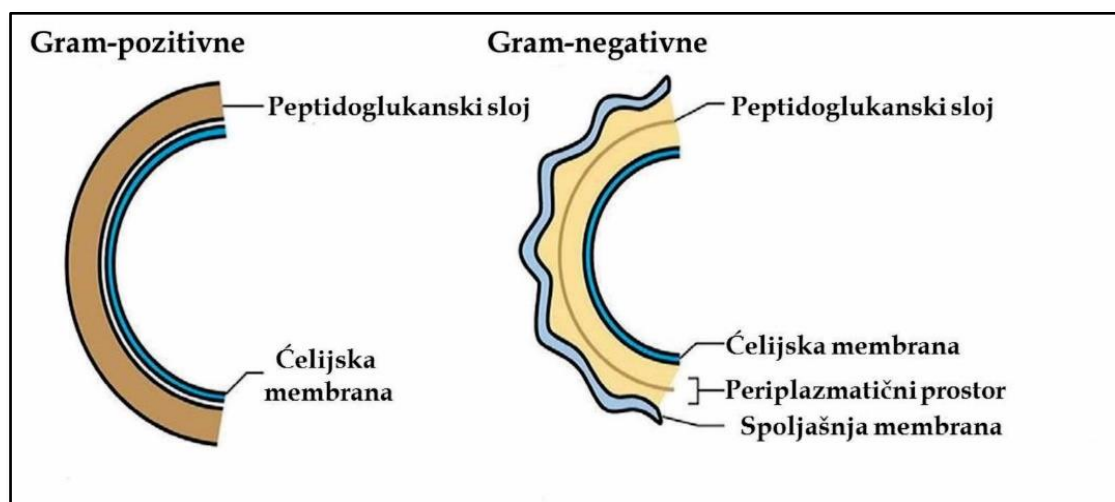
Slika 16 Metabolički putevi kiseonika u organizmu [168]

Iako H_2O_2 po svojoj strukturi ne predstavlja slobodni radikal ubraja se u veoma reaktivne vrste jer poseduje veću aktivnost od molekuskog kiseonika. Reaktivne kiseonične vrste mogu biti uklonjene ili vezane različitim tipovima antioksidanasa, a takođe mogu stupiti u interakciju sa unutarćelijskim i vanćelijskim komponentama neutralizujući svoje dejstvo [168]. Specifična površina, takođe utiče na formiranje reaktivnih vrsta kiseonika. Za istu koncentraciju srebra, nanočestice dimenzija 15 nm generisale su veću količinu ROS u bakterijama u poređenju sa nanočesticama dimenzija 30 nm i 50 nm [170].

2.2.7. Građa mikroorganizama

U mikroorganizme spadaju virusi, bakterije, gljive, alge, lišajevi i praživotinje [171]. Virusi predstavljaju najsitnije mikroorganizme bez definisane ćelijske građe, kod kojih je genetski materijal zaštićen proteinskim omotačem. U prokariote spadaju bakterije i modrozeleno alge, organizmi sa nedovoljno strukturiranom ćelijskom građom, dok su više alge, gljive i praživotinje organizmi sa eukariotskom građom ćelije. Otpornost bakterija na spoljašnje uticaje zavisi od građe ćelijskog zida. Bakterijski zid obezbeđuje čvrstinu, rigidnost, oblik kao i zaštitu bakterija od osmotskog pucanja i mehaničkih oštećenja [172]. U strukturi građe ćelijskog zida nalaze se glikoproteini, odnosno peptidoglukani (mukopeptidi) ili mureini koji ćelijskom zidu obezbeđuju čvrstinu. Mureini su sačinjeni od polisaharidnih vlakana međusobno povezanih

peptidnim vezama. Prema strukturi ćelijskog zida bakterije se dele na Gram-negativne i Gram-pozitivne [141]. Glavna komponenta građe ćelijskog zida Gram-pozitivnih bakterija jeste čvrsti peptidoglukanski sloj koji je ispunjen teihoinskom kiselinom. Debljina peptidoglukanskog sloja iznosi od 20 do 50 nm. Ćelijski zid Gram-negativnih bakterija sastoji se od tanjeg peptidoglukanskog sloja i u svojoj strukturi ne sadrži teihoinšku kiselinu. Na peptidoglukanski sloj naleže spoljašnja membrana.



Slika 17 Šematski prikaz građe ćelijskog zida Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija

Spoljašnja membrana Gram-negativnih bakterija sastoji se od lipopolisaharida koji povećavaju negativno naelektrisanje ćelijske membrane i veoma su važni za strukturu samih bakterija i njihovu održivost. Razlike u građi ćelijskog zida Gram-pozitivnih i Gram negativnih bakterija su date na Slici 17. *Escherichia coli* spada u Gram-negativne bakterije, dok je *Staphylococcus aureus* predstavnik Gram-pozitivnih bakterija.

Gljive spadaju u eukariotske mikroorganizme [171]. Ćelije eukariota sadrže organele (mitohondrije, endoplazmatični retikulum, Goldžijev aparat i dr.) koje su okružene membranama, kao i jedro, koje je jasno definisanog oblika, takođe okruženo membranom. U svom sastavu imaju veliki broj ribozoma. Kod starijih ćelija su prisutne i vakuole. Citoplazma je obavijena citoplazmatičnom

membranom koja je od ćelijskog zida odvojena periplazmatičnim prostorom. *Candida albicans* je iz roda kvasaca, koji pripadaju carstvu gljiva. Najvažnija komponenta ćelijskog zida, pored lipida i fosfolipida jesu polisaharidi koji daju oblik i čvrstinu ćeliji. Fosfati su vezani estarskim vezama za polisaharide. Negativno naelektrisanje ćelija gljivica potiče od fosfornog ostatka sa funkcionalnom karboksilnom grupom proteina. Naelektrisanje utiče na adsorpciju materija iz spoljašnje sredine.

Prokariotske i eukariotske ćelije se međusobno razlikuju po svojoj građi, međutim razumevanje mehanizma delovanja nanočestica Ag na složenije ćelijske strukture se može objasniti preko potencijalnog efekta koje nanočestice srebra imaju na mitohondrije. Unutrašnja membrana mitohondrija i prokariotska ćelijska membrana su po svojoj strukturi veoma slične [173]. Respiratorni proces kod bakterija se odigrava na sličan način kao i u mitohondrijama eukariota koji uključuje transport elektrona kao i sintezu ATP-a. Takođe, mitohondrijska DNK i bakterijska DNK su međusobno analogne. Može se zaključiti da nanočestice Ag deluju na mitohondrije složenijih organizama na sličan način kao što deluju na bakterijski ćelijski zid.

2.3. Sinteza i primena metalnih nanočestica na polimernom nosaču

Metalne nanočestice na polimernim nosačima predstavljaju materijale koji zahvaljujući svojim karakteristikama privlače sve veću pažnju i nalaze sve veću praktičnu primenu [93,174-178]. Razvijen je veliki broj postupaka za sintezu metalnih nanočestica, a posebna pažnja pridaje se pronalaženju optimalnih sintetskih uslova za kontrolu veličine i oblika samih nanočestica, pa je prisustvo stabilizatora u velikom broju slučajeva neophodno. Stabilizatori sprečavaju proces aglomeracije nanoklastera formiranjem sterne ili elektrostatičke barijere između čestica [175,179]. Kao rezultat toga, razvoj materijala na bazi polimera i metalnih nanočestica, gde polimer kao nosač preuzima ulogu stabilizatora čestica, smatra se jednim od najperspektivnijih rešenja. Sinteza metalnih

nanočestica na polimernim nosačima predstavlja vid sinteze sa osnovnom namenom iskorišćavanja dvojne funkcije nosača, sa jedne strane kao medijuma za sintezu nanočestica, a sa druge strane kao stabilizatora u cilju sprečavanja nekontrolisanog rasta, agregacije i otpuštanja [180-183].

U literaturi su opisani različiti načini sinteze metalnih nanočestica na različitim poroznim polimernim nosačima [184-186]. Lindgren i saradnici [187] sintetisali su nanočestice Au na makroporoznom polimernom nosaču bez upotrebe dodatnog redukcionog sredstva. Kao polimerni nosač korišćene su komercijalno dostupne makroporozne čestice poli(ST-*ko*-DVB) funkcionalizovane hidroksilnim i kvaternernim amonijum grupama. Prvo je došlo do interakcije između pozitivno naelektrisanih kvaternernih amonijum grupa sa površine poli(ST-*ko*-DVB) i AuCl_4^- jona iz rastvora, a zatim do redukcije pomoću hidroksilnih grupa i formiranja nanočestica Au. Kim i saradnici [188] sintetisali su materijal na bazi mezoporoznog polimera i nanočestica Ag. Prethodno sintetisane nanočestice Ag fizički su adsorbovane na površinu pora mezoporoznog poli(etilenglikol dimetakrilata-*ko*-akrilonitrila) zahvaljujući velikom afinitetu nanočestica Au i -CN grupa. Dimenzije čestica polimera varirale su od 3 do 20 μm . TEM analizom utvrđeno je da je maksimalna penetracija nanočestica Au u unutrašnjost poroznog polimera iznosila 200 nm od površine polimera.

Porozni materijali koji u svom sastavu imaju metalne nanočestice koriste se kao hemijski i biološki senzori [187,189-191], u heterogenoj katalizi [192-195], a takođe i kao antimikrobna sredstva [93,176,196,197]. Prema Ishida i saradnicima [198] nanočestice Au deponovane su direktno iz vodenog rastvora dietilendiamina-zlato (III) kompleksa na različite komercijalno dostupne polimerne čestice bez površinske modifikacije. Dodavanjem redukcionog sredstva NaBH_4 formirane su nanočestice Au veličina od 5 do 10 nm. Katalitički učinak nanočestica Au imobilisanih na polimernim česticama bio je mnogo veći u poređenju sa učinkom neimobilisanih nanočestica Au. Frechet i saradnici [199] formirali su polimernu kapilarnu kolonu čiju je osnovu činio makroporozni

kopolimer poli(GMA-*ko*-EGDMA). U reakciji epoksidnih grupa GMA i cisteinamina došlo je do funkcionalizacije nosača i uvođenja tiolnih grupa, s tim da su tiolne grupe mogle biti podložne izmenama. Nakon toga, koloidni rastvor čestica Au propušten je kroz kolonu pri čemu je došlo do vezivanja nanočestica Au na površinu nosača. Zeng je sa saradnicima [197] ispitivao antimikrobna svojstva nanočestica Ag imobilisanih na makroporoznom nosaču na bazi prirodnih materijala. Sinteza se odigravala dispergovanjem granula nosača u vodenom rastvoru AgNO₃ uz dodavanje NaBH₄ kao redukcionog sredstva. Prvo je došlo do adsorbovanja Ag⁺ jona po površini makroporoznog nosača, a zatim do difuzije jona unutar pora materijala i formiranja kompleksa sa hidroksilnim grupama. Sa dodatkom NaBH₄ izvršena je potpuna redukcija Ag⁺ jona do nanočestica Ag. Kontrola procesa nukleacije predstavljala je veoma važan korak tokom formiranja nanočestica Ag unutar polimernog nosača. Sadržaj nanočestica iznosio je 1,8 mas.-% sa dimenzijama ispod 100 nm. Minimalna inhibitorna koncentracija nanočestica Ag unutar kompozita prema *E. coli* i *C. albicans* iznosila je 14,1 mg/l i 28,1 mg/l. Poređenje dobijenih rezultata urađeno je sa koloidnim rastvorom srebra, gde je veličina čestica iznosila 63 nm, a bile su stabilisane pomoću natrijum oleata. Makroporozni kopolimer metakrilne kiseline sa nanočesticama Ag našao je svoje mesto kao jedan od sistema koji se koristi za prečišćavanje voda [200]. Do formiranja nanočestica Ag došlo je metodom hemijske redukcije jona, a do njihove stabilizacije interakcijom karboksilne funkcionalne grupe makroporoznih čestica. Navedeni materijali pokazali su se kao veoma efikasno antibakterijsko sredstvo prema Gram-negativnim bakterijama (*E. coli*, *P. aeruginosa*) i Gram-pozitivnim bakterijama (*B. subtilis*, *S. aureus*). Chen i saradnici [201] sintetisali su nanočestice Ag na mezoporoznom nosaču koje su imale veću antibakterijsku aktivnost u poređenju sa komercijalnim nanočesticama Ag. Nanočestice Ag stabilisane u prisustvu nosača dugoročno su obezbeđivale izuzetnu antibakterijsku efikasnost prema *E. coli* i *S. aureus*.

Zahvaljujući poroznoj strukturi, nerastvorljivosti, dobrim mehaničkim karakteristikama i stabilnosti, polimerni materijali nalaze sve veću primenu kao

nosači metalnih nanočestica. U poređenju sa koloidnim česticama Ag, imobilisane nanočestica Ag su fizičko-hemijski stabilnije, manje su podložne procesima aglomeracije i oksidacije [202-204], pa imaju sposobnost da zadrže antibakterijska svojstva tokom dužeg vremenskog intervala. Imobilizacijom nanočestica Ag na polimernim nosačima olakšava se njihovo korišćenje i minimizira eventualni toksični efekat na vodeni ekosistem [204,205].

3. Eksperimentalni deo

3.1. Materijali

Za sintezu umreženog makroporoznog kopolimera poli(glicidilmetakrilata-*ko*-etilenglikoldimetakrilata), (poli(GMA-*ko*-EGDMA)) korišćeni su monomeri: glicidilmetakrilat (GMA) proizvođača Fluka i etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) proizvođača Merck. Kao stabilizator emulzije pri suspenzionoj polimerizaciji korišćen je polivinilpirolidon (PVP) molarne mase $M_w=1 \times 10^6$ g/mol (Fluka), dok je kao inicijator korišćen 2,2'-azobisisobutironitril (AIBN) (Fluka). Za pripremu inertne komponente korišćen je cikloheksanol (Merck) i tetradekanol (Merck). Za reakcije modifikacije sintetisanog makroporoznog polimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) korišćeni su 1,2-diaminoetan (Fluka), 1,8-diaminooktan (Sigma-Aldrich), vodeni rastvor amonijaka i arginin (Sigma-Aldrich), a kao prekursor za sintezu nanočestica srebra, srebro nitrat (AgNO_3) (Kemika), dok je kao kao rastvarač korišćen toluen (J.T. Baker). Voda koja je korišćena u sintezi je dobijena prečišćavanjem destilovane vode pomoću Milli-Q Water sistema sa četiri jonoizmenjivačke kolone. Ovakva voda odgovara četiri puta destilovanoj vodi (4D). Kvalitet vode je proveravan merenjem provodljivosti koja je iznosila $4-6 \times 10^{-7} \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$.

3.2. Sinteza umreženog makroporoznog kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA) postupkom suspenzione polimerizacije

Postupak sinteze poli(GMA-*ko*-EGDMA) detaljno je opisan u literaturi [206]. Sinteza makroporoznog kopolimera izvedena je u reaktoru zapremine 1 dm^3 koji je opremljen sa povratnim hladnjakom i mehaničkom mešalicom. U reaktor se prvo sipa vodena faza koju čini smeša destilovane vode (237,6 g) i PVP (2,4 g). Sadržaj u balonu se meša brzinom od 200 obr/min. Nakon potpunog rastvaranja PVP u balon se dodaje organska faza u čiji sastav ulaze komonomeri

GMA (24,2 g) i EGDMA (10,3 g) i inicijator, AIBN (0,8 g), kao i inertna faza koju čine cikloheksanol (36,5 g) i tetradekanol (9,1 g). Organska faza se disperguje u vodenoj fazi do kapi određenih dimenzija koje se stabilizuju pomoću PVP-a iz vodene faze. Reakcija kopolimerizacije se izvodi 2 h na 70 °C, nakon čega se temperatura vodenog kupatila poveća na 80 °C. Na toj temperaturi reakcija se izvodi još 4 h uz konstantnu brzinu mešanja (200 obr/min). Nakon toga, isključi se mešanje i reaktor izvadi iz vodenog kupatila. Kada se sadržaj u balonu ohladi do sobne temperature, istaložene čestice umreženog makroporoznog kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA) se dekantovanjem odvajaju od vodene faze, a zatim ispiraju vodom da bi se uklonio zaostali PVP. Nakon ispiranja vodom, sintetisane čestice se ispiraju etanolom kako bi se uklonila inertna komponenta. Čestice kopolimera se ostavljaju u etanolu preko noći, a zatim odvajaju ceđenjem i suše u vakuum sušnici na temperaturi od 40 °C do konstantne mase. Makroporozni kopolimer sintetisan suspenzionom polimerizacijom dobija se u vidu čestica nepravilnog oblika različitih dimenzija. Čestice su separisane po veličini pomoću sita.

3.3. Modifikacija umreženog makroporoznog kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA)

3.3.1. Modifikacija poli(GMA-*ko*-EGDMA) amonijakom

Modifikacija poli(GMA-*ko*-EGDMA) amonijakom izvodi se na način prikazan u literaturi [48,207]. U balon od 100 ml opremljen povratnim hladnjakom sipa se 0,3 g poli(GMA-*ko*-EGDMA) dispergovanih u 20 ml vodenog rastvora amonijaka (25%, w/w). Reakcija se izvodi 24h na 50 °C uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici. Nakon toga, dobijene modifikovane čestice se odvajaju centrifugiranjem, ispiraju nekoliko puta vodom i suše na 40 °C u vakuum sušnici do konstantne mase. Radi preglednosti, poli(GMA-*ko*-EGDMA) modifikovan amonijakom će u daljem tekstu biti označen sa GENH₂.

3.3.2. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) 1,2-diaminoetanom

Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,2-diaminoetanom izvršena je prema proceduri opisanoj u literaturi [48]. U balon od 100 ml opremljen povratnim hladnjakom sipa se 10 g 1,2-diaminoetana i 0,3 g poli(GMA-ko-EGDMA) dispergovanih u 25 ml toluena. Sadržaj balona se na sobnoj temperaturi meša magnetnom mešalicom preko noći. Nakon toga, reakciona smeša se drži 8 h na 70 °C uz konstantno mešanje. Po završetku reakcije, dobijene modifikovane čestice poli(GMA-ko-EGDMA) se odvajaju centrifugiranjem, ispiraju nekoliko puta smešom etanola i vode i suše na 40 °C u vakuum sušnici do konstantne mase. Radi preglednosti, poli(GMA-ko-EGDMA) modifikovan sa 1,2-diaminoetanom će u daljem tekstu biti označen sa GEC2.

3.3.3. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) 1,8-diaminooktanom

Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,8-diaminooktanom izvršena je na sličan način kao što je u literaturi prikazana modifikacija sa 1,2-diaminoetanom [48]. U balon od 100 ml opremljen povratnim hladnjakom sipa se 2,17 g 1,8-diaminooktana i 0,3 g poli(GMA-ko-EGDMA) dispergovanih u 25 ml toluena i ostavlja preko noći da se meša magnetnom mešalicom na sobnoj temperaturi. Nakon toga, reakcija se izvodi još 8 h na 70 °C uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici. Po završetku reakcije, dobijene modifikovane čestice poli(GMA-ko-EGDMA) se odvajaju centrifugiranjem, ispiraju nekoliko puta smešom etanola i vode i suše na 40 °C u vakuum sušnici do konstantne mase. Radi preglednosti, poli(GMA-ko-EGDMA) modifikovan sa 1,8-diaminooktanom će u daljem tekstu biti označen sa GEC8.

3.3.4. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) argininom

Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) argininom izvodi se na sličan način kao što je opisano u literaturi [208]. U balon od 100 ml opremljen povratnim hladnjakom sipa se 0,1 g poli(GMA-ko-EGDMA) i 0,47 g arginina dispergovanih u 25 ml vode (pH vrednost vode je prethodno podesena na 13) i ostavlja preko

noći da se meša magnetnom mešalicom. Nakon toga, reakciona smeša se drži 5h na 40 °C uz konstantno mešanje. Po završetku reakcije, dobijene modifikovane čestice poli(GMA-*ko*-EGDMA) su odvojene centrifugiranjem, ispirane nekoliko puta smešom etanola i vode i sušene na 40 °C u vakuum sušnici do konstantne mase. Radi preglednosti, modifikovane čestice poli(GMA-*ko*-EGDMA) molekulom arginina će u daljem tekstu biti označene sa GEArg.

3.4. Sinteza nanočestica Ag na modifikovanom umreženom makroporoznom kopolimernom nosaču

Sinteza nanočestica Ag na sva četiri korišćena amino-funkcionalizovana kopolimerna nosača izvršena je "*in situ*" redukcijom Ag⁺ jona bez upotrebe dodatnog redukcionog sredstva. Postupak dobijanja Ag nanočestica na kopolimernim nosačima GEC2, GEC8 i GENH₂ izvršen je na potpuno isti način, koji je opisan na primeru GEC2 korišćenog nosača [209]. U balon od 100 ml, opremljen povratnim hladnjakom, se sipa 25 ml toluola u kome je dispergovano 0,050 g GEC2 i 0,105 g AgNO₃. Sadržaj balona se drži 7 h na 110 °C uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici. Nakon toga, reakciona smeša se hladi do sobne temperature i centrifugira. Dobijene nanočestice Ag na polimernom nosaču se izdvajaju u obliku taloga, koji se ispira nekoliko puta smešom vode i etanola (25 ml vode sa 25 ml etanola) i suši na 40 °C u vakuum sušnici do konstantne mase. Sinteza nanočestica Ag na GEArg nosaču izvršena je tako što je rastvor dobijen rastvaranjem 0,6 g AgNO₃ u 25 ml vode sipan u balon od 100 ml, opremljen povratnim hladnjakom, a zatim je u balon dodato 0,2 g GEArg. Reakciona smeša, čija je pH vrednost bila 8, držana je 6 h na 60 °C uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici. Nakon toga, reakciona smeša se hladi do sobne temperature i centrifugira. Dobijene Ag nanočestice na polimernom nosaču se izdvajaju u obliku taloga, koji se ispira nekoliko puta smešom vode i etanola (25 ml vode sa 25 ml etanola) i suši na 40 °C u vakuum sušnici do konstantne mase [210]. U daljem tekstu nanočestice Ag sintetisane na GEC2 nosaču imaće oznaku

GEC2/Ag, GEC8/Ag sintetisane na GEC8, GENH₂/Ag sintetisane na GENH₂ i GEArg/Ag sintetisane na GEArg.

3.5. Metode karakterizacije

3.5.1. Difrakcija rendgenskih zraka (XRD)

Prisustvo kristalne strukture nanočestica Ag određivano je na osnovu difrakcije rendgenskih zraka na instrumentu Rigaku Ultima IV sa filtriranim Cu K α zračenjem. Intezitet difrakcije meren je skenirajućom tehnikom u opsegu Bragg-ovih uglova 2θ od 10° do 90° sa korakom od $0,02^\circ$. Vreme prikupljanja signala po koraku je iznosilo 10 s. Na osnovu dobijenih difrakcionih spektara i parametara elementarne ćelije, kristalna faza je identifikovana poređenjem položaja i inteziteta difrakcionih maksimuma sa odgovarajućim referentnim JCPDS difraktogramima makroskopskih kristala. Poluširina difrakcionih maksimuma β_{hkl} predstavlja parametar za određivanje usrednjenih veličina nanokristalita D_{hkl} . Debay-Scherrer-ova jednačina povezuje širinu difrakcionih maksimuma i veličinu nanokristalita preko relacije 6:

$$D_{hkl} = \frac{k\lambda_x}{\beta_{hkl}\cos\theta_{hkl}} \quad (6)$$

gde je $k \sim 1$, λ_x talasna dužina x zračenja ($\lambda_x = 0,154 \text{ nm}$), a θ ugao na kome se javlja difrakcioni maksimum. Vrednosti h , k i l predstavljaju Miller-ove indekse kristalne rešetke uočenog maksimuma.

3.5.2. Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM)

Morfologija i prostorni raspored nanočestica Ag u poli(GMA-*ko*-EGDMA) ispitivani su pomoću transmisionog elektronskog mikroskopa (TEM) i skenirajućeg TEM (STEM) JEOL JEM-2100 LaB₆ pri radnom naponu od 200 kV. Pomoću SerialEM softvera sačinjena je serija STEM snimaka sa naginjanjem uzorka u opsegu od 140° sa korakom od 5° uz upotrebu 805 STEM BF/DF

detektora i DigiScan-II sistema za kontrolu elektronskog snopa i obradu slike. Uzorci za TEM merenja pripremani su tako što su sintetisani uzorci GENH₂/Ag, GEC2/Ag, GEC8/Ag i GEArg/Ag prvo dispergovani u vodi, a zatim nakapavani na bakarne mrežice prekrivene slojem poroznog ugljenika.

3.5.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Za ispitivanje morfologije površine sintetisanih uzoraka kopolimera i metalnih nanočestica korišćena je metoda skenirajuće elektronske mikroskopije. Merenja su urađena na instrumentu JEOL JSM-6610LV. Pre merenja, uzorci su naparavani tankim slojem zlata (oko 15 nm) u LEICA SCD005 naparivaču zbog male električne provodljivosti materijala. Hemijski sastav materijala određivan je na osnovu detekcije X-zračenja emitovanog usled pobuđivanja elektrona iz unutrašnjih elektronskih nivoa na površini uzorka pomoću modula za analizu X-zraka koji se nalazi u sastavu instrumenta (EDX).

3.5.4. Metoda živine porozimetrije

Ukupna zapremina pora i raspodela zapremine pora po prečnicima pora sintetisanih makroporoznih materijala određena je metodom živine porozimetrije. Pre merenja uzorci su sušeni 30 min u vakuum sušnici na 105 °C. Merenja su vršena na Pascal 140/440 Thermo Scientific instrumentu.

3.5.5. UV-Vis spektroskopija

Refleksioni spektri sintetisanih uzoraka snimljeni su na instrumentu Thermo Scientific Evolution 600 UV-Vis Spectrophotometer, na sobnoj temperaturi u opsegu talasnih dužina od 300 do 800 nm. Za korekciju signala pre svakog merenja uzorka korišćen je standard: Labsphere 00390-0110, SRS-99-010 AS-01160-060.

3.5.6. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

FTIR spektri sintetisanih uzoraka snimljeni su na instrumentu Thermo Nicolet 6700 u opsegu talasnih brojeva od 4000 cm⁻¹ do 400 cm⁻¹. Za snimanje spektara korišćeni su uzorci presovani u KBr pločicu.

3.5.7. *Atomska emisiona spektroskopija (ICP-AES)*

Težinski udeo srebra u uzorcima je određivan metodom atomske emisione spektroskopije sa induktivno spregnutom plazmom (ICP-AES), na instrumentu ICAP 6000 Thermo Electron Corporation. Priprema uzoraka za merenje je vršena kvantitativnom oksidacijom metalnog srebra do jonskog dispergovanjem poznate količine sintetisanog kompozitnog praha (5 mg) u 10 mL koncentrovane hlorovodonične kiseline. Kvantitativna oksidacija je indikovana potpunim obezbojenjem kopolimernog nosača posle tretmana sa hlorovodoničnom kiselinom.

3.5.8. *Elementarna analiza*

Hemijski sastav (maseni udeo C, H i N) makroporoznog kopolimera i amino-funkcionalizovanih uzoraka makroporoznog kopolimera određen je na osnovu elementarne analize. Merenja su rađena na instrumentu LECO Elemental Analyzer CNHS-628.

3.5.9. *Ispitivanje antimikrobnih svojstava nanočestica srebra sintetisanih na makroporoznom polimernom nosaču*

Antimikrobna svojstva uzoraka ispitivana su korišćenjem indikatorskih bakterija (*Escherichia coli* (Gram-negativna) ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* (Gram-pozitivna) ATCC 25923) i gljivice (*Candida albicans* ATCC 24433). Inokulum mikroorganizama se priprema zasejavanjem određene kulture na tečnoj podlozi tripton soja bujon, koja je pripremana rastvaranjem 30,00 g tripton soja bujona i 6,00 g ekstrakta kvasca u 1l destilovane vode i zatim sterilisana u autoklavu na 120 °C i pritisku od 1,5 bar, u trajanju od 30 min. Nakon toga, zasejana podloga je inkubirana u termostatu na 37 °C preko noći. Mikroorganizmi uzeti iz eksponencijalne faze rasta su korišćeni u daljim ekperimentima (period inkubacije oko 18h). Broj mikroorganizama u inokulumu određen je razblaživanjem inokuluma fiziološkim rastvorom (1:10 i 1:100), odakle je vršeno prebacivanje alikvota (0,1 ml ili 1 ml u zavisnosti od gustine rasta mikroorganizama) u sterilne Petri šolje. Rastopljen i ohlađen tripton soja

agar je prelivan preko alikvota, uz mešanje Petri šolje u svim pravcima, radi homogenizacije i ravnomerne raspodele ćelija kroz agarnu podlogu. Čvrsta podloga je pripremana rastvaranjem 30,00 g tripton soja bujona, 6,00 g ekstrakta kvasca i 15,00 g agara u 1l destilovane vode, nakon čega je vršena sterilizacija.

Procenat smanjenja broja ćelija (R, %) se izračunava pomoću jednačine 7:

$$R = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \% \quad (7)$$

gde je: C_0 - broj kolonija mikroorganizama izraslih posle kontakta sa kontrolnim uzorkom (čist kopolimer poli(GMA-*ko*-EGDMA) bez nanočestica Ag), a C - broj kolonija mikroorganizama izraslih posle kontakta sa uzorkom sa nanočesticama Ag [211,212].

Procenti smanjenja broja ćelija (R, %) u funkciji koncentracije uzorka određivani su za uzorke GENH₂/Ag, GEC2/Ag, GEC8/Ag i GEArg/Ag. Željena količina ispitivanog uzorka se disperguje u 9 ml sterilnog fiziološkog rastvora, koji se zasejava sa 1 ml inokuluma bakterija, i bez mešanja termostatorana 37 °C u trajanju od 1h. Nakon toga se alikvot rastvora od 0,1 ml razblažuje sterilnim fiziološkim rastvorom (1:100 i 1:10000) i 0,1 ml alikvota prebacuje u sterilne Petri šolje, preliva otopljenim i rashlađenim agarom, a nakon očvršćavanja ostavlja u termostatu na 37 °C u trajanju od 24h. Procenat smanjenja broja ćelija se računa na osnovu jednačine 7.

Pod identičnim eksperimentalnim uslovima vršena su kontrolna merenja sa uzorcima koji ne sadrže nanočestice Ag. Utvrđeno je da polimerni nosači, GENH₂, GEC2, GEC8, GEArg i poli(GMA-*ko*-EGDMA), ne pokazuju antimikrobnu aktivnost.

Pored određivanja antimikrobne aktivnosti uzoraka GEArg/Ag u zatvorenom sistemu vršena su dodatna merenja u protočnom sistemu korišćenjem aparature opisane u literaturi [213]. Kolona je punjena homogenizovanom smešom koja se sastoji od 20 mg GEArg/Ag i 20 mg čistog kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA). 100 ml prethodno sterilisanog fiziološkog

rastvora u koji je dodat inokulum *E. coli* u koncentraciji od oko $3,70 \times 10^7$ CFU/ml (kontrolni uzorak) je propuštan kroz kolonu uz protok od 1,35 ml/min. Uzorkovanje je vršeno po isteku prve polovine, kao i nakon isteka celokupne zapremine filtrata. Priprema uzoraka i određivanje procenata smanjenja broja ćelija za *E. coli* je vršeno na identičan način koji je opisan za eksperimente koji su izvedeni u zatvorenom sistemu. Takođe, izvršeni su eksperimenti bez prisustva *E. coli* kako bi se korišćenjem ICP-AES merenja pod identičnim eksperimentalni uslovima paralelno odredila koncentracija otpuštenih Ag^+ jona u filtratu.

4. Rezultati i diskusija

4.1. Sinteza i karakterizacija nemodifikovanog makroporoznog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA)

Makroporozni kopolimer poli(GMA-ko-EGDMA) dobijen je suspenzionom polimerizacijom GMA i EGDMA, a detaljan opis postupka sinteze dat je u poglavlju 3.2. Odnos GMA i umreživača EGDMA iznosio je 70/30, dok je maseni udeo alifatskog alkohola u inertnoj komponenti iznosio 20 mas. %.

Elementarnom analizom određen je sastav nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA). Eksperimentalni rezultati analize prikazani su u Tabeli 1, zajedno sa izračunatim teorijskim vrednostima. Rezultati elementarne analize sintetisanog uzorka poli(GMA-ko-EGDMA) se u velikoj meri poklapaju sa teorijski određenim vrednostima.

