



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235359**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **406393**

(51) Int.Cl.
B82Y 30/00 (2011.01)
B82B 3/00 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **05.12.2013**

(54) **Sposób modyfikowania powierzchni nanokompozytami, sposób otrzymywania materiału nanokompozytowego, materiał nanokompozytowy otrzymany tym sposobem i jego zastosowanie do wytwarzania powierzchni antyseptycznych oraz do wytwarzania powierzchni przeznaczonych do hodowli komórek ssących**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

08.06.2015 BUP 12/15

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

29.06.2020 WUP 08/20

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT CHEMII FIZYCZNEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**KATARZYNA WYBRAŃSKA, Kraków, PL
JAN PACZESNY, Żary, PL
MARCIN FIAŁKOWSKI, Warszawa, PL
ROBERT HOŁYST, Warszawa, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Krystian Żygadło

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób modyfikowania powierzchni nanokompozytami.

Ponadto przedmiotami wynalazku są: sposób otrzymywania materiału nanokompozytowego, materiał nanokompozytowy i jego zastosowanie.

Materiał według wynalazku posiada właściwości bakteriobójcze, a jednocześnie jest całkowicie nieszkodliwy dla komórek ssaczych.

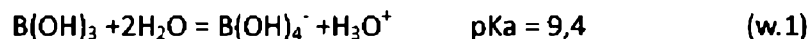
Wraz z błyskawicznie postępującą w ostatnich dekadach miniaturyzacją urządzeń elektronicznych, dynamicznym rozwojem fizykochemii powierzchni oraz intensyfikacją prac nad technologiami wykorzystującymi zjawiska kwantowe, coraz większe znaczenie – zarówno dla nauki, jak i dla przemysłu – zyskują nanocząstki. Są to cząstki, których przynajmniej jeden z wymiarów nie przekracza 100 nm, zbudowane z kilku do nawet kilkunastu tysięcy atomów, często kuliste. Ich właściwości, a więc również potencjalne zastosowania, zasadniczo odbiegają od tych wykazywanych przez te same substancje w formie mniej rozdrobionej. Nanocząstki z reguły pokrywane są warstwą stabilizującą, której zadaniem jest zapobieganie niekontrolowanej agregacji i tworzeniu struktur o dużej objętości (agregatów), spowodowanej wysoką energią powierzchniową nanocząstek. Najczęściej do stabilizacji wykorzystywane są cząsteczki organiczne np. alkanotiole.

W niniejszym zgłoszeniu wynalazku nanocząstki stabilizowane są jonami nieorganicznymi, które powstały w wyniku reakcji zachodzących podczas syntezy nanocząstek. Powszechnie w literaturze tego typu nanocząstki określane są jako „gołe”, gdyż nie zawierają organicznego liganda stabilizującego. Dobór i modyfikacja ligandów otaczających metaliczny bądź półprzewodnikowy rdzeń nanocząstek otwiera możliwość wpływania na ich właściwości.

Nanocząstki złota są jednymi z najbardziej trwałych nanocząstek metalicznych. Ze względu na swe unikalne właściwości optyczne i elektryczne, ściśle związane z ich wielkością i kształtem, nanocząstki złota znajdują wiele zastosowań m.in. w chemii materiałów, katalizie, medycynie, czy biologii. Koloidalne złoto prawdopodobnie pojawiło się już około piątego lub czwartego wieku p.n.e. w Egipcie i w Chinach. W czasach antycznych było używane w celach dekoracyjnych, a także leczniczych. Używano je do barwienia szkła i ceramiki. Prawdopodobnie najslawniejszym przykładem jest Kielich Likurgijski (Lycurgus Cup), którego powstanie szacuje się na piąty do czwartego wieku p.n.e. Jest czerwony w świetle przechodzącym i zielony w świetle rozproszonym ze względu na obecność nanocząstek złota. Pierwsza publikacja dotycząca nanocząstek złota powstała w 1618 roku, a jej autorem był Francisci Antonii. Jego książka zawiera informacje na temat syntezy koloidalnego złota oraz jego wykorzystania w medycynie. Wierzono, że koloidalne złoto może być wykorzystane w leczeniu chorób, takich jak dysenteria (czerwonka), epilepsja, choroby nowotworowe oraz choroby serca i choroby weneryczne. W 1676 roku niemiecki chemik Johann Kunckels opublikował kolejną książkę, w której zawarł stwierdzenie, że „złoto musi występować w tak rozdrobionej formie, że nie jest widoczne dla oka ludzkiego”. W 1794 roku Fuhrlame opublikował w swojej książce metodę barwienia jedwabiu koloidalnym złotem. Barwnik szkła znany jako Purpura Kasjusza jest wynikiem hetero koagulacji nanocząstek złota i tlenku tytanu. W 1857 Faraday opisał tworzenie czerwonego roztworu koloidalnego złota poprzez redukcję AuCl_4 w układzie dwufazowym siarki i CS_2 (*Faraday, M. Experimental Relations of Gold (and other Metals) to Light. Philos. Trans. 1857, 147, 145–181*). W dwudziestym wieku opisano już wiele innych metod otrzymywania nanocząstek (*Turkevitch, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. Nucleation and Growth Process in the Synthesis of colloidal gold. Discuss. Faraday Soc. 1951, 11, 55–75; Frens, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. Nature: Phys.Sci. 1973, 241, 20–22.; Hayat, M.A. Colloidal Gold, Principles, Methods and Applications, Academic Press: New York, 1989*), a zainteresowanie samymi nanocząstkami ciągle rośnie i jest ono związane z ich unikalnymi właściwościami (kwantowy efekt rozmiarowy) i możliwościami aplikacyjnymi m.in. w metodach analitycznych, w diagnostyce i terapii medycznej, w różnych metodach obrazowania oraz w technice SERS – wykorzystującej wzmocnione powierzchniowo rozpraszanie Ramana (*Chemical Reviews, 2004, Vol. 104, No. 1; Journal of Molecular Liquids 155 (2010) 91–95*).

Nanocząstki wykorzystywane w metodzie według wynalazku otrzymuje się w wyniku redukcji soli odpowiedniego metalu borowodorkiem. Powstające w wyniku tej reakcji związki boru i tlenu (oksoborany) stabilizują powierzchnię nanocząstek i biorą udział w tworzeniu nanokompozytu.

Cząsteczka kwasu borowego ma strukturę planarną (płaską). Dzięki połączeniom poprzez wiązania wodorowe tworzy prawie heksagonalną strukturę podobną do grafenu (odległość między warstwami wynosi 3,18Å). Rozpuszczony w wodzie kwas borowy zachowuje się jak kwas Lewisa. W roztworze kwasu borowego możliwe jest współistnienie różnych typów anionów i polianionów składających się z jednostek podstawowych BO_3 i BO_4 . Liczba grup BO_3 i BO_4 zależy od pH. W roztworach o stężeniu boru poniżej 0,025M istnieje stan równowagowy, który można zapisać wzorem (w.1.). Wynika z niego, że równomolowa ilość B(OH)_4^- oraz B(OH)_3 współistnieje w roztworze o pH = 9,4. W niższym pH przeważają płaskie grupy BO_3 w wyższym tetraedryczne grupy BO_4 .



W roztworach o wyższym stężeniu równowaga tworzy się pomiędzy niezjonizowaną formą kwasu B(OH)_3 , a polinuklearnymi kompleksami $\text{B}_3\text{O}_3(\text{OH})_4^-$; $\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4^{2-}$; $\text{B}_3\text{O}_3(\text{OH})_5^{2-}$, $\text{B}_5\text{O}_6(\text{OH})_4^-$ i B(OH)_4^- . Dodatek jonów H^+ lub OH^- może prowadzić do kondensacji i utworzenia polioksoanionów. Proces ten wiąże się z delokalizacją ładunku i ze zmniejszeniem formalnego ładunku, co z kolei wpływa na wzrost właściwości hydrofobowych. Różnica między kondensacją w środowisku kwaśnym, a kondensacją w środowisku zasadowym polega na morfologii powstałych w tym procesie polianionów. W środowisku kwaśnym jest tendencja do tworzenia płaskich sieci, które następnie układają się warstwowo, natomiast w środowisku zasadowym kondensacja prowadzi do powstania amorficznych sieci. Dodatkowo wiadomo, że obecność wolnych dużych dwuwartościowych kationów powoduje stabilizację struktur poliboranowych (*Contemporary Boron Chemistry; Matthew Davidson, Royal Society of Chemistry (Great Britain); Royal Society of Chemistry, 2000–538*).

Znany jest również fakt, że jony oksoborane mogą tworzyć silne kompleksy z grupami OH, np. w celulozie, czy polialkoholach („Recent advances in methods of isolating and purifying hemicelluloses” B Lindberg; *Trakemiska avdelningen, Svenska Traforskninginstitutet, Stockholm O, Sverige*). Do tej pory nie opisano jednak sposobu modyfikacji materiałów hydrofilowych nanocząstkami złota wykorzystującego tę właściwość oksoboranów.

Celuloza jest naturalnym polisacharydem składającym się z jednostek glukopiranozy połączonych wiązaniem 1,4 glikozydowym. Jest głównym składnikiem ścian komórkowych roślin pełniącym w nich funkcję podporową. W roślinach celuloza występuje w postaci włókien, często inkrustowanych innymi polisacharydami oraz ligniną, tłuszczami, żywicami lub nawet substancjami mineralnymi. Oczyszczone, wybielone i odtłuszczone włoski nasion różnych gatunków bawełny (np. wata kosmetyczna) to prawie czysta celuloza („Naturalne Związki Organiczne” Aleksander Kołodziejczyk, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004, ISBN 83-01-14316-9; „Materiały medyczne”, Anna Cedro-Niwińska, Renata Jachowicz). Włókna celulozy, ze względu na obecność wiązań wodorowych, mają właściwości amfifilowe oraz zdolność do tworzenia złożonych struktur, dzięki czemu są niezwykle trudno rozpuszczalne zarówno w rozpuszczalnikach wodnych jak i organicznych. Ta ostatnia właściwość sprawia, że bardzo trudno jest modyfikować włókna celulozy stosując konwencjonalne podejścia (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, 47, 9866–9869).