Tabela 1 Elementarni sastav uzorka poli(GMA-ko-EGDMA)

Uzorak	Elementarni sastav					
	Eksperimentalno određen			Teorijski određen		
	%C	%H	%N	%C	%H	%N
poli(GMA-ko-EGDMA)	58,9	8,6	-	59,9	7,05	-

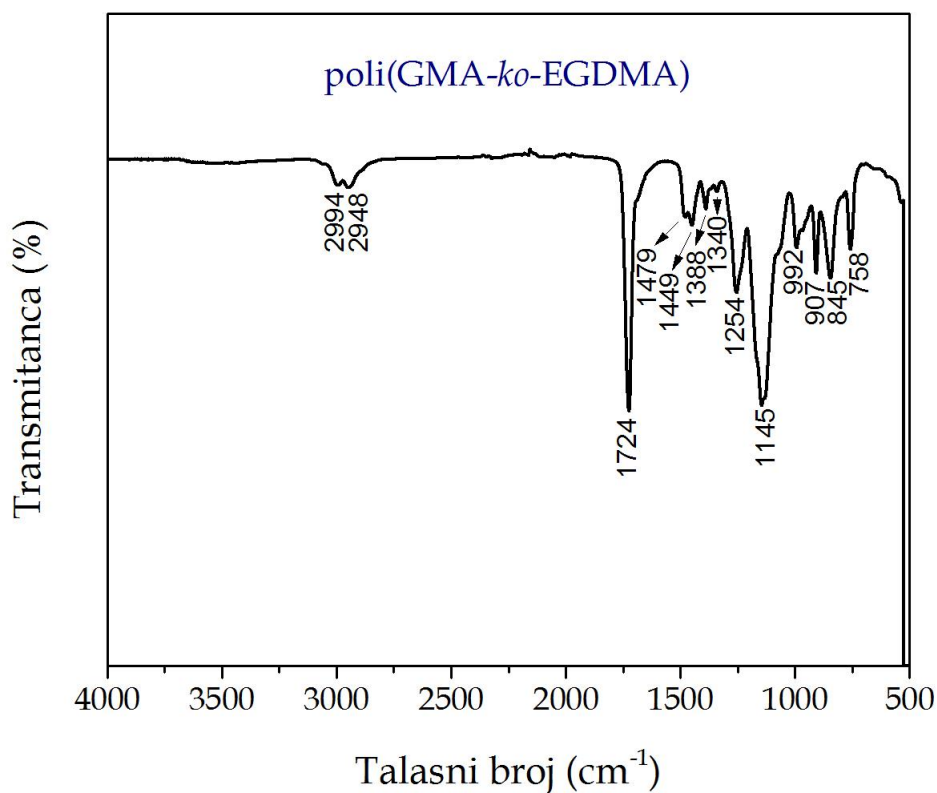
Ukupna količina epoksidnih grupa izračunata je na osnovu jednačine 8 [214,215], C_E izražena u mol/g:

$$C_e = \frac{\%GMA}{100 \times M_{GMA}} \quad (8)$$

gde je %GMA-koncentracija GMA u komonomernoj smeši; M_{GMA} -molekulska masa GMA (142,1 g/mol).

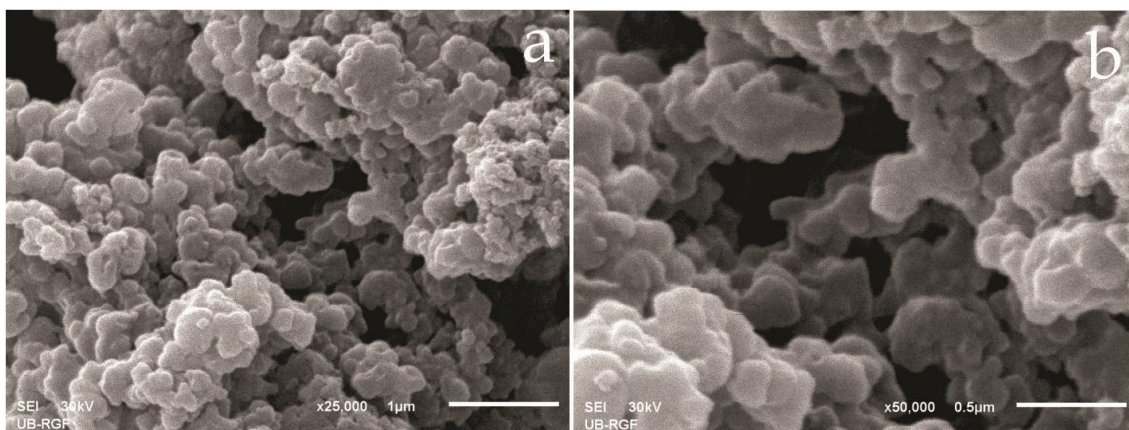
Udeo GMA prilikom sinteze poli(GMA-ko-EGDMA) iznosio je 70 mas.-%, pa je izračunata vrednost ukupne količine epoksidnih grupa u nemodifikovanom kopolimeru imala vrednost 4,93 mmol/g.

Strukturna karakterizacija sintetisanog nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) izvršena je primenom infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FTIR). Na Slici 18 prikazan je FTIR spektar nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) na kojoj se vidi da osnovni kopolimer sadrži apsorpcione trake koje potiču od prisustva epoksidnog prstena (asimetrična vibracija epoksidnog prstena na 845 i 907 cm^{-1}). Trake koje potiču od valencionih vibracija C-H veza iz metil i metilenskih grupa javljaju se na 2994 i 2948 cm^{-1} , dok se trake koje potiču od odgovarajućih deformacionih vibracija ovih veza javljaju na 1479, 1449 i 1388 cm^{-1} . Traka na 1724 cm^{-1} potiče od valencione vibracije karbonilne grupe iz estarske veze. Trake koje se javljaju na 1254 i 1145 cm^{-1} potiču od valencionih (asimetričnih i simetričnih) vibracija C-O veza iz estraskih grupa i simetričnih vibracija epoksidnog prstena. Dobijeni položaji apsorpcionih traka su u saglasnosti sa već objavljenim literaturnim podacima [215].



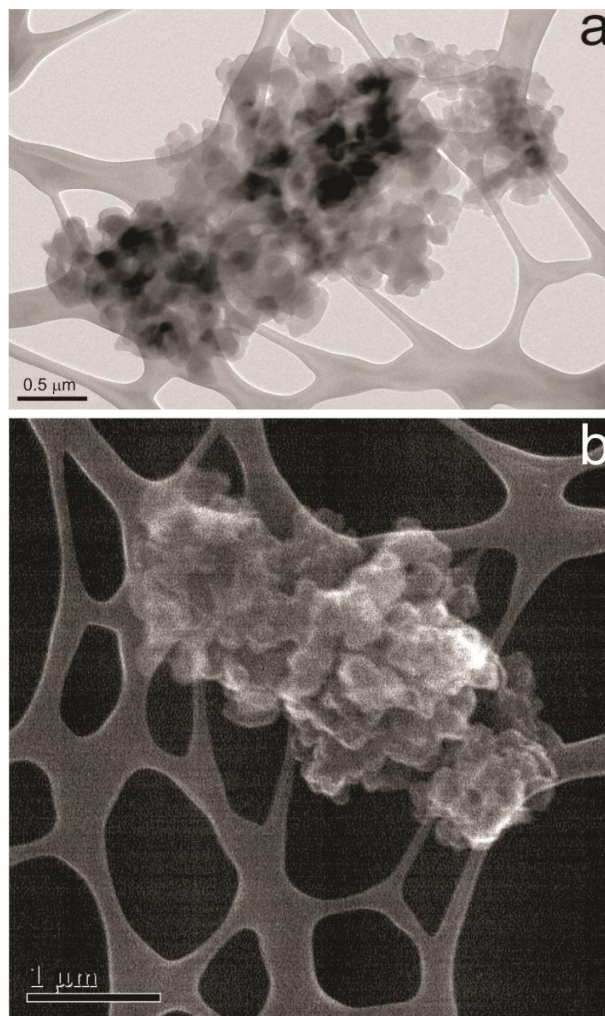
Slika 18 FTIR spektar kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA)

Morfologija površine čestica sintetisanog umreženog makroporoznog kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) je ispitivana metodom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). SEM snimci površine sintetisanog makroporoznog kopolimera, snimljeni pri različitim uvećanjima, prikazani su na Slici 19. Morfologija sintetisanih čestica u vidu porozne strukture se javlja kao posledica prisustva inertne komponente u toku reakcije kopolimerizacije. Na slici se jasno mogu videti agregati koji su izgrađeni od globula dimenzija od 100 do 200 nm, između kojih se nalaze pore različitih dimenzija. Takođe se vidi da su srednji prečnici ovih pora veći od 50 nm, što ukazuje da pore nastale u kopolimeru uklanjanjem inertne komponente (porogena) spadaju u grupu makropora.



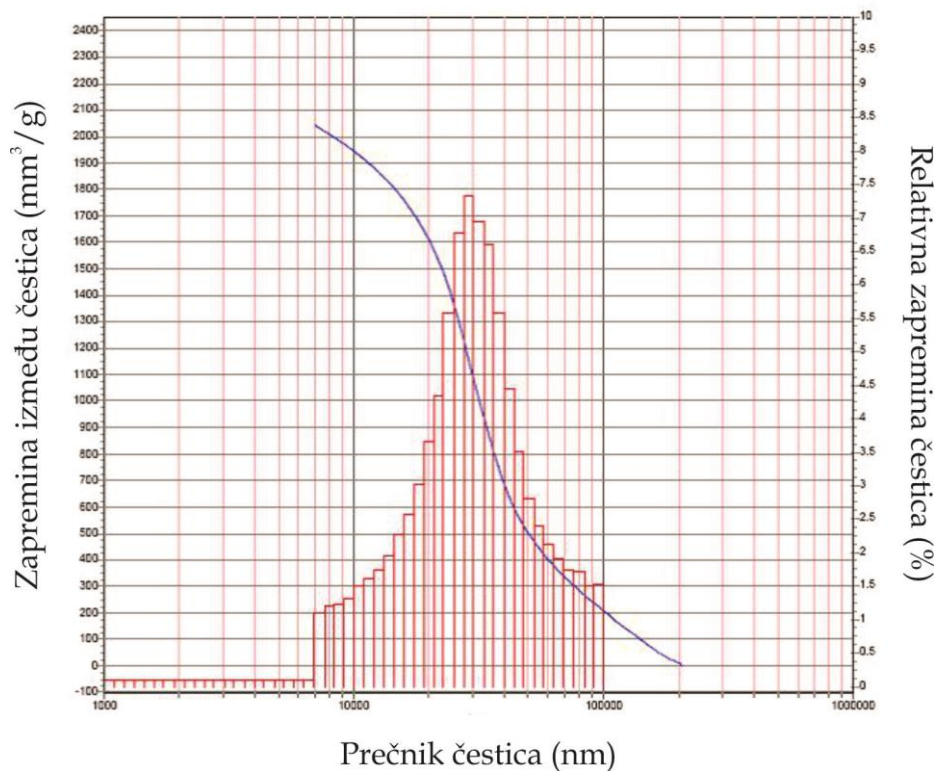
Slika 19 SEM snimci kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA) pri različitim uvećanjima (a,b)

Morfologija sintetisanog kopolimernog nosača ispitana je i pomoću transmisionne elektronske mikroskopije (TEM). Na Slici 20 predstavljeni su TEM snimci sintetisanog umreženog makroporoznog polimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) pri različitim uvećanjima, s tim da je Slika 20a snimljena u takozvanom svetlom polju, a Slika 20b u tamnom polju. TEM analiza makroporoznog poli(GMA-*ko*-EGDMA) ukazuje da se sintetisani uzorak sastoji od submikronskih gradivnih jedinica nepravilnog oblika (Slika 20a i 20b).



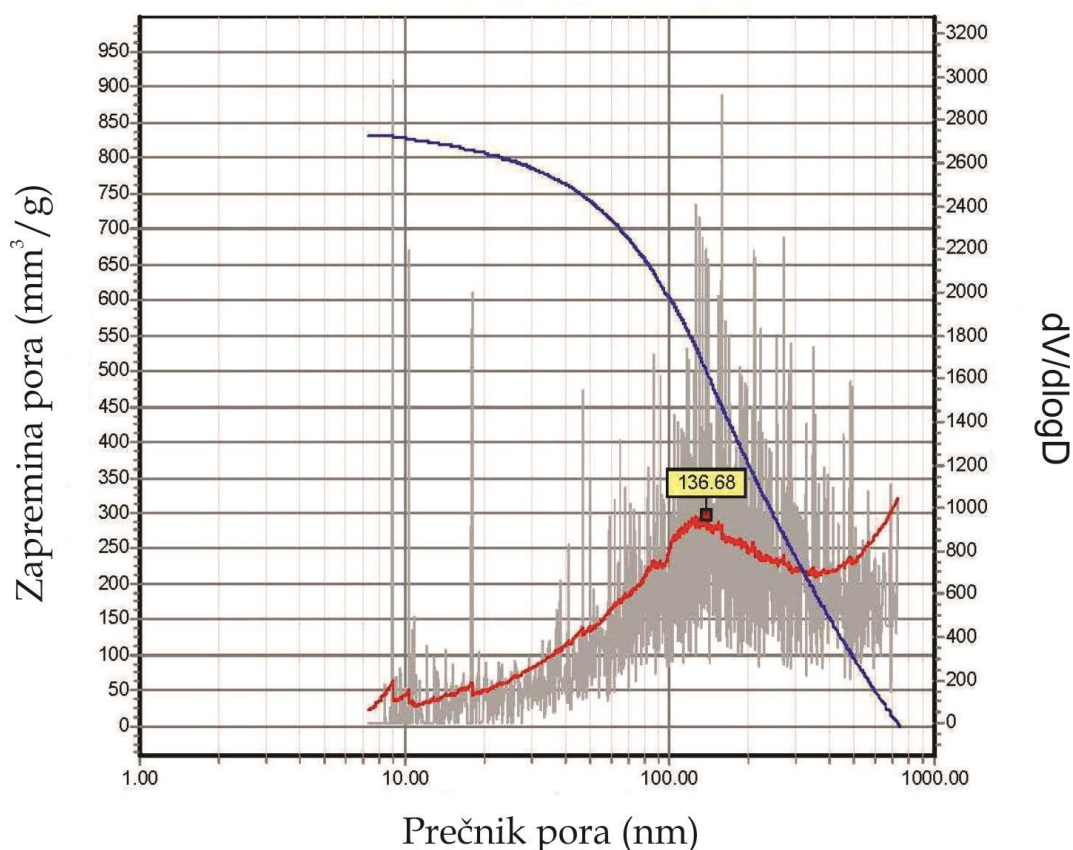
Slika 20 TEM snimci poli(GMA-ko-EGDMA) pri različitim uvećanjima (a,b)

Metodom živine porozimetrije se može određivati zapremina pora čvrstog materijala kod kog se prečnik pora kreće u opsegu od 7,5 nm do 15 μm . Zbog toga je ova metoda pogodna za karakterizaciju makroporoznih materijala koji su po konvenciji klasifikovani kao materijali koji sadrže pore čiji su prečnici veći od 50 nm [216]. Jedno od svojstava kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) jeste prisustvo otvorenih pora [217], odnosno pora koje su u vezi sa spoljašnjim okruženjem materijala. Otvorene pore čine porozni materijal dostupnim za neposrednu interakciju sa molekulima i jonima koji se mogu nalaziti u okruženjsamog materijala. Zapremina pora, kao jedno od svojstava poroznih materijala se odnosi na zapreminu otvorenih pora.



Slika 21 Distribucija veličine čestica poli(GMA-ko-EGDMA)

Na Slici 21 predstavljena je integralna kriva raspodele zapremine žive utisnute u međučestični prostor ispitivanog uzorka makroporoznog polimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) u zavisnosti od prečnika čestica kao i odgovarajući histogram raspodele veličine čestica. Sa slike možemo uočiti da integralna kriva ima inverzni S oblik sa definisanom prevojnom tačkom. Vrednost najzastupljenijeg prečnika čestica dobijena je određivanjem prevojne tačke ove krive i iznosi oko 30 μm . Na osnovu integralne i diferencijalne krive raspodele zapremine pora po prečnicima pora kod polaznog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA), vidimo da je najzastupljenija veličina prečnika pora iznosila 137 nm (Slika 22).

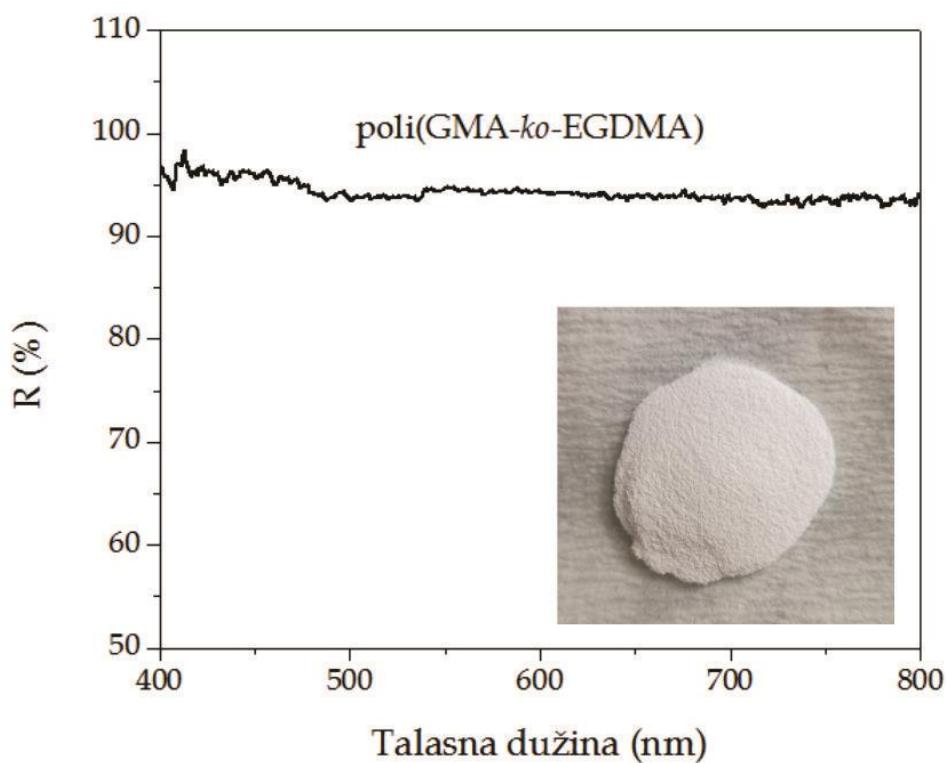


Slika 22 Integralna i diferencijalna kriva raspodjele zapremine pora po prečnicima pora poli(GMA-ko-EGDMA)

Sintetisani materijal se nedvosmisleno može klasifikovati kao makroporozni s obzirom na veličinu prečnika pora veću od 50 nm. Jedna od najvažnijih karakteristika umreženog makroporoznog poli(GMA-ko-EGDMA) jeste specifična površina. Dobijena vrednost specifične površine kopolimernog nosača za prečnik pora od 137 nm iznosila je $36 \text{ m}^2/\text{g}$. Treba napomenuti da se ova vrednost odnosi na unutrašnju površinu poroznog materijala, pod kojom se podrazumeva površina svih pora, kao i površina svih pukotina koje imaju veću dubinu nego širinu [217,218].

Optička svojstva nemonifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) ispitana su merenjem refleksije svetlosti iz oblasti vidljivog dela spektra i prikazana su na slici na Slici 23. Na osnovu prikazanog refleksionog

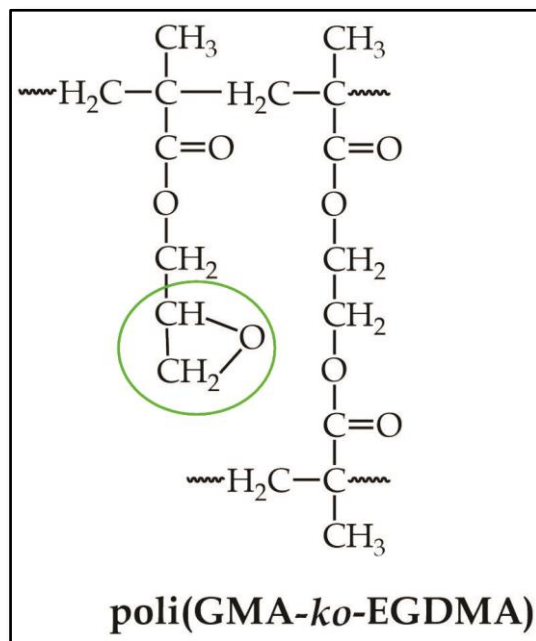
spektra, možemo videti da sintetisani nosač ne apsorbuje u vidljivom delu spektra.



Slika 23 Refleksioni spektar kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA) sa umetnutom fotografijom uzorka u prahu

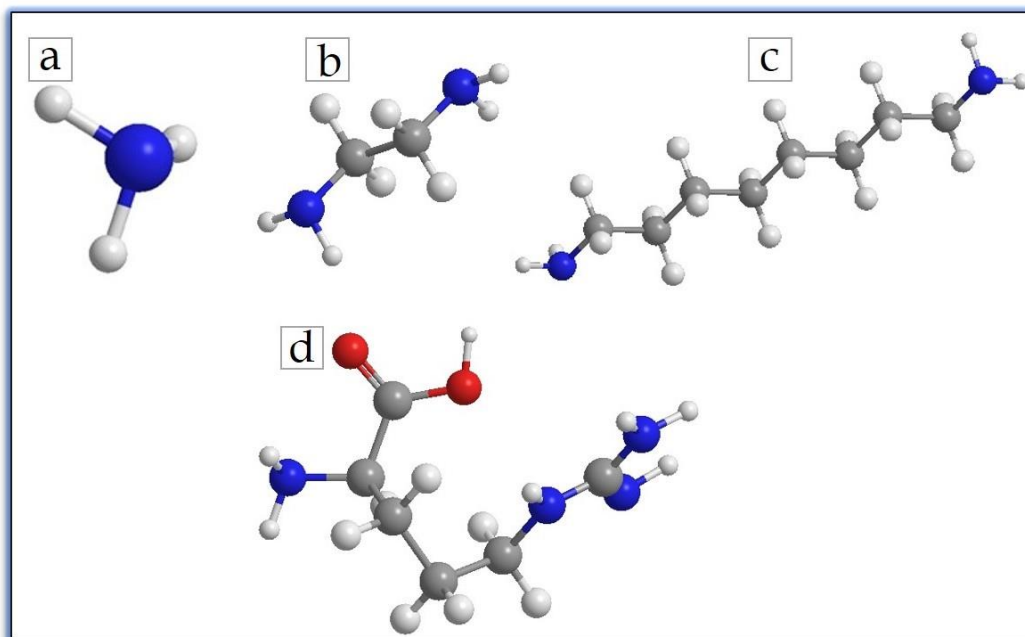
4.2. Modifikacija makroporoznog kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA)

Makroporozni kopolimer poli(GMA-*ko*-EGDMA) predstavlja pogodan material za različite vrste hemijske modifikacije zahvaljujući prisustvu reaktivne epoksidne grupe u ostatku GMA komonomera (Slika 24).



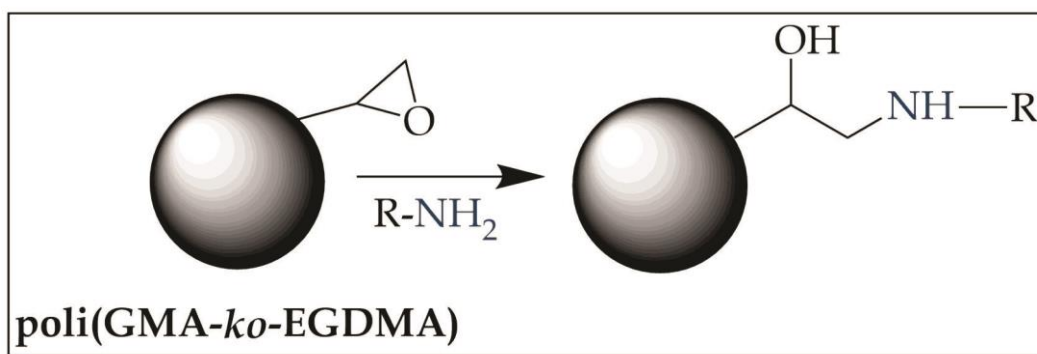
Slika 24 Hemijska struktura poli(GMA-*ko*-EGDMA)

Sa ciljem da se epoksidne grupe prisutne u kopolimeru poli(GMA-*ko*-EGDMA) prevedu u amino grupe, izvršena je hemijska modifikacija kopolimera sa četiri različita jedinjenja, amonijakom, 1,2-diaminoetanom, 1,8-diaminooktanom i argininom, čije su strukturne formule prikazane na Slici 25. Dva su razloga zašto je izvršena zamena epoksidnih grupa amino grupama. Prvi, amino grupe na površini kopolimernog nosača će poslužiti kao redukciono sredstvo za redukciju jona srebra do metalnog srebra, a drugi razlog je da se, preko amino grupa, nastale čestice srebra imobilizuju na površinu kopolimernog nosača.



Slika 25 Strukturne formule amonijaka (a), 1,2-diaminoetana (b), 1,8-diaminooctana (c), arginina (d)

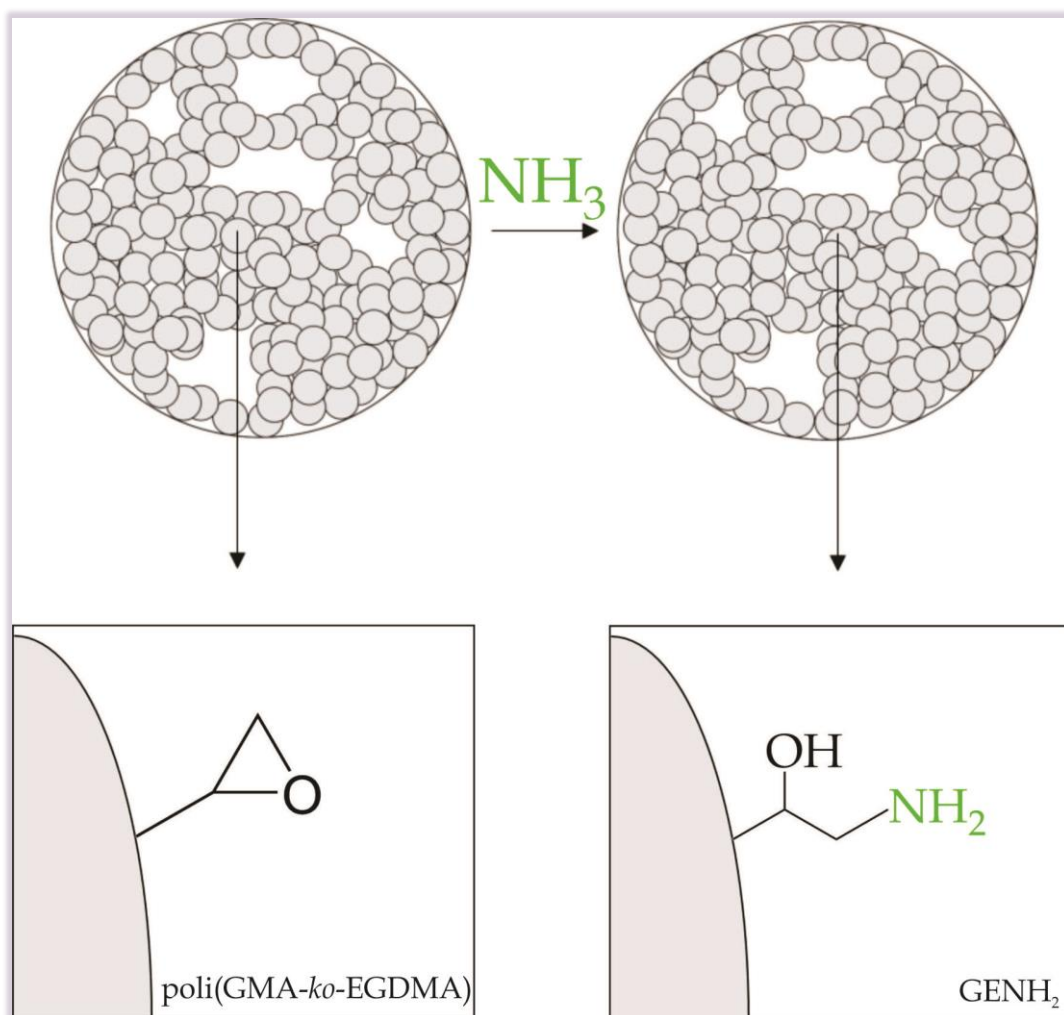
U hemijskoj reakciji koja se odigrava između epoksidne grupe i amino grupe, u baznoj ili neutralnoj sredini, atom azota po pravilu napada manje zaštićen atom ugljenika koji se nalazi u sastavu epoksidnog prstena [47]. Opšta šema reakcije između epoksidne grupe i amino grupe prikazana je na Slici 26.



Slika 26 Opšta šema reakcije između epoksidne grupe i amino grupe

4.2.1. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa amonijakom

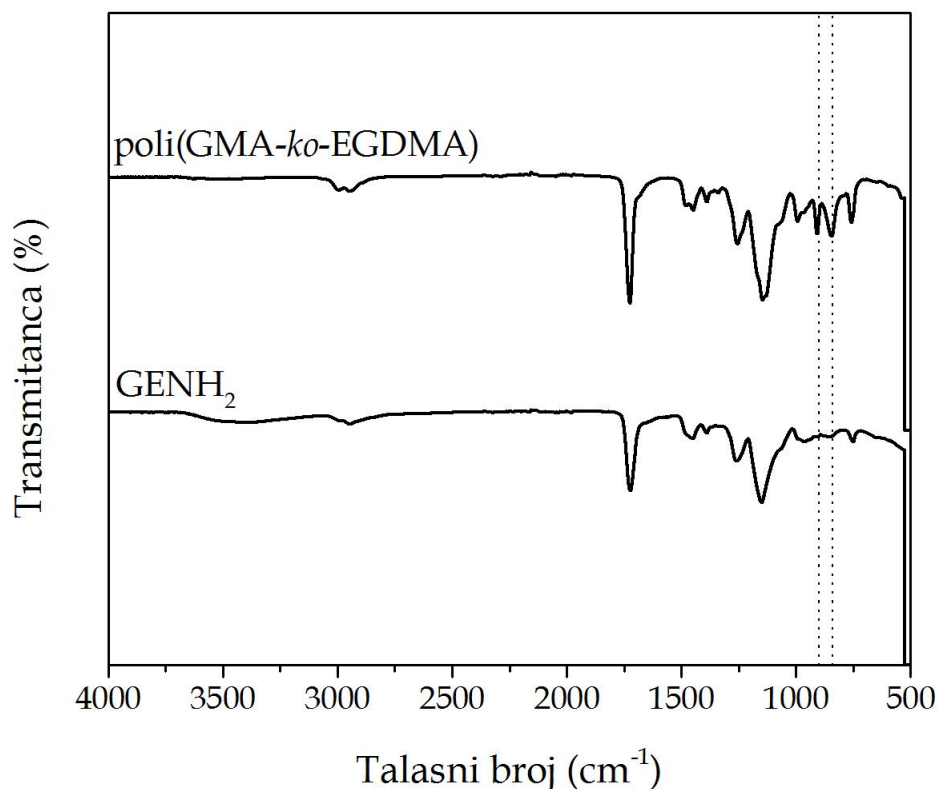
Detaljna procedura modifikacije poli(GMA-ko-EGDMA) sa vodenim rastvorom amonijaka je opisana u ekperimentalnom delu, poglavlje 3.3.1. Šematski prikaz reakcije amonijaka sa epoksidnim grupama makroporoznog kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA) i dobijanje modifikovanog, amino funkcionalizovanog, kopolimera GENH₂ je dat na Slici 27.



Slika 27 Šematski prikaz formiranja GENH₂

Reakcija epoksidnih grupa poli(GMA-ko-EGDMA) kopolimera sa amonijakom utvrđena je na osnovu rezultata FTIR analize uzorka. Na Slici 28 prikazani su FTIR spektri nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) i modifikovanog kopolimernog nosača GENH₂. Poređenjem spektara

čistog poli(GMA-*ko*-EGDMA) i modificiranog GENH₂, vidi se da je u spektru GENH₂ intenzitet traka na 845 i 907 cm⁻¹, koje potiču od epoksidnog prstena, znatno smanjen. Takođe, u spektru GENH₂ vidi se široka traka u oblasti 3100 do 3600 cm⁻¹ koja potiče od O-H i N-H valencionih vibracija.



Slika 28 FTIR spektri kopolimera poli(GMA-*ko*-EGDMA) i GENH₂

Na osnovu rezultata FTIR spektroskopije može se reći da se aminacija uspešno odigrala i da je prisustvo amino grupa u GENH₂ posledica hemijske modifikacije kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) sa amonijakom. Navedeni rezultati su u saglasnosti sa već objavljenim literaturnim podacima [48, 207].

Ukupan broj epoksidnih grupa koji je proreagovao sa amonijakom, odnosno ukupan broj amino grupa u GENH₂ uzorku, određen je na osnovu rezultata elementarne analize. U Tabeli 2 prikazan je elementarni sastav GENH₂ uzorka dobijen eksperimentalno, kao i teorijski izračunat sastav koji bi aminovani uzorak imao kada bi sve epoksidne grupe prisutne u poli(GMA-*ko*-

EGDMA) kopolimeru proreagovale sa amonijakom, tj. kada bi stepen konverzije epoksidnih grupa u amino grupe bio 100%.

Tabela 2 Elementarni sastav modifikovanog uzoraka GENH₂

	Elementarni sastav					
	Eksperimentalno određen			Teorijski određen		
Uzorak	%C	%H	%N	%C	%H	%N
GENH ₂	52,9	8,41	3,28	55,02	7,87	6,38

Na osnovu eksperimentalno dobijenih rezultata elementarne analize o sadržaju N kod uzorka GENH₂ izračunata je koncentracija modifikatora (liganda) korišćenjem jednačine 9 [46,215]:

$$C_{mod} = \frac{\%N}{100 \times Ar(N) \times n} \quad (9)$$

Gde je C_{Mod} - koncentracija modifikatora izražena u mol/g; $Ar(N)$ -atomska masa azota (14); n -broj atoma azota u molekulu modifikatora.