W roku 2007 opisano sposób modyfikacji włókien celulozy pochodzenia roślinnego i bakteryjnego nanocząstkami złota oraz nanocząstkami złota w otoczkach z SiO_2 , wykorzystujący metodę LBL (z ang. Layer by layer), czyli warstwa po warstwie. Do celulozy o powierzchniowym ładunku ujemnym adsorbowano polikation PDDA, do którego następnie adsorbowano ujemnie naładowane nanocząstki otrzymane znaną metodą redukcji z cytrynianem sodu (*R.J.B. Pinto et al. /Journal of Colloid and Interface Science* 312 (2007) 506–512).

W 2009 roku przedstawiono sposób modyfikacji włókna celulozowego metalicznymi nanocząstkami złota, platyny i palladu z wykorzystaniem oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy ujemnie naładowanymi nanocząstkami oraz zmodyfikowanymi kationowo grupami amoniowymi w celulozie. Proces modyfikacji trwa około 24 godzin i wiąże się ze stratą nanocząstek, które nie zaadsorbowały się do włókien i zostały wypłukane w procesie oczyszczania (stosowano nanocząstki złota otrzymane w wyniku redukcji jonów chlorozłotawych cytrynianem). (*Metal Nanoparticles on Natural Cellulose Fibers: Electrostatic Assembly and In Situ Synthesis. Hong Dong, Juan P. Hinestroza; Applied Materials&Interfaces, vol. 1, no. 4, 797–803; 2009*).

Znane są też metody wykorzystujące mikro-włókna i oligomery celulozy oraz jej pochodnych do stabilizacji roztworów koloidalnych nanocząstek (*A.I. Loskutov, O.Ya. Uryupina, V.V. Vysotskii, V.I. Roldughin, 2009, published in Kolloidnyi Zhurnal, 2009, Vol. 71, No. 5, pp. 652–656.; T. Ishida et al./Applied Catalysis A: General* 377 (2010) 42–46); *S. Boufi et al./ Carbohydrate Polymers* 86 (2011) 1586–1594).

Przykładem mogą być nanocząstki wielkości około 30 nm, które otrzymuje się w obecności metylocelulozy poprzez redukcję jonów chlorozłotawych gazowym wodorem (G.P. Sahoo *et al.* / *Journal of Molecular Liquids* 155 (2010) 91–95) lub nanocząstki zsyntezowane in situ w 80% wodnym roztworze N-tlenku N-metylomorfoliny (NMMO) w temperaturze 100°C w obecności TSC-celulozy (cellulose thiosemicarbazones). Autorzy tej pracy postulują możliwe wykorzystanie w proponowanej metodzie wielu innych węglowodanów, takich jak chitozan, celohexkoza, celobioza, maltoza i laktoza (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, 47, 9866–9869).

Znane są metody tworzenia antybakteryjnych materiałów w oparciu o modyfikowaną nanocząstkami celulozę. Najczęściej wykorzystuje się do tego nanocząstki srebra (W.K. Son *et al.* / *Carbohydrate Polymers* 65 (2006) 430–434; W.-L. Chou, D.-G. Yu and M.-C. Yang, *Polym. Adv. Technol.* 2005; 16: 600–607; A. Fernandez *et al.* / *Food Research International* 42 (2009) 1105–1112; „Effect of cationization on adsorption of silver nanoparticles on cotton surfaces and its antibacterial activity” Mohammad Shateri Khalil-Abad, Mohammad Esmail Yazdanshenas, Mohammad Reza Nateghi; *Cellulose* (2009) 16:1147–1157), ale znane są także materiały oparte na nanocząstkach miedzi (*Copper-Based Nanostructured Coatings on Natural Cellulose: Nanocomposites Exhibiting Rapid and Efficient Inhibition of Multi-Drug Resistant Wound Pathogen, A. baumannii, and „Mammalian Cell Biocompatibility In Vitro” Adv. Fund. Mater.* 2011, 21, 2506–2514/).

Znane są bakteriobójcze właściwości nanocząstek złota i nanokompozytów złota („Enhancement of antibiotic effect via gold:silver-alloy nanoparticles” Margarida Moreira dos Santos, Margarida Joao Queiroz, Pedro V. Baptista, *J Nanopart Res* (2012) 14:859; „Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far?” Alaaldin M. Alkilany, Catherine J. Murphy, *J Nanopart Res* (2010) 12:2313–2333).

W 2012 roku została opublikowana praca dotycząca modyfikacji membrany celulozowej nanocząstkami złota. Opisana metoda polega na rozdzielaniu membraną roztworu AuCl_4^- i roztworu NaBH_4 . Gradient dyfuzyjny powoduje, że mniejsze negatywnie naładowane jony borowodorkowe migrują szybciej przez membranę i sukcesywnie redukują jony złota przyłączone do powierzchni membrany z drugiej strony, na zasadzie oddziaływań elektrostatycznych (celuloza ma zdolność wiązania dodatnio naładowanych jonów metali). Metoda ta (inaczej niż w sposobie według wynalazku) polega na syntezie nanocząstek in situ na powierzchni celulozowej membrany (*N. Sosibo et al. / Materials Letters* 88 (2012) 132–135).

Już w latach czterdziestych XX wieku wykorzystywano związki boru do modyfikacji celulozy. Dokument patentowy US2300213(A) opisuje wykorzystanie fluorku boru do produkcji estrów celulozy (np. octan celulozy). Autorzy wynalazku wskazują odporność na odbarwienia jako istotną korzyść takich modyfikacji. Metoda ta została udoskonalona w późniejszych latach, co opisano w zgłoszeniach US2554439(A) z 1952 roku oraz US3313592(A) z 1967 roku. W roku 1973 w zgłoszeniu U53765836(A) autorzy opisali wykorzystanie boranów oraz kwasu borowego do modyfikacji materiałów zawierających celulozę w celu otrzymania tkanin niegniotących się.

Znane jest również zastosowanie związków boru do tworzenia powłok ognioodpornych. Już w roku 1974 w zgłoszeniu US3790562(A) autorzy opisali wykorzystanie alkoksyboru do modyfikacji celulozy w celu zapewnienia jej odporności na ogień. W 1976 użyto prostszych oraz tańszych boranów do produkcji ognioodpornych wypełniaczy. W zgłoszeniu US6025027(A) autorzy pokazują wykorzystanie boranów do produkcji materiałów izolujących bazujących na celulozie.

Zgłoszenie patentowe

WO2002028796(A2) opisuje proces przygotowania spoiwa z włókien celulozowych wysyconych związkami organicznymi oraz nieorganicznymi. Dodatki nie tworzą nanocząstek.

Znane są również materiały kompozytowe celulozy oraz mikro i nanocząstek metali, tlenków metali, innych półprzewodników oraz ich mieszanin. W 1982 w zgłoszeniu US4326889(A) autorzy zaprezentowali sposób przygotowania kompozytu celulozy oraz mikrocząstek (od 0,8 do 2 μm) złota jako dentystycznego podkładu do osadzania warstwy porcelany. Zgłoszenia: WO2007023002(A1) oraz US20110262646(A1) dotyczą materiałów kompozytowych, w których nanocząstki są zaadsorbowane niekowalencyjnie na powierzchni celulozy. Zgłoszenia: WO2009080522(A1) oraz WO2010095574(A1) opisują metody syntezy nanocząstek w obecności celulozy.

Zgłoszenie US20080145576(A1) dotyczy sposobu przygotowania opakowań na jedzenie, przede wszystkim osłonek na parówki, kiełbasy oraz inne produkty mięsne. Derywatyzowana celuloza domieszkuje jest nanocząstkami. Autorzy sugerują, że zapewnia to pewną antybakteryjność oraz umożliwia dłuższe przechowywanie produktów spożywczych.

Wszystkie dotychczas opisane metody łączenia celulozy z nanocząstkami wiążą się z wcześniejszą modyfikacją ligandów na nanocząstce lub modyfikacją chemiczną samej celulozy, a późniejsze łączenie obu komponentów zwykle opiera się na oddziaływaniach elektrostatycznych. W dotychczas opisanych metodach nie ma wzmianki na temat roli oksoboranów w tworzeniu trwałych połączeń pomiędzy nanocząstkami, a także pomiędzy nanocząstkami a innymi materiałami zawierającymi grupy hydrofilowe tj. -OH i COOH.

Celem niniejszego wynalazku jest zaproponowanie sposobu tworzenia i osadzania nanokompozytów z nanocząstek metalicznych, zwłaszcza złota, srebra, miedzi, niklu, kobaltu lub mieszaniny tych nanocząstek, i oksoboranów na powierzchniach hydrofilowych (szczególnie zawierających grupy -OH i -COOH) i powierzchniach hydrofobowych.

Kolejnym celem wynalazku jest zaproponowanie nowego materiału nanokompozytowego o właściwościach antyseptycznych. Zaskakujące jest przy tym, że proponowany materiał wykazuje właściwości bakteriobójcze, a jednocześnie jest całkowicie nieszkodliwy dla komórek ssących.

Dlatego dalszym celem obecnego wynalazku jest wskazanie zastosowania proponowanego materiału nanokompozytowego do wytwarzania materiałów antyseptycznych, a w szczególności do pokrywania tym materiałem nanokompozytowym powierzchni rozmaitych materiałów, np. polimerowych (szalki Petriego, implanty, rusztowania do wzrostu komórek), szkła (szklane kuwety, włókno szklane), metalu (sprzęt medyczny, implanty), czy bawełny (bandaże, nici).

Zgodnie z obecnym wynalazkiem, sposób modyfikowania powierzchni nanokompozytami, zawierającymi nanocząstki metaliczne i związki boru charakteryzuje się tym, że wybraną substancję stałą o powierzchni hydrofilowej albo hydrofobowej albo amfifilowej albo substancję metaliczną, której powierzchnia ma być modyfikowana, umieszcza się w koloidalnym roztworze nanocząstek metalicznych wybranych spośród nanocząstek złota, nanocząstek srebra albo ich mieszaniny, stabilizowanych związkami boru, takimi jak oksoborany, a następnie prowadzi się polimeryzację/kondensację oksoboranów przez indukcję zmiany wartości pH w zakresie od 0 do 10, dodając kwasu lub zasady, albo przez dodanie soli metali dwuwartościowych lub trójwartościowych, zwłaszcza soli Mg, Ca, Cu, Fe, Cr, Au, Hg lub Pb, przy czym wymieniony sposób prowadzi się w zakresie temperatury od 0°C do 100°C, korzystnie w temperaturze pokojowej, w wyniku czego otrzymuje się nanokompozyty z nanocząstek metalicznych i polioksoboranów zaadsorbowane na użytym materiale.

Korzystnie, jako stałą powierzchnię do modyfikacji stosuje się materiał wybrany z grupy obejmującej spasywowany krzem, kwarc, szkło, metal, stal nierdzewną, watę szklaną, włókno szklane, papier, watę kosmetyczną, tkaninę bawełnianą oraz celulozę.

Korzystnie, stosuje się nanocząstki złota, otrzymane w syntezie polegającej na redukcji jonów chlorozłotawych borowodorkiem sodu, najkorzystniej otrzymane w syntezie Martina.

Alternatywnie, korzystnie, stosuje się nanocząstki srebra, korzystnie otrzymane w wyniku redukcji azotanu srebra borowodorkiem sodu.

Korzystnie, jako kwas stosuje się kwasy organiczne lub nieorganiczne, korzystnie HCl, a jako zasadę stosuje się organiczne i nieorganiczne zasady, korzystnie NaOH.

Korzystnie, jako sól metalu dwuwartościowego stosuje się CuSO_4 lub CaCl_2 , a jako sól metalu trójwartościowego stosuje się FeCl_3 .

Korzystnie, ilość nanocząstek w nanokompozytach osadzanych na modyfikowanej powierzchni kontroluje się poprzez zmianę objętości roztworu koloidalnego nanocząstek dodawanego w trakcie procesu modyfikacji.

Korzystnie, wielkość nanokompozytów osadzonych na modyfikowanej powierzchni kontroluje się w procesie modyfikacji albo poprzez zmianę pH w zakresie od powyżej 0 do 10, korzystnie powyżej 0 do 4, a najkorzystniej poniżej 2, albo poprzez zmianę stężenia roztworu koloidalnego nanocząstek.

Sposób otrzymywania materiału nanokompozytowego, według wynalazku charakteryzuje się tym że obejmuje etapy, w których – przygotowuje się koloidalny roztwór nanocząstek metalicznych wybranych spośród nanocząstek złota, nanocząstek srebra albo ich mieszaniny stabilizowanych związkami boru, takimi jak oksoborany, – a następnie prowadzi się polimeryzację/kondensację oksoboranów przez indukcję zmiany wartości pH w zakresie od 0 do 10, dodając kwasu lub zasady, albo przez dodanie soli metali dwuwartościowych lub trójwartościowych, zwłaszcza soli Mg, Ca, Cu, Fe, Cr, Au, Hg lub Pb, przy czym wymieniony sposób prowadzi się w zakresie temperatury od 0°C do 100°C, korzystnie w temperaturze pokojowej, w wyniku czego otrzymuje się nanokompozyty z nanocząstek metalicznych i polioksoboranów.

Wynalazek obejmuje również materiał nanokompozytowy otrzymany powyższym sposobem, charakteryzujący się tym, że obejmuje nanocząstki metalu zatopione w matrycy polioksoboranowej, przy czym powierzchnia przynajmniej niektórych spośród tych nanocząstek jest odślonięta.

Korzystnie, matryca polioksoboranowa jest porowata, a wspomniane nanocząstki metalu obejmują złoto lub srebro.

Korzystnie, nanocząstki metalu są usytuowane na powierzchni matrycy polioksoboranowej.

Korzystnie, materiał dodatkowo obejmuje atomy jednego lub więcej metalu dwu- lub trójwartościowego, a zwłaszcza atomy jednego spośród następujących metali: Mg, Ca, Cu, Fe, Cr, Au, Hg, Pb.

Korzystnie, materiał jest w postaci warstwy osadzonej na podłożu, zwłaszcza na podłożu wybranym z grupy obejmującej: spasywowany krzem, krzemionkę, kwarc, szkło, metal, stal nierdzewną, watę szklaną, włókno szklane, papier, watę kosmetyczną, tkaninę bawełnianą, polimery naturalne, zwłaszcza celulozę, karagen, pektynę i chitozan, polimery syntetyczne, zwłaszcza polistyren, polimetakrylan 2-hydroksy etylu (poli-HEMA).

W takim przypadku, korzystnie, wspomniana warstwa osadzona na podłożu jest nieciągła, czyli zawiera co najmniej jedną szczelinę wiodącą od skraju warstwy aż do odśloniętego fragmentu podłoża.

Korzystnie, wspomniana warstwa osadzona na podłożu ma grubość co najmniej 3 nm, korzystnie od 3 nm do 100 nm, a najkorzystnie od 3 nm do 5 nm.

Korzystnie, stopień pokrycia podłoża przez wspomnianą warstwę jest mniejszy niż 100%, to znaczy przynajmniej część podłoża jest odkryta.

Wynalazek obejmuje również zastosowanie powyższego materiału nanokompozytowego do wytwarzania powierzchni antyseptycznych oraz do wytwarzania powierzchni przeznaczonych do hodowli komórek ssaczy.

Korzystne przykłady wykonania wynalazku

Wynalazek zostanie teraz bliżej przedstawiony w następujących przykładach wykonania, z odniesieniem do załączonego rysunku, na którym:

Fig. 1 przedstawia zdjęcia ilustrujące proces osadzania nanokompozytów na ściankach szklanej kuwety (a – roztwór nanocząstek w szklanej kuwecie, b – roztwór nanocząstek w szklanej kuwecie po zakwaszeniu HCl; c – roztwór nanocząstek po całkowitym osadzeniu nanokompozytu na ściankach kuwety, d – roztwór nanocząstek po całkowitym osadzeniu nanokompozytu na ściankach kuwety (kuwetę odwrócono wieczkiem do spodu, aby pokazać, że roztwór po adsorpcji jest bezbarwny i klarowny), e – szklana kuweta z osadzonymi na jej ściankach nanokompozytami po wysuszeniu pod próżnią);

Fig. 2 przedstawia obraz SEM sieci nanocząstek osadzonych na powierzchni krzemu po dodaniu HCl (a – powiększenie 50000 razy, b – powiększenie 5000 razy);

Fig. 3 przedstawia obrazy SEM sieci nanocząstek osadzonych na powierzchni krzemu po dodaniu NaOH (a – powiększenie 50000 razy, b – powiększenie 5000 razy);

Fig. 4 przedstawia obraz SEM sieci nanocząstek osadzonych na powierzchni krzemu po dodaniu CuSO_4 (powiększenie 50000 razy);

Fig. 5 przedstawia zdjęcia ilustrujące proces pokrywania bawełny nanokompozytami (a – bawełna w roztworze nanocząstek, b – bawełna w roztworze nanocząstek po zakwaszeniu HCl; c – supernatant, d – sucha bawełna);

Fig. 6 przedstawia obraz SEM bawełny (waty kosmetycznej) zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności HCl (powiększenie 5000 razy);

Fig. 7 przedstawia zdjęcie tkaniny bawełnianej (bandaża) po modyfikacji nanokompozytem w obecności HCl;

Fig. 8 przedstawia obraz SEM tkaniny bawełnianej zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności HCl;

Fig. 9 przedstawia zdjęcia próbek bawełny po zanurzeniu w ciekłej kulturze bakterii E.Coli. (w świetle widzialnym, w świetle UV i po wyciągnięciu jedynie koloru zielonego ze zdjęć w świetle UV świadczącego o obecności bakterii);

Fig. 10 przedstawia obrazy SEM włókien bawełny (czystej i zmodyfikowanej) inkubowanych w roztworach bakterii E.Coli;

Fig. 11 przedstawia zdjęcie wysuszonej bawełny zmodyfikowanej nanokompozytem złota w obecności NaOH;

Fig. 12 przedstawia obraz SEM bawełny zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności NaOH (powiększenie 5000 razy);

Fig. 13 przedstawia zdjęcie bawełny zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności CuSO_4 (powiększenie 5000 razy);

Fig. 14 przedstawia obraz SEM bawełny zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności CuSO_4 (powiększenie 5000 razy);

Fig. 15 przedstawia zdjęcie tkaniny z włókna szklanego zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności HCl;

Fig. 16 przedstawia obraz SEM tkaniny z włókna szklanego zmodyfikowanej nanokompozytem w obecności HCl;

Fig. 17 przedstawia osadzenie się nanokompozytów z nanocząstek złota i oksoboranów na tkaninie potwierdzone metodą mikroskopii elektronowej SEM;

Fig. 18 przedstawia zdjęcie bawełny zmodyfikowanej nanocząstkami srebra: a) bawełna po dodaniu roztworu nanocząstek srebra, b) – bawełna z nanocząstkami srebra po modyfikacji po zakwaszeniu (HCl), c – oczyszczona i wysuszona bawełna po modyfikacji nanocząstkami srebra;

Fig. 19 przedstawia osadzenie się nanokompozytów na włóknach bawełny z nanocząstek srebra i oksoboranów potwierdzone metodą mikroskopii elektronowej SEM;

Fig. 20 przedstawia osadzenie nanokompozytów z mieszaniny nanocząstek złota i srebra na bawełnie, potwierdzone metodą mikroskopii elektronowej SEM;

Fig. 21 przedstawia osadzenie nanokompozytów najpierw z nanocząstek złota, a potem z nanocząstek srebra na wacie kosmetycznej, potwierdzone metodą mikroskopii elektronowej SEM;

Fig. 22 przedstawia osadzenie nanokompozytów najpierw z nanocząstek srebra, a potem z nanocząstek złota na wacie kosmetycznej, potwierdzone metodą mikroskopii elektronowej SEM;

Fig. 23 przedstawia: (a) schemat procedury pokrywania powierzchni nanokompozytem, (b) schemat budowy przykładowego nanokompozytu według wynalazku, tj. bloczku zbudowanego z oksoboranów, zawierającego nanocząstki, którymi to bloczkami pokrywana jest powierzchnia; bloczek ma w przybliżeniu kształt prostopadłościanu o długości krawędzi rzędu kilkudziesięciu nanometrów; centralna część bloczka jest cieńsza niż część peryferyjna; w części centralnej znajdują się nanocząstki; (c) zdjęcia mikroskopowe materiału nanokompozytowego według wynalazku;

Fig. 24 przedstawia zdjęcia posiewów bakteryjnych opisanych w przykładzie IX;

Fig. 25 przedstawia wykres ilustrujący przeżywalność bakterii w czasie w kontakcie ze zmodyfikowaną według wynalazku bawełną oraz w kontakcie z próbką kontrolną (bawełną niezmodyfikowaną); eksperyment opisano w przykładzie IX;

Fig. 26 przedstawia zdjęcia mikroskopowe przykładowych hodowli komórkowych prowadzonych w obecności materiału według wynalazku (przykład X): a) komórki nerwowe, b) komórki wysepek trzustkowych, c) komórki wątroby, d) komórki progenitorowe tkanki tłuszczowej;

Fig. 27 przedstawia zdjęcie próbek kulek Stobera (z SiO_2) po modyfikacji nanokompozytem złota i oksoboranów w różnym pH (od lewej: pH = 2, pH = 4 i pH = 6), zgodnie z przykładem XI;

Fig. 28 przedstawia obrazy SEM kulek Stobera (z SiO_2) po modyfikacji nanokompozytem złota i oksoboranów w różnym pH (od lewej: pH = 2, pH = 4 i pH = 6) i po oczyszczeniu, zaś

Fig. 29 przedstawia zdjęcie szpatułki wykonanej ze stali nierdzewnej po modyfikacji nanokompozytem złota i oksoboranów w środowisku kwaśnym, zgodnie z przykładem XII.