Izračunata koncentracija modifikatora, tj. amino grupa u uzorku GENH₂ iznosila je 2,34 mmol/g. Na osnovu dobijenog rezultata možemo izračunati stepen konverzije epoksidnih grupa prema jednačini 10:

$$konverzija \text{ epoksidnih grupa} = \frac{C_{mod}}{C_0} \times 100 \quad (10)$$

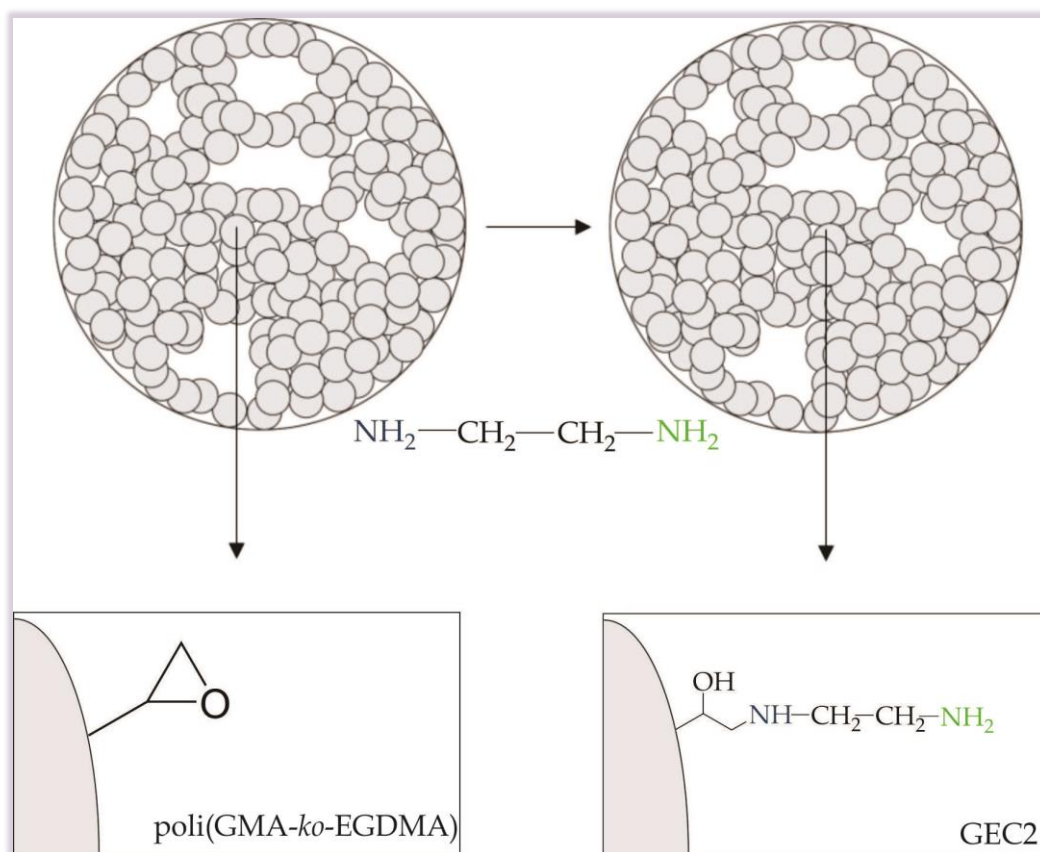
Gde je C_{Mod} - koncentracija modifikatora izražena u mol/g, a C_0 -početna koncentracija epoksidnih grupa u nemodifikovanom kopolimeru (4,93 mmol/g). Dobijeni rezultati konverzije epoksidnih grupa i koncentracije amino grupa u modifikovanom kopolimeru GENH₂ prikazani su u Tabeli 3.

Tabela 3 Konverzija epoksidnih grupa i koncentracija modifikatora kod GENH₂

Uzorak	C_{Mod} , mmol/g	Konverzija, %
GENH ₂	2,34	47,5

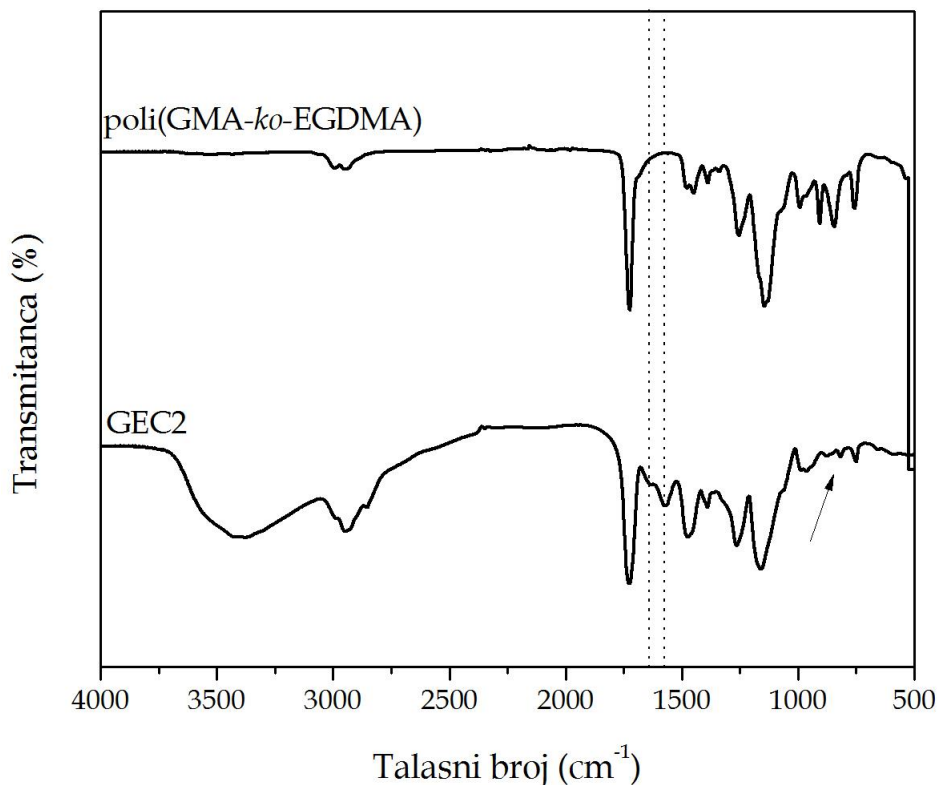
4.2.2. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,2-diaminoetanom

Detaljna procedura modifikacije poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,2-diaminoetanom je prikazana u eksperimentalnom delu, poglavlje 3.3.2. Šematski prikaz reakcije 1,2-diaminoetana sa epoksidnim grupama poli(GMA-ko-EGDMA) kopolimera i dobijanje modifikovanog, amino-funkcionalizovanog, kopolimera GEC2 prikazan je na Slici 29.



Slika 29 Šematski prikaz formiranja GEC2

Kako bi pokazali da je epoksidna grupa kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) uspešno modifikovana sa 1,2-diaminoetanom izvršena je karakterizacija GEC2 primenom FTIR spektroskopije. Na Slici 30 prikazani su FTIR spektri nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) i modifikovanog kopolimernog nosača GEC2.



Slika 30 FTIR spektri kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA) i GEC2

Poređenjem spektara čistog poli(GMA-ko-EGDMA) i modificiranog GEC2, vidimo prisustvo novih vibracionih traka koje potiču od N-H deformacionih vibracija na 1571 i 1633 cm^{-1} kao i N-H i O-H valencionih vibracija koje se javljaju u opsegu talasnih brojeva od 3100-3600 cm^{-1} . Takođe, intenziteti traka koji potiču od prisustva epoksidnog prstena na 845 i 907 cm^{-1} su nakon modifikacije smanjeni.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je prisustvo amino grupa u GEC2 posledica hemijske modifikacije kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,2-diaminoetanom. Predstavljeni rezultati su u saglasnosti sa već objavljenim literaturnim podacima [48,209,215].

Koncentracija amino grupa i stepen konverzije epoksidnih grupa u modificiranom GEC2 kopolimeru izračunat je na osnovu rezultata elementarne analize. Elementarni sastav GEC2 uzorka, dobijen eksperimentalno i teorijski sastav modificiranog uzorka računat za stepen konverzije epoksidnih grupa od 100% prikazani su u Tabeli 4.

Tabela 4 Elementarni sastav modifikovanog uzorka GEC2

Uzorak	Elementarni sastav					
	Eksperimentalno određen			Teorijski određen		
	%C	%H	%N	%C	%H	%N
GEC2	49,1	8,40	7,32	55,13	8,48	10,67

Na osnovu eksperimentalno dobijenih rezultata elementarne analize o sadržaju N kod uzorka GEC2, korišćenjem jednačine 9, izračunata je koncentracija amino grupa, a korišćenjem jednačine 10 određen je stepen konverzije epoksidnih grupa [46]. Dobijeni rezultati konverzije epoksidnih grupa i koncentracije amino grupa u modifikovanom kopolimeru GEC2 prikazani su u Tabeli 5.

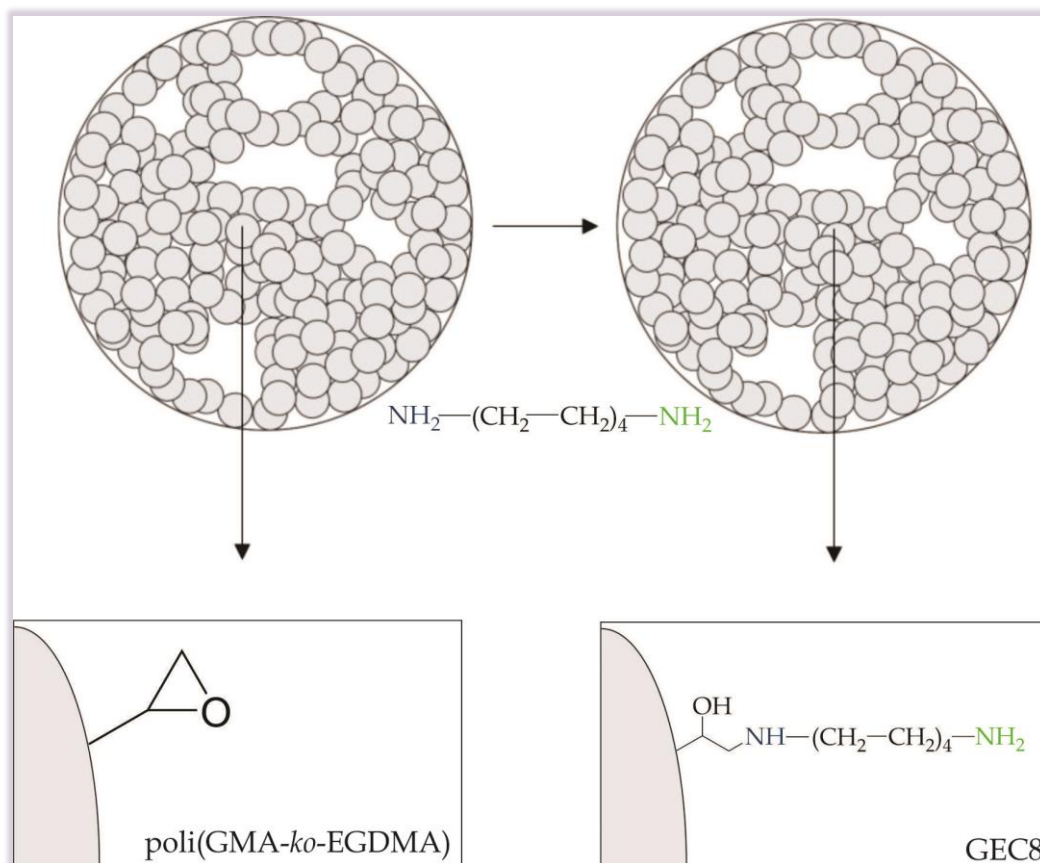
Tabela 5 Konverzija epoksidnih grupa i koncentracija modifikatora kod GEC2

Uzorak	C_{Mod} , mmol/g	Konverzija, %
GEC2	2,61	52,9

Prema rezultatima prikazanih u tabelama 4 i 6, vidi se da je stepen konverzije epoksidnih grupa u uzorku GENH₂ iznosio 47,5%, a u uzorku GEC2 52,9%. Razlog zašto je manji stepen konverzije epoksidnih grupa postignut u slučaju kada je modifikacija kopolimera izvršena amonijakom nego kada je modifikacija izvršena 1,2-diaminoetanom verovatno leži u različitom uticaju rastvarača koji su korišćeni prilikom izvođenja reakcija modifikacije. U slučaju kada je modifikacija izvršena amonijakom, kao rastvarač je korišćena voda, usled čega je smanjena nukleofilnost amonijaka i usporena reakcija nukleofilne supstitucije. U drugom slučaju, kao rastvarač je korišćen toluol, pa je nukleofilnost amino grupe u tom slučaju povećana, a samim tim je i reakcija nukleofilne supstitucije favorizovana. Pored uticaja rastvarača, još jedan od razloga može biti i taj što je reakcija epoksidnih grupa sa amonijakom izvedena na 50 °C, a sa 1,2-diaminoetanom na 80 °C.

4.2.3. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,8-diaminooktanom

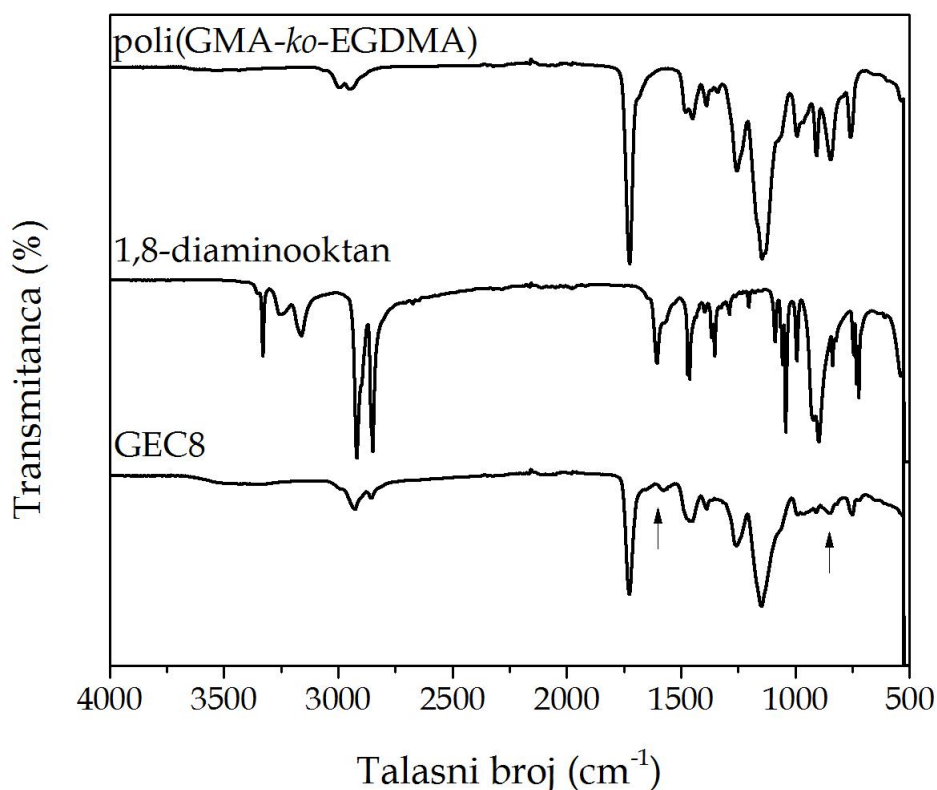
Procedura modifikacije poli(GMA-ko-EGDMA) sa 1,8-diaminooktanom je prikazana u ekperimentalnom delu, poglavlje 3.3.3. Reakcije 1,8-diaminooktana i epoksidnih grupa makroporoznog kopolimera i dobijanje amino-funkcionalizovanog makroporoznog kopolimera GEC8 dat je na Slici 31.



Slika 31 Šematski prikaz formiranja GEC8

Dobijeni makroporozni kopolimer GEC8 okarakterisan je FTIR spektroskopijom. Na Slici 32 prikazani su FTIR spektri nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA), 1,8-diaminooktana i modifikovanog kopolimernog nosača GEC8. Kada uporedimo spektre nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) i modifikovanog GEC8, vidimo prisustvo novih vibracionih traka u spektru GEC8 koje potiču od N-H deformacionih vibracija na 1575 i 1636 cm^{-1} kao i N-H i O-H

valencionih vibracija koje se javljaju u opsegu talasnih brojeva od 3100-3600 cm^{-1} . Takođe, inteziteti traka koji potiču od prisustva epoksidnog prstena na 845 i 907 cm^{-1} su nakon modifikacije smanjeni, što predstavlja još jednu potvrdu da se odigrala hemijska reakcija između epoksidne grupe u kopolimeru i amino grupe iz 1,8-diaminooktana. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa već objavljenim literaturnim podacima [48,215].



Slika 32 FTIR spektri kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA), 1,8-diaminooktana i GEC8

Elementarni sastav dobijenog modifikovanog makroporoznog kopolimera GEC8 određen je na osnovu elementarne analize. Eksperimentalno dobijene vrednosti, kao i teorijski izračunate vrednosti za aminovani kopolimer sa 100% konverzijom epoksidnih grupa prikazane su u Tabeli 6.

Tabela 6 Elementarni sastav modifikovanog uzoraka GEC8

Uzorak	Elementarni sastav					
	Eksperimentalno određen			Teorijski određen		
	%C	%H	%N	%C	%H	%N
GEC8	57,6	9,10	4,62	62,48	9,88	8,07

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 6, koristeći jednačine 9 i 10, izračunata je koncentracija amino grupa i stepen konverzije epoksidnih grupa u dobijenom kopolimeru GEC8, a izračunate vrednosti su prikazane u Tabeli 7 [46].

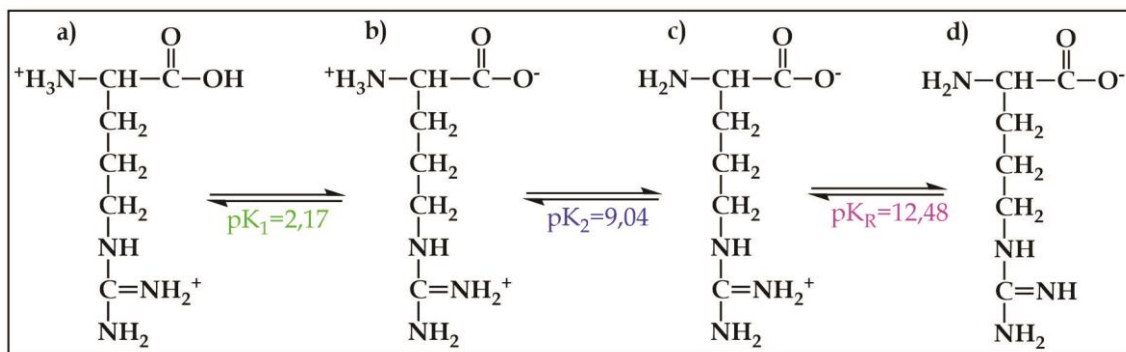
Tabela 7 Konverzija epoksidnih grupa i koncentracija modifikatora kod GEC8

Uzorak	C_{Mod} , mmol/g	Konverzija, %
GEC8	1,65	33,5

Izračunata vrednost konverzije epoksidnih grupa ukazuje da prilikom korišćenja 1,8-diaminooktana kao modifikatora ostvaruje se niži stepen konverzije u poređenju sa amonijakom i 1,2-diaminoetanom. U poređenju sa 1,2-diaminietanom, 1,8-diaminooktan poseduje duži alifatični niz, manje je reaktivan, samim tim smanjuje se mogućnost konverzije epoksidnih grupa. Prema literaturnim podacima, prilikom modifikacije poli(GMA-*ko*-EGDMA) koji je u svom sastavu imao 60 mas.-% GMA 1,2-diaminoetanom, 1,4-diaminoetanom, 1,6-diaminoetanom i 1,8-diaminoetanom dobijene vrednosti za teorijski stepen konverzije iznosile su 51,54 %, 47,12 %, 39,86% i 30,63% [48]. Vidimo da sa povećanjem polietilenskog niza amina dolazi do smanjenja stepena konverzije epoksidnih grupa. Do ograničenja tokom odigravanja hemijske reakcije modifikacije 1,8-diaminooktanom došlo je usled sternih smetnji, što predstavlja najveći problem prilikom funkcionalizacije kopolimera sa voluminoznijim grupama [219].

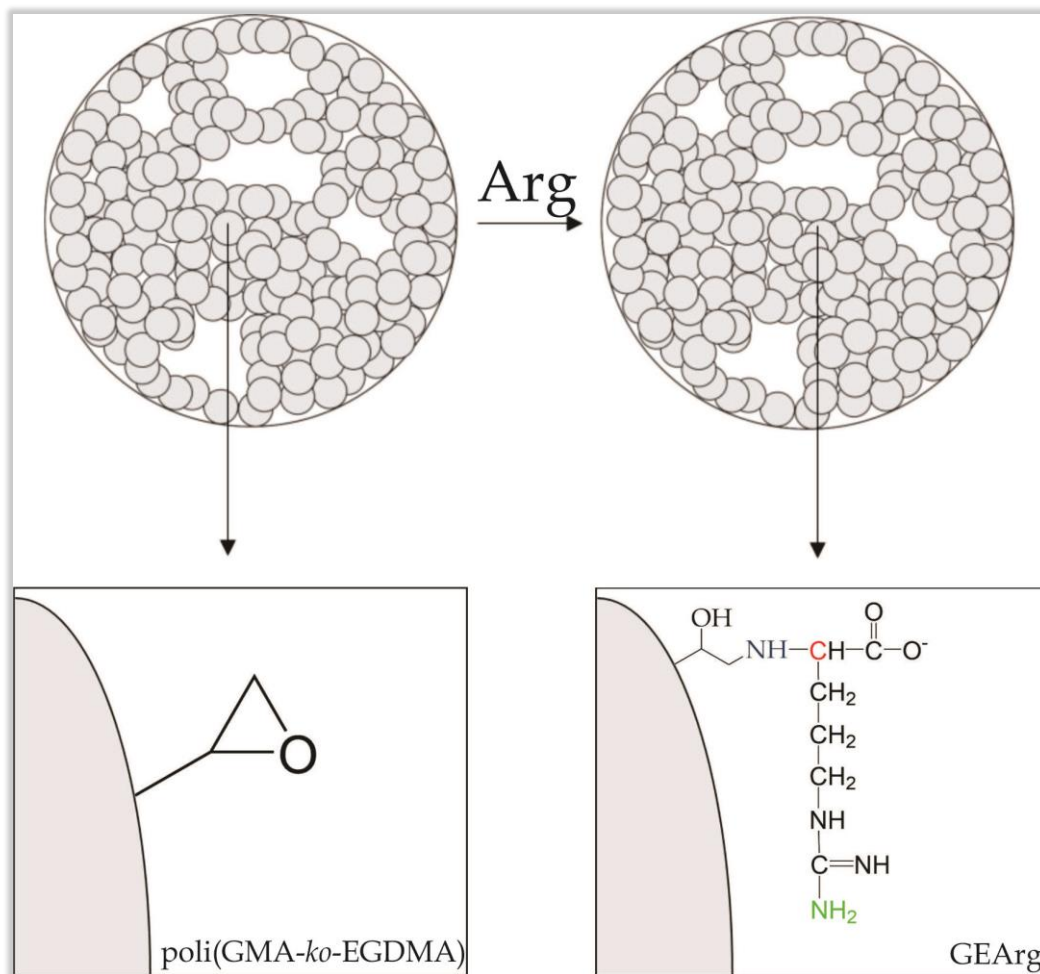
4.2.4. Modifikacija poli(GMA-ko-EGDMA) sa argininom

Procedura modifikacije poli(GMA-ko-EGDMA) sa argininom je prikazana u ekperimentalnom delu u poglavlju 3.3.4. U prethodna dva slučaja kada je modifikacija makroporoznog kopolimera izvršena simetričnim diaminima, reaktivnost amino grupa u jednom molekulu diamina je bila ista, pa samim tim i verovatnoća da se diamin veže za kopolimer preko jedne ili druge amino grupe je bila ista. Međutim, u slučaju arginina, situacija nije tako jednostavna usled složenosti hemijske strukture samog molekula (Slika 25d). Arginin spada u grupu α -aminokiselina koje se mogu predstaviti opštom formulom $H_2NCHR\text{COOH}$, gde R predstavlja bočnu grupu (bočni ostatak) [220]. Ukoliko se pogleda strukturna formula arginina, vidi se da se njegov bočni ostatak sastoji od alifatskog niza od tri metilenske grupe na čijem kraju se nalazi guanidin grupa. Aminokiseline se mogu nalaziti u različitim jonskim stanjima u zavisnosti od pH sredine u kojoj se nalaze, jer imaju dve različite pK vrednosti konstante disocijacije, koje su za α -karboksilnu grupu, pK_1 , i α -amino grupu, pK_2 . Takođe, i bočne grupe nekih aminokiselina imaju svoje odgovarajuće pK_R vrednosti. Vrednosti pK_1 α -karboksilnih grupa aminokiselina se nalaze u opsegu od 1,8 do 2,4, a α -amino grupa od 9,0 do 10,8. Vrednost pK_1 za arginin iznosi 2,17, dok pK_2 iznosi 9,04, a vrednost pK_R ima vrednost 12,48 [221,222]. Protonovano stanje funkcionalnih grupa aminokiselina može se odrediti upoređivanjem pK vrednosti funkcionalnih grupa sa pH vrednošću rastvarača u kom se nalaze. Kada je pH vrednost rastvora manja od pK vrednosti određene funkcionalne grupe aminokiseline, ona će se nalaziti u protonovanom obliku, i obrnuto, kada je pH vrednost veća od pK vrednosti, ta grupa će biti deprotonovana. U slučaju kada su pK i pH vrednosti približne, funkcionalne grupe aminokiselina mogu biti i u protonovanom i u neprotonovanom obliku, a u kom od ova dva oblika će biti veća količina amino zavisi od toga koliko se pK i pH vrednosti razlikuju. Na Slici 33 su predstavljeni svi jonski oblici u kojima se može nalaziti molekul arginina u zavisnosti od pH vrednosti sredine u kojoj se nalazi.



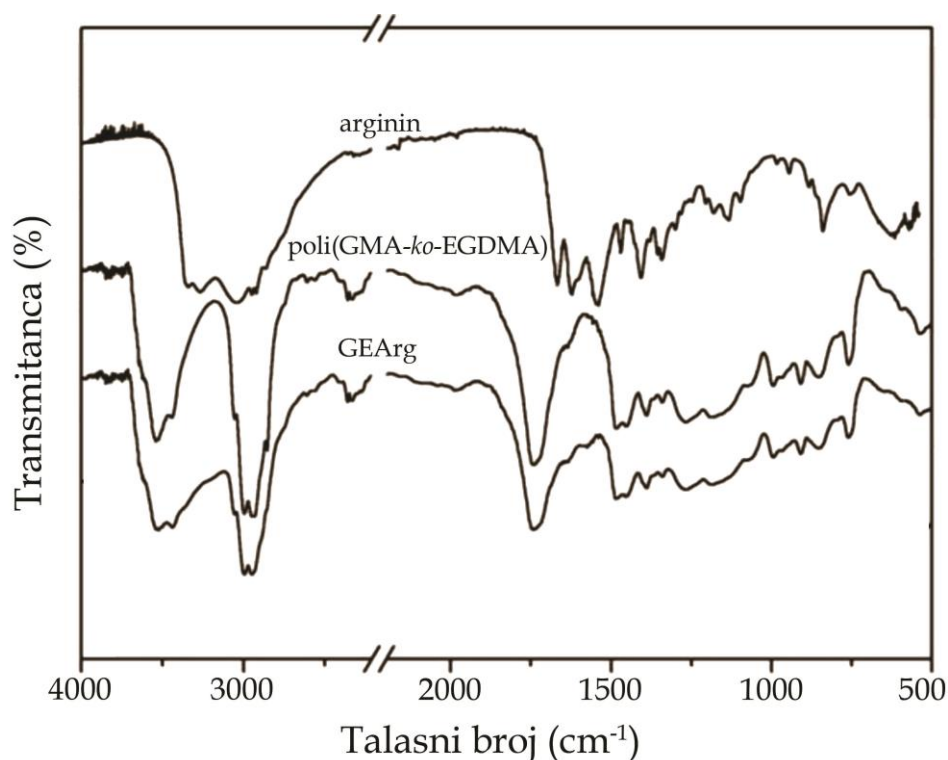
Slika 33 Jonski oblici arginina u zavisnosti od pH vrednosti sredine u kojoj se nalazi

Kao što je navedeno u eksperimentalnom delu, poglavlje 3.3.4., pH vrednost vodene sredine u kojoj je vršena modifikacija poli(GMA-*ko*-EGDMA) molekulima arginina je iznosila pH=13. Na osnovu toga može se zaključiti da se i $-\text{NH}_2$ i $-\text{COOH}$ grupa vezane za $\alpha\text{-C}$ atom arginina, nalaze u deprotonovanom obliku. Osnovno pitanje na koje treba odgovoriti je koja od dostupnih $-\text{NH}_2$ grupa reaguje sa epoksidnim grupom kopolimera. Imajući u vidu da je pH vrednost vodene sredine u kojoj se odigrava modifikacija (pH=13) relativno bliska pK_R vrednosti bočnog lanca arginina (pK_R=12,48), može se zaključiti da se na navedenoj pH vrednosti guanidin grupa nalazi u oba oblika, protonovanom i neprotonovanom. Protonovana guanidin grupa ima mogućnost rezonantne stabilizacije što smanjuje njenu reaktivnost, a to je osnovni razlog zbog koga sa visokom izvesnošću pretpostavljamo da se modifikacija polimernog nosača odigrava otvaranjem epoksidnog prstena u reakciji sa $-\text{NH}_2$ grupom vezanom za $\alpha\text{-C}$ atoma arginina [223]. Šematski prikaz reakcije otvaranja epoksidnog prstena argininom i dobijanja aminovanog kopolimera GEArg dat je na Slici 34.



Slika 34 Šematski prikaz formiranja GEArg

Kako bi pokazali da je epoksidna grupa kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) uspešno modifikovana sa argininom izvršena je strukturna karakterizacija sintetisanog GEArg uzorka primenom FTIR spektroskopije. Na Slici 35 prikazani su FTIR spektri arginina, nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) i modifikovanog kopolimernog nosača GEArg. U FTIR spektru arginina uočavaju se karakteristični pikovi na 3343 i 3277 cm^{-1} koji potiču od vibracija istezanja N-H veza iz amino grupe, široka "amonijumska traka" na 3100-2600 cm^{-1} , kao i traka na 1626 cm^{-1} koja potiče od vibracija savijanja N-H veza. Vibracione trake na 1574 i 1406 cm^{-1} potiču od asimetričnih i simetričnih vibracija istezanja COO⁻ grupe, a traka na 1670 cm^{-1} potiče od vibracija istezanja C=N veze iz bočnog lanca arginina [224,225].



Slika 35 FTIR spektri kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA), arginina i GEArg

Vibracione trake u FTIR spektru GEArg uzorka, široka u opsegu od 3400 do 3100 cm⁻¹ koja potiče od vibracija istezanja N-H veza, traka na 1580 cm⁻¹ koja potiče od asimetričnih vibracija COO⁻ grupe i traka na 1645 cm⁻¹ koja potiče od vibracija savijanja N-H veza, kao i činjenica da je došlo do smanjenja intenziteta traka koje potiču od epoksidnih grupa na 845 i 907 cm⁻¹, u poređenju sa intenzitetom tih traka u spektru nemodifikovanog kopolimera, ukazuju da se arginin hemijski vezao za makroporozni kopolimer [210].

Osim napred navedenih promena, FTIR spektar GEArg uzorka sadrži sve karakteristične trake koje se javljaju u spektru nemodifikovanog kopolimera.

Elementarni sastav makroporoznog kopolimera modifikovanog argininom, GEArg, određen je na osnovu rezultata dobijenih elementarnom analizom. Rezultati elementarne analize, kao i izračunati teroijski sastav kopolimera GEArg računat za 100% stepen konverzije epoksidnih grupa dati su u Tabeli 8.

Tabela 8 Elementarni sastav modificiranog uzorka GEArg

	Elementarni sastav					
	Eksperimentalno određen			Teorijski određen		
Uzorak	%C	%H	%N	%C	%H	%N
GEArg	44,52	7,65	7,09	51,14	7,50	14,87

Na osnovu eksperimentalno dobijenih rezultata elementarne analize o sadržaju azota u uzorku GEArg korišćenjem jednačine 9 izračunata je koncentracija arginina (modifikatora) hemijski vezanog za kopolimer [46]. Vrednost stepena konverzije epoksidnih grupa izračunata je korišćenjem jednačine 10 [46].

Izračunate vrednosti konverzije epoksidnih grupa i koncentracije arginina kao modifikatora na kopolimernom nosaču poli(GMA-*ko*-EGDMA) prikazani su u Tabeli 9.

Tabela 9 Konverzija epoksidnih grupa i koncentracija modifikatora kod GEArg

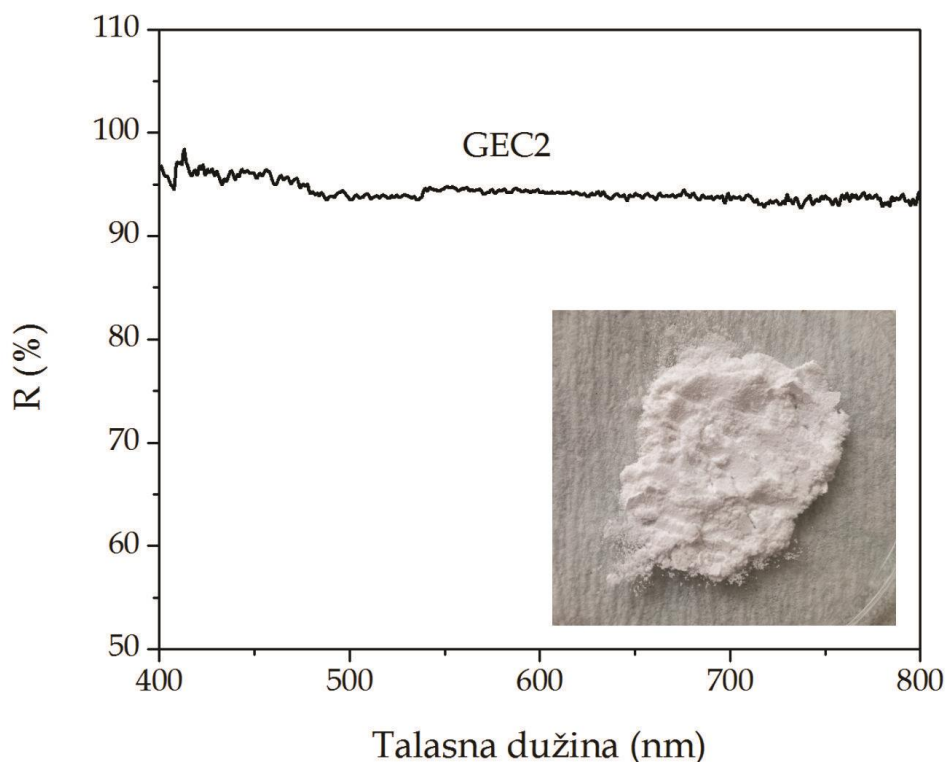
Uzorak	C_{Mod} , mmol/g	Konverzija, %
GEArg	1,27	25,8

Kada je za funkcionalizaciju umreženog makroporoznog kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) korišćen arginin, ostvaren je najniži stepen konverzije epoksidnih grupa (25,8%) u poređenju sa amonijakom (47,5%), 1,2-diaminoetanom (52,9%) i 1,8-diaminooktanom (33,4%). Možemo reći da je arginin najmanje reaktivan od svih korišćenih molekula modifikatora, a glavni razlog za to leži u veličini i strukturi molekula, s tim što treba imati na umu da se na pH pri kome je izvedena modifikacija još uvek jedan deo molekula arginina nalazi u obliku cviter jona. Najpribližnije vrednosti stepena konverzije epoksidnih grupa dobijene su kada je kao modifikator korišćen 1,8-diaminooktan, što je i očekivano imajući u vidu približno istu dužinu alifatičnog niza arginina i 1,8-diaminooktana. Do sličnih rezultata došli su Kiyohara i sar. [208] koji su ispitali mogućnost modifikacije argininom epoksidnih grupa radijaciono kalemljenog GMA na polietilenskoj membrani. Stepen konverzije

epoksidnih grupa iznosio je 23-33% u zavisnosti od koncentracije arginina, 0,80-0,96 mmol/g.

4.2.5. Karakterizacija amino-funkcionalizovanih makroporoznih kopolimera GENH₂, GEC2, GEC8 i GEArg

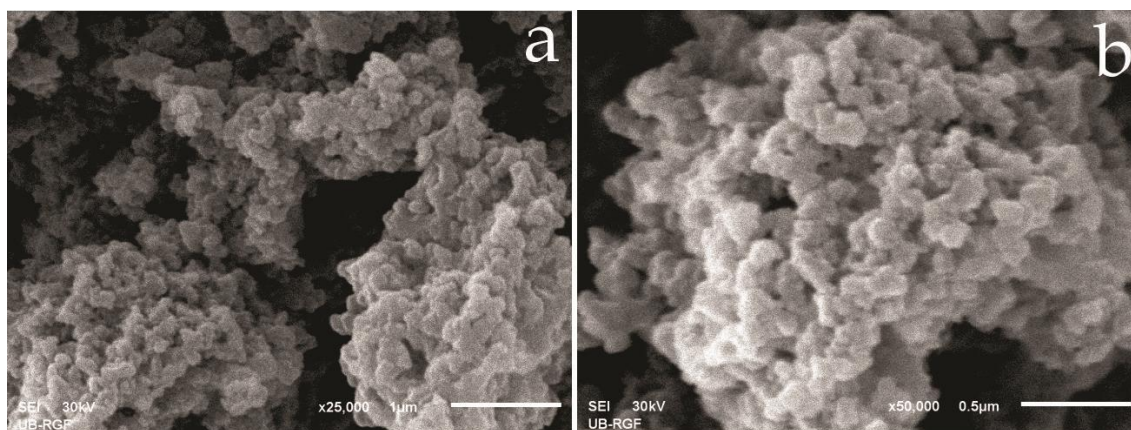
Optička svojstva modifikovanih kopolimernih nosača GENH₂, GEC2, GEC8 i GEArg ispitana su merenjem refleksije svetlosti iz vidljivog dela spektra. Ispitivani modifikovani kopolimerni nosači ne apsorbuju u vidljivom delu spektra, kao ni nemodifikovani kopolimerni nosač poli(GMA-*ko*-EGDMA. Radi preglednosti na Slici 36 prikazan je samo refleksioni spektar GEC2.



Slika 36 Refleksioni spektar GEC2 sa umetnutom fotografijom uzorka u prahu

Kako bi se utvrdilo da li je došlo do promene morfologije kopolimernog nosača poli(GMA-*ko*-EGDMA) nakon funkcionalizacije amonijakom, 1,2-diaminoetanom, 1,8-diaminooktanom i argininom, morfologija površine modifikovanih uzoraka GENH₂, GEC2, GEC8 i GEArg je ispitivana metodom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Na Slici 37 su prikazani SEM snimci

poli(GMA-ko-EGDMA) modifikovanog sa 1,2-diaminoetanom, GEC2, kao reprezentativnog uzorka pri različitim uvećanjima (25000x i 50000x). Kod svih ispitivanih uzoraka u poređenju sa dobijenim rezultatima SEM analize nemodifikovanog kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA) nije došlo do morfoloških promena površine polaznog kopolimernog nosača, odnosno porozna struktura samog nosača je ostala očuvana.



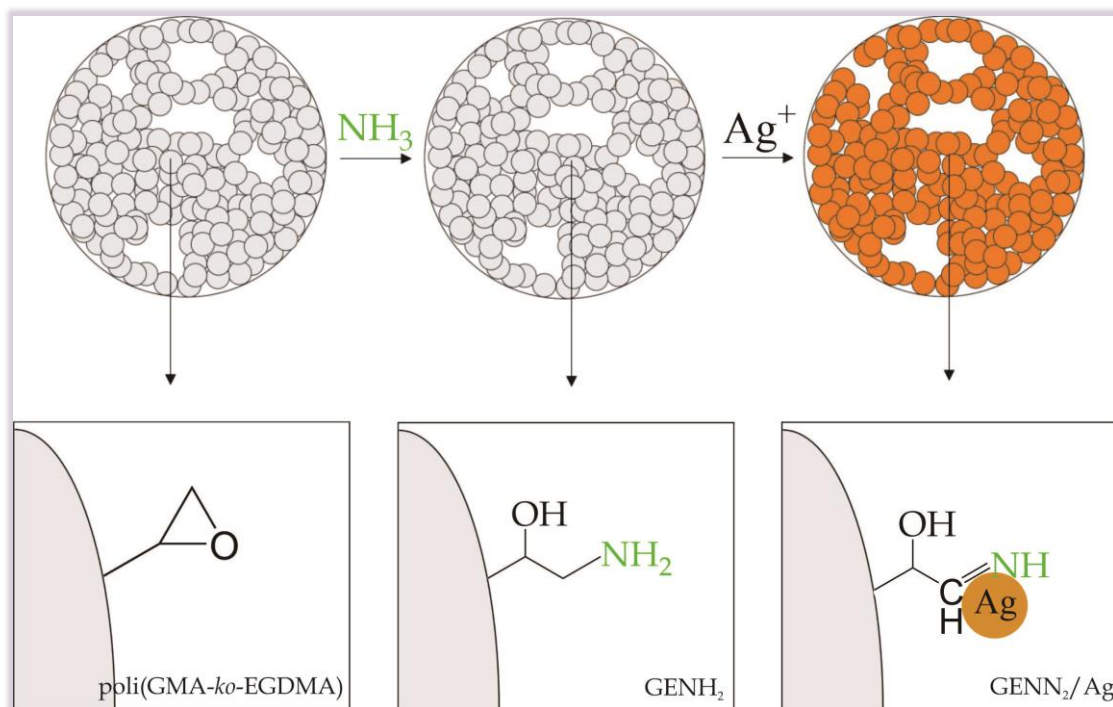
Slika 37 SEM snimci GEC2 pri različitim uvećanjima (a,b)

4.3. Sinteza nanočestica Ag na funkcionalizovanom makroporoznom nosaču

Sinteza i imobilizacija nanočestica Ag na makroporoznim nosačima GENH₂, GEC2, GEC8 i GEArg izvršena je zahvaljujući amino grupama prisutnim u modifikovanom kopolimeru. Amino grupe su imale ulogu redukcionog sredstva za redukciju jona srebra do elementarnog srebra, a u isto vreme su poslužile i za stabilizaciju i imobilizaciju nastalih čestica srebra na površini makroporoznog nosača. Redukcija Ag⁺ jona u ispitivanim heterogenim sistemima izvršena je na sličan način kao i prilikom dobijanja koloidnog rastvora srebra polazeći od homogenih rastvora [51,53].

4.3.1. Sinteza nanočestica Ag na GENH₂

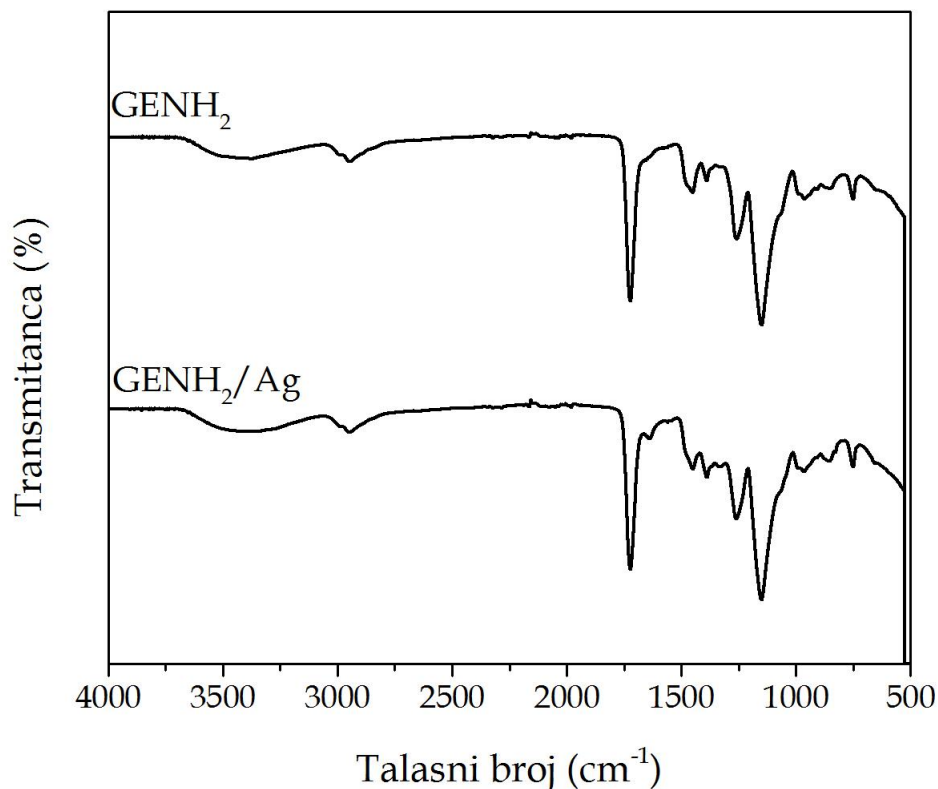
Na Slici 38 prikazana je predložena šema formiranja nanočestica Ag na modifikovanom kopolimernom nosaču GENH₂.



Slika 38 Predložena šema formiranja nanočestica Ag na GENH₂

Da bi se utvrdio mehanizam nastajanja nanočestica Ag i način njihovog vezivanja za kopolimerni nosač urađena su FTIR spektroskopska merenja. Na Slici 39 prikazani su FTIR spektri modifikovanog kopolimernog nosača GENH₂ i GENH₂/Ag.

Poređenjem prikazanih spektara vidi se da je kod GENH₂/Ag došlo do povećanja inteziteta apsorpcione trake na 1642 cm⁻¹. Navedena vibraciona traka potiče od vibracija istezanja C=N veza, što ukazuje da mehanizam formiranja nanočestica Ag uključuje nastajanje imina. Vibraciona traka koja se javlja na 3300 cm⁻¹ usled =N-H vibracija istezanja se preklapa sa O-H valencionim vibracijama za koje je karakterističan opseg talasnih brojeva od 3100 do 3500 cm⁻¹.



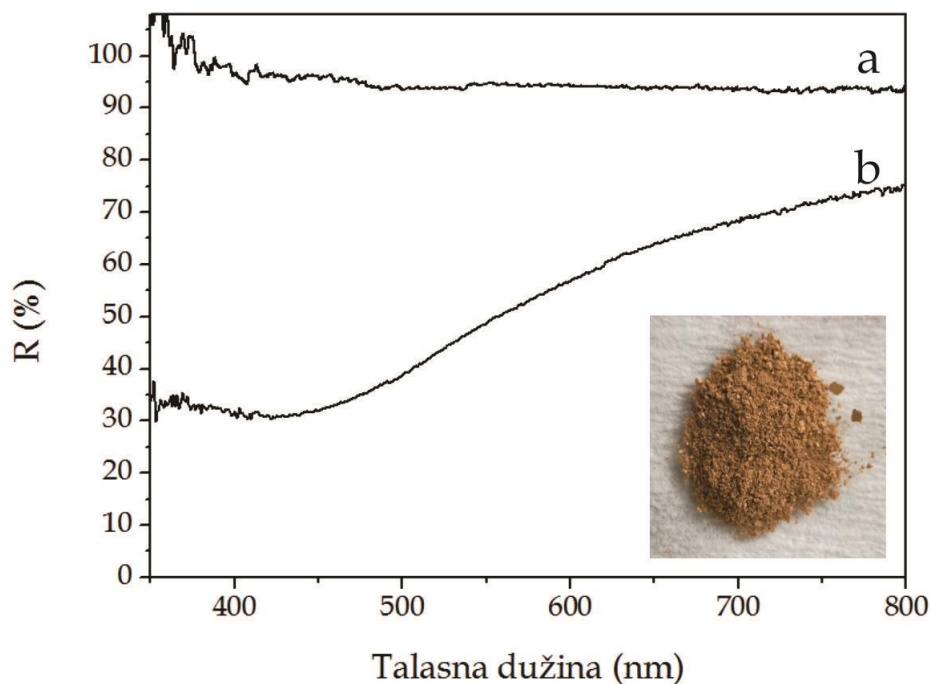
Slika 39 FTIR spektri GENH₂ i GENH₂/Ag

Iako se formiranje nanočestica Ag odvijalo u heterogenom sistemu, dobijeni rezultati su saglasni sa literaturnim podacima koji se odnose na mehanizam formiranja koloidnih čestica srebra iz homogenih rastvora, korišćenjem oleilamina koji je imao dvojaku ulogu, kao redukcionog sredstva i kao rastvarača [102,226]. Mehanizam nastanka koloidnih čestica Ag prvo uključuje formiranje stabilnih kompleksa soli srebra i amina. Nakon formiranja kompleksa, dolazi do transfera elektrona sa amino grupe na jone srebra pri povišenoj temperaturi, odnosno do redukcije i stvaranja nanočestica Ag i amino radikala. Deprotonacija amino radikala dovodi do formiranja imina koji omogućava dalju stabilizaciju nanočestica Ag tako što se veže za površinu nastalih čestica srebra preko slobodnog elektronskog para sa azota ili preko π -elektrona iz dvostuke veze [102].

Na osnovu svega napred navedenog može se zaključiti da je do formiranja nanočestica Ag na funkcionalizovanom umreženom makroporoznom

kopolimernom nosaču došlo koordinacijom površine nanočestica Ag i nastale imino grupe.

Nanočestice plemenitih metala ispoljavaju specifična optička svojstva koja se mogu pratiti spektroskopijom u ultraljubičastoj i vidljivoj oblasti spektra.



Slika 40 Refleksioni spektri GENH₂ (a) i GENH₂/Ag (b) sa umetnutom fotografijom uzorka u prahu

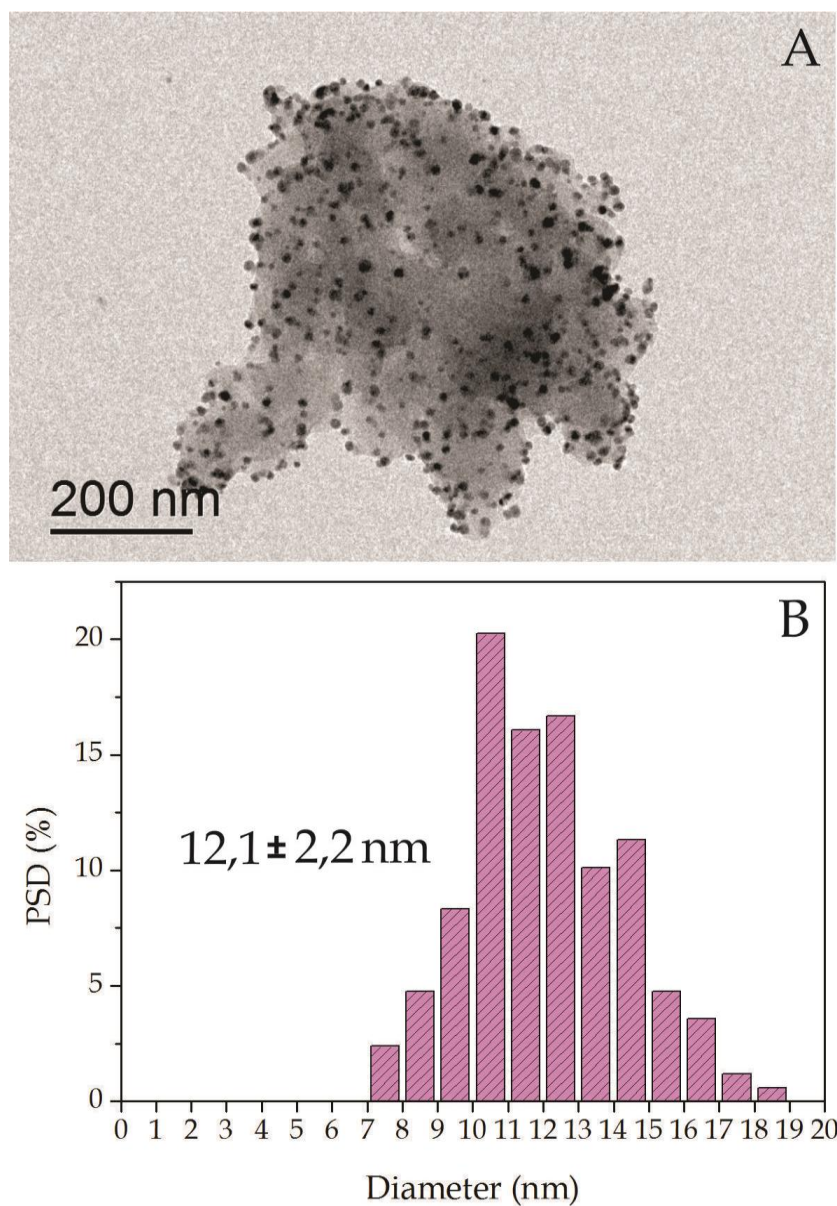
Kao što je već objašnjeno u poglavlju 2.2.1 specifična optička svojstva nanočestica metala nastaju usled interakcije kolektivnih oscilacija provodnih elektrona metala sa upadnim elektromagnetnim poljem i apsorpcije zračenja određenih talasnih dužina [57,69-71]. Na drugoj strani, optička svojstva prikazanih materijala predstavljaju aditivnu funkciju optičkih svojstava organske i neorganske komponente, te koordinisane nanočestice Ag ostavljaju svoj spektroskopski pečat na polaznom umreženom makroporoznom kopolimernom nosaču.

Na Slici 40 prikazani su refleksioni spektri modifikovanog kopolimernog nosača GENH₂ (Slika 40a) i GENH₂/Ag (Slika 40b). Kao što se može uočiti, GENH₂ (Slika 40a) ne apsorbuje u vidljivoj spektralnoj oblasti, što omogućava

nesmetanu karakterizaciju optičkih svojstava metalnih nanočestica koordinisanih za kopolimerni nosač. Sintetisani GENH_2/Ag za razliku od belog praškastog kopolimernog nosača ima žuto-braon boju. Refleksioni spektar GENH_2/Ag (Slika 40b) sadrži karakterističan pik na 425 nm usled rezonance površinskog plazmona nanočestica Ag. Prisustvo ovog pika ukazuje da se veličina sintetisanih čestica Ag nalazi u nanometarskom opsegu i da su čestice najverovatnije sfernog oblika [72]. Starenje sintetisanog materijala tokom dužeg vremenskog perioda u normalnim laboratorijskim uslovima nije dovelo do bilo kakve vidljive promene obojenosti.

Dublji uvid u morfologiju sintetisanih uzoraka, kao i određivanje veličine, oblika i prostornog rasporeda formiranih nanočestica na funkcionalizovanom kopolimernom nosaču dobijen je korišćenjem transmisiona elektronske mikroskopije (TEM). Na Slici 41 A prikazan je TEM snimak GENH_2/Ag sa odgovarajućim histogramom distribucije veličine čestica Ag (Slika 41 B). Na osnovu TEM analize uzorka GENH_2/Ag (Slika 41 A) uočava se prisustvo velikog broja neaglomerisanih/zasebnih nanočestica Ag sfernog oblika, sa veličinom srednjeg prečnika čestica od 12,1 nm. Homogena raspodela nanočestica Ag po celom uzorku jasno ukazuje da su pore makroporoznog kopolimernog nosača imale ulogu nanoreaktora u kome se odigravala sinteza čestica. Prisustvo površinskog plazmona u refleksionom spektru GENH_2/Ag je u saglasnosti sa TEM analizom koja je pokazala su čestice nanometarskih dimenzija i sfernog oblika, pri čemu nije došlo do spajanja čestica u veće agregate.

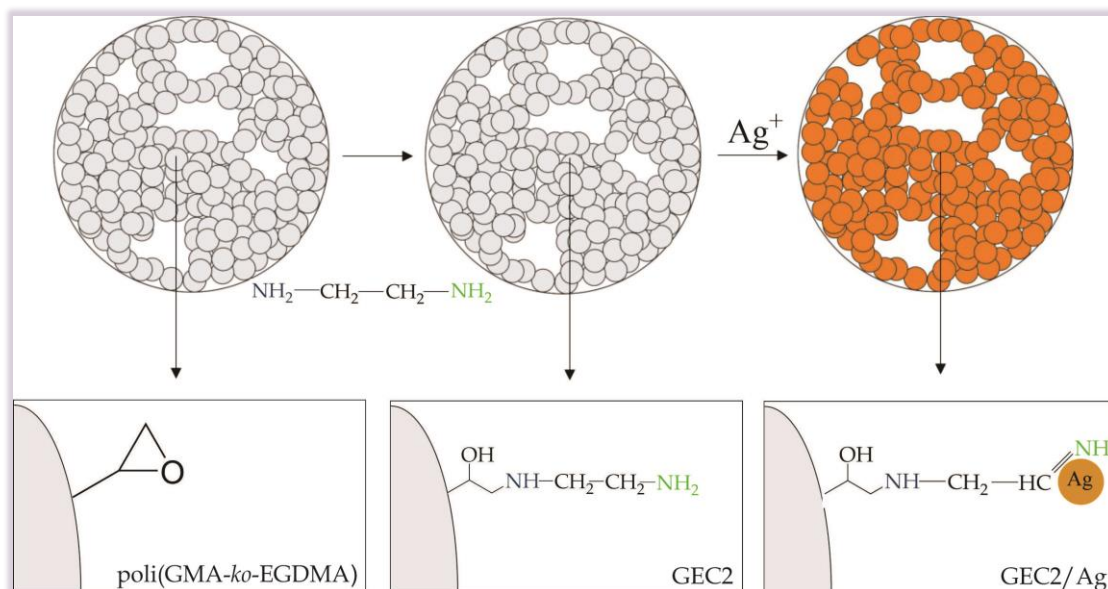
Količina srebra u ispitivanom uzorku određena je na osnovu rezultata atomske emisije spektroskopije. Na osnovu ovih rezultata GENH_2 uzorak sadrži 5 mas.% srebra. Količina srebra određena na ovaj način predstavlja ukupnu količinu srebra u ispitivanom uzorku i na osnovu ovih rezultata ne možemo reći da li se ukupna količina srebra nalazi u obliku elementarnog srebra ili postoji i određena količina srebra u jonskom obliku.



Slika 41 TEM snimak GENH_2/Ag (A) sa odgovarajućim histogramom distribucije veličine čestica Ag (B)

4.3.2. Sinteza nanočestica Ag na GEC2

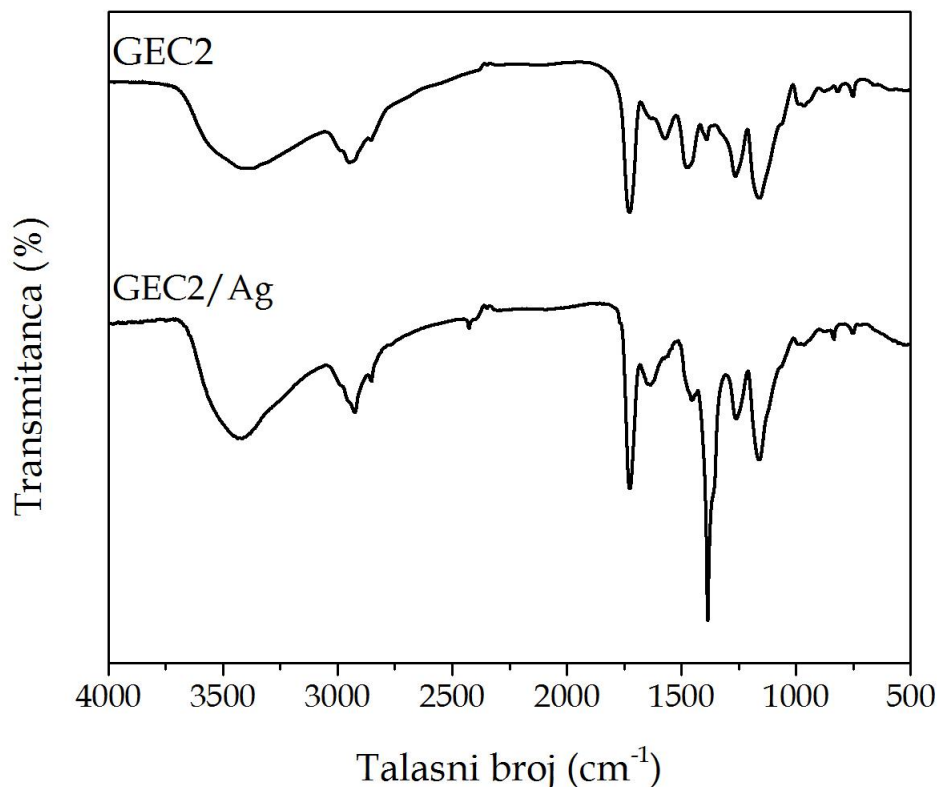
Na Slici 42 prikazana je predložena šema formiranja nanočestica Ag na modifikovanom kopolimernom nosaču GEC2.



Slika 42 Predložena šema formiranja nanočestica Ag na GEC2

Karakterizacijom GEC2/Ag pomoću FTIR spektroskopije utvrđeno je vrsta interakcije između modifikovanog kopolimernog nosača GEC2 i nanočestica Ag. Na Slici 43 prikazani su FTIR spektri modifikovanog kopolimernog nosača GEC2 i GEC2/Ag. Upoređujući FTIR spektre GEC2 i GEC2/Ag, u spektru GEC2/Ag uočava se prisustvo nove apsorpcione trake na 1379 cm^{-1} koja se može pripisati valencionim vibracijama NO_3^- anjona [227]. Očigledno da je i pored temeljnog ispiranja po završetku sinteze jedan deo NO_3^- anjona ostao adsorbovan na kopolimernom nosaču usled makroporozne prirode samog materijala i velike specifične površine. Smanjenje inteziteta apsorpcione trake na 1571 cm^{-1} koja potiče od N-H deformacionih vibracija se može uočiti poređenjem FTIR spektara GEC2 i GEC2/Ag na Slici 43. Takođe, može se primetiti i povećanje inteziteta apsorpcione trake na 1641 cm^{-1} , koja odgovara deformacionim vibracijama N-H grupe na 1633 cm^{-1} . Navedena vibraciona traka potiče od C=N veze što ukazuje da mehanizam formiranja nanočestica Ag

uključuje transfer elektrona sa amino grupe modificiranog polimernog nosača na jone srebra i nastajanje imina.

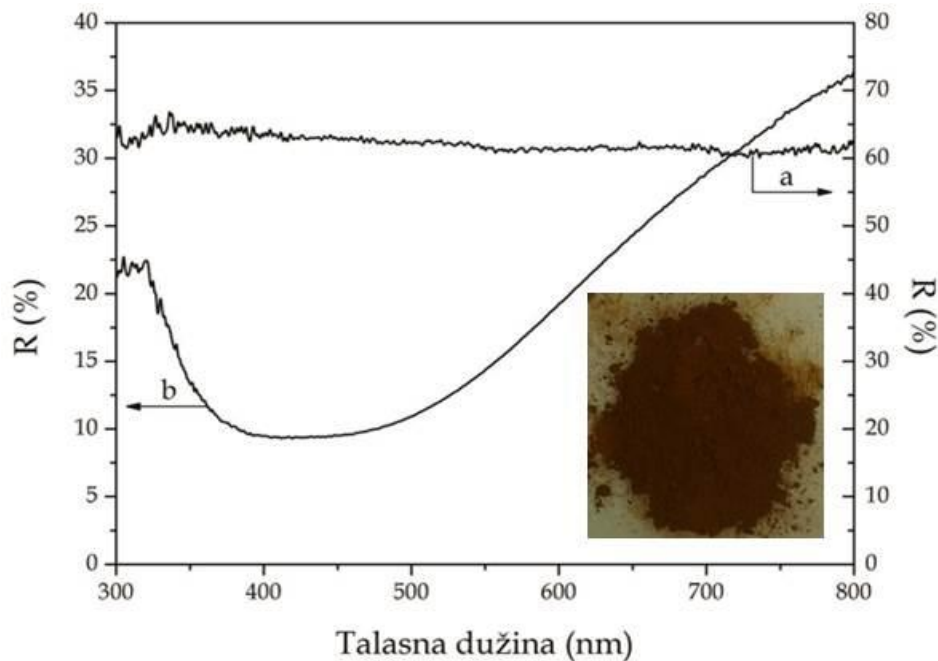


Slika 43 FTIR spektri GEC2 i GEC2/Ag

Vibraciona traka koja se javlja na 3300 cm⁻¹ usled =N-H valencionih vibracija se preklapa sa O-H valencionim vibracijama za koje je karakterističan opseg talasnih brojeva od 3100 do 3500 cm⁻¹. Bez obzira što se nastanak nanočestica Ag odigrava u heterogenom sistemu, kao i u slučaju kada je kao modifikator korišćen amonijak, dobijeni rezultati su saglasni sa literaturnim podacima koji se odnose na mehanizam formiranja koloidnih čestica srebra iz homogenih rastvora korišćenjem oleilamina kao redukcionog sredstva [102,226].

Možemo reći da je do formiranja nanočestica Ag na funkcionalizovanom umreženom makroporoznom kopolimernom nosaču došlo koordinacijom površine nanočestica Ag i nastale imino grupe [209].

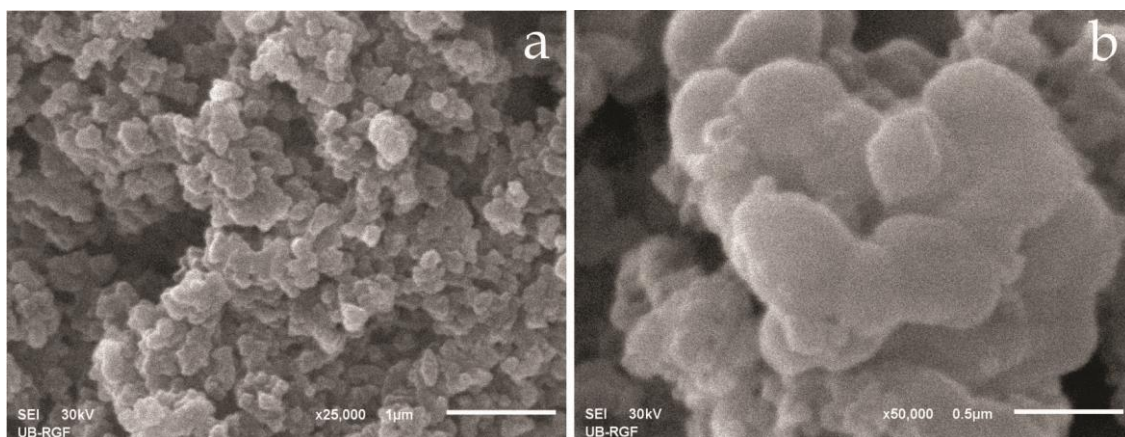
Pored FTIR spektroskopije, izmerena je refleksija svetlosti sintetisanih uzoraka GEC2 i GEC2/Ag u UV i oblasti vidljivog dela spektra. Na Slici 44 su prikazani refleksioni spektri GEC2 (Slika 44a) i GEC2/Ag (Slika 44b).