Materiały i sprzęt

Podczas eksperymentów wykorzystywane były rozpuszczalniki organiczne wysokiej czystości dostarczone przez firmę Chempur. Pozostałe niezbędne, dostępne komercyjnie odczynniki dostarczyła firma Sigma-Aldrich. Użyto bawełny w postaci waty kosmetyczno-higienicznej (Toruńskie Zakłady Materiałów Opatrunkowych, Polska).

Nanocząstki złota (AuNP) otrzymano metodą Martina. Do 5 ml wody dodano 50 μl 50 mM roztworu $\text{AuCl}_4^-/\text{HCl}$ (roztworu soli kwasu złotawego z równomolowym dodatkiem HCl). Roztwór wodny $\text{AuCl}_4^-/\text{HCl}$ worteksowano, a po chwili wstrzyknięto do niego 150 μl świeżo przygotowanego 50 mM roztworu $\text{NaBH}_4/\text{NaOH}$ (roztwór borowodorku sodu z równomolowym dodatkiem NaOH). Całość worteksowano jeszcze przez 1 min.

Nanocząstki srebra (AgNP) otrzymano metodą redukcji azotanu srebra borowodorkiem sodu. Sporządzono 1 mM roztwór azotanu srebra. W tym czasie odważono 2,27 mg NaBH_4 i rozpuszczono w 30 ml wody w kolbie na 50 ml. Roztwór NaBH_4 mieszano na mieszadle magnetycznym w łaźni

lodowej. 10 ml roztworu AgNO_3 pobrano strzykawką i wkraplano powoli (1 kropla na 1 sekundę) do roztworu NaBH_4 . Na koniec wkraplania, powstały roztwór AgNP miał kolor żółty. Nanocząstki srebra używano bezpośrednio po ich syntezie (nie przechowywano dłużej niż 1 godzinę).

Submikrometryczne kulki SiO_2 otrzymano metodą Stobera. Do szklanej butelki o pojemności 20 ml dodano 11,35 ml etanolu i 0,65 ml tetraetoksyilanu (TEOS). Zawartość butelki mieszano przy pomocy mieszadła magnetycznego. W tym czasie sporządzono rozcieńczony roztwór amoniaku, przez zmieszanie 2 ml 25% wody amoniakalnej z 1 ml wody destylowanej. Powstały roztwór amoniaku dodano do etanolowego roztworu TEOS. Już po kilkunastu minutach od momentu zmieszania roztworów zauważono świadczące o przebiegu reakcji zmętnienie. Całość mieszano jeszcze przez 24 godziny. Po tym czasie powstałą zawiesinę wymrożono na linii próżniowej w celu odpędzenia etanolu i amoniaku. Powstałe mikrosfery (ziarna, kulki) przechowywano w zawieszynie wodnej o tej samej objętości co roztwór do syntezy.

Do testów wykorzystano bakterie *Escherichia Coli* BL21, które przetransformowano tak, by uzyskały lekooporność na antybiotyki chloramfenikol oraz kanamycynę. Dodatkowo wprowadzono plazmid pET (transformacja wapniowa) zawierający gen kodujący zielone białko fluorescencyjne (*green fluorescence protein* GFP). Ekspresja genu regulowana była przez represor lac, dlatego produkcję GFP indukowano przez dodanie izopropyl-beta-D-tiogalaktopiranozydu (IPTG). Przygotowanie pożywek oraz wszystkie operacje wykonywano zachowując sterylność. Wszystkie procedury związane z hodowlą bakterii były zgodne ze standardowymi protokołami powszechnie wykorzystywanymi w mikrobiologii.

Kolonie bakterii E.Coli z pożywki stałej zaszczepiano w 10 ml pożywki LB z dodatkiem chloramfenikolu oraz kanamycyny. Hodowlę umieszczano w inkubatorze (37°C) na 24 h. Po tym czasie rozcieńczano bakterie pożywką LB do 300 ml. Po 8 h dodawano IPTG tak, by jego stężenie w hodowli wynosiło około 1 mM. Hodowlę ponownie umieszczano w inkubatorze na 24 h. Po tym czasie OD_{600} hodowli wynosiło około 1,8.

Kolonie bakterii S.Epidermitis zaszczepiano w 10 ml pożywki LB bez dodatku antybiotyków. Hodowlę umieszczano w inkubatorze (37°C) na 24 h.

Eksperyment polegający na pomiarze intensywności fluorescencji białka GFP w świetle UV, świadczącej o obecności bakterii na powierzchni badanego materiału, przeprowadzono w następujący sposób: Pobierano po 10 ml hodowli E.Coli o $\text{OD} = 1,8$ i umieszczano w sterylnych probówkach. Do każdej próbki dodawano takie same masy badanych materiałów i całość umieszczano na 1 h w inkubatorze. Po tym czasie próbki badanych materiałów przenoszono na szalki Petriego i po osuszeniu robiono zdjęcia w świetle UV (254 nm).

Analizę obrazu wykonano z wykorzystaniem programów Gimp 2.6 (licencja GNU) oraz ImageJ 1.46 (licencja public domain). Przyjęto dwa założenia: 1) wyniki znormalizowano tak, że najwyższa wartość zielonej fluorescencji (najwięcej bakterii) została uznana za 100%; 2) na próbce niezanurzonej w hodowli bakterii, nie obserwujemy fluorescencji GFP, czyli 0%. Ponieważ użyta bawełna wykazywała pewną fotoaktywność w promieniach UV konieczne było odjęcie tła od wszystkich zdjęć. Kalibracja odbywała się zgodnie z założeniem 2 – od zdjęć próbek odjęto tło.

Zdjęcia próbek wykonano aparatem Canon 60D z obiektywem Carl Zeiss Jena 50 mm 1.8 Pancolar MC z użyciem odpowiedniego adaptera. Ustawienia czasu naświetlania oraz przesłony oraz warunki świetlne podczas robienia zdjęć w świetle UV były identyczne. Jako źródło światła UV wykorzystano lampę ręczną, emitującą światło o maksimum długości fali emisji przy 254 nm.

Przeżywalność bakterii E.Coli (bakterie gram ujemne) oraz bakterii S. Epidermidis (bakterie gram dodatnie) w obecności zmodyfikowanego materiału w czasie, zbadano metodą zliczania kolonii. Zawiesinę bakterii do tego eksperymentu przygotowywano w następujący sposób:

Zawiesinę bakterii z hodowli rozcieńczono LB do $\text{OD} = 1$. Następnie zawiesinę o $\text{OD} = 1$ rozcieńczono dalej solą fizjologiczną (0,9% roztwór NaCl), by osiągnąć stężenie rzędu 10^4 cfu/ml. Zawiesiny bakterii o takim stężeniu wyjściowym używano do eksperymentów badających właściwości antybakteryjne nanokompozytów metodą zliczania kolonii.

Zdjęcia powierzchni próbek wykonano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) firmy Zeiss (Ultra plus) w Instytucie Wysokich Ciśnień PAN. Mikroskop wyposażony jest w przystawkę mikro-analityczną EDS (Quantax 400, Bruker), z ultraszybkim detektorem (300000 zliczeń/sekundę) o rozdzielczości energetycznej 127 eV oraz powierzchni aktywnej 30 mm^2 . Takie parametry pozwoliły na detekcję boru.

Nanocząstki metaliczne w opisywanej metodzie otrzymuje się w wyniku redukcji soli metalu borowodorkiem (korzystnie borowodorkiem sodu). Badania IR otrzymanych nanocząstek pozwoliły stwierdzić, że po syntezie powierzchnię nanocząstek pokrywają cząsteczki wody oraz kwasu borowego. Przy czym kwasu borowego jest więcej niż mógłby pokryć całkowitą powierzchnię nanocząstek monowartością. W roztworach kwasu borowego o stężeniu wyższym od 0,025 M równowaga tworzy się pomiędzy niezjonizowaną formą kwasu $B(OH)_3$, a polinuklearnymi kompleksami $B_3O_3(OH)_4^-$; $B_4O_5(OH)_4^{2-}$; $B_3O_3(OH)_5^{2-}$, $B_5O_6(OH)_4^-$ i $B(OH)_4^-$. Dodatek jonów H^+ lub OH^- może prowadzić do dalszej kondensacji i utworzenia polioksoboraniek. Tak też jest w przypadku obecnego układu, co potwierdzają badania techniką spektroskopii IR i Ramana.

Kondensację oksoboraniek można wywołać nie tylko zmieniając pH, ale także dodając do układu różnych soli metali dwu lub trójwartościowych. Jony metalu pochodzące z tej soli mogą wbudować się w strukturę polioksoboraniek w trakcie kondensacji (w tym sensie można mówić o domieszkowaniu powstającego nanokompozytu innymi metalami).

Materiałem budulcowym opisywanego nanokompozytu są nanocząstki metalu (jednego rodzaju lub mieszanina różnych nanocząstek) zatopione w matrycy polioksoboraniek, przy czym powierzchnia tych nanocząstek jest dostępna (np. do zajścia reakcji katalizowanych nanocząstkami złota), a więc matryca ta jest porowata lub nanocząstki są usytuowane na jej powierzchni. Na podstawie badań wykonanych techniką TEM można wnioskować, że w procesie tworzenia nanokompozytu w pierwszej fazie powstają niewielkie obiekty (od kilku do kilkudziesięciu a nawet do 100 nm), które następnie łączą się ze sobą tworząc bardziej złożone struktury (Fig. 23). Wnioski te potwierdzają też badania UV-Vis (agregacji w czasie) oraz badania napięcia powierzchniowego. Dodatkowo stwierdzono, że owe obiekty mają charakter amfifilowy i mogą gromadzić się na granicy faz woda: powietrze (lub rozpuszczalnik organiczny), gdzie tworzą sieci. Amfifilowość tych indywiduali jest związana z delokalizacją ładunku i ze zmniejszeniem formalnego ładunku spolimeryzowanych anionów oksoboraniek (właściwości hydrofobowe) i z obecnością wolnych grup OH^- (właściwości hydrofilowe). Ta właściwość sprawia, że mogą one z powodzeniem być osadzone zarówno na powierzchniach hydrofilowych (na przykład poprzez kondensację z wolnymi grupami OH) jak i na powierzchniach hydrofobowych (na przykład dzięki oddziaływaniom hydrofobowym).

Modyfikacji opisanym sposobem można poddać zarówno powierzchnie hydrofobowe (w szczególności polimery, np. polistyren, szalki polistyrenowe), jak i hydrofilowe (np. szkło, kwarc, spasywowany krzem, krzemionka (szklane naczynia, włókno szklane, płytki krzemowe, inne nano- i mikroobiekty z krzemionki), polimery hydrofilowe i amfifilowe, naturalne i syntetyczne, np. celuloza (wata kosmetyczna, tkanina bawełniana, w tym: bandaże) lub powierzchnie metali (na przykład stali nierdzewnej). Przykładowo poddano modyfikacji następujące obiekty: bandaże bawełniane, szklana kuweta, włókno szklane, polistyrenowa szalka Petriego, szpatułka ze stali nierdzewnej, submikrometryczne obiekty krzemionkowe (kulki Stobera).

Przykład I

Modyfikacja materiałów stałych zawierających krzemionkę na powierzchni (szczególnie szkło, krzem).

- Modyfikacja powierzchni szklanych (szklana kuweta)

Do szklanego naczynia dodano 2 ml koloidalnego roztworu nanocząstek złota stabilizowanych ligandami oksoboraniek. Do środka włożono mieszadło magnetyczne i całość mieszano w temperaturze pokojowej z prędkością 500 obr./min. Dodano 30,4 μ l 0,5M kwasu HCl i obserwowano zmianę koloru z czerwonej na fioletową ($pH \approx 2$). Po około 1,5 godziny zaobserwowano, że nanocząstki z roztworu osadziły się na ściankach kuwety (Fig. 1). Nanocząstki były mocno związane z podłożem. Przepłukiwanie rozpuszczalnikami nie powodowało ich zmycia. Można je usunąć jedynie mechanicznie.

- Modyfikacja powierzchni krzemu

Na dno trzech szklanych naczyń położono krzemowe płytki. Do każdego dodano po 2 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota stabilizowanych ligandami oksoboraniek. Do pierwszego naczynia dodano 30,4 μ l 0,5M kwasu HCl, do drugiego taką samą ilość 0,5M NaOH, a do trzeciego taką samą ilość 0,5M roztworu $CuSO_4$. Gdy roztwór całkowicie się odbarwił pobrano go pipetą, a naczynie z płytką pozostawiono do wyschnięcia w temperaturze pokojowej. Suche płytki poddano analizie SEM (Fig. 2–4).

W ten sam sposób zmodyfikowano także powierzchnię krzemu o właściwościach hydrofobowych (krzem zmodyfikowany hydrofobowo w reakcji sylanizacji z dodecylotryetoksylanem). We wszystkich przypadkach podłoże zostało pokryte materiałem kompozytowym. Morfologia otrzymanych struktur różni się w zależności od wykorzystanej metody.

Przykład II

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku i jej zastosowanie jako materiału antybakteryjnego – określenie korzystnego pH w procedurze modyfikacji.

1. Modyfikacja bawełny

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,036 g) dodawano 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Próbkę umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. Do tak przygotowanych próbek dodawano różne ilości 0,5M HCl oraz różne ilości 0,5M NaOH (minimalnie 3 μ l, maksymalnie 150 μ l). Na podstawie obserwacji szybkości i efektywności adsorpcji nanocząstek do waty określono optymalne wartości pH, w których powinno się prowadzić proces modyfikacji.

Ustalono, że modyfikacja przebiega we wszystkich roztworach do których dodano HCl lub NaOH (Fig. 5). Korzystnie w próbkach zakwaszonych do pH mniejszego niż 4, a najkorzystniej do pH mniejszego lub równego 2 (dodatek 60 μ l 0,5M HCl). Wtedy proces odbywa się bez strat nanocząstek.

Objętość nanocząstek, którą dodaje się do waty w procesie modyfikacji może być większa niż ta w przykładzie. Całkowitą adsorpcję nanocząstek z roztworu o pH = 2 do 1 g waty kosmetycznej można osiągnąć dla maksymalnej objętości 167 ml roztworu nanocząstek o stężeniu $3,05 \cdot 10^{-7}$ mol/l.

Przykład III

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku i jej zastosowanie jako materiału antybakteryjnego.

1. Modyfikacja bawełny

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,036 g) dodano 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 60,8 μ l 0,5M roztworu kwasu HCl. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwonej na fioletową świadczącą o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna stała się fioletowa natomiast supernatant całkowicie bezbarwny.

2. Oczyszczanie otrzymanego materiału

Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na wielokrotnym (co najmniej 3-krotnym) odwirowaniu (5 min, 5000 rpm) i zdekantowaniu roztworu z nad zmodyfikowanego materiału i wymianie supernatanta na czystą wodę dejonizowaną (10 ml).

Otrzymano zmodyfikowaną bawełnę w kolorze fioletowym (Fig. 6. a – bawełna w roztworze nanocząstek, b – bawełna w roztworze nanocząstek po zakwaszeniu HCl; c – supernatant, d – sucha bawełna). Osadzenie się nanokompozytów z nanocząstek złota i oksoboranów na włóknach bawełny potwierdzono metodą mikroskopii elektronowej SEM (Fig. 7).

Wykorzystując tę samą procedurę zmodyfikowano tkaninę bawełnianą (bandaż) (Fig. 8 i 9).

3. Właściwości antybakteryjne

Analiza intensywności fluorescencji GFP (Fig. 10) udowodniła, że na materiale kompozytowym osadziło się znacznie mniej bakterii niż na niezmodyfikowanej wacie. Udowodniono, że efekt ten nie wynika z zakwaszenia, obecności boranów, ani NaOH. Uzyskane wyniki zestawiono w tabeli.

Uzyskane wyniki zestawiono w **tabeli 1** (dane przedstawione w tabeli znormalizowano do próbki waty niezmodyfikowanej – zamiast w roztworze nanocząstek zanurzonej w wodzie, stąd nazwa próbki: woda). Oznaczenia c, c/4 i c/40 odnoszą się do stężenia nanocząstek zastosowanego w procesie modyfikacji, a więc do ilości nanokompozytu zaadsorbowanego do włókien celulozy.

Tabela 1

Porównanie intensywności fluorescencji w próbkach zmodyfikowanej waty (AuNP z dodatkiem HCl) po ich zanurzeniu na 1 godzinę w kulturze bakterii E.Coli oraz próbki referencyjne

nazwa próbki	intensywność fluorescencji [%]
woda	100
kwas borowy i pH2	98
pH2 c	0
pH2 c/4	0
pH2 c/40	46

c – stężenie nanocząstek = $3,05 \cdot 10^{-7}$ mol/l

c/4 – roztwór nanocząstek rozcieńczony 4x

c/40 – roztwór nanocząstek rozcieńczony 40x

Na Fig. 11 przedstawiono zdjęcia SEM, które dowodzą, że na zmodyfikowanej wacie (Fig. 11a) jest znacznie mniej bakterii niż na materiale wyjściowym (Fig. 11b). Bakterie dobrze widoczne są na krawędziach obserwowanych włókien.

Przykład IV

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku i jej zastosowanie jako materiału antybakteryjnego

1. Modyfikacja bawełny

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,036 g) dodano 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 60,8 μ l 0,5M roztworu kwasu NaOH. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwonej na granatową, świadcząca o powstaniu nanokompozytów (pH10c). W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna stała się granatowa. Tę samą procedurę zastosowano dla próbki „pH10c/4”, przy czym stężenie nanocząstek w próbce 1 było 4 razy większe niż w próbce 2.

2. Oczyszczanie otrzymanego materiału

Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na wielokrotnym (co najmniej 3-krotnym) odwirowaniu (5 min, 5000 rpm), zdekantowaniu roztworu z nad zmodyfikowanego materiału i wymianie supernatanta na czystą wodę dejonizowaną (10 ml).

Otrzymano zmodyfikowaną bawełnę w kolorze granatowym (Fig. 12). Osadzenie się nanokompozytów z nanocząstek złota i oksoboranów na włóknach bawełny potwierdzono metodą mikroskopii elektronowej SEM (Fig. 13).

3. Właściwości antybakteryjne

Analiza intensywności fluorescencji GFP udowodniła, że na materiale kompozytowym osadziło się znacznie mniej bakterii niż na niezmodyfikowanej wacie. Udowodniono, że antyseptyczne właściwości otrzymanego materiału ściśle zależą od ilości zaadsorbowanego nanokompozytu.

Uzyskane wyniki zestawiono w tabeli 2 (dane przedstawione w tabeli znormalizowano do próbki waty niezmodyfikowanej – zamiast w roztworze nanocząstek zanurzonej w wodzie, stąd nazwa próbki: woda). Oznaczenia c, c/4 odnoszą się do stężenia nanocząstek zastosowanego w procesie modyfikacji, a więc do ilości nanokompozytu zaadsorbowanego do włókien celulozy.