Slika 44 Refleksioni spektri GEC2 (a) i GEC2/Ag (b) sa umetnutom fotografijom uzorka u prahu

Kao što se može videti, GEC2 (Slika 44a) ne apsorbuje svetlost u ispitivanom opsegu talasnih dužina, što kao i u slučaju uzorka GENH₂, omogućava nesmetanu karakterizaciju optičkih svojstava metalnih nanočestica koordinisanih za kopolimerni nosač. Sintetisani GEC2/Ag za razliku od belog praškastog kopolimernog nosača ima intenzivnu žuto-braon boju. Refleksioni spektar GEC2/Ag (Slika 44b) sadrži karakterističan pik na 415 nm usled rezonance površinskog plazmona nanočestica Ag koji ukazuje da se veličina sintetisanih čestica Ag nalazi u nanometarskom opsegu i da su one najverovatnije sfernog oblika [72]. Starenje kompozitnog materijala tokom dužeg vremenskog perioda u normalnim laboratorijskim uslovima nije dovelo do bilo kakve vidljive promene njegove boje.

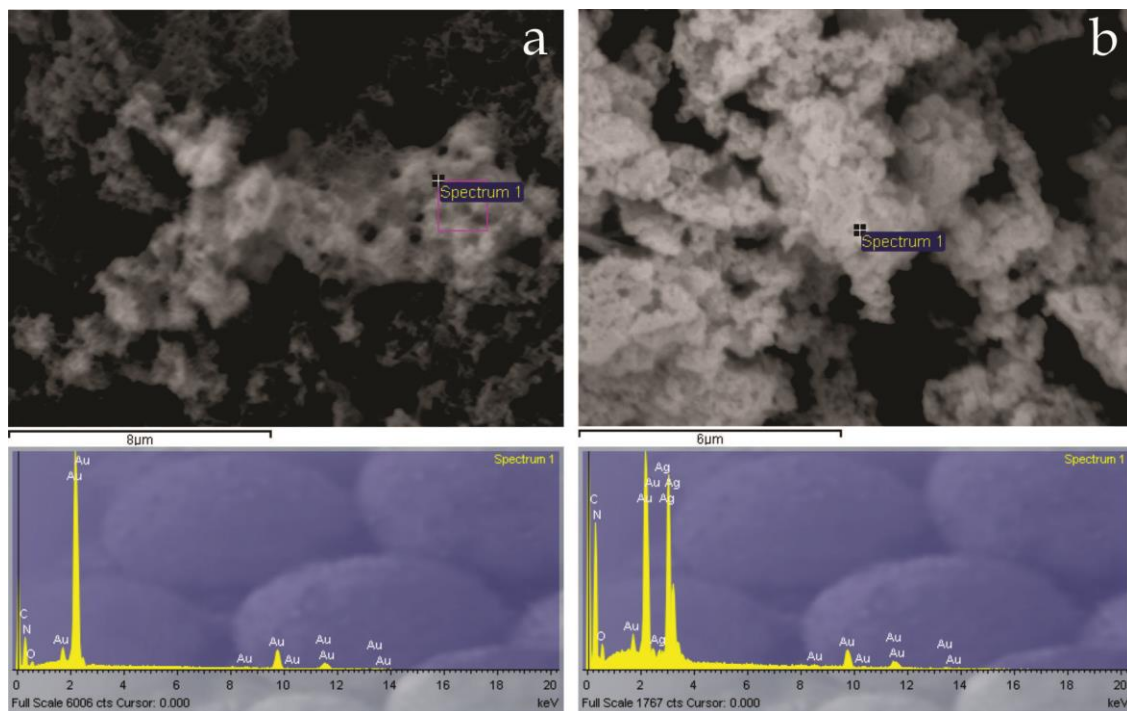
Morfologija površine sintetisanog GEC2/Ag ispitivana je metodom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Na Slici 45 prikazani su SEM snimci GEC2/Ag pri različitim uvećanjima (25000x i 50000x). Usled limitirane rezolucije čak i pri najvećim mogućim uvećanjima korišćenog instrumenta, čestice srebra nanometarskih dimenzija se ne mogu primetiti i identifikovati. Međutim, vidi se da formiranje nanočestica Ag ne dovodi do narušavanja porozne strukture kopolimernog nosača.



Slika 45 SEM snimci GEC2/Ag pri različitim uvećanjima (a,b)

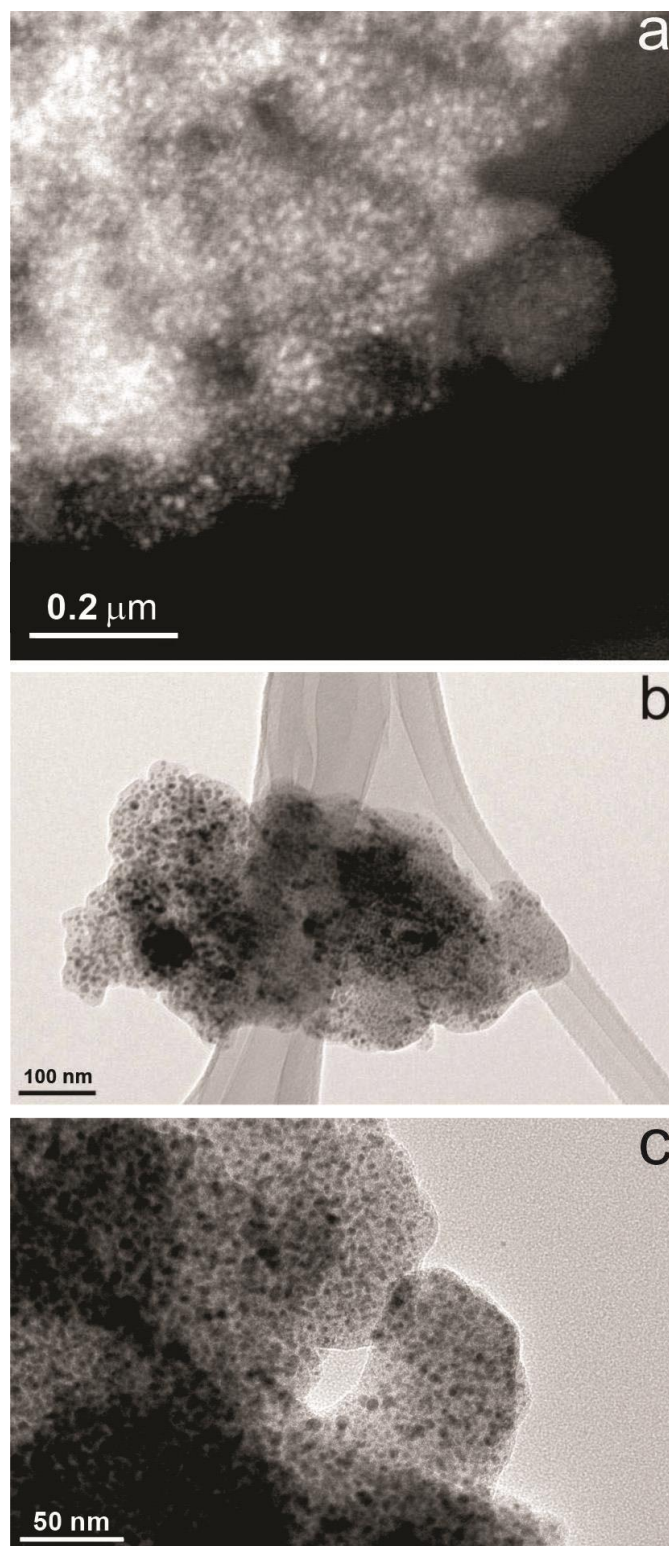
Paralelno sa SEM merenjem izvršena je i kvalitativna elementarna analiza GEC2 (Slika 46a) i GEC2/Ag uzoraka (Slika 46b). Prisustvo azota na Slici 46a predstavlja dodatnu potvrdu uspešne funkcionalizacije poli(GMA-*ko*-EGDMA) sa 1,2-diaminoetanom. Iako se na SEM snimcima GEC2/Ag, iz napred navedenih razloga, nisu mogle primetiti nanočestice Ag, EDX spektroskopijom je utvrđeno prisustvo atoma srebra, što još jedan od pokazatelja uspešnog odigravanja reakcije redukcije Ag⁺ jona.

Na osnovu snimaka GEC2/Ag dobijenih pomoću transmisiona elektronske mikroskopije (TEM) određena je veličina, oblik i prostorni raspored formiranih nanočestica Ag. Na Slici 47 su prikazani TEM snimci GEC2/Ag pri različitim uvećanjima i različitim uslovima merenja (Slika 47a je dobijena u tamnom polju, a Slike 47b i 47c u svetlom polju).



Slika 46 (a) SEM snimak GEC2 čestica sa odgovarajućim EDX spektrom; (b) SEM snimak GEEN/Ag sa odgovarajućim EDX spektrom

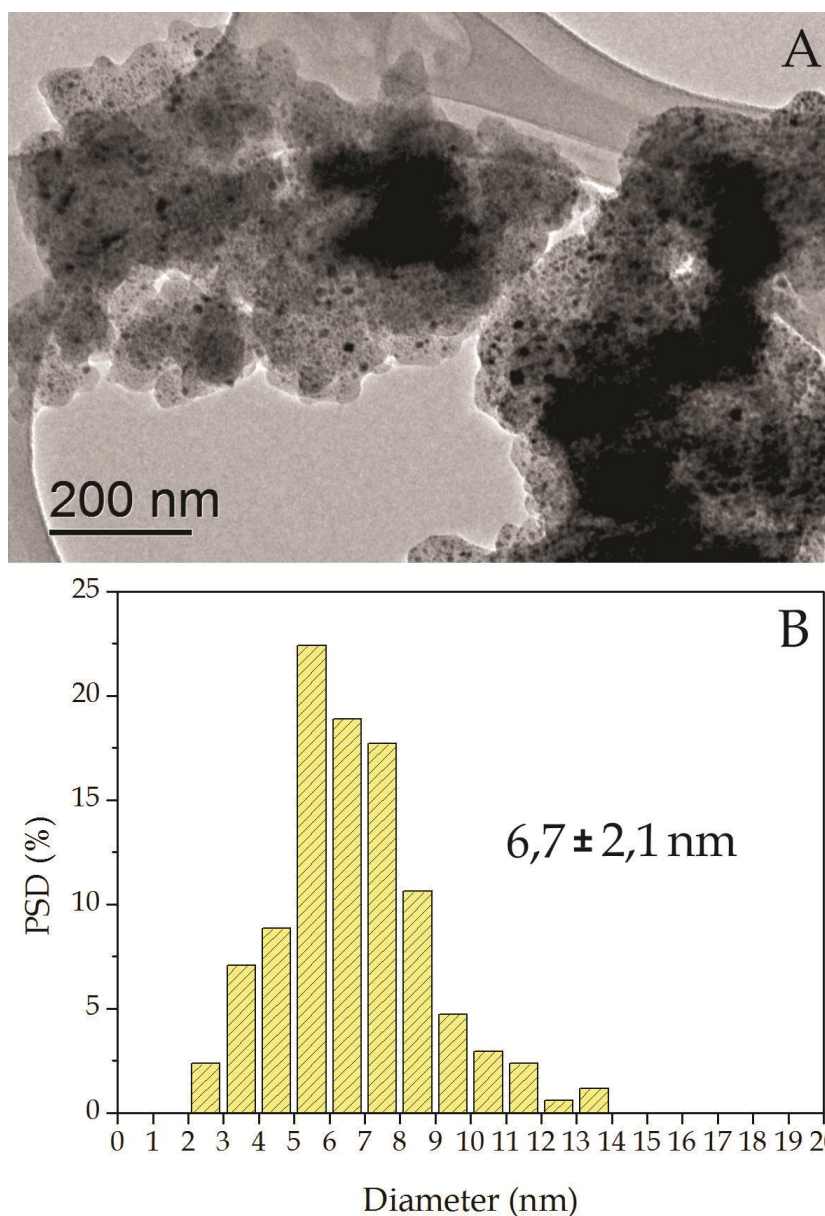
Sa slika se jasno može videti da su sintetisane nanočestice srebra homogeno raspoređene po celom uzorku. Ovi rezultati ukazuju da je, zahvaljujući tome što korišćeni makroporozni kopolimerni nosač poseduje permanentnu poroznost, ostvarena difuzija jona srebra kroz čitavu zapreminu korišćenog nosača. Homogenu raspodelu metalnih nanočestica, dobijenih "in situ" sintezom na polimernom nosaču koji ne poseduje permanentnu poroznost, nije moguće dobiti. Tako, za "in situ" sintetisane nanočestice Au na liofilizovanom gelu poli(ST-ko-DVB), je utvrđeno da raspodela nanočestica Au duž unutrašnje porozne površine poli(ST-ko-DVB) nije homogena, odnosno da je veća koncentracija primećena bliže spoljašnjoj površini kopolimernog nosača [187]. Dimenzije prečnika formiranih sfernih nanočestica Au takođe su se razlikovale u zavisnosti od njihovog položaja unutar polimerne matrice. Dobijeni podaci mogu se objasniti otežanom difuzijom AuCl_4^- jona u unutrašnju strukturu ovog makroporoznog kopolimernog nosača [187].



Slika 47(a-c) TEM snimci GEC2/Ag pri različitim uvećanjima

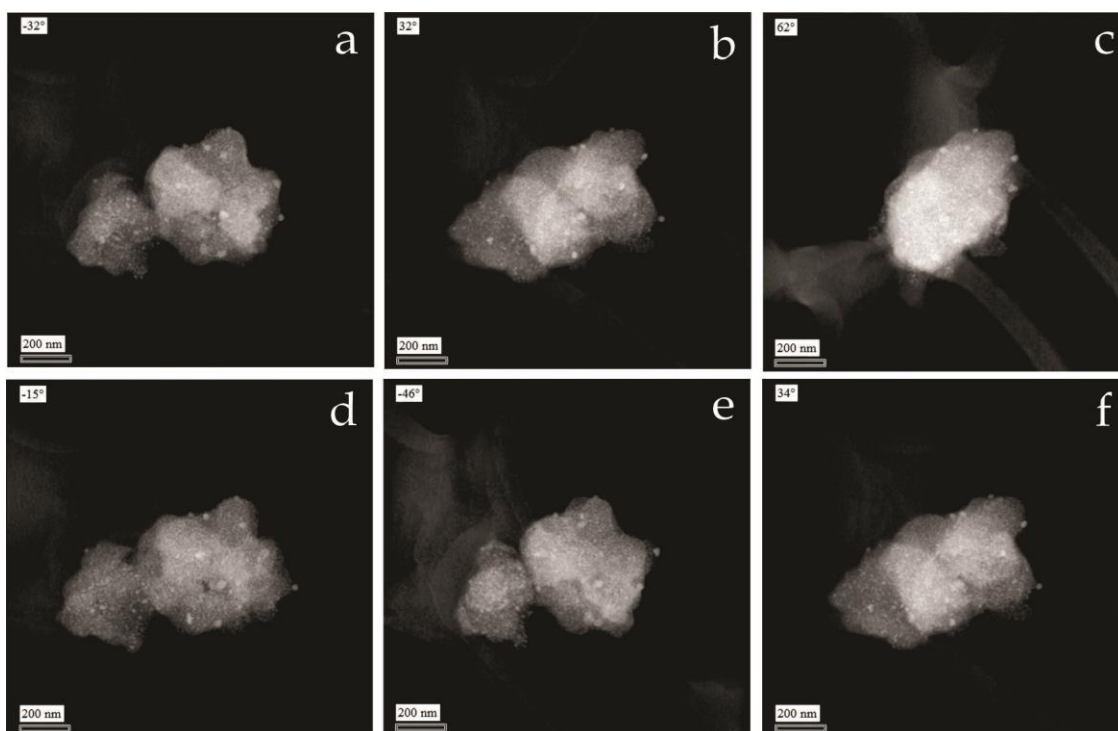
Na Slici 48 A prikazan je TEM snimak GEC2/Ag sa odgovarajućim histogramom distribucije veličine čestica Ag (Slika 48 B). Na osnovu TEM analize

uzorka GEC2/Ag (Slika 48 A) vidimo prisustvo velikog broja neaglomerisanih/zasebnih nanočestica Ag sfernog oblika, sa veličinom srednjeg prečnika čestica od oko 6,7 nm. Upoređivanjem rezultata dobijenih na osnovu TEM merenja i prisustva površinskog plazmona u refleksionom spektru GEC2/Ag vidimo da su čestice nanometraskih dimenzija i sfernog oblika, kao i da nije došlo do spajanja čestica u veće agregate, što se na osnovu TEM slike jasno vidi.



Slika 48 TEM slika GEC2/Ag (A) sa odgovarajućim histogramom distribucije veličine čestica Ag (B)

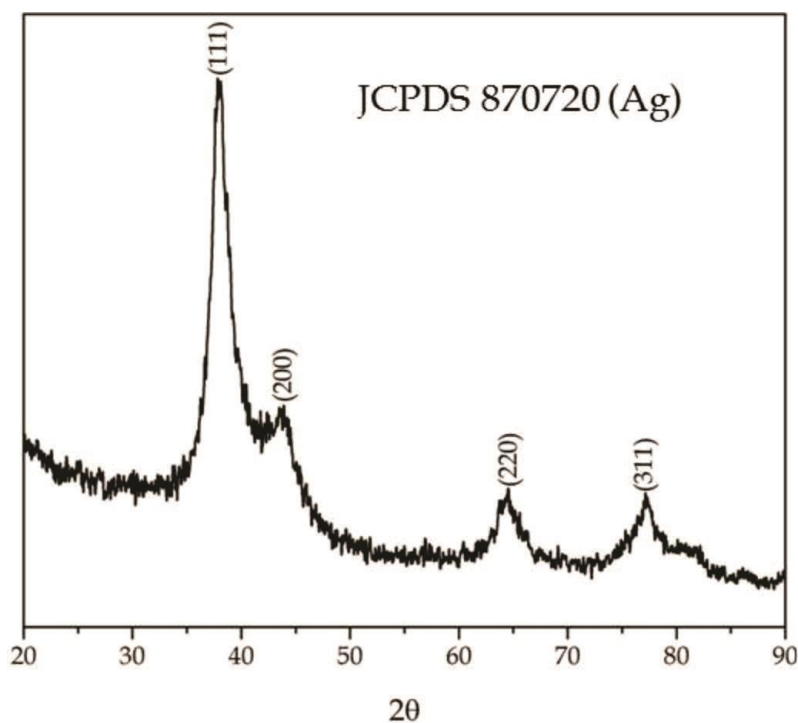
Kao dodatna TEM analiza, izvedena je tomografska rekonstrukcija GEC2/Ag uzorka na osnovu velikog broja snimaka dobijenim pod različitim uglovima uzorka u odnosu na elektronski snop, tj. takozvanim naginjanjem uzorka (Slika 49 a-f). Dobijene trodimenzionalne slike jasno ukazuju na homogenu raspodelu nanočestica Ag po čitavom uzorku usled makroporozne prirode polaznog kopolimernog nosača, poli(GMA-*ko*-EGDMA), odnosno funkcionalizovanog nosača.



Slika 49 TEM snimci GEC2/Ag (a-f)

Kristalna struktura GEC2/Ag analizirana je metodom difrakcije rendgenskih zraka (XRD). Na Slici 50 je prikazan difraktogram GEC2/Ag. Na osnovu prisustva karakterističnih difrakcionih maksimuma izvršena je identifikacija kristalne faze poređenjem položaja i inteziteta detektovanih difrakcionih maksimuma sa odgovarajućim referentnim JCPDS difraktogramima makroskopskih kristala. Položaji difrakcionih pikova se u slučaju GEC2/Ag nalaze na 2θ uglovima: $38,1^\circ$; $43,7^\circ$; $64,3^\circ$; i $77,3^\circ$ i mogu se pripisati Bragg-ovim refleksijama sa kristalnih ravni (111), (200), (220) i (311) površinski centrirane kubne rešetke srebra [228,229]. Dobijeni kristalografski podaci se u potpunosti

slažu sa podacima iz kristalografske baze podataka (JCPDS 870720). Kao što se može primetiti, najintenzivniji difrakcioni pik potiče od refleksije sa (111) ravni. Takođe, difrakcioni pikovi su široki, što je direktna posledica nanometarskih dimenzija kristalnih domena čestica.



Slika 50 Difraktogram GEC2/Ag. Na slici su obeležene pozicije difrakcionih maksimuma i Milerovi indeksi karakterističnih ravni kristalne strukture srebra

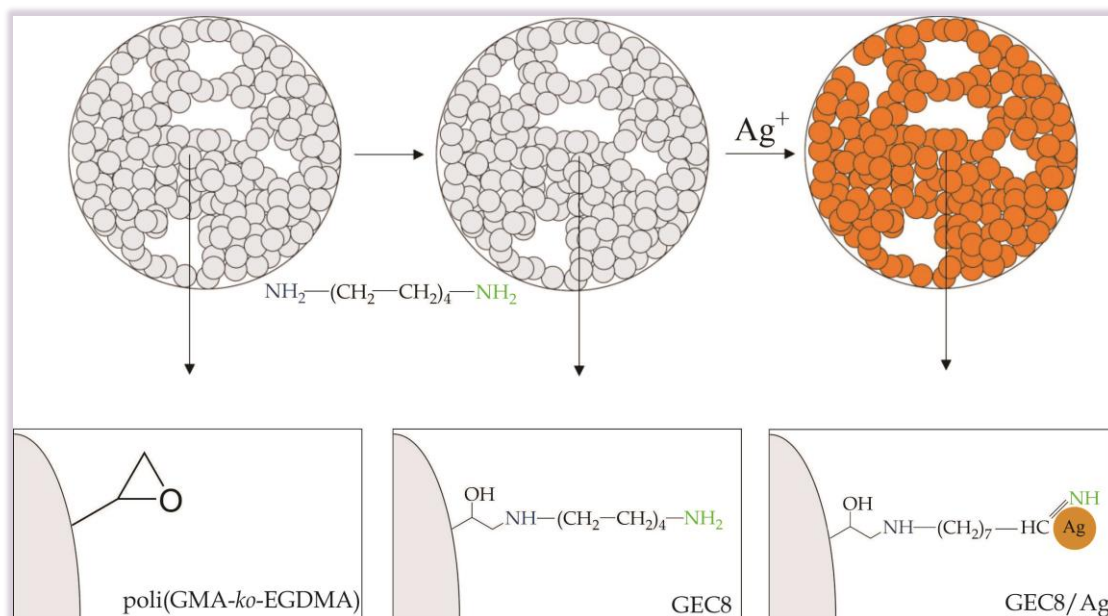
S obzirom na amorfnu strukturu kopolimernog nosača poli(GMA-ko-EGDMA), kao i GEC2, njihovi difraktogrami nisu prikazani. Veličina nastalih Ag kristalita određena je na osnovu difrakcije X zraka korišćenjem Debay-Scherrer-ove jednačine. Na osnovu ove jednačine, izračunata veličina kristalita srebra kod uzorka GEC2/Ag iznosi oko 5 nm. Na osnovu prikazanog vidi se da postoji puna saglasnost u pogledu veličine čestica Ag određene na osnovu rezultata TEM, XRD i spektroskopskih merenja.

Na osnovu rezultata atomske emisije spektroskopije sadržaj Ag u GEC2/Ag iznosio je 52,0 mas.%, dok je na osnovu rezultata elementarne analize konverzija epoksidnih grupa iznosila 52,9%, pri čemu je na osnovu rezultata

transmisiona elektronska mikroskopija srednji prečnik čestica iznosio oko 6,7 nm. Kada je kao modifikator korišćen amonijak, kao što je navedeno u prethodnom poglavlju, sadržaj Ag sintetisanog na GENH₂ nosaču, imao je vrednost 5,0 mas.% sa konverzijom epoksidnih grupa od 47,5% i veličinom srednjeg prečnika čestica od oko 12,1 nm. Na osnovu dobijenih rezultata vidimo da pri približno istoj konverziji epoksidnih grupa kod GENH₂ i GEC2, u uzorku GEC2/Ag težinski udeo neorganske faze je veći nego u GENH₂/Ag. U slučaju kada je korišćen GENH₂ nosač, primarna amino grupa se nalazi jako blizu same površine nosača, što očigledno otežava odigravanje reakcije između amino grupe i jona srebra. U drugom slučaju, kada je kao nosač korišćen GEC2 kopolimer, primarna amino grupa nije više tako blizu površine kopolimera usled čega se reakcija sa jonima srebra može lakše odvijati. Takođe, sem primarne amino grupe, na ovom nosaču postoji i sekundarna amino grupa, ali se ne može sa sigurnošću reći koja je njena uloga u samoj reakciji redukcije jona srebra i kasnije u stabilizaciji nastalih čestica srebra. Takođe se vidi da su dimenzije čestica srebra koje su sintetisane na GEC2 nosaču skoro dva puta manje od dimenzija čestica sintetisanih na GENH₂ nosaču. Razlog za to je verovatno smanjena reaktivnost amino grupe na GENH₂ nosaču usled čega je smanjena i brzina nukleacije, pa je nastao manji broj centara kristalizacije i samim tim dimenzije nastalih čestica su veće.

4.3.3. Sinteza nanočestica Ag na GEC8

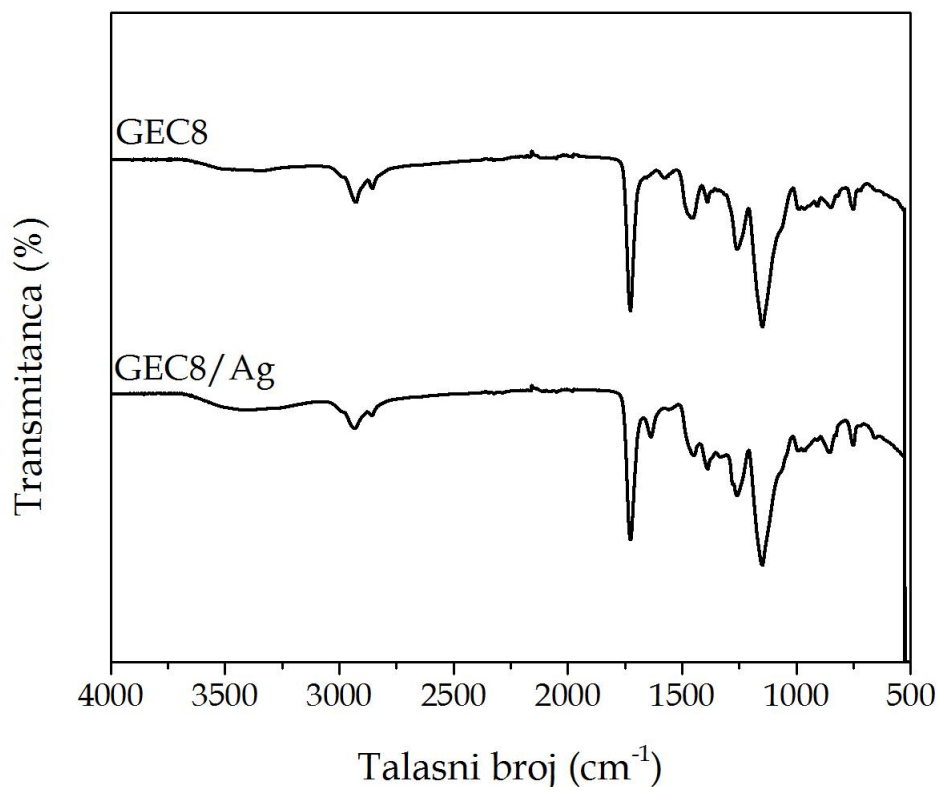
Na Slici 51 prikazana je predložena šema formiranja nanočestica Ag na modifikovanom kopolimernom nosaču GEC8.



Slika 51 Predložena šema formiranja nanočestica Ag na GEC8

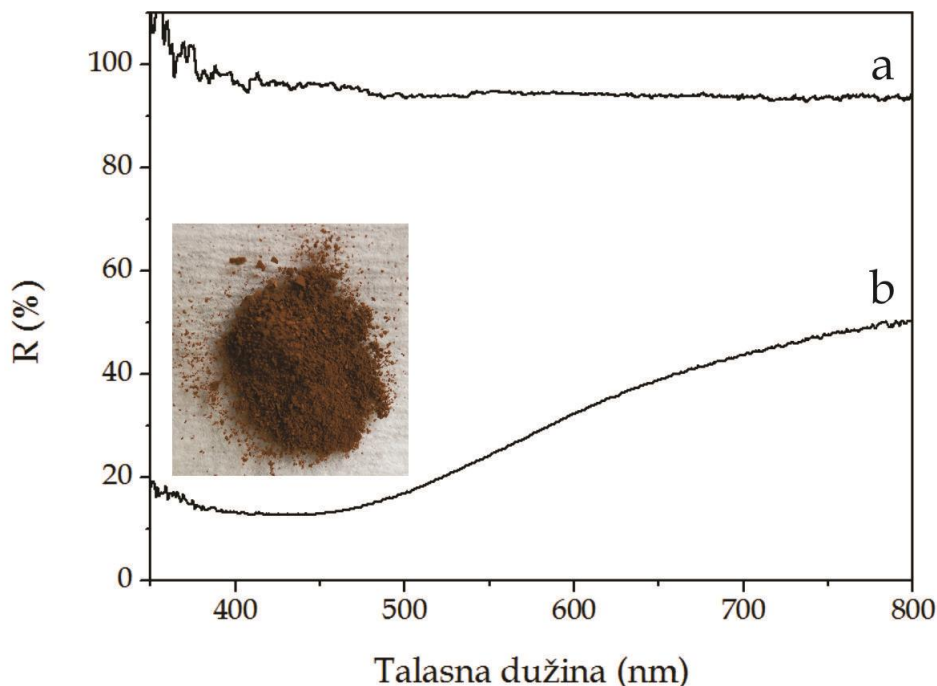
Kako bi utvrdili do kojeg tipa interakcija dolazi između modifikovanog kopolimernog nosača GEC8 i nanočestica Ag izvršena su FTIR spektroskopska merenja. Na Slici 52 prikazani su FTIR spektri modifikovanog kopolimernog nosača GEC8 i GEC8 sa nanočesticama Ag, GEC8/Ag. Poređenjem prikazanih spektara vidimo da je kod GEC8/Ag došlo do povećanja inteziteta apsorpcione trake na 1642 cm^{-1} , kao i u slučaju GENH_2/Ag i $\text{GEC2}/\text{Ag}$. Navedena vibraciona traka potiče od valencionih vibracija C=N veze, što nam govori da je mehanizam formiranja nanočestica srebra isti kao i u slučaju kada je kao nosač korišćen GEC2 makroporozni kopolimer. Vibraciona traka koja se javlja na 3300 cm^{-1} usled =N-H valencionih vibracija se preklapa sa O-H valencionim vibracijama u oblasti od 3100 do 3600 cm^{-1} [102,226]. Na osnovu prethodnog, možemo reći da je do formiranja nanočestica Ag na funkcionalizovanom umreženom makroporoznom

kopolimernom nosaču sa 1,8-diaminooktanom došlo koordinacijom površine nanočestica Ag i nastale imino grupe.



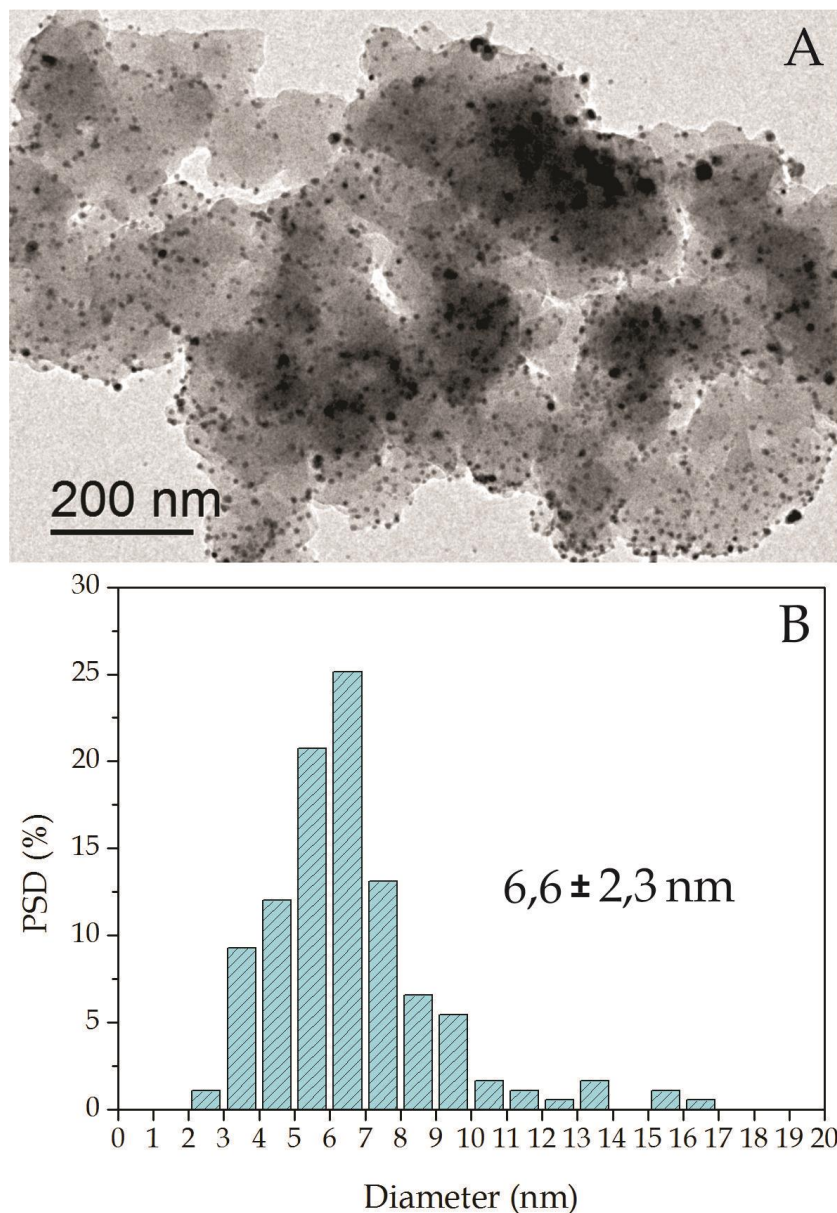
Slika 52 FTIR spektri GEC8 i GEC8/Ag

Optička svojstva sintetisanih uzoraka GEC8 i GEC8/Ag ispitivana su korišćenjem refleksione spektroskopije. Na Slici 53 su prikazani refleksioni spektri GEC8 (Slika 53a) i GEC8/Ag (Slika 53b). Kao što se može videti, GEC8 (Slika 53a) ne apsorbuje u vidljivoj spektralnoj oblasti, što kao i u slučaju GENH₂ i GEC2 omogućava nesmetanu karakterizaciju optičkih svojstava metalnih nanočestica koordinisanih za kopolimerni nosač. Sintetisani GEC8/Ag za razliku od belog praškastog kopolimernog nosača ima intenzivnu žuto-braon boju. Refleksioni spektar GEC8/Ag (Slika 53b) sadrži karakterističan pik na 418 nm usled rezonance nanočestica Ag koji ukazuje da je veličina sintetisanih čestica Ag nanometarskih dimenzija i da su one najverovatnije sfernog oblika [72]. Starenje GEC8/Ag uzorka tokom dužeg vremenskog perioda u normalnim laboratorijskim uslovima nije dovelo do bilo kakve vidljive promene boje uzorka.