Tabela 2

Porównanie intensywności fluorescencji w próbkach zmodyfikowanej waty (AuNP z dodatkiem NaOH) po ich zanurzeniu na 1 godzinę w kulturze bakterii E.Coli oraz próbki referencyjne

nazwa próbki	intensywność fluorescencji [%]
woda	100
NaOH i pH 10	91
pH10 c	0
pH10 c/4	106

c – stężenie nanocząstek = $3,05 \cdot 10^{-7}$ mol/l

c/4 – roztwór nanocząstek rozcieńczony 4x

Podsumowując wyniki z przykładu II, III i IV stwierdzono, że korzystnym jest przeprowadzanie modyfikacji w środowisku kwaśnym (dokładnie w pH mniejszym niż 2). Najkorzystniej pH = 2. Zarówno wata modyfikowana w środowisku zasadowym, jak i wata modyfikowana w środowisku kwaśnym, wykazują lepsze właściwości antybakteryjne niż wata zanurzona w roztworze samych nanocząstek. W tym ostatnim przypadku, obserwowano spadek fluorescencji jedynie o 44%.

Przykład V

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku i jej zastosowanie jako materiału antybakteryjnego

1. Modyfikacja bawełny

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,036 g) dodano 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 60,8 μ l 0,5M roztworu soli CuSO_4 . Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwonej na granatową, świadczącą o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna staje się granatowa, natomiast supernatant całkowicie bezbarwny.

2. Oczyszczanie otrzymanego materiału

Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na wielokrotnym (co najmniej 3-krotnym) odwirowaniu (5 min, 5000 rpm), zdekantowaniu roztworu z nad zmodyfikowanego materiału i wymianie supernatanta na czystą wodę dejonizowaną (10 ml).

Otrzymano zmodyfikowaną bawełnę w kolorze granatowym (Fig. 14). Osadzenie się nanokompozytów z nanocząstek złota i oksoboranów na włóknach bawełny potwierdzono metodą mikroskopii elektronowej SEM (Fig. 15).

W ten sam sposób przygotowano próbki bawełny zmodyfikowanej nanocząstkami złota, stabilizowanych ligandami oksoboranowymi po dodaniu innych soli: CaCl_2 , FeCl_3 (molowo takiej samej ilości jak CuSO_4).

3. Właściwości antybakteryjne

Analiza intensywności fluorescencji GFP udowodniła, że na materiale kompozytowym osadziło się znacznie mniej bakterii niż na niezmodyfikowanej wacie. Udowodniono, że antyseptyczne właściwości otrzymanego materiału zależą od ilości zaadsorbowanego nanokompozytu. Znormalizowane dane przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3

Porównanie intensywności fluorescencji w próbkach zmodyfikowanej waty (AuNP z dodatkiem soli CuSO₄, CaCl₂ i FeCl₃) po ich zanurzeniu na 1 godzinę w kulturze bakterii E.Coli oraz próbki referencyjne

nazwa próbki	intensywność fluorescencji [%]
woda	100
Fe	16
Fe c	0
Fe c/4	0
Fe c/40	0
Cu	52
Cu c	0
Cu c/4	0
Cu C/40	32
Ca	82
Ca c	0
Ca c/4	0
Ca c/40	56

c – stężenie nanocząstek = $3,05 \cdot 10^7$ mol/l

c/4 – roztwór nanocząstek rozcieńczony 4x

c/40 – roztwór nanocząstek rozcieńczony 40x

Fe, Cu, Ca – roztwory samych soli FeCl₃, CuSO₄, CaCl₂

Podobnie jak w przypadku modyfikacji w różnym pH, tym razem również normalizowano wyniki do próbki waty w wodzie. We wszystkich próbkach, w których stężenie nanocząstek było maksymalne, nastąpiła całkowita redukcja fluorescencji – świadcząca o braku bakterii. Wykluczono efekt samych jonów metali, choć w przypadku soli żelaza wpływ samej soli był znaczący (spadek fluorescencji do 16% w odniesieniu do referencji).

W przypadku modyfikacji bawełny z użyciem soli Fe otrzymano najlepsze wyniki – całkowity spadek fluorescencji, nawet gdy stężenie nanocząstek 40x mniejsze niż maksymalne.

Podsumowując przedstawione w ww. przykładach metody modyfikacji bawełny i jej wykorzystanie jako materiału antybakteryjnego, najlepsze wyniki daje modyfikacja z użyciem soli FeCl₃, następnie z CuSO₄, z dodatkiem kwasu HCl (pH2), CaCl₂, przy czym najmniej korzystne wyniki uzyskano dla roztworu NaOH (pH10).

Przykład VI

Otrzymanie zmodyfikowanej tkaniny z włókna szklanego sposobem według wynalazku.

1. Modyfikacja tkaniny z włókna szklanego

Kawałek tkaniny z włókna szklanego o wymiarach 5,5 x 5,0 cm zwinięto w rulon i umieszczono w szklanej butelce do której dodano 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 60,8 μl 0,5M roztworu kwasu HCl. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwonej na fioletową, świadcząca o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do tkaniny, co można było zaobserwować gołym okiem. Tkanina staje się fioletowa, natomiast supernatant całkowicie bezbarwny.

2. Oczyszczanie otrzymanego materiału

Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na wielokrotnym (co najmniej 3-krotnym) wytrząsaniu zmodyfikowanego materiału z wodą dejonizowaną (porcje po 10 ml) i dekantacji supernatanta. Otrzymano zmodyfikowaną tkaninę z włókna szklanego w kolorze fioletowym (Fig. 16). Osadzenie się nanokompozytów z nanocząstek złota i oksoboranów na tkaninie potwierdzono metodą mikroskopii elektronowej SEM (Fig. 17).

Przykład VII

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku

1. Modyfikacja bawełny

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,12 g) dodano 40 ml roztworu koloidalnego nanocząstek srebra. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 600 μ l 0,5M roztworu kwasu HCl. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z żółtej na żółto-zieloną, świadcząca o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna stała się zielono-szara natomiast supernatant całkowicie bezbarwny.

2. Oczyszczanie otrzymanego materiału

Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na wielokrotnym (co najmniej 3-krotnym) odwirowaniu (5 min, 5000 rpm) i zdekantowaniu roztworu z nad zmodyfikowanego materiału, i wymianie supernatanta na czystą wodę dejonizowaną (10 ml).

Otrzymano zmodyfikowaną bawełnę w kolorze zielono-szarym (Fig. 18. a – bawełna w roztworze nanocząstek srebra, b – bawełna w roztworze nanocząstek po zakwaszeniu HCl; c – sucha bawełna zmodyfikowana nanocząstkami srebra). Osadzenie się nanokompozytów z nanocząstek srebra i oksoboranów na włóknach bawełny potwierdzono metodą mikroskopii elektronowej SEM (Fig. 19).

Przykład VIII

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku – modyfikacja nanocząstkami złota i srebra.

a) W mieszaninie nanocząstek złota i srebra

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,036 g) dodano 2 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota i 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek srebra. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 60,8 μ l 0,5M roztworu HCl. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwono-pomarańczowej na fioletową, świadcząca o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min. nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna stała się fioletowa, natomiast supernatant całkowicie bezbarwny. (Fig. 20).

b) Etapowo najpierw nanocząstki złota, potem nanocząstki srebra

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,036 g) dodano 2 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 30 μ l 0,5M roztworu HCl. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwonej na fioletową, świadcząca o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna stała się fioletowa, natomiast supernatant całkowicie bezbarwny. Po adsorpcji watę przemyto wodą destylowaną i dodano do niej 4 ml roztworu koloidalnego nanocząstek srebra. Umieszczono na wytrząsarce i dodano 60 μ l 0,5M roztworu HCl. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna stała się szaro-fioletowa natomiast supernatant całkowicie bezbarwny. Powstały w ten sposób nanokompozyt oczyszczano tak samo jak poprzednio (Fig. 21).

c) Etapowo – najpierw nanocząstki srebra, potem nanocząstki złota

Powtórzono czynności opisane w punkcie b) zamieniając kolejność. Najpierw zmodyfikowano bawełnę nanokompozytem z nanocząstek srebra, oczyszczono, a następnie zmodyfikowano nanokompozytem z nanocząstek złota. (Fig. 22).

Przykład IX

Otrzymanie zmodyfikowanej bawełny sposobem według wynalazku i jej zastosowanie jako materiału antybakteryjnego względem bakterii gram ujemnych i gram dodatnich.

Materiały zmodyfikowane opisanym sposobem mają właściwości bakteriobójcze. Badania przeprowadzono na przykładzie celulozy (= bawełny = waty kosmetycznej) zmodyfikowanej nanokompozytem z nanocząstek złota i oksoboranów w środowisku kwaśnym. Przeżywalność bakterii w obecności zmodyfikowanego materiału badano metodą zliczania kolonii.

1. Modyfikacja bawełny

Do odważonej ilości waty kosmetycznej (0,015 g) dodano 2,5 ml roztworu koloidalnego nanocząstek złota. Całość umieszczono na wytrząsarce ustawionej na szybkość obrotów 400 obr./min. W trakcie wytrząsania dodano 38 μ l 0,5M roztworu kwasu HCl. Obserwowano zmianę barwy roztworu koloidalnego z czerwonej na fioletową, świadczącą o powstaniu nanokompozytów. W ciągu 20 min nastąpiła całkowita adsorpcja powstałych nanokompozytów do bawełny, co można było zaobserwować gołym okiem. Bawełna staje się fioletowa natomiast supernatant całkowicie bezbarwny.

2. Oczyszczanie otrzymanego materiału

Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na wielokrotnym (co najmniej 3-krotnym) odwirowaniu (5 min, 5000 rpm) i zdekantowaniu roztworu znad zmodyfikowanego materiału, i wymianie supernatanta na czystą wodę dejonizowaną (10 ml).

3. Właściwości antibakteryjne

Do 0,015g próbek waty zmodyfikowanej i kontroli dodano 1 ml zawiesiny bakterii o stężeniu rzędu 10^4 cfu/ml. Całość wortexowano (wytrząsano) przez około 30 s i pobierano 1 porcję 50 μ l zawiesiny znad badanych materiałów do posiewu na szalki Petriego z agarem. Próbkę umieszczono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej i pobierano kolejne porcje zawiesiny do posiewu po 1, 3, 6, 12 i 24 godzinach. Każdą porcję zawiesiny po przeniesieniu na szalkę z agarem wygłaskiwano plastikową głaszczką (hokejką). Zaraz po wysianiu, szalki z bakteriami umieszczano w inkubatorze (37 st. C, 5% CO₂) na 24 h. Po tym czasie przekładano szalki do lodówki i po zebraniu wszystkich prób robiono zdjęcia (przykładowe zdjęcia próbek posianych po 24 godzinach prowadzenia eksperymentu przedstawiono na fig. 24), na podstawie których obliczano potem ilość kolonii w każdej szalce.