Slika 53 Refleksioni spektri GEC8 (a) i GEC8/Ag (b) sa umetnutom fotografijom uzorka u prahu

Veličina, oblik i raspored sintetisanih nanočestica srebra na makroporoznom kopolimernom nosaču određeni su uz pomoć rezultata transmisionne elektronske mikroskopije. Na Slici 54 A prikazan je TEM smimak GEC8/Ag sa odgovarajućim histogramom distribucije veličine čestica Ag (Slika 54 B). Na osnovu TEM analize uzorka GEC8/Ag (Slika 54 A) vidimo prisustvo velikog broja neaglomerisanih/zasebnih nanočestica Ag sfernog oblika, sa veličinom srednjeg prečnika čestica od oko 6,6 nm (Slika 54 B). Sa slike se može videti da su čestice relativno homogeno raspoređene po površini makroporoznog kopolimernog nosača.



Slika 54 TEM slika GEC8/Ag (A) sa odgovarajućim histogramom distribucije veličine čestica Ag (B)

Apsorpcioni spektar nanočestica Ag zavisi od oblika i veličine samih čestica, kao i od dielektričkih svojstava sredine u kojoj se nalaze. Karakterističan položaj plazmanskog pika sfernih nanočestica srebra veličine oko 5 nm dispergovanih u vodi se nalazi na oko 390 nm [95]. Položaji apsorpcionih maksimuma na refleksionim spektrima nanočestica srebra sintetisanim na makroporoznim kopolimernim nosačima GENH₂, GEC2 i GEC8 su pomereni ka

većim talasnim dužinama, 425, 415 i 418 nm, u poređenju sa položajem površinskog plazmona nanočestica Ag dispergovanih u vodi.

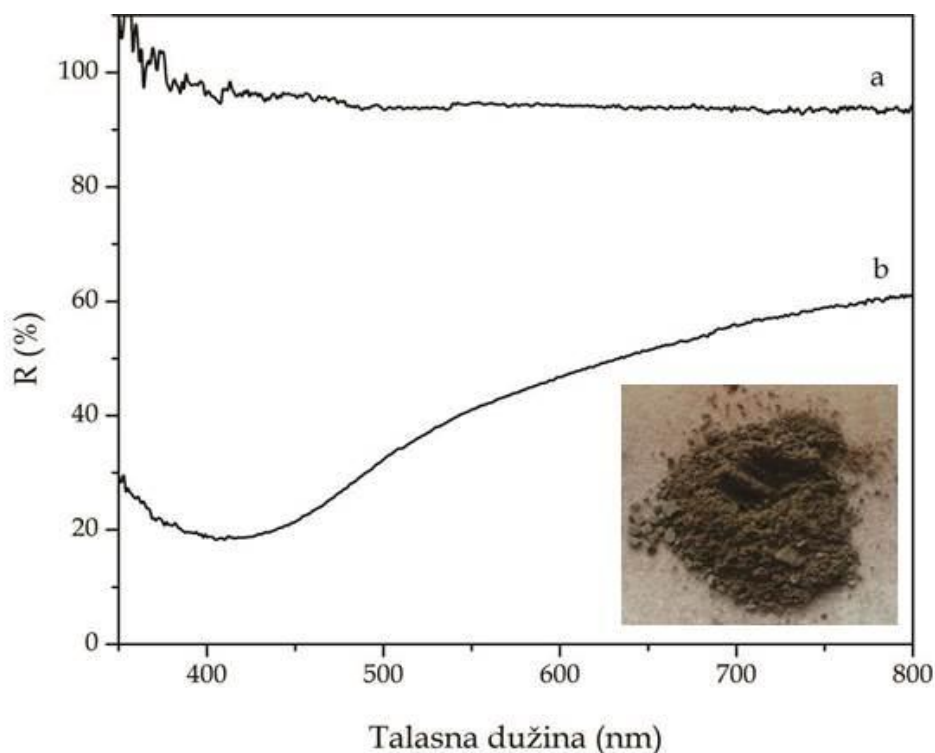
Značajan doprinos razumevanju optičkih svojstava metalnih nanočestica je dao Henglein, u čijim radovima je nedvosmisleno pokazano da položaj plazmanskog pika zavisi od oblika i veličine koloidnih čestica. Kod sfernih, metalnih nanočestica se javlja jedan apsorpcioni maksimum, čiji položaj se pomera ka većim talasnim dužinama sa povećanjem veličine čestica. [24,26,46]. S obzirom da su kod uzoraka GEC2/Ag i GEC8/Ag, dobijene bliske vrednosti srednjeg prečnika nanočestica Ag koje iznose 6,7 i 6,6 nm, nema značajne promene položaja apsorpcionog maksimuma kod uzoraka GEC2/Ag (415 nm) u odnosu na uzorak GEC8/Ag (418 nm). Međutim, kod uzorka GENH₂/Ag položaj površinskog plazmona (425 nm) je pomeren ka većim talasnim dužinama usled sintetisanih nanočestica Ag većih dimenzija (12,1 nm), što je i potvrđeno na osnovu rezultata transmisiona elektronske mikroskopije.

Na osnovu rezultata atomske emisije spektroskopije sadržaj Ag u GEC8/Ag iznosio je 10,0 mas.%, dok je na osnovu rezultata elementarne analize konverzija epoksidnih grupa iznosila 33,5%, a srednji prečnik čestica 6,6 nm. Ako se uporede dobijeni rezultati za uzorke GEC8/Ag i GENH₂/Ag, vidi se da je za manji stepen konverzije epoksidnih grupa na nosaču GEC8 nastalo dva puta više srebra nego na GENH₂ nosaču. Najverovatniji razlog za to jeste što su u slučaju GEC8 uzorka primarne amino grupe udaljenije od površine samog nosača, pa su time i dostupnije za reakciju sa jonima srebra iz rastvora. Razlog zašto su nastale čestice srebra različitih dimenzija je isti kao i u slučaju kada je korišćen GEC2 nosač, tj. različita brzina nukleacije. Sa druge strane, ako se uporede dobijeni rezultati za uzorke GEC8/Ag i GEC2/Ag vidi se da su nastale čestice srebra gotovo istih dimenzija, s tim da je težinski udeo neorganske faze kod GEC8/Ag imao pet puta manju vrednost. Dobijeni rezultati ukazuju da je odnos brzina nukleacije i rasta kristala bio približno isti, na osnovu čega se može zaključiti da veća dužina ugljovodoničnog lanca kod GEC8 nosača nema uticaja na reaktivnost primarne amino grupe. Razlog zašto je na GEC8 nosaču nastalo pet

puta manje srebra nego na GEC2 je najverovatnije taj što se zbog znatno dužeg ugljovodoničnog lanca određena količina 1,8-diaminooktana vezala sa obe svoje amino grupe za nosač, pa je broj primarnih amino grupa, potrebnih za redukciju jona srebra, bio manji nego što je bio stepen konverzije epoksidnih grupa, a što u slučaju kada je kao modifikator korišćen 1,2-diaminoetan, nije bilo moguće. Kolika je količina 1,8-diaminooktana vezana za kopolimerni nosač na ovaj način, nije bilo moguće odrediti jer je stepen modifikacije epoksidnih grupa, odnosno količina modifikatora koja se vezala za nosač određena na osnovu sadržaja azota u modifikovanom kopolimeru.

4.3.4. Sinteza nanočestica Ag na GEArg

Sinteza nanočestica srebra na GEArg makroporoznom kopolimernom nosaču izvedena je, za razliku od prethodna tri slučaja, u vodenoj sredini na način koji je detaljno opisan u eksperimentalnom delu, poglavlje 3.4.

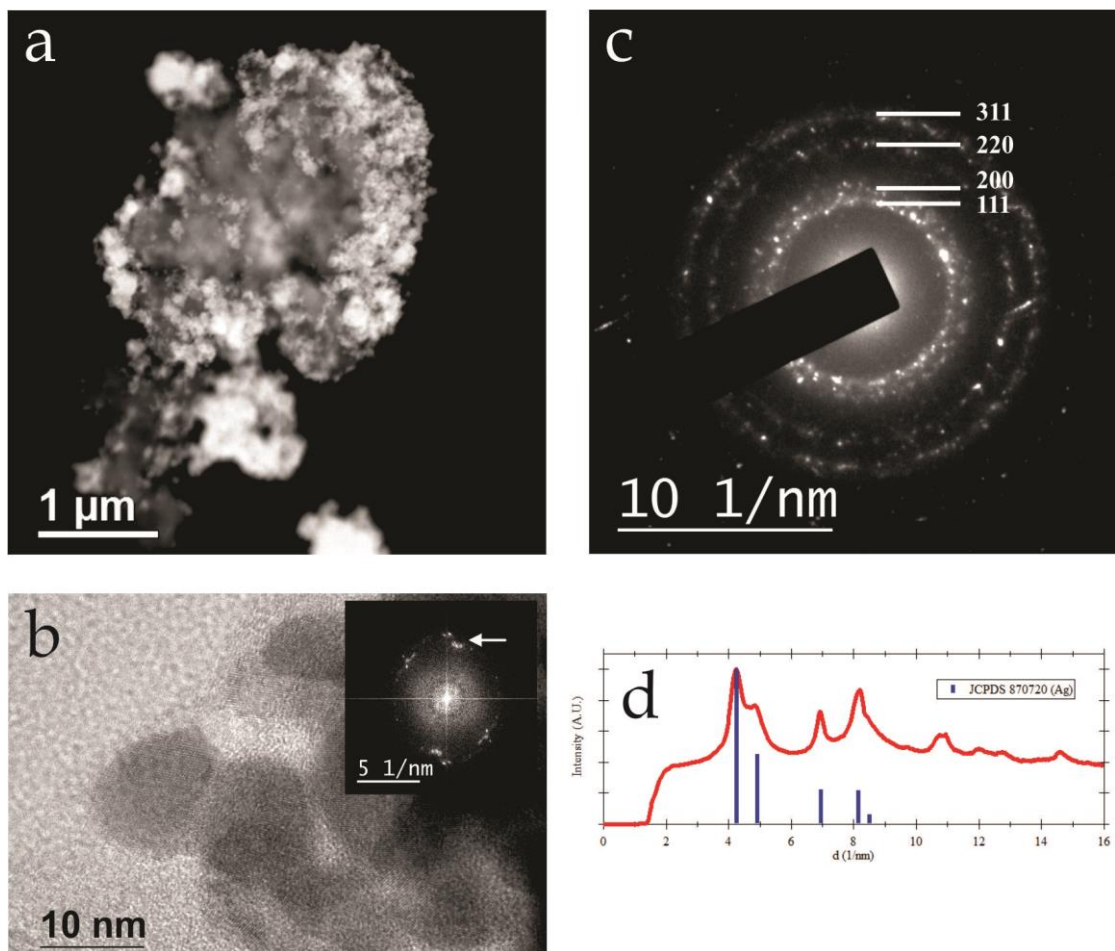


Slika 55 Refleksioni spektri GEArg (a) i GEArg/Ag (b) sa umetnutom fotografijom uzorka u prahu

Optička svojstva sintetisanog GEArg/Ag uzorka ispitivana su primenom refleksione spektroskopije. Na Slici 55 su prikazani refleksioni spektri kopolimernog nosača GEArg (Slika 55a), i GEArg/Ag (Slika 55b). Sa slike se može videti da makroporozni kopolimerni nosač GEArg ne apsorbuje u vidljivom delu spektra. U isto vreme u spektru koji odgovara GEArg/Ag uzorku uočava se prisustvo karakterističnog pika rezonantnog površinskog plazmona srebra na 418 nm, na osnovu čega se može zaključiti da su čestice srebra, sintetisane na GEArg nosaču, sfernog oblika i da imaju nanometarske dimenzije [72].

Sadržaj srebra u GEArg/Ag uzorku određen je na potpuno isti način kao i za prethodna tri uzorka primenom atomske emisije spektroskopije. Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da sadržaj srebra u GEArg/Ag uzorku iznosi 1 mas.-%.

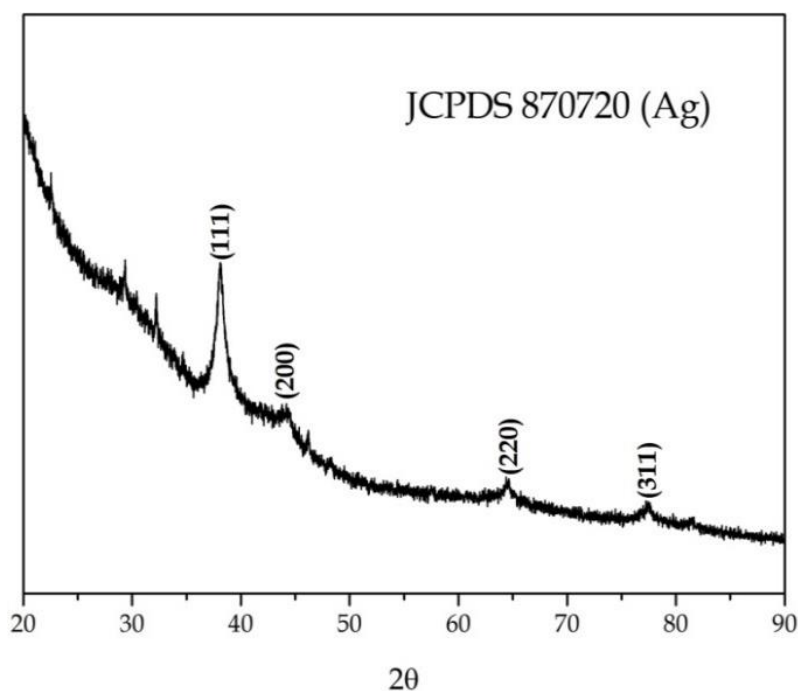
Morfologija nanočestica srebra sintetisanih na GEArg nosaču ispitivana je pomoću transmisiona elektronske mikroskopije. TEM analiza GEArg/Ag u tamnom polju (Slika 56a) i pri manjim uvećanjima ukazuje na prisustvo nanočestica Ag. U visoko-rezolucionim uslovima merenja, tj. pri velikim uvećanjima (Slika 56b) može se uočiti jasno definisana kristalna struktura nanočestica Ag dimenzija od 5-10 nm. Analizom elektronskog difraktograma (slika 56c) mogu se identifikovati kristalografske ravni: (111), (200), (220) i (311), koje potiču od refleksija površinski centrirane kubne rešetke srebra [228,229].



Slika 56 TEM snimci GEArg/Ag (a,b), elektronski difraktogram sa indeksiranim ravnima (c), difraktogram sa obeleženim pozicijama pikova karakterističnih za površinski centriranu kubnu rešetku srebra (d); dodatak na slici (b) elektronski difraktogram sa indeksiranom kristalnom ravni (111)

Kristalna struktura GEArg/Ag analizirana je metodom difrakcije rendgenskih zraka (XRD). Na Slici 57 je prikazan difraktogram GEArg/Ag. Na osnovu prisustva karakterističnih difrakcionih maksimuma izvršena je identifikacija kristalne faze poređenjem položaja i inteziteta detektovanih difrakcionih maksimuma sa odgovarajućim referentnim JCPDS difraktogramima makroskopskih kristala. Položaji difrakcionih pikova se u slučaju GEArg/Ag nalaze na 2θ uglovima: $38,1^\circ$; $43,7^\circ$; $64,3^\circ$; i $77,3^\circ$ i mogu se pripisati Bragg-ovim refleksijama sa kristalnih ravni (111), (200), (220) i (311) površinski centrirane kubne rešetke srebra [228,229]. Dobijeni kristalografski podaci se u potpunosti

slažu sa podacima iz kristalografske baze podataka (JCPDS 870720). Rezultati dobijeni analizom elektronske difrakcije su saglasni sa rezultatima XRD analize sintetisanih uzoraka.

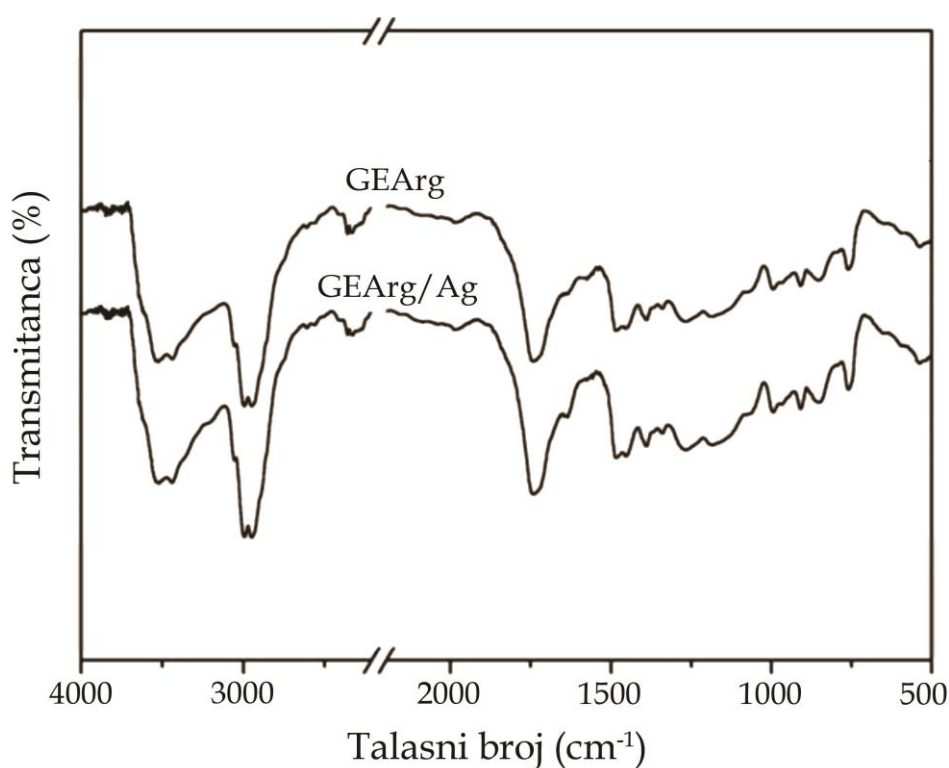


Slika 57 Difraktogram GEArg/Ag. Na slici su obeležene pozicije difrakcionih maksimuma i Milerovi indeksi karakterističnih ravni kristalne strukture srebra

Na osnovu dobijenih rezultata kristalografskih merenja, veličina nastalih kristalita srebra određena je primenom Debay-Scherrer-ove jednačine. Na ovaj način izračunata veličina kristalita srebra kod uzorka GENH₂/Ag je iznosila oko 5 nm. Na osnovu prikazanih rezultata vidi se da postoji puna saglasnost u pogledu veličine sintetisanih čestica srebra dobijenih na osnovu TEM, XRD i spektroskopskih merenja.

Svojstva sintetisanog GEArg/Ag uzorka ispitivana su i primenom FTIR spektroskopije. Na Slici 58 prikazani su FTIR spektri modifikovanog kopolimernog nosača GEArg i GEArg/Ag uzorka. Poređenjem FTIR spektara GEArg i GEArg/Ag uzoraka vidi se da svi pikovi koji se javljaju u spektru GEArg uzorka su prisutni i u spektru GEArg uzorka. Jedina razlika koja se može uočiti

poredeći ova dva spektra jeste, da u spektru GEArg/AG uzorka dolazi do neznatnog povećanja intenziteta pikova koji odgovaraju N-H vibracijama istezanja i savijanja i do neznatnog smanjenja intenziteta pika koji odgovara vibracijama istezanja COO⁻ grupa. Imajući u vidu mali sadržaj srebra u uzorku GEArg/Ag, ove neznatne razlike u FTIR spektrima ova dva uzorka bile su i za očekivati, a na osnovu ovih rezultata ne može se sa pouzdanošću zaključiti na koji način je izvršena redukcija Ag⁺ jona i kako su nastale nanočestice Ag imobilisane na kopolimerni nosač.

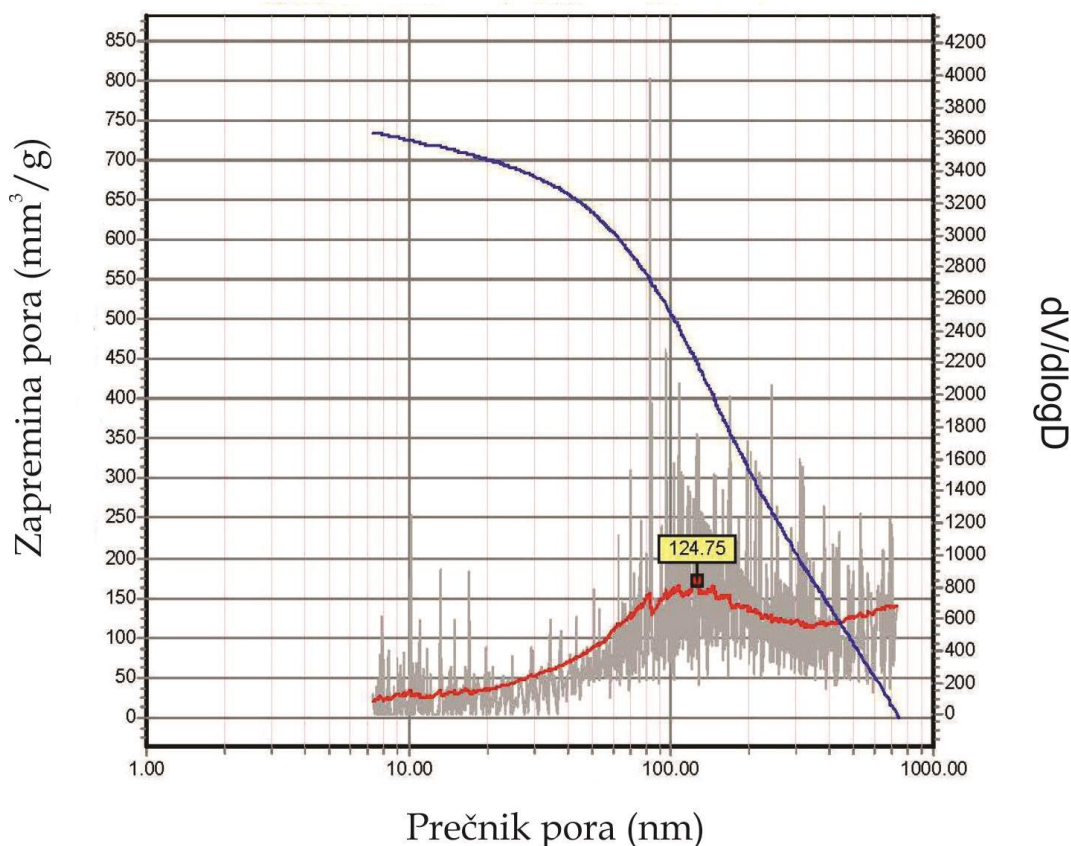


Slika 58 FTIR spektri GEArg i GEArg/Ag

Aminokiseline mogu da grade različite vrste kompleksa sa jonima srebra. Energetski najpovoljniji su bidentatni kompleksi, a veze se mogu uspostaviti između dva atoma kiseonika iz karboksilne grupe, između karboksilne grupe i amino grupe sa α -ugljenikovog atoma i karboksilne grupe i nekog heteroatoma iz bočne grupe [230]. Zahvaljujući tome što mogu da grade komplekse sa jonima srebra, aminokiseline mogu imati različitu ulogu u procesu sinteze nanočestica

srebra. Neke aminokiseline, kao što su tirozin i asparaginska kiselina, su korišćene kao redukciono sredstvo u procesu dobijanja nanočestica srebra [231,232]. Nanočestice srebra, srednjeg prečnika čestica od 11 nm i sa uskom raspodelom veličina čestica, dobijene su u etilen glikolu na 60 °C uz dodatak arginina. Najpre je došlo do stvaranja kompleksa između karboksilne grupe arginina i jona srebra što je olakšalo redukciju jona srebra. Redukcija jona srebra ubrzana je zahvaljujući interakciji bočne grupe arginina i etilen glikola, a arginin je kordinisan za površinu nastalih čestica srebra preko karboksilatnog anjona [233].

Metodom živine porozimetrije određena je veličina pora GEArg/Ag uzorka. Na Slici 59 prikazana je integralna i diferencijalna kriva raspodele zapremine pora po prečnicima pora kod GEArg/Ag.



Slika 59 Integralna i diferencijalna kriva raspodela zapremine pora po prečnicima pora kod GEArg/Ag

Poredjenjem diferencijalnih krivih polaznog umreženog makroporoznog poli(GMA-*ko*-EGDMA) (Slika 22) i GEArg/Ag (Slika 59) može se uočiti da nema značajnije razlike u veličini i raspodeli veličina pora.

Nakon funkcionalizacije kopolimernog nosača i imobilizacije nanočestica Ag nije došlo do narušavanja porozne strukture polaznog kopolimernog materijala. Srednji prečnik pora za GEArg/Ag uzorak iznosi 125 nm, dok je srednji prečnik pora za polazni nemodifikovani kopolimer iznosio 137 nm. Dobijena vrednost specifične površine GEArg/Ag uzorka je 38 m²/g i odnosi se na unutrašnju površinu poroznog materijala, pod kojom se podrazumeva površina svih pora, kao i površina svih pukotina koja imaju veću dubinu nego širinu [217,218]. Spečifična površina poli(GMA-*ko*-EGDMA) imala je neznatno nižu vrednost (36 m²/g) u poređenju sa GEArg/Ag što ukazuje na veoma malu razliku u gustini ova dva materijala.

4.4. Određivanje antimikrobnih svojstava nanočestica Ag na funkcionalizovanom makroporoznom nosaču

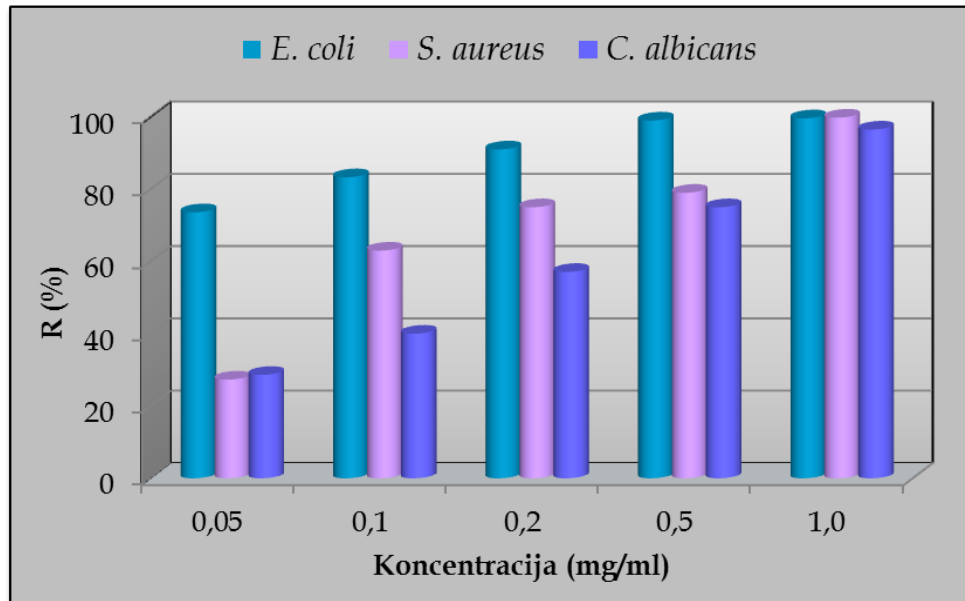
4.4.1. Antimikrobna svojstva GEC2/Ag

Antimikrobna svojstva nanočestica Ag sintetisanih na makroporoznom nosaču modifikovanom 1,2-diaminoetanom testirana su na Gram-negativnu bakteriju *E. coli*, Gram-pozitivnu bakteriju *S. aureus* i gljivicu *C. albicans*. Kako bi se utvrdilo da li dolazi do različitih odgovora bakterija i gljivica (*E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*) prilikom određivanja antimikrobnih svojstava, tokom izvođenja eksperimenata korišćene su različite koncentracije uzorka GEC2/Ag u fiziološkom rastvoru (od 0,05 do 1,0 mg/ml). Takođe, treba napomenuti da je koncentracija nanočestica Ag činila jednu polovinu od ukupne koncentracije materijala, odnosno od 25 do 500 µg/ml. Rezultati ovih ispitivanja izraženi su preko procentualnih vrednosti smanjenja broja ćelija bakterija i gljivica u odnosu na početni broj. Procentualno smanjenje broja ćelija testiranih mikroorganizama praćeno je nakon inkubacije od 1 h na 37 °C i u funkciji koncentracije GEC2/Ag.

Rezultati su prikazani u Tabeli 10. Na osnovu prikazanih rezultata možemo videti da pri koncentracijama GEC2/Ag od 0,05 do 0,5 mg/ml najveći procenat smanjenja broja ćelija bakterije *S. aureus* i gljivice *C. albicans* ne prelazi 80%. Za razliku od toga, pod istim uslovima, procenat smanjenja broja ćelija *E. coli* dostiže vrednost od 99,0% pri koncentraciji GEC2/Ag od 0,5 mg/ml. Pri višoj koncentraciji GEC2/Ag koja iznosi 1 mg/ml dolazi do povećanja vrednosti procenta smanjenja broja ćelija kod bakterija *E. coli* i *S. aureus* koje iznose 99,6% i 98,8%. Kod gljivice *C. albicans* postignuta vrednost procenta smanjenja broja ćelija, za istu koncentraciju iznosi zadovoljavajućih 96,5%. Neophodno je ponoviti da koncentracija srebra u uzorku čini polovinu koncentracije GEC2/Ag.

Tabela 10 Antimikrobna svojstva GEC2/Ag različitih koncentracija sa vremenom kontakta od 1h

Uzorak GEC2/Ag (mg/ml)	Mikroorganizam	Početni broj kolonija mikroorganizma (CFU)	Broj kolonija mikroorganizma nakon kontakta sa uzorkom (CFU)	R (%)
0,05	<i>E. coli</i>	$3,6 \cdot 10^6$	$9,5 \cdot 10^5$	73,6
0,1		$7,8 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	83,3
0,2		$4,2 \cdot 10^6$	$3,8 \cdot 10^5$	91,0
0,5		$3,2 \cdot 10^6$	$3,2 \cdot 10^4$	99,0
1,0		$5,4 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^4$	99,6
0,05	<i>S. aureus</i>	$3,6 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$	27,3
0,1		$7,8 \cdot 10^5$	$2,9 \cdot 10^5$	63,0
0,2		$4,2 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^6$	75,0
0,5		$3,2 \cdot 10^6$	$6,7 \cdot 10^5$	79,0
1,0		$5,4 \cdot 10^6$	$6,1 \cdot 10^5$	98,8
0,05	<i>C. albicans</i>	$3,6 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$	28,6
0,1		$7,8 \cdot 10^5$	$4,7 \cdot 10^5$	40,0
0,2		$4,2 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^6$	57,1
0,5		$3,2 \cdot 10^6$	$8,0 \cdot 10^5$	75,0
1,0		$5,4 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^5$	96,5



Slika 60 Procenat smanjenja broja ćelija (R , %) *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans* u zavisnosti od koncentracije GEC2/Ag (vreme kontakta između mikroorganizama i uzorka iznosilo je 1h)

Radi preglednosti na Slici 60 grafički su prikazane procentualne vrednosti smanjenja broja ćelija (*E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*) u funkciji koncentracije GEC2/Ag (vreme kontakta između mikroorganizama i uzorka iznosilo je 1h). Sa slike se jasno uočava da sa povećanjem koncentracije sintetisanog materijala raste i vrednost procenta smanjenja broja ćelija *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*.