W celu porównania przeżywalności bakterii obliczono o ile % jest ich mniej w badanej próbce w porównaniu z próbą kontrolną (zawiesina bakterii, do której nic nie dodano). Policzono średnią z tych wartości (dla E.Coli średnia z 4 pomiarów, dla S.Epi średnia z 2 pomiarów). Wynik przedstawiono na wykresie (fig. 25).

Przykład X

Materiały zmodyfikowane opisanym sposobem są nie toksyczne w stosunku do komórek ssaczy.

Badania toksyczności materiału zmodyfikowanego według opisanego sposobu pokazały, że mimo iż materiał ten jest antibakteryjny mogą na nim rosnąć komórki ssacze. Hodowlę komórek prowadzono w podłożu płynnym do którego zanurzono zmodyfikowany materiał (watę z osadzonym na niej nanokompozytem AuNP: polioksoboran). W obecności, a także na powierzchni zmodyfikowanego według opisanego sposobu materiału, który co ważne nie został poddany żadnym wcześniejszym zabiegom dezynfekcyjnym, możliwy był wzrost komórek ludzkich różnego typu nawet 4 tygodnie od chwili posiania. Wyhodowane komórki obserwowano pod mikroskopem fluorescencyjnym. Przykładowe zdjęcia hodowli komórkowych prowadzonych w obecności zmodyfikowanego według opisanego sposobu materiału przedstawiono na zdjęciach (fig. 26; a – komórki nerwowe (LN18), b – komórki wysepek trzustkowych (BTC6), c – komórki wątroby (HepG2), d – komórki progenitorowe tkanki tłuszczowej (SVF).

Przykład XI

Otrzymanie zmodyfikowanych submikrometrycznych kulek z krzemionki sposobem według wynalazku (w środowisku kwaśnym).

1. Modyfikacja kulek SiO₂ otrzymanych w syntezie Stöbera.

Do kulek (ziaren, mikrosfer) SiO₂ (otrzymanych metodą Stöbera), zawieszonych w 5 ml H₂O, dodawano roztwór 1M HCl, by doprowadzić do odpowiedniego pH (pH sprawdzano za pomocą papierka lakmusowego). Otrzymano zawiesiny kulek SiO₂ o pH = 2 i pH = 4 i pH = 6. Próbkę sonikowano 10 min, po czym fiołki ustawiono na wytrząsarce (400 obr./min) i do każdej dodano 2 ml nanocząstek złota. Po kilkunastu minutach obserwowano wytrącanie się homogenicznego osadu w kolorze czerwono-fioletowym (fig. 27), ale pozostawiono próbki na wytrząsarce przez 24 godziny. Po tym czasie oczyszczono osad. Oczyszczanie otrzymanego materiału polegało na 3-krotnym odwirowaniu (5 min, 5000 rpm) i zdekantowaniu roztworu znad zmodyfikowanego materiału, i wymianie supernatanta na czystą wodę dejonizowaną (10 ml).

Próbki otrzymanych zmodyfikowanych materiałów poddano analizie SEM (fig. 28, a – kulki SiO₂ zmodyfikowane nanocząstkami złota w pH = 2; b – kulki SiO₂ zmodyfikowane nanocząstkami złota w pH = 4,

c – kulki SiO₂ modyfikowane nanocząstkami złota w pH = 6). Próbki różnią się wielkością nanokompozytów złota i oksoboranów przyłączonych do powierzchni krzemionki. W pH = 2 średnia wielkość tych obiektów to 30 nm, podczas gdy w pH = 4 ich średnia wielkość = 14 nm, a w pH = 6 przyłączone agregaty mają średnią wielkość = 9 nm.

W pH = 7 nanocząstki Au są stabilne i nie adsorbują do powierzchni krzemionki, w pH powyżej 7 nanocząstki agregują i nie ulegają adsorpcji do krzemionki – powstający produkt jest niehomogeniczny. Poza tym w pH zasadowym krzemionka ulega degradacji.

Przykład XII

Otrzymanie zmodyfikowanej metalowej (wykonanej ze stali nierdzewnej) szpatułki sposobem według wynalazku (modyfikacja w środowisku kwaśnym).

Szpatułkę wykonaną ze stali nierdzewnej umieszczono w plastikowej fiolce wirówkowej. Następnie dodano 2,5 ml roztworu nanocząstek złota przygotowanych metodą Martina. Przez dłuższą chwilę (około 30 min) nie obserwowano żadnych zmian. Do układu dodano 37 µl 0,5M kwasu HCl, wtedy po kilku minutach roztwór zmienił barwę na fioletową i zaobserwowano adsorpcję nanokompozytu do powierzchni szpatułki. Osadzenie się nanokompozytu potwierdza zmiana barwy powierzchni metalowej szpatułki (Fig. 29).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób modyfikowania powierzchni nanokompozytami, zawierającymi nanocząstki metaliczne i związki boru, **znamienny tym**, że wybraną substancję stałą o powierzchni hydrofilowej albo hydrofobowej albo amfifilowej albo substancję metaliczną, której powierzchnia ma być modyfikowana, umieszcza się w koloidalnym roztworze nanocząstek metalicznych wybranych spośród nanocząstek złota, nanocząstek srebra albo ich mieszaniny, stabilizowanych związkami boru, takimi jak oksoborany, a następnie prowadzi się polimeryzację/kondensację oksoboranów przez indukcję zmiany wartości pH w zakresie od 0 do 10, dodając kwasu lub zasady, albo przez dodanie soli metali dwuwartościowych lub trójwartościowych, zwłaszcza soli Mg, Ca, Cu, Fe, Cr, Au, Hg lub Pb, przy czym wymieniony sposób prowadzi się w zakresie temperatury od 0°C do 100°C, korzystnie w temperaturze pokojowej, w wyniku czego otrzymuje się nanokompozyty z nanocząstek metalicznych i polioksoboranów zaadsorbowane na użytym materiale.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako stałą powierzchnię do modyfikacji stosuje się materiał wybrany z grupy obejmującej spasywowany krzem, kwarc, szkło, metal, stal nierdzewną, watę szklaną, włókno szklane, papier, watę kosmetyczną, tkaninę bawełnianą oraz celulozę.
3. Sposób według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że stosuje się nanocząstki złota, otrzymane w syntezie polegającej na redukcji jonów chlorozłotawych borowodorkiem sodu, najkorzystniej otrzymane w syntezie Martina.
4. Sposób według zastrz. 1 albo 3, **znamienny tym**, że stosuje się nanocząstki srebra, korzystnie otrzymane w wyniku redukcji azotanu srebra borowodorkiem sodu.
5. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 4, **znamienny tym**, że jako kwas stosuje się kwasy organiczne lub nieorganiczne, korzystnie HCl, a jako zasadę stosuje się organiczne i nieorganiczne zasady, korzystnie NaOH.
6. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 5, **znamienny tym**, że jako sól metalu dwuwartościowego stosuje się CuSO₄ lub CaCl₂, a jako sól metalu trójwartościowego stosuje się FeCl₃.
7. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 6, **znamienny tym**, że ilość nanocząstek w nanokompozytach osadzanych na modyfikowanej powierzchni kontroluje się poprzez zmianę objętości roztworu koloidalnego nanocząstek dodawanego w trakcie procesu modyfikacji.
8. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 7, **znamienny tym**, że wielkość nanokompozytów osadzonych na modyfikowanej powierzchni kontroluje się w procesie modyfikacji albo poprzez zmianę pH w zakresie od powyżej 0 do 10, korzystnie powyżej 0 do 4, a najkorzystniej poniżej 2, albo poprzez zmianę stężenia roztworu koloidalnego nanocząstek.
9. Sposób otrzymywania materiału nanokompozytowego, **znamienny tym**, że obejmuje etapy, w których:

- przygotowuje się koloidalny roztwór nanocząstek metalicznych wybranych spośród nanocząstek złota, nanocząstek srebra albo ich mieszaniny, stabilizowanych związkami boru, takimi jak oksoborany,
 - a następnie prowadzi się polimeryzację/kondensację oksoboranów przez indukcję zmiany wartości pH w zakresie od 0 do 10, dodając kwasu lub zasady, albo przez dodanie soli metali dwuwartościowych lub trójwartościowych, zwłaszcza soli Mg, Ca, Cu, Fe, Cr, Au, Hg lub Pb, przy czym wymieniony sposób prowadzi się w zakresie temperatury od 0°C do 100°C, korzystnie w temperaturze pokojowej, w wyniku czego otrzymuje się nanokompozyty z nanocząstek metalicznych i polioksoboranów.
10. Materiał nanokompozytowy otrzymany sposobem określonym w zastrz. 9, **znamienny tym**, że obejmuje nanocząstki metalu zatopione w matrycy polioksoboranowej, przy czym powierzchnia przynajmniej niektórych spośród tych nanocząstek jest odsłonięta.
 11. Materiał według zastrz. 10, **znamienny tym**, że matryca polioksoboranowa jest porowata.
 12. Materiał według zastrz. 10, **znamienny tym**, że nanocząstki metalu są usytuowane na powierzchni matrycy polioksoboranowej.
 13. Materiał według zastrz. 10, 11 albo 12, **znamienny tym**, że wspomniane nanocząstki metalu obejmują złoto lub srebro.
 14. Materiał według dowolnego z zastrzeżeń od 10 do 13, **znamienny tym**, że jest w postaci warstwy osadzonej na podłożu, zwłaszcza na podłożu wybranym z grupy obejmującej: spasywowany krzem, krzemionkę, kwarc, szkło, metal, stal nierdzewną, wate szklaną, włókno szklane, papier, wate kosmetyczną, tkaninę bawełnianą, polimery naturalne, zwłaszcza celulozę, karagen, pektynę i chitozan, polimery syntetyczne, zwłaszcza polistyren, polimetakrylan 2-hydroksy etylu.
 15. Materiał według zastrz. 14, **znamienny tym**, że wspomniana warstwa osadzona na podłożu jest nieciągła, czyli zawiera co najmniej jedną szczelinę wiodącą od skraju warstwy aż do odsłoniętego fragmentu podłoża.
 16. Materiał według zastrz. 14 albo 15, **znamienny tym**, że wspomniana warstwa osadzona na podłożu ma grubość co najmniej 3 nm, korzystnie od 3 nm do 100 nm, a najkorzystnie od 3 nm do 5 nm.
 17. Materiał według zastrz. 14, 15 albo 16, **znamienny tym**, że stopień pokrycia podłoża przez wspomnianą warstwę jest mniejszy niż 100%, to znaczy przynajmniej część podłoża jest odkryta.
 18. Zastosowanie materiału nanokompozytowego zdefiniowanego w dowolnym z zastrzeżeń od 10 do 17, do wytwarzania powierzchni antyseptycznych.
 19. Zastosowanie materiału nanokompozytowego zdefiniowanego w dowolnym z zastrzeżeń od 10 do 17, do wytwarzania powierzchni przeznaczonych do hodowli komórek ssaczy.