Iako je maksimalni procenat smanjenja broja ćelija postignut pri relativno visokim koncentracijama GEC2/Ag sa vremenom inkubacije od 1h prednost sintetisanog materijala ogleda se u tome da se nanočestice Ag unutar i na makroporoznom polimernom nosaču mogu ponašati kao rezervoari Ag^+ jona omogućavajući kontinualno dovoljno visoku koncentraciju Ag^+ jona kao nosilaca antimikrobnog delovanja u okolnom medijumu. Imobilisane nanočestice Ag u neposrednoj blizini bakterija i gljivica imaju mogućnost otpuštanja i do nekoliko desetina i hiljada atoma srebra stvarajući lokalno visoku koncentraciju antimikrobnih jona [234,235].

Različiti mikroorganizmi poseduju različite odbrambene mehanizme delovanja prilikom izlaganja nanočesticama Ag. Hwang i saradnici [236]

pokazali su da glavna antifungalna aktivnost nanočestica Ag potiče od povećane intracelularne koncentracije reaktivnih vrsta kiseonika kod gljivice *C. albicans*. Na osnovu dobijenih rezultata vidimo da je kod gljivice *C. albicans* ostvaren niži procenat smanjenja broja ćelija u poređenju sa procentom dobijenim za *E. coli* i *S. aureus*. Prikazani rezultati mogu se objasniti sposobnošću gljivica da proizvode antioksidativne enzime kao što je katalaza, koja štiti mikroorganizam od delovanja antimikrobnih agenasa i oksidativnog stresa [237]. Sličan odbrambeni mehanizam delovanja pronađen je i kod *S. aureus* koja, takođe prilikom kontakta sa biocidima proizvodi antioksidativne enzime alkilhidroperoksid reduktazu i stafiloksantin koji zajedno sa katalazom obezbeđuju zaštitu od H₂O₂ i ROS vrsta [238]. Od svih testiranih mikroorganizama bakterija *E. coli* pokazala je najveću osetljivost prilikom izlaganja GEC2/Ag. Kao objašnjenje navedene tvrdnje može se reći da *E. coli* nema sposobnost proizvodnje antioksidativnog enzima katalaze. Pored toga razlika u građi ćelijskog zida kod Gram-pozitivne bakterije *S. aureus* i Gram-negativne bakterije *E. coli* imala je uticaja na dobijene rezultate [239]. *E. coli* ima tanji peptidoglukanski sloj i na spoljašnjoj membrani sloj lipopolisaharida, dok *S. aureus* ima deblji peptidoglukanski sloj koji se sastoji od velikog broja mukopeptida, mureina i teihoične kiseline koji je čini otpornijim na dejstvo oksidanata.

4.4.2. Antimikrobna svojstva GEArg/Ag

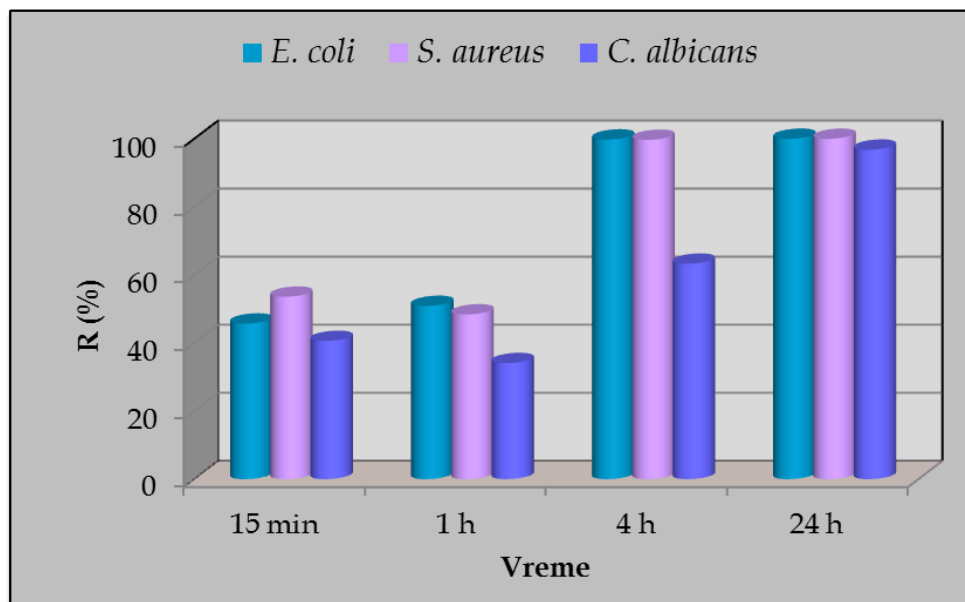
Antimikrobna svojstva nanočestica Ag sintetisanih na makroporoznom nosaču modifikovanim argininom testirana su na Gram-negativnu bakteriju *E. coli*, Gram-pozitivnu bakteriju *S. aureus* i gljivicu *C. albicans*. Procentualne vrednosti smanjenja broja ćelija bakterija i gljivica za koncentracije GEArg/Ag od 0,1 mg/ml pri različitim vremenima kontakta između mikroorganizma i sintetisanog materijala, odnosno vremenima inkubacije su prikazane u Tabeli 11.

Tabela 11 Antimikrobna svojstva GEArg/Ag koncentracije 0,1 mg/ml pri različitim vremenima kontakta

Uzorak	Mikroorganizam	Početni broj kolonija mikroorganizma (CFU)	Broj kolonija mikroorganizma nakon kontakta sa uzorkom (CFU)		R (%)
GEArg/Ag	<i>E. coli</i>	$8,4 \cdot 10^6$	15 min	$4,5 \cdot 10^6$	45,7
			1 h	$4,1 \cdot 10^6$	50,9
			4 h	$1,7 \cdot 10^4$	99,8
			24 h	13	99,9
GEArg/Ag	<i>S. aureus</i>	$6,9 \cdot 10^7$	15 min	$3,2 \cdot 10^7$	53,6
			1 h	$3,5 \cdot 10^7$	48,4
			4 h	$2,1 \cdot 10^5$	99,7
			24 h	20	99,9
GEArg/Ag	<i>C. albicans</i>	$5,7 \cdot 10^7$	15 min	$3,4 \cdot 10^7$	40,6
			1 h	$3,7 \cdot 10^7$	34,1
			4 h	$2,1 \cdot 10^7$	63,3
			24 h	$1,8 \cdot 10^6$	96,8

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 11 možemo videti kako su se menjale vrednosti procenta smanjenja broja ćelija mikroorganizama (*E. coli*, *S. Aureus* i *C. albicans*) u zavisnosti od trajanja vremena kontakta sa ispitivanim uzorkom materijala. Potrebno je napomenuti da su svi eksperimenti izvođeni pri koncentraciji GEArg/Ag od 0,1 mg/ml, odnosno da je koncentracija nanočestica Ag u svim uzorcima iznosila 1 µg/ml što je na granici citotoksičnosti i ekotoksičnosti [240,241]. Posmatrajući rezultate prikazane u Tabeli 11 možemo videti da se sa vremenom kontakta od 24h između mikroorganizama i GEArg/Ag postiže maksimalna vrednost procenta smanjenja broja ćelija od približno 100% za bakterije *E. coli* i *S. aureus*, dok je u slučaju gljivice *C. albicans* ovaj procenat dostigao vrednost od zadovoljavajućih 96,8 %. Daljom analizom prikazanih rezultata (Tabela 11) vidimo da tokom međusobnog kontakta GEArg/Ag i bakterija *E. coli* i *S. aureus* u trajanju od 4h dolazi do veoma sličnog odgovora kao i prilikom međusobnog kontakta od 24h, odnosno u slučaju *E. coli* ostvaren je procenat smanjenja broja ćelija od 99,8%, a u slučaju *S. Aureus* 99,7%.

Kod gljivice *C. albicans* pri dužini trajanja kontakta od 4h ovaj procenat je dostigao vrednost 63,3%.



Slika 61 Procenat smanjenja broja ćelija (R , %) *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans* u zavisnosti od vremena kontakta (pri koncentraciji GEArg/Ag od 0,1 mg/ml)

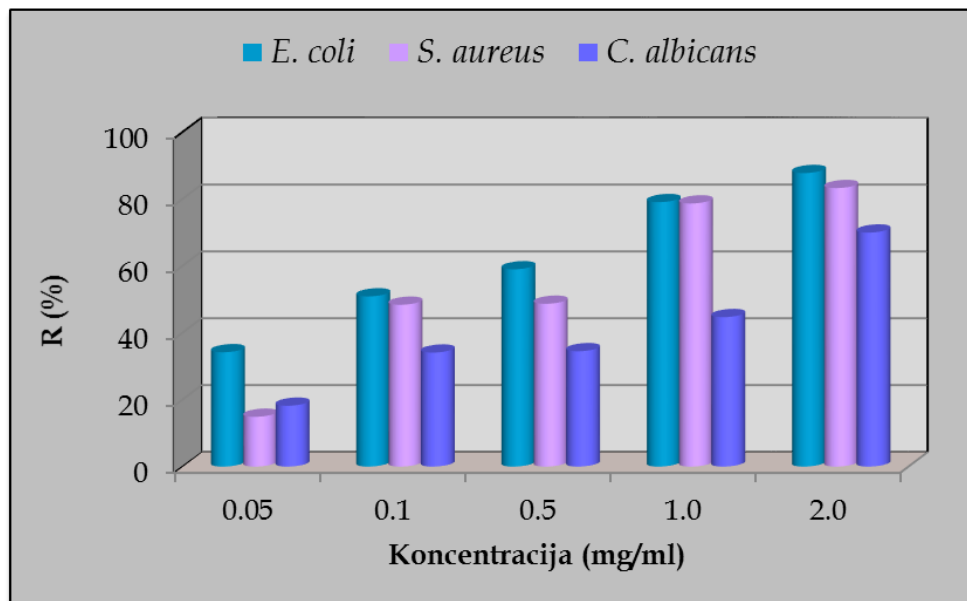
Radi preglednosti na Slici 61 grafički su prikazane procentualne vrednosti smanjenja broja ćelija (*E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*) u funkciji dužine trajanja kontakta između GEArg/Ag i mikroorganizama.

Dodatna ispitivanja vršena su na osnovu određivanja antimikrobne efikasnosti u funkciji koncentracije GEArg/Ag (vreme kontakta između mikroorganizama i materijala iznosilo je 1h). U Tabeli 12 prikazane su procentulne vrednosti smanjenja broja ćelija bakterija *E. coli* i *S. aureus* i gljivice *C. albicans* gde se koncentracija sintetisanog materijala kretala u opsegu od 50 $\mu\text{g/ml}$ do 2 mg/ml, odnosno sa koncentracijom srebra od 0,5 $\mu\text{g/ml}$ do 20,0 $\mu\text{g/ml}$). Jasno se vidi da su najveće vrednosti procenta smanjenja broja ćelija, za sve ispitivane koncentracije GEArg/Ag, dobijene za *E. coli*, a najniže vrednosti, izuzimajući najmanju koncentraciju GEArg/Ag, za *C. albicans*.

Tabela 12 Antimikrobna svojstva GEArg/Ag različitih koncentracija sa vremenom kontakta od 1h

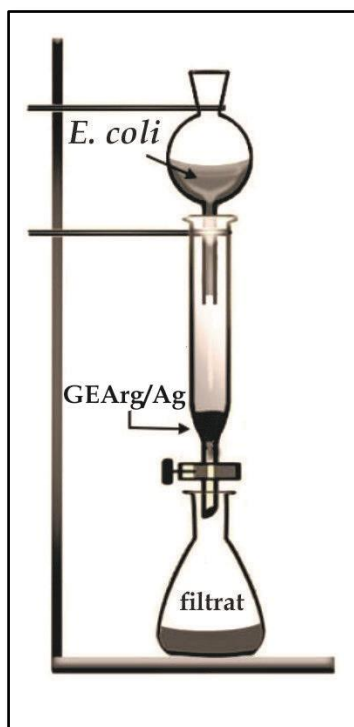
Uzorak GEArg/Ag (mg/ml)	Mikroorganizam	Početni broj kolonija mikroorganizma (CFU)	Broj kolonija mikroorganizma nakon kontakta sa uzorkom (CFU)	R (%)
0,05	<i>E. coli</i>	$4,3 \cdot 10^6$	$2,8 \cdot 10^6$	34,2
0,1		$2,8 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^7$	50,9
0,5		$5,1 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^6$	59,0
1,0		$3,4 \cdot 10^7$	$7,1 \cdot 10^6$	79,1
2,0		$5,6 \cdot 10^7$	$6,8 \cdot 10^6$	87,8
0,05	<i>S. aureus</i>	$4,3 \cdot 10^7$	$3,6 \cdot 10^7$	14,9
0,1		$2,8 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^7$	48,4
0,5		$5,1 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$	48,7
1,0		$3,4 \cdot 10^7$	$7,2 \cdot 10^6$	78,7
2,0		$5,6 \cdot 10^6$	$9,3 \cdot 10^5$	83,3
0,05	<i>C. albicans</i>	$4,3 \cdot 10^7$	$3,5 \cdot 10^7$	18,2
0,1		$2,8 \cdot 10^7$	$1,8 \cdot 10^7$	34,1
0,5		$5,1 \cdot 10^6$	$3,3 \cdot 10^6$	34,5
1,0		$3,4 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^6$	44,7
2,0		$5,6 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7$	70,0

Na Slici 62 predstavljen je grafički prikaz procentualnog smanjenja broja ćelija testiranih mikroorganizama *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans* u funkciji koncentracije GEArg/Ag gde je vreme kontakta između mikroorganizama i uzoraka iznosilo 1h. Poređenjem koncentracione zavisnosti (Slika 62) i vremenske zavisnosti (Slika 61) antimikrobne aktivnosti GEArg/Ag vidimo da se postiže viši procenat smanjenja broja ćelija kada je kontakt između mikroorganizama i uzoraka ostvaren duži vremenski period i pri nižim koncentracijama. Ostvareni procenat smanjenja broja ćelija u slučaju bakterija *E. coli* i *S. aureus* se kretao u opsegu od 80% do približno 90% za najveću ispitivanu koncentraciju GEArg/Ag od 2 mg/ml. Međutim, mnogo bolji rezultati dobijeni su sa 20 puta manjom koncentracijom uzorka GEArg/Ag kada je ostvareni procenat smanjenja broja ćelija iznosio približno 100% sa povećanjem vremena kontakta od 1h do 4h.



Slika 62 Procenat smanjenja broja ćelija (R , %) *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans* u zavisnosti od koncentracije GEArg/Ag (vreme kontakta između mikroorganizama i uzorka iznosilo je 1h)

Dobijeni rezultati antimikrobne efikasnosti GEArg/Ag otvorili su potencijalnu primenu sintetisanog materijala kao dezinfekcionog sredstva u protočnim sistemima prilikom prečišćavanja voda.



Slika 63 Šematski prikaz laboratorijskog protočnog sistema

Kako bi testirali antimikrobnu aktivnost GEArg/Ag u odnosu na bakteriju *E. coli* napravljena je improvizovana laboratorijska aparatura protočnog sistema za prečišćavanje (Slika 63) gde je kao punilac korišćena homogenizovana smeša GEArg/Ag i čistog umreženog makroporoznog kopolimera poli(GMA-ko-EGDMA). Sterilisani fiziološki rastvor u koji su unete ćelije bakterije *E. coli* sa početnom koncentracijom od oko $3,70 \times 10^7$ CFU/ml je propušan kroz kolonu sa GEArg/Ag uz protok od 1,35 ml/min. Procenat smanjenja broja ćelija je određen po isteku prve polovine zapremine rastvora sa *E. coli* i on je iznosio 83,5%, dok je nakon isteka celokupne zapremine procenat smanjenja broja ćelija imao vrednost od 99,3%. Kako bi se korišćenjem atomske emisije spektroskopije pod identičnim eksperimentalnim uslovima paralelno odredila koncentracija otpuštenih Ag^+ jona u filtratu, izvršena su ispitivanja bez prisustva ćelija bakterije *E. coli*. Koncentracija otpuštenih Ag^+ jona u filtratu imala je približno istu vrednost od 0,8 ppm prilikom prvog i drugog filtracionog perioda. Važno je naglasiti da se vrednost od 0,8 ppm nalazila ispod granice citotoksičnosti i ekotoksičnosti od 1 ppm [240,241]. Koncentracija otpuštenih Ag^+ jona odgovarala je 40 mas.% ukupnog metalnog srebra na kopolimernom nosaču (80 μg). Uzimajući u obzir ukupnu zapreminu fiziološkog rastvora u kome se nalazila *E. coli*, kao i da su eksperimenti izvedeni bez dodatne optimizacije, dobijeni rezultati ukazuju da je moguće tretirati 1 m^3 otpadnih voda sa 1g nanočestica Ag na poli(GMA-ko-EGDMA)-u. Glavna prednost korišćenja umreženog makroporoznog GEArg/Ag kao dezinfekcionog sredstva leži u tome da zahvaljujući svojoj strukturi nakon upotrebe neće doći do rastvaranja polimernog nosača u vodi, lako se može izvesti separacija, a takođe neće doći do neželjenih efekata po životnu sredinu.

4.4.3. Zavisnost antimikrobnih svojstava GEC2/Ag, GEC8/Ag i GENH₂/Ag u funkciji veličine nanočestica Ag

Kao što je već pomenuto u poglavlju 2.2.5, brojne naučne studije su pokazale da antimikrobna aktivnost nanočestica Ag zavisi od veličine samih čestica. Što su nanočestice manjih dimenzija to pokazuju veći inhibitorni efekat na rast mikroorganizama usled povećavanja specifične površine [119,136,158,159]. Brzina formiranja Ag⁺ jona, kao nosioca antimikrobne aktivnosti, generalno je proporcionalna specifičnoj površini samih čestica, pa će se proces brže odigravati kod nanočestica manjih dimenzija.

Formiranje Ag⁺ jona nije uslovljeno samo veličinom i oblikom nanočestica, već zavisi i od dostupnosti kiseonika, prisustva stabilizatora i liganda, površinskog naelektrisanja, itd. Imajući u vidu da su kod GEC2/Ag, GEC8/Ag i GENH₂/Ag nanočestice Ag sintetisane na isti način sa uskom raspodelom veličine čestica i na istom kopolimernom nosaču, a sa različitim dimenzijama nanočestica Ag u slučaju GEC2/Ag i GEC8/Ag sa jedne strane i GENH₂/Ag sa druge strane, možemo navedene sisteme uzeti kao odgovarajuće modele za ispitivanje antimikrobne aktivnosti Ag.

Tabela 13 Antimikrobna svojstva GEC2/Ag u zavisnosti od koncentracije Ag nakon 1h kontakta sa *E. coli*

Uzorak GEC2/Ag	d(Ag)=6,7 nm		
Koncentracija Ag (mg/L)	25	50	100
Mikroorganizam	<i>E. coli</i>		
Vreme (min)	60		
R (%)	73,6	83,3	91,0

U Tabeli 13 prikazano je kako su se menjala antimikrobna svojstva GEC2/Ag u funkciji različitih koncentracija Ag (25, 50, 100 mg/L) sa veličinom čestica od 6,7 nm i vremenu inkubacije sa *E. coli* u trajanju od 1h.

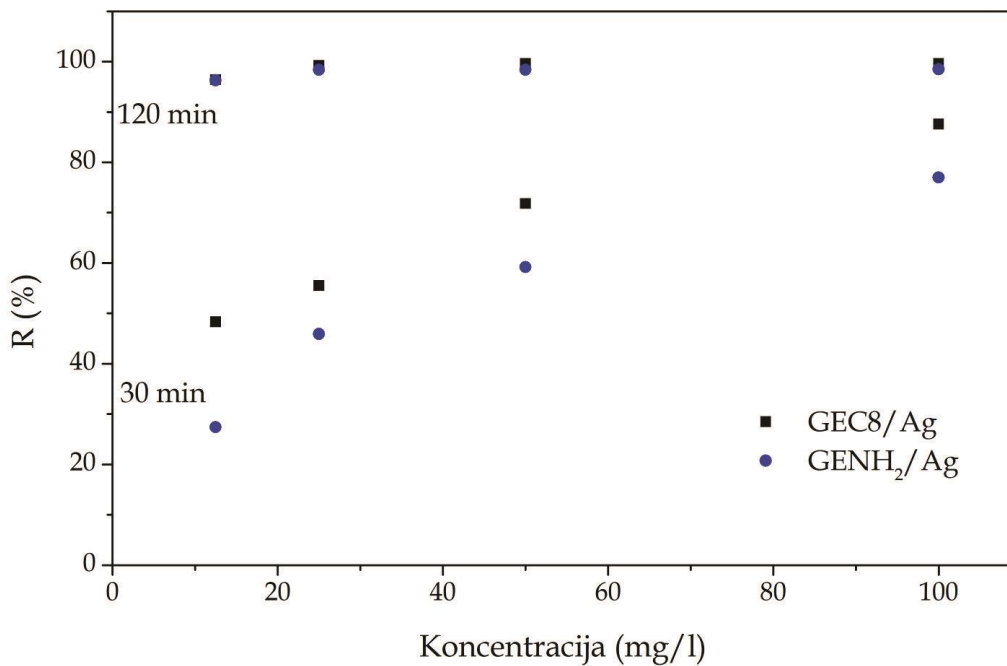
Tabela 14 Antimikrobna svojstva GEC8/Ag i GENH₂/Ag u zavisnosti od koncentracije Ag sa vremenima inkubacije u trajanju od 15, 30, 60 i 120 min sa *E. coli*

Vreme (min) Mikroorganizam <i>E. coli</i>	Koncentracija Ag (mg/L)							
	12,5		25		50		100	
	GEC8/Ag	GENH ₂ /Ag	GEC8/Ag	GENH ₂ /Ag	GEC8/Ag	GENH ₂ /Ag	GEC8/Ag	GENH ₂ /Ag
	6,6 nm	12,1 nm	6,6 nm	12,1 nm	6,6 nm	12,1 nm	6,6 nm	12,1 nm
	R (%)		R (%)		R (%)		R (%)	
15	28,7	18,0	30,9	31,6	42,2	21,7	58,1	34,5
30	48,3	27,4	55,5	45,9	71,8	59,2	87,6	77,0
60	82,7	76,2	76,6	84,0	85,2	91,4	94,4	88,2
120	96,4	96,3	99,2	98,4	99,6	98,4	99,6	98,5

Kako bi videli da li dolazi do promene antibakterijske efikasnosti sa promenom dimenzija nanočestica u Tabeli 14 prikazani su rezultati procenata smanjenja broja ćelija *E. coli* uzorcima GEC8/Ag (d=6,6 nm) i GENH₂/Ag (d=12,1 nm) u funkciji koncentracije Ag (12,5, 25, 50, 100 mg/L) sa vremenima inkubacije u trajanju od 15, 30, 60 i 120 min. Poređenjem vrednosti rezultata smanjenja broja ćelija *E. coli* uzorcima GEC2/Ag (Tabela 13) i GEC8/Ag (Tabela 14) utvrđeno je da pri istim koncentracijama i dimenzijama Ag antibakterijska aktivnost

sintetisanih materijala praktično ostala nepromenjena. Neznatno veća antibakterijska efikasnost kod GEC8/Ag može se objasniti nižim težinskim udelom Ag (10 mas.%) u poređenju sa GEC2/Ag (50 mas.%) gde su nanočestice Ag uslovno rečeno raspoređene po većoj masi kopolimernog nosača.

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 14 vidimo, kao što je očekivano, da i kod GEC8/Ag i GENH₂/Ag procenat smanjenja broja ćelija *E. coli* raste u funkciji vremena kontakta i koncentracije Ag. Dalje, za istu koncentraciju Ag procenat smanjenja broja ćelija *E. coli* je veći kod manjih nanočestica Ag, čime je potvrđeno da, što su nanočestice manjih dimenzija to pokazuju veći inhibitorni efekat rasta mikroorganizama.



Slika 64 Procenat smanjenja broja ćelija (R , %) u zavisnosti od koncentracije Ag nakon 30 i 120 min kontakta *E. coli* sa GEC8/Ag i GENH₂/Ag

Kada je vreme kontakta između ispitivanih uzorka i *E. coli* dovoljno dugo (120 min) ostvaren je više nego zadovoljavajući procenat smanjenja broja ćelija i pri niskoj vrednosti koncentracije Ag (12,5 mg/l) (Slika 64).

5. Zaključak

Nanočestice srebra sintetisane su na amino-funkcionalizovanom makroporoznom kopolimernom nosaču. Makroporozni kopolimer koji sadrži epoksidne funkcionalne grupe, poli(GMA-ko-EGDMA), dobijen je kopolimerizacijom glicidilmetakrilata (GMA) i etilenglikoldimetakrilata (EGDMA) u suspenziji, pri čemu je kao inertna komponenta korišćena smeša cikloheksanola i tetradekanola. Srednji prečnik čestica frakcije sintetisanog makroporoznog kopolimera koji je korišćen u ovom radu izosio je 30 μm , pri čemu je srednji prečnik pora bio 137 nm, a specifična površina 36 m^2/g .

Četiri amino-funkcionalizovana nosača (GENH₂, GEC2, GEC8 i GEArg) dobijena su modifikacijom sintetisanog makroporoznog kopolimera sa četiri različita jedinjenja (modifikatora), amonijakom, 1,2-diaminoetanom, 1,8-diaminooktanom i argininom. Molekuli modifikatora se hemijski vezuju za kopolimerni nosač tako što reaguju sa epoksidnim grupama na površini nosača. Na ovaj način određena količina epoksidnih grupa na površini nosača biva zamenjena amino grupama koje će poslužiti za redukciju Ag⁺ jona do metala, bez upotrebe dodatnog redukcionog sredstva, i za imobilizaciju nastalih nanočestica Ag za polimerni nosač. Najveći stepen modifikacije epoksidnih grupa postignut je u slučaju kada je kao modifikator korišćen 1,2-diaminoetan. Manji stepen modifikacije je ostvaren u slučaju kad je kao modifikator korišćen amonijak, a razlozi za to su uticaj rastvarača i temperature na kome je izvedena modifikacija. Iako je baznost 1,2-diaminoetana i 1,8-diaminooktana skoro ista, sterni faktori su najverovatnije razlog zašto je manji stepen modifikacije postignut sa 1,8-diaminooktanom. Najmanji stepen modifikacije postignut je kada je arginin korišćen kao modifikator najmanje reaktivan od svih korišćenih molekula modifikatora, a razlog za to leži kako u veličini i strukturi molekula tako i u činjenici da se na pH pri kome je izvođena modifikacija deo molekula arginina nalazi u deprotonovanom obliku, a deo molekula u obliku cviter jona.

Nanočestice srebra sintetisane su na amino-funkcionalizovanim makroporoznim nosačima "in situ" redukcijom Ag^+ jona bez upotrebe dodatnog redukcionog sredstva. Mehanizam nastanka nanočestica srebra, način njihovog vezivanja za polimerni nosač, veličina i količina dobijenih čestica srebra na kopolimernim nosačima određeni su na osnovu rezultata infracrvene spektroskopije, refleksione spektroskopije, transmisiona elektronske mikroskopije, difrakcije rendgenskih zraka i atomske emisije spektroskopije. U slučaju kada su kao nosači korišćeni GENH_2 , GEC2 i GEC8, primarne amino grupe sa nosača su imale ulogu redukcionog sredstva. Mehanizam nastanka koloidnih čestica Ag prvo uključuje formiranje stabilnih kompleksa jona srebra i amino grupe, nakon čega dolazi do transfera elektrona sa amino grupe na jone srebra pri povišenoj temperaturi, odnosno do redukcije i stvaranja nanočestica Ag i amino radikala. Deprotonacija amino radikala dovodi do formiranja imina koji omogućavaju dalju stabilizaciju nastalih nanočestica Ag. Na osnovu dobijenih rezultata, za slučaj kad je korišćen GEArg nosač, ne može se sa sigurnošću reći koji je mehanizam redukcije jona srebra i način vezivanja nastalih čestica srebra.

Nanočestice srebra nastale na nosačima GEC2 i GEC8 su sfernog oblika i približno istih dimenzija. Razlog tome je verovatno ista reaktivnost primarnih amino grupa prisutnih na ova dva nosača. Količina nastalog srebra je pet puta manja na uzorku GEC8 nego na uzorku GEC2. Pored manjeg stepena modifikacije, još jedan od razloga je verovatno i taj što se, zbog puno duže alkilne grupe, određena količina 1,8-diaminooktana vezala za nosač sa obe svoje amino grupe, čime je broj primarnih amino grupa potrebnih za redukciju jona srebra još dodatno smanjen. Količina nastalog srebra na GENH_2 nosaču je bila deset puta manja u poređenju sa količinom srebra sintetisanim na GEC2 i dva puta manja u poređenju sa količinom srebra nastalom na GEC8 nosaču. Razlog za to je manja reaktivnost amino grupa na GENH_2 nosaču. Iz istog razloga su i dimenzije nanočestica srebra sintetisanih na GENH_2 nosaču bile dva puta većih dimenzija od čestica na sintetisanih na GEC2 i GEC8 nosačima, jer je zbog smanjene

reaktivnosti amino grupa bila smanjena i brzina nukleacije. Najmanja količina srebra sintetisana je na GEArg nosaču, pet puta manja količina nego na GENH₂ nosaču i čak pedeset puta manja nego na GEC2 nosaču, što ukazuje da arginin, vezan za polimerni nosač preko svoje amino grupe vezane za α -ugljenikov atom, ima dosta manju moć redukcije jona srebra od amino grupe.

Ispitivana su antimikrobna svojstva čestica srebra sintetisanih na GENH₂ nosaču (GENH₂/Ag), na GEC2 nosaču (GEC2/Ag), na GEC8 nosaču (GEC8/Ag) i na GEArg nosaču (GEArg/Ag) na Gram-negativnu bakteriju *E.coli*, Gram-pozitivnu bakteriju *S. aureus* i gljivicu *C. albicans*. Procenat smanjenja broja ćelija mikroorganizama raste sa povećanjem koncentracije nanočestica srebra i sa povećanjem vremena kontakta između mikroorganizama i ispitivanih uzoraka. Najniži procenat smanjenja broja ćelija mikroorganizama, za sve ispitivane koncentracije i vremena kontakta, postignut je kod gljivice *C. albicans* jer ona ima sposobnost da proizvodi enzime koji štite mikroorganizam od dejstva antimikrobnih agenasa. Za istu koncentraciju srebra i isto vreme kontakta, veći procenat smanjenja broja ćelija mikroorganizama postignut je sa česticama manjih dimenzija, što ukazuje da, što je veća specifična površina nanočestica srebra, veća je brzina otpuštanja jona srebra, odnosno ukazuje da se nanočestice srebra imobilisane na makroporoznom polimernom nosaču ponašaju kao rezervoari jona srebra.

Rezultati preliminarnih ispitivanja antimikrobne aktivnosti nanočestica Ag imobilisanih na makroporoznom polimernom nosaču u protočnim sistemima, prema kojima je koncentracija otpuštenih Ag⁺ jona bila ispod granice citotoksičnosti i ekotoksičnosti, ukazuju na potencijalnu primenu ovih materijala za prečišćavanje otpadnih voda.

6. Literatura

- [1] S. M. Jovanović, J. Đonlagić, *Hemija makromolekula*, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2004.
- [2] G. Odian, *Principles of polymerization*, Wiley-Interscience, New York, 2004.
- [3] H. G. Elias, *An introduction to polymer science*, VCH, Weinheim, 1997.
- [4] L. H. Sperling, *Introduction to physical science*, Wiley-Interscience, New York, 1986.
- [5] D. C. Sherrington, *Chem. Commun.*, (1998) 2275-2286.
- [6] O. Okay, *Prog. Polym. Sci.*, 25 (2000) 711-779.
- [7] O. Okay, C. Gurun, *J. Appl. Polym. Sci.*, 46 (1992) 401-410.
- [8] N. E. Topp, K. W. Pepper, *J. Chem. Soc.*, (1949) 3299-3303.
- [9] A. Nastasović, S. Jovanović, D. Đorđević, A. Onija, D. Jakovljević, T. Novaković, *React. Funct. Polym.*, 58 (2004) 139-147.
- [10] P. Hodge u *Synthesis and separation using functional polymers*, ed. P. Hodge, D. C. Sherrington, Wiley, Chichester, (1988) 43-122.
- [11] B. W. Brooks, *Chem. Eng. Technol.*, 33 (2010) 1737-1744.
- [12] T. Gokmen, F. E. Du Prez, *Prog. Polym. Sci.*, 37 (2012) 365-405.
- [13] H. Staudinger, E. Huseman, *Berichte*, 6 (1935) 1618-1634.
- [14] K. Dusek, *J. Polym. Sci. Part B*, 3 (1965) 209-212.
- [15] J. Seidl, J. Malinsky, K. Dusek, W. Heitz, *Adv. Polym. Sci.*, 5 (1967) 113.
- [16] P. Flodin, *Makromol. Chem. Macromol. Symp.*, 22 (1988) 253.
- [17] J. R. Millar, *J. Chem. Soc.*, (1960) 1311.
- [18] F.M.B. Coutinho, R.C. Cid, *Eur. Polym. J.*, 26 (1990) 1185-1188.
- [19] D. Rabelo, F.M.B. Coutinho, *Polym. Bull.*, 33 (1994) 479-486.
- [20] I. G. Poinnescu, C. D. Vlad, *Eur. Polym. J.*, 33 (1997) 1515.
- [21] F. M. B. Coutinho, M. A. F. S. Neves, M. L. Dias, *J. Appl. Polym. Sci.*, 65 (1997) 1257-1262.
- [22] J. M. Asua (ed.), *Polymer Reaction Engineering*, Oxford, Blackwell (2007) 209-211.

- [23] P. J. Dowding, B. Vincent, *Colloid Surface A*, 161 (2000) 259-269.
- [24] V. Šmigol, F. Švec, *J. Appl. Polym. Sci.*, 48 (1983) 2033-2039.
- [25] A. Guyot, M. Bartholin, *Prog. Polym. Sci.*, 8 (1982) 277-332.
- [26] W. L. Sederel, G. J. De Jong, *J. Appl. Polym. Sci.*, 17 (1973) 2835-2846.
- [27] K. Dušek, u *Polymer networks: structure and mechanical properties*, eds. A. J. Chomppff, S. Newman, Plenum Press, New York, (1971) 245-260.
- [28] F. Švec, J. Hradil, J. Čoupek, J. Kalal, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 48 (1975) 135-143.
- [29] S. Siggia, *Quantitative Organic Analysis via Functional Groups*, J. Wiley & Sons, New York, (1949) 238-254.
- [30] D. Horak, F. Švec, M. Bleha, J. Kalal, *Agnew. Makromol. Chem.*, 95 (1981) 129.
- [31] F. Švec, J. Kalal, *Faserforsch. Textiltech.*, 48 (1978) 477.
- [32] B. L. Gong, C. Y. Ke, X. D. Geng, *Anal. and Bioanal. Chem.*, 375 (2003) 769-774.
- [33] B. Paredes, S. Gonzalez, M. Rendueles, M. A. Villa-Garcia, M. Diaz, *Acta Mater.*, 51 (2003) 6189-6198.
- [34] A. Onija, S. K. Milonjić, N. N. Jovanović, S.M. Jovanović, *React. Funct. Polym.*, 43 (2000) 269-277.
- [35] T. Maehara, Y. Eda, K. Mitani, S. Matsuzawa, *Biomaterials*, 11 (1990) 122-126.
- [36] B. F. Senkal, N. Bicak, *React. Funct. Polym.*, 49 (2001) 151-157.
- [37] N. Bicak, D. C. Sherrington, S. Sungur N. Tan, *React. Funct. Polym.*, 54 (2003) 141-147.
- [38] M. Y. Arica, G. Bayramoglu, N. Bicak, *Process Biochem.*, 39 (2004) 2007-2017.
- [39] S. Jovanović, A. Nastasović, N. Jovanović, K. Jeremić, *J. Serb. Chem. Soc.*, 58 (1993) 343-348.
- [40] S. M. Jovanović, A. Nastasović, N. N. Jovanović, K. Jeremić, *Mater. Sci. Forum*, 214 (1996) 155-162.
- [41] D. Horak, F. Švec, M. Ilavsky, M. Bleha, J. Baldrian, J. Kalal, *Angew. Makromol. Chem.*, 95 (1981) 117-127.
- [42] B. Paredes, S. Gonzalez, M. Rendueles, J. M. Diaz, *Sep.Purif. Technol.*, 40 (2004) 243-250.

- [43] D. Horak, F. Lednicky, V. Rehak, F. Svec, *J. Appl. Polym. Sci.*, 49 (1993) 2041-2050.
- [44] W. T. Ford, J. Lee, M. Tomoi, *Macromolecules*, 15 (1982) 1246-1251.
- [45] A.K. Bajpai, S. K. Shukla u *Macroporous Polymers: production properties and biotechnological/biomedical applications*, ed., B. Mattiasson, A. Kumar, I. Y. Galaev, CRC press, New York, (2010) 237.
- [46] E. Kalalova, Z. Radova, F. Švec, *Eur. Polym. J.*, 13 (1977) 293-297.
- [47] F. Švec, H. Hrudkova, D. Horak, J. Kalal, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 63 (1977) 23-36.
- [48] N. Miletić, R. Rohandi, Z. Vuković, A. Nastasović, K. Loos, *React. Funct. Polym.*, 69 (2009) 68-75.
- [49] A. Tan, S. Benetton, J. D. Henion, *Anal. Chem.*, 75 (2003) 5504-5511.
- [50] J. H. Zhang, J. B. Liu, S. Z. Wang, P. Zhan, Z. L. Wang, N. B. Ming, *Adv. Func. Mater.*, 14 (2004) 1089-1096.
- [51] S. Mourdikoudis, L. M. Liz-Marzan, *Chem. Mater.*, 25 (2013) 1465-1476.
- [52] P-L. Kuo, W-F. Chen, *J. Phys. Chem. B*, 107 (2003) 11267-11272.
- [53] J. I. Hussain, S. Kumar, A. A. Hashmi, Z. Khan, *Adv. Mat. Lett.*, 2 (2011) 188-194.
- [54] K. J. Klabunde, *Nanoscale Materials in Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 2001.
- [55] J. A. Blackman, *Metallic Nanoparticles*, Elsevier, 2009.
- [56] C. P. Poole, F. J. Owens, *Introduction to Nanotechnology*, John Wiley & Sons, 2003.
- [57] A. Moores, F. Gorttmann, *New J. Chem.*, 30 (2006) 1121-1132.
- [58] M. Rycenga, C. M. Cobley, J. Zeng, W. Li, C. H. Moran, Q. Zhang, D. Qin, Y. Xia, *Chem. Rev.*, 111 (2011) 3669-3721.
- [59] E. Roduner, *Chem. Soc. Rev.*, 35 (2006) 583-592.
- [60] [70] R. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B*, 107 (2003) 668-677.

- [61] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M. A. El-Sayed, *Chem. Rev.*, 105 (2005) 1025-1102.
- [62] N. W. Ashcroft, N. D. Mermin, *Solid state physics*, Saunders College, 1976.
- [63] LJ. Đaković, *Koloidna hemija*, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 2006.
- [64] P. Mulvaney, T. Linnert, A. Henglein, *J. Phys. Chem.*, 95 (1991) 7843-7846.
- [65] A. Henglein, *Chem. Rev.*, 89 (1989) 1861-1873.
- [66] A. Henglein, *J. Phys. Chem.*, 97 (1993) 5457-5471.
- [67] W. J. Parak, L. Manna, F. C. Simmel, D. Gerion, P. Alivisatos, *Quantum Dots, u Nanoparticles - From Theory to Application*, ed., G. Schmid, Wiley-VCH, Weinheim, 2004.
- [68] D. K. Božanić, *Magistarska teza*, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 2008.
- [69] L. M. Liz-Marzan, *Mat. Today*, (2004) 26-31.
- [70] D. D. Evanoff Jr, G. Chumanov, *Chem. Phys. Chem.*, 6 (2005) 1221-1231.
- [71] L. M. Liz-Marzan, *Langmuir*, 22 (2006) 32-41.
- [72] P. Mulvaney, *Langmuir*, 12 (1996) 788-800.
- [73] S. Noguez, *J. Phys. Chem. C*, 111 (2007) 3806-3819.
- [74] U. Kreibig, M. Vollmer, *Optical properties of metal clusters*, Springer, Berlin, 1995.
- [75] G. C. Papavassiliou, *Prog. Solid State Chem.*, 12 (1979) 185-271.
- [76] I. Hussain, M. Brust, A. J. Papworth, A. I. Cooper, *Langmuir*, 19 (2003) 4831-4835.
- [77] N. W. Ashcroft, N. D. Mermin, *Solid State Physics*, Saunders College, Philadelphia, 1976.
- [78] G. Mie, *Ann. Phys.*, 25 (1908) 329-371.
- [79] "NanoComposix." [Online]. Available: <http://nanocomposix.eu/>
- [80] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, *Phys. Rev.*, 125 (1962) 499-508.
- [81] I. Vukoje, V. Lazić, V. Vodnik, M. Mitrić, B. Jokić, S. P. Ahrenkiel, J. M. Nedeljković, M. Radetić, *J. Mater. Sci.*, 49 (2014) 4453-4460.

- [82] A. Kulkarni, K. Munechika, K. N. Noone, J. M. Smith, D. S. Ginger, *Langmuir*, 25 (2009) 7932-7939.
- [83] D. E. Charles, D. Aherne, M. Gara, D. M. Ledwith, Y. K. Gunko, J. M. Kelly, W. J. Blau, M. E. Brennan-Fournet, *ACS Nano*, 4 (2010) 55-64.
- [84] S. Eustis, G. Krylova, N. Smirnova, A. Eremenko, C. Tabor, W. Huang, M. A. El-Sayed, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, 181 (2006) 385-393.
- [85] A. Van Hoonacker, P. Englebienne, *Curr. Nanosci.*, 2 (2006) 359-371.
- [86] I. Pastoriza-Santos I, L. M. Liz-Marzan, *Adv. Funct. Mater.*, 19 (2009) 679-688.
- [87] N. Shirtcliffe, U. Nickel, S. Schneider S, *J. Colloid Interface Sci.*, 211 (1999) 122-129.
- [88] U. Nickel, A. Z. Castell, K. Poppl, S. Schneider, *Langmuir*, 16 (2000) 9087-9091.
- [89] F. Fievet, F-V. Francoise, J. P. Lagier, B. Dumont, M. Figlarz, *J. Mater. Chem.*, 3 (1993) 627-632.
- [90] N. Leopold, B. Lendl, *J. Phys. Chem. B*, 107 (2003) 5723-5727.
- [91] K. B. Narayanan, N. Sakthivel, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 169 (2011) 59-79.
- [92] K. Shamel, M. Bin Ahmad, S. D. Jazayeri, S. Sedaghat, P. Shabanzadeh, H. Jahangirian, M. Mahdavi, Y. Abdollahi, *Int. J. Mol. Sci.*, 13 (2012) 6639-6650.
- [93] V. K. Sharma, R. A. Yngard, Y. Lin, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 145 (2009) 83-96.
- [94] S. M. Ghaseminezhad, S. Hamed, S. A. Shojaosadati, *Carbohydr. Polym.*, 89 (2012) 467-472.
- [95] V. Vodnik, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, 2008.
- [96] P. C. Lee, D. Meisel, *J. Phys. Chem.*, 86 (1982) 3391-3395.
- [97] J. A. Creighton, C. G. Blatchford, M. G. Albrecht, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2*, 75 (1979) 790-798.
- [98] R. J. Hunter, *Foundations of Colloid Science*, Oxford University Press, New York, 2001.
- [99] Y. Zhang, H. Peng, W. Huang, Y. Zhou, X. Zhang, D. Yan, *J. Phys. Chem. C*, 112 (2008) 2330-2336.

- [100] Ye. Yin, Z.-Y. Li, Z. Zhong, B. Gates, Y. Xia, S. Venkateswaran, *J. Mater. Chem.*, 12 (2002) 522-527.
- [101] P. Raveendran, J. Fu, S. L. Wallen, *J. Am. Chem. Soc.*, 125 (2003) 13940-13941.
- [102] M. Chen, Y. G. Feng, X. Wang, T. C. Lee, J. Y. Zhang, D. J. Quan, *Langmuir*, 23 (2007) 5296-5304.
- [103] Y. Sun, Y. Yin, B. T. Majers, T. Herricks, Y. Xia, *Chem. Mater.*, 12 (2002) 4736-4745.
- [104] M. Maillard, S. Giorgio, M. P. Pileni, *J. Phys. Chem. B*, 107 (2003) 2466-2470.
- [105] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *J. Phys. Chem. B*, 105 (2001) 4065-4067.
- [106] C. J. Murphy, N. R. Jana, *Adv. Mater.*, 14 (2002) 80-82.
- [107] Y. Sun, Y. Xia, *Science*, 298 (2002) 2176-2179.
- [108] J. Xie, J. Y. Lee, D. I. C. Wang, Y. P. Ting, *ACS Nano*, 1 (2007) 429-439.
- [109] Y.-C. Liu, L.-H. Lin, *Electrochem. Commun.*, 6 (2004) 1163-1168.
- [110] I. Freestone, N. Meeks, M. Sax, C. Higgitt, *Gold Bull.*, 40 (2007) 270-277.
- [111] S. Pérez-Villar, J. Rubio, J. L. Oteo, *J. Non Cryst. Solids*, 354 (2008) 1833-1844.
- [112] F. Rubio, S. Pérez-Villar, M. A. Garrido, J. Rubio, J. L. Oteo, *Nano Res.*, 8 (2009) 89-97.
- [113] M. Faraday, *Philos. Trans. Royal Soc London*, 147 (1875) 145-181.
- [114] K. G. Stamplecoskie, J. C. Scaiano, V. S. Tiwari, H. Anis, *J. Phys. Chem. C*, 115 (2011) 1403-1409.
- [115] H. Yoshikawa, T. Adachi, G. Sasaki, T. Matsui, K. Nakajima, H. Masuhara, *J. Opt. A Pure and Appl. Op.*, 9 (2007) S164-S171.
- [116] J. Hu, B. Zhao, W. Xu, B. Li, Y. Fan, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. spectrsc.*, 58 (2002) 2827-2834.
- [117] R. Rawal, S. Chawla, C. S. Pundir, *Anal. Biochem.*, 419 (2011) 196-204.
- [118] X. Ren, X. Meng, D. Chen, F. Tang, J. Jiao, *Biosens. Bioelectron.*, 21 (2005) 433-437.
- [119] L. Rizzello, P. P. Pompa, *Chem. Soc. Rev.*, 43 (2014) 1501-1518. Z1
- [120] D. I. Anderson, D. Hughes, *Nat. Rev. Microbiol.*, 8 (2010) 260-271.
- [121] B. R. Levin, D. E. Rozen, *Nat. Rev. Microbiol.*, 4 (2006) 556-562.

- [122] M. J. Schwaber, T. De-Medina, Y. Carmeli, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2 (2004) 979-983.
- [123] H. W. Boucher, *Clin. Infect. Dis.*, 50 (2010) S4-S10.
- [124] G. Taubes, *Science*, 321 (2008) 356-361.
- [125] B. Rice, *J. Infect. Dis.*, 197 (2008) 1079-1081.
- [126] B. Spellberg, J. H. Powers, E. P. Brass, L. G. Miller, J. E. Edwards Jr, *Clin. Infect. Dis.*, 38 (2004) 1279-1286.
- [127] S. Y. Liau, D. C. Read, W. J. Pugh, J. R. Furr, A. D. Russell, *Lett. Appl. Microbiol.*, 25 (1997) 279-283.
- [128] J. J. Buckley, A. F. Lee, L. Olivi, K. Wilson, *J. Mater. Chem.*, 20 (2010) 8056-8063.
- [129] E. Fee, *Science*, 249 (1990) 305.
- [130] J. A. Dahl, B. L. Maddux, J. E. Hutchison, *Chem. Rev.*, 107 (2007) 2228-2269.
- [131] C. Marambo-Jones, E.M.V. Hoek, *J. Nanopart. Res.*, 12 (2010) 1531-1551
- [132] A. Kumar, P. K. Vemula, P.M. Ajayan, G. John, *Nat. Mater.*, 7 (2008) 236-241.
- [133] R. E. Weisbarth, *Optometry. Vision. Sci.*, 84 (2007) 2-3.
- [134] P. Podsiadlo, S. Paternel, J. M. Rouillard, Z. F. Zhang, J. Lee, J. W. Lee, L. Gulari, N. A. Kotov, *Langmuir*, 21 (2005) 11915-11921.
- [135] W. Chen, Y. Liu, H. S. Courtney, M. Bettenga, C. M. Agrawal, J. D. Bumgardner, J. L. Ong, *Biomaterials*, 27 (2006) 5512-5517.
- [136] J. R. Morones, J. L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J. B. Kouri, J. T. Ramirez, M. J. Yacaman, *Nanotechnology*, 16 (2005) 2346-2353.
- [137] C. Damm, H. Munstedt, *Appl. Phys. A*, 91 (2008) 479-486
- [138] B. Domenech, M. Munoz, D. N. Muraviev, J. Macanas, *Formatex*, 2013.
- [139] J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J. Kim, S. J. Park, H. J. Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C. Y. Hwang, Y. H. Kim, Y. S. Lee, D. H. Jeong, M. H. Cho, *Nanomed. Nanotechnol.*, 3 (2007) 95-101.
- [140] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, *Biotechnol. Adv.*, 27 (2009) 76-83.

- [141] M. Hajipour, K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, D. J. de Aberasturi, I. R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak, M. Mahmoudi, *Trends Biotechnol.*, 30 (2012) 499-511.
- [142] G. A. Sotiriou, S. E. Pratsinis, *Environ. Sci. Technol.*, 44 (2010) 5649-5654.
- [143] O. Choi, Z. Q. Hu, *Environ. Sci. Technol.*, 42 (2008) 4583-4588.
- [144] L. Kvitek, A. Panacek, J. Soukupova, M. Kolar, R. Vecerova, R. Prucek, M. Holecova, R. Zboril, *J. Phys. Chem. C*, 112 (2008) 5825-5834.
- [145] S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, D. Dash, *Nanotechnology*, 18 (2007) 225103-225111.
- [146] J. Teeguarden, P. Hinderliter, G. Orr, B. Thrall, *Toxicol. Sci.*, 95 (2007) 300-311.
- [147] D. Dorjnamjin, M. Ariunaa, Y. Shim, *Int. J. Mol. Sci.*, 9 (2008) 807-819.
- [148] D. Yu, V. Yam, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 13200-13201.
- [149] A. Smetana, K. Klabunde, G. Marchin, C. Sorensen, *Langmuir*, 24 (2008) 7457-7464.
- [150] S. Pal, Y. Tak, J. Song, *Appl. Environ. Microbiol.*, 73 (2007) 1712-1720.
- [151] A. Panacek, L. Kvitek, R. Prucek, M. Kolar, R. Večerova, N. Pizurova, V. K. Sharma, T. Nevečna, R. Zboril, *J. Phys. Chem. B*, 110 (2006) 16248-16253.
- [152] M. Raffi, F. Hussain, T. M. Bhatti, J. I. Akhter, A. Hameed, M. M. Hasan, *J. Mater. Sci. Technol.*, 24 (2008) 192-196.
- [153] G. K. Vertelov, Y. A. Krutyakov, O. V. Efremenkova, A. Y. Olenin, G. V. Lisichkin, *Nanotechnology*, 19 (2008) 355707.
- [154] K. J. Kim, W. S. Sung, B. K. Suh, S. K. Moon, J. C. Choi, J. Kim, D. G. Lee, *Biometals*, 22 (2009) 235-242.
- [155] L. Sun, A. K. Singh, K. Vig, S. R. Pillai, S. R. Singh, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 4 (2008) 149-158.
- [156] Z. M. Xiu, Q. B. Zhang, H. L. Puppala, V. L. Colvin, P. J. J. Alvarez, *Nano. Lett.*, 12 (2012) 4271-4275.
- [157] Z-M. Xiu, J. Ma, P. J. J. Alvarez, *Environ. Sci. Technol.*, 45, (2011) 9003-9008.

- [158] J. A. Lemire, J. J. Harrison, R. J. Turner, *Nat. Rev. Microbiol.*, 11 (2013) 371-384.
- [159] S. Parbhu, E. K. Poulouse, *Int. Nano Lett.*, 2(32) (2012) 1-10.
- [160] O. Choi, K. K. Deng, N. J. Kim, L. Ross, R. Y. Surampalli, *Water Res.*, 42 (2008) 3066-3074.
- [161] I. Sondi, B. Salopek-Sondi, *J. Colloid Interface Sci.*, 275 (2004) 177-182.
- [162] C. N. Lok, C. M. Ho, R. Chen, Q. Y. He, W. Y. Yu, H. Z. Sun, P. K. H. Tam, J. F. Chiu, C. M. Che, *J. Proteome. Res.*, 5 (2006) 916-924.
- [163] N. A. Amro, L. P. Kotra, K. Wadu-Mesthrige, A. Bulychev, S. Mobashery, G. Y. Liu, *Langmuir*, 16 (2000) 2789-2796
- [164] K. B. Holt, A. J. Bard, *Biochemistry*, 44 (2005) 13214-13223.
- [165] H. J. Park, J. Y. Kim, J. Kim, J. H. Lee, J. S. Hahn, M. B. Gu, J. Yoon, *Water Res.*, 43 (2009) 1027-1032.
- [166] A. Nel, T. Xia, L. Madler, N. Li, *Science*, 311 (2006) 622-627.
- [167] S. J. Stohs, D. Bagchi, *Free Radical Biol. Med.*, 18 (1995) 321-336.
- [168] V. I. Lushchak, *Aquat. Toxicol.*, 101 (2011) 13-30.
- [169] B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, 1986.
- [170] C. Carlson, S. M. Hussain, A. M. Schrand, L. K. Braydich-Stolle, K. L. Hess, R. L. Jones, J. J. Schlager, *J. Phys. Chem. B*, 112 (2008) 13608-13619.
- [171] M. Stojanović, M. Nikšić, *Opšta mikrobiologija*, Poljoprivredni fakultet, Beograd, 2002.
- [172] P. Singleton, *Bacteria u Biology, Biotechnology and Medicine*, John Wiley & Sons, England, 2004.
- [173] U. Kutchera, *Theory Biosci.*, 128 (2009) 191-203.
- [174] A. D. Pomagailo, V. N. Kestelman, *Metallopolymer nanocomposites*, Springer-Verlag Berlin and Heilderberg GmbH & Co., Berlin, 2005
- [175] B. A. Rozenberg, R. Tenne, *Prog. Polym. Sci.*, 33 (2008) 40-112.
- [176] H. Palza, *Int. J. Mol. Sci.*, 16 (2015) 2099-2116.
- [177] A. Munoz-Bonila, M. Fernandez-Garcia, *Int. J. Mol. Sci.*, 37 (2012) 281-339.

- [178] V. Sedlarik, *Biodegradation-Life of Science*, Chapter 7 (2013) 187-204.
- [179] J. D. Aiken III, R. G. Finke, *J. Mol. Catal A-Chem.*, 145 (1999) 1-44.
- [180] S. Sarkar, E. Guibal, F. Quignard, A. K. SenGupta, *J. Nanopart. Res.*, 14:715 (2012).
- [181] R. J. White, R. Luque, V. L. Budarin, J. H. Clark, D. J. Macquarrie, *Chem. Soc. Rev.*, 38 (2009) 481-494.
- [182] S. Mahouche-Chergui, M. Guerrouache, B. Carbonnier, M. M. Chehimi, *Colloid Surface A*, 439 (2013) 43-68.
- [183] J. He, T. Kunitake, A. Nakao, *Chem. Mater.*, 15 (2003) 4401-4406.
- [184] I. W. Kim, J. E. Lee, J. H. Ryu, J. S. Lee, S. J. Kim, S. H. Han, I. S. Chang, H. H. Kang, K. D. Suh, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, 42 (2004) 2551-2557.
- [185] Z. M. Chen, T. Gang, Y. F. Wang, X. Chen, C. Guan, J. H. Zhang, Z. Q. Sun, K. Zhang, B. Zhao, B. Yang, *Colloids Surface A*, 277 (2006) 37-43.
- [186] Y. Lv, F. M. Alejandro, J. M. J. Frechet, F. Svec, *J. Chromatogr. A*, 1261 (2012) 121-128.
- [187] M. Larsson, J. Lu, J. Lindgren, *J. Raman Spectrosc.*, 35 (2004) 826-834.
- [188] Y. J. Kim, J. W. Kim, J. E. Lee, J. H. Ryu, J. Kim, I. S. Chang, K. D. Suh, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, 42 (2004) 5627-5635.
- [189] S. Chang, H. Ko, S. Singamaneni, R. Gunawidjaja, V. V. Tsukruk, *Anal. Chem.*, 81 (2009) 574-578.
- [190] A. C. Balazs, T. P. Russel, *Science*, 314 (2006) 1107-1110.
- [191] W. Caseri, *Macromol. Rapid. Comm.*, 21 (2000) 705-722.
- [192] M. Kralik, B. Corain, M. Zecca, *Chem. Papers*, 54 (2000) 254-264.
- [193] M. Kralik, A. Biffis, *J. Mol. Catal A-Chem*, 177 (2001) 113-138.
- [194] N. Toshima, Y. Shiraishi, T. Teranishi, *J. Mol. Catal A-Chem*, 177 (2001) 139-147.
- [195] P. K. Sudeep, T. Emrick, *Polym. Rev.*, 47 (2007) 155-163.
- [196] W. K. Son, J. H. Youk, W. H. Park, *Carbohydr. Polym.*, 65 (2006) 430-434.
- [197] F. Zeng, C. Hou, S. Wu, X. Liu, Z. Tong, S. Yu, *Nanotechnology*, 18 (2007) 055605.

- [198] T. Ishida, K. Kuroda, N. Kinoshita, W. Minagawa, M. Haruta, *J. Colloid Interface Sci.*, 323 (2008) 105-111.
- [199] Q. Cao, Y. Xu, F. Liu, F. Svec, J. M. J. Frechet, *Anal. Chem.*, 82 (2010) 7416-7421.
- [200] D. Gangadharan, K. Harshvardan, G. Gnanasekar, D. Dixit, K. M. Popat, P. S. Anand, *Water. Res.*, 44 (2010) 5481-5487.
- [201] C-C. Chen, H-H. Wu, H-Y. Huang, C-W. Liu, Y-N. Chen, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 13 (2016) 99.
- [202] [219] M. Lv, S. Su, Y. He, Q. Huang, W. Hu, D. Li, C. Fan, S. T. Lee, *Adv. Mater.*, 22 (2010) 5463-5467.
- [203] C. Tang, W. Sun, W. Yan, *RCS Adv.*, 4 (2014) 523- 530.
- [204] A. Agnihotri, S. Mukherji, S. Mukherji, *Nanoscale*, 5 (2013) 7328-7340.
- [205] S. Mukherji, J. Ruparelia, S. Agnihotri, u *Nano-Antimicrobials, Progress and prospects*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (2012) 225-251.
- [206] S. Jovanović, A. Nastović, N. Jovanović, K. Jeremić, Z. Savić, *Agnew. Makromol. Chem.*, 219 (1994) 161-168.
- [207] Z. Bilici, S.T. Camli, E. Unsal, A. Tuncel, *Anal. Chim. Acta.*, 516 (2004) 125133.
- [208] S. Kiyohara, M. Sasaki, K. Saito, K. Sugita, T. Sugo, *J. Membr. Sci.*, 109 (1996) 87-92.
- [209] I. D. Vukoje, E. S. Džunuzović, V. V. Vodnik, S. Dimitrijević, S. P. Ahrenkiel, J. M. Nedeljković, *J. Mater. Sci.*, 49 (2014) 6838-6844.
- [210] I. D. Vukoje, E. S. Džunuzović, D. R. Lončarević, S. Dimitrijević, S. P. Ahrenkiel, J. M. Nedeljković, *Polym. Composite*, 38 (2017) 1206-1214.
- [211] H. J. Lee, S. Y. Yeo, S. H. Jeong, *J. Mater. Sci.*, 38 (2003) 2199-2204.
- [212] H. Y. Ki, J. H. Kim, S. C. Kwon, S. H. Jeong, *J. Mater. Sci.*, 19 (2007) 8020-8024.
- [213] M. Vukčević, A. Kalijadis, S. Dimitrijević-Branković, Z. Laušević, M. Laušević, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 9 (2008) 015006.
- [214] A. Nastasović, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, 2004.
- [215] N. Miletić, PhD Dissertation, University of Groningen, 2009.

- [216] P. A. Webb, C. Orr, *Analytical methods in fine particle technology*, Micrometrics Instrument Corporation, Norcross, GA USA, 1997.
- [217] F. Rouquerol, J. Rouquerol, K. Sing, *Adsorption by Powders and Porous Solids*, Academic Press, London, 1999.
- [218] G. Leofanti, M. Padovan, G. Tozzola, B. Venturelli, *Catalysis Today*, 41 (1998) 207-219.
- [219] D. Navarro-Rodriguez, F. J. Rodriguez-Gonzalez, J. Romero-Garcia, E. J. Jimenez-Regalado, D. Guillon, *Eur. Polym. J.*, 34 (1998) 1039-1045.
- [220] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*, John Wiley & Sons, New York, 1995.
- [221] A. E. Aliaga, C. Garrido, P. Leyton, G. Diaz, J. S. Gomez-Jeria, T. Aguayo, E. Clavijo, M. M. Camos-Vallete, S. Sanchez-Cortez, *Spectrochim. Acta, Part A*, 76 (2010) 458-463.
- [222] T. Shoeib, K. W. Michael Siu, A. C. Hopkinson, *J. Phys. Chem. A*, 106 (2002) 6121-6128.
- [223] S. Agnihotri, G. Bajaj, S. Mukherji, S. Mukhreji, *Nanoscale*, 7 (2015) 7415-7429.
- [224] A. M. Peterson, R. P. Sukiasyan, *J. Mol. Struct.*, 51 (2008) 847-855.
- [225] S. Kumar, S. B. Rai, *Indian J. Pure Appl. Phys.*, 48 (2010) 251-255
- [226] I. D. Vukoje, V. V. Vodnik, J. V. Džunuzović, E. S. Džunuzović, M. Marinović-Cincović, K. Jeremić, J. M. Nedeljković, *Mater. Res. Bull.*, 49 (2014) 434-439.
- [227] G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies*, Wiley, New York, 2001.
- [228] K. A. Bogle, S. D. Dhole, V. N. Bhoraskar, *Nanotechnology*, 17 (2006) 3204-3208.
- [229] P. K. Khanna, N. Singh, S. Charan, V. V. V. S. Subbarao, R. Gokhale, U. P. Mulik, *Mater. Chem. Phys.*, 93 (2005) 117-121.
- [230] S. Eckhardt, P.S. Brunetto, J. Gagnon, M. Priebe, B. Giese, K.M. Fromm, *Chem. Rev.*, 113 (2013) 4708-4754.
- [231] Z.Z. Rafiuddin, *Colloid Surface B*, 89 (2012) 211-215.

- [232] A. Rafeu, K.B.L. Shrivastavaa, S.A. Iqbal, Z. Khan, *J. Colloid Interf. Sci.*, 354 (2011) 190-195.
- [233] F. Wu, D. Liu, T. Wang, W. Li, X. Zhou, *J. Mater. Sci: Mater Electron*, 26 (2015) 6781-6786.
- [234] B. Le Ouay, F. Stellacci, *Nano today*, 10 (2015) 339-354.
- [235] E.J. Park, J. Yi, Y. Kim, K. Choi, K. Park, *Toxicology in Vitro*, 24 (2010) 872-878.
- [236] I-S. Hwang, J. Lee, J. H. Hwang, K-J. Kim, D.G. Lee, *FEBS J*, 279 (2012) 1327-1338.
- [237] C.E.B. Linares, D. Griebeler, D. Cargnelutti, S.H. Alves, V. M. Morsch, M.R.C. Schetinger, *J. Med. Microbiol.*, 55 (2006) 259-262.
- [238] B. Park, V. Nizet, G.Y. Liu, *J. Bacteriol.*, 190 (2008) 2275-2278.
- [239] S.H. Kim, H.S. Lee, D.S. Ryu, S.J. Choi, D.S. Lee, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, 39 (2011) 77-83.
- [240] A. Panacek, M. Kolar, R. Vecerova, R. Pucek, J. Soukupova, V. Krystof, P. Hamal, R. Zboril, L. Kvitek, *Biomaterials*, 30 (2009) 6333-6340.
- [241] L. Kvitek, A. Panacek, R. Pucek, J. Soukupova, M. Vanickova, M. Kolar, R. Zboril, *Journal of Physics, Conference Series* 304 (2010) 012029.

Biografija

Ivana D. Vukoje, dipl. inž. tehnologije, rođena je 12.08.1982. godine u Beogradu, Republika Srbija. Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2003/2004. godine. Diplomirala je na katedri za Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju 2009. godine sa prosečnom ocenom 8,44 odbranivši diplomski rad sa ocenom 10. Školske 2010/2011. godine upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerzizeta u Beogradu, studijski program Hemija i položila sve ispite predviđene studijskim programom, kao i Završni ispit sa prosečnom ocenom 10. Od 2009. godine zaposlena je Laboratoriji za radijacionu hemiju i fiziku Instituta za nuklearne nauke „Vinča“, gde je trenutno angažovana kao istraživač saradnik na projektima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije pod nazivom "Materijali redukovane dimenzionalnosti za efikasniju apsorpciju svetlosti i konverziju energije" (broj projekta 45020) i "Uticaj veličine, oblika i strukture nanočestica na njihova svojstva i svojstva nanokompozita" (broj projekta 172056). Autor i koautor je devet radova u međunarodnim časopisima, kao i jedanaest saopštenja na naučnim skupovima od međunarodnog značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а: Ивана Вукоје

број индекса: 4062/2010

Изјављујем

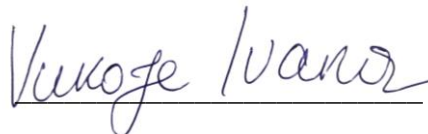
да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, карактеризација и примена наночестица сребра на макропорозном полимерном носачу

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 10.04.2017.



Ivana Vučko

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Ивана Вукоје

Број индекса: 4062/2010

Студијски програм: Хемија

Наслов рада: Синтеза, карактеризација и примена наночестица сребра на макропорозном полимерном носачу

Ментор: др Енис Џунузовић, ван. проф.

Потписана: Ивана Вукоје

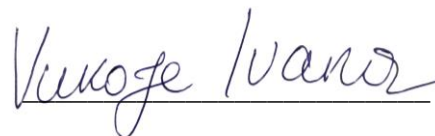
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 10.04.2017.



Прилог 3.**Изјава о коришћењу**

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Синтеза, карактеризација и примена наночестица сребра на макропорозном полимерном носачу

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

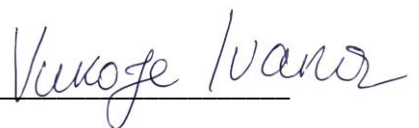
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 10.04.2017.



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
 2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
 3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
 4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
 5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
 6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.
-