Rysunki

Fig. 1

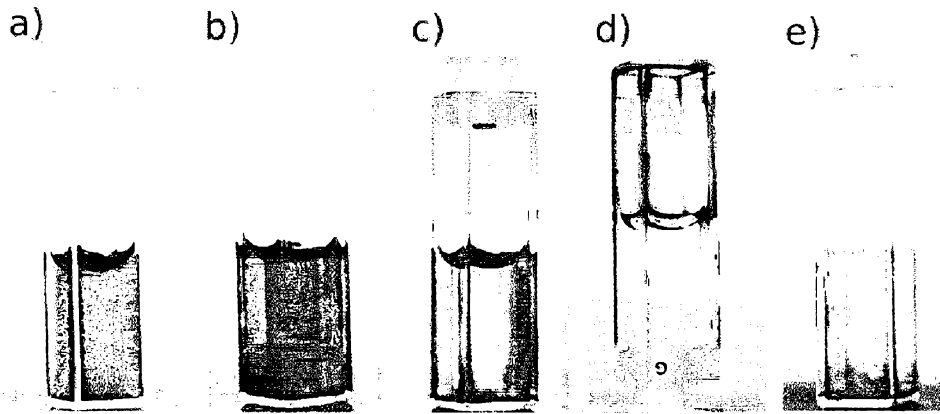
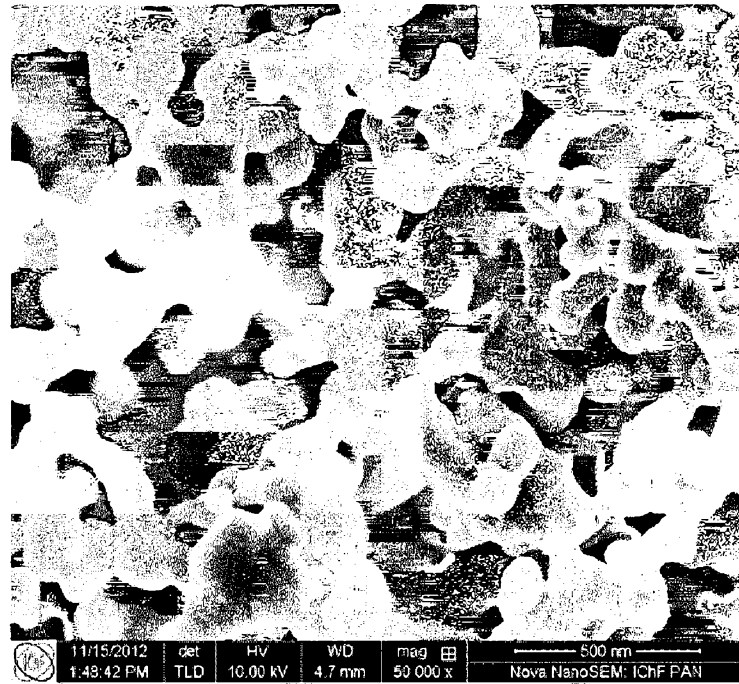


Fig. 2

a)



b)

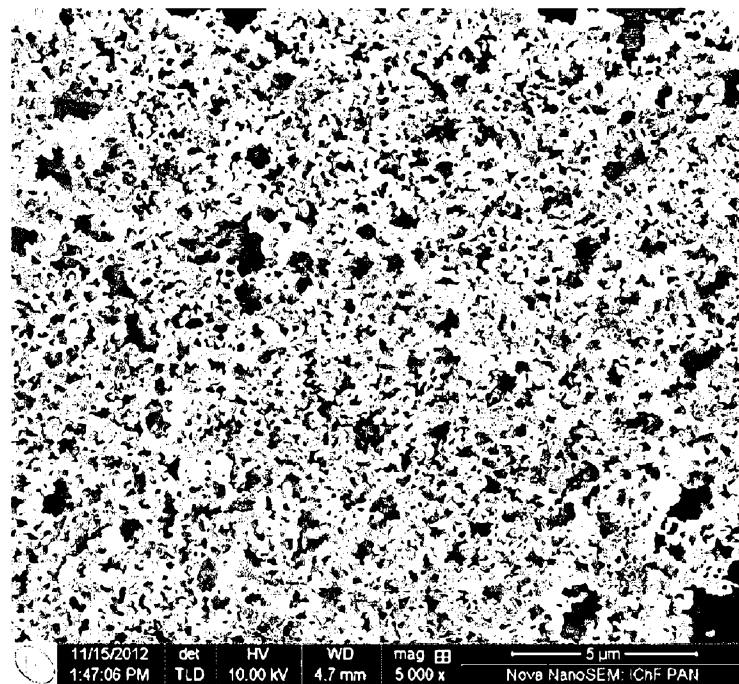
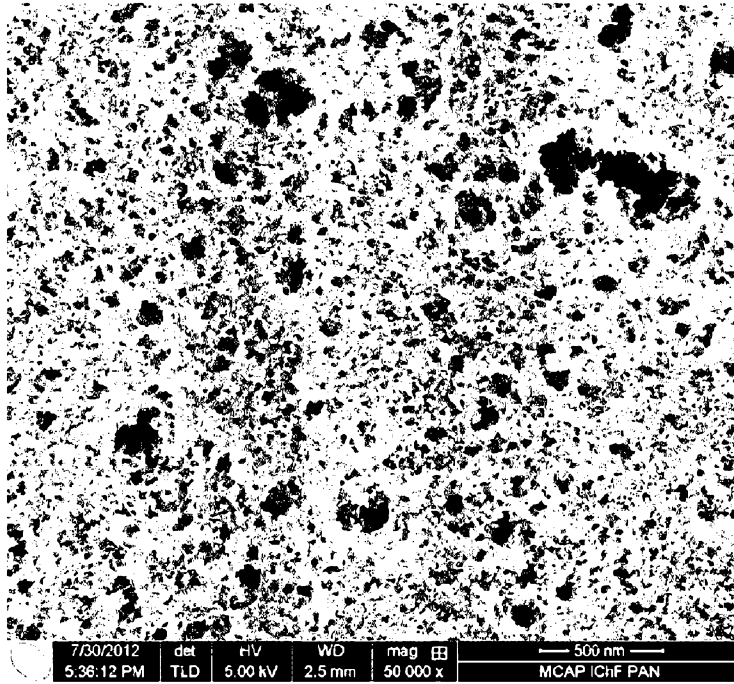


Fig. 3

a)



b)

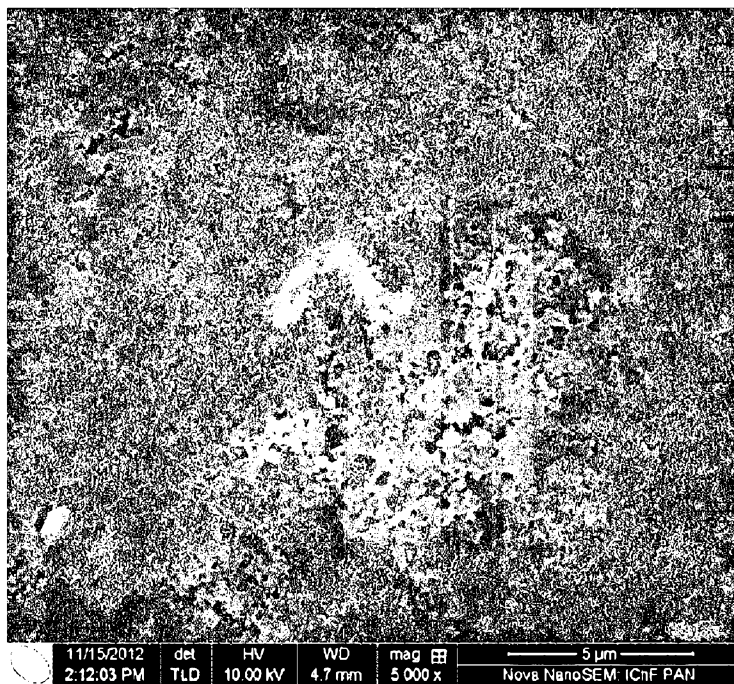
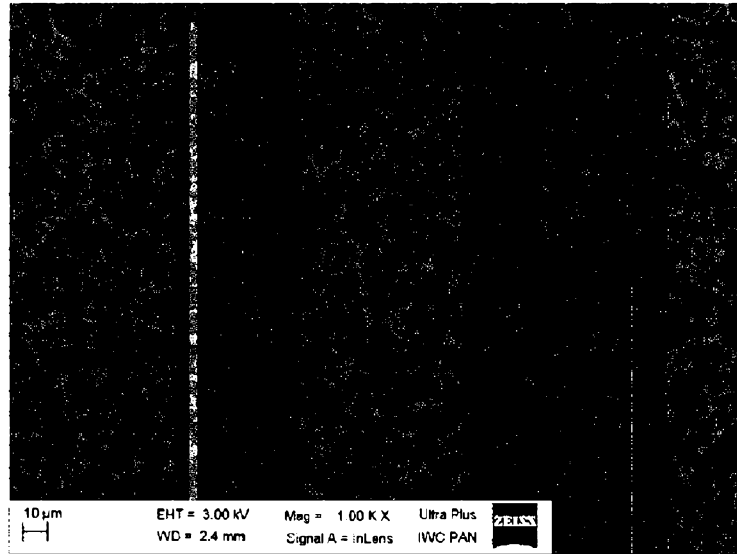


Fig. 4

a)



b)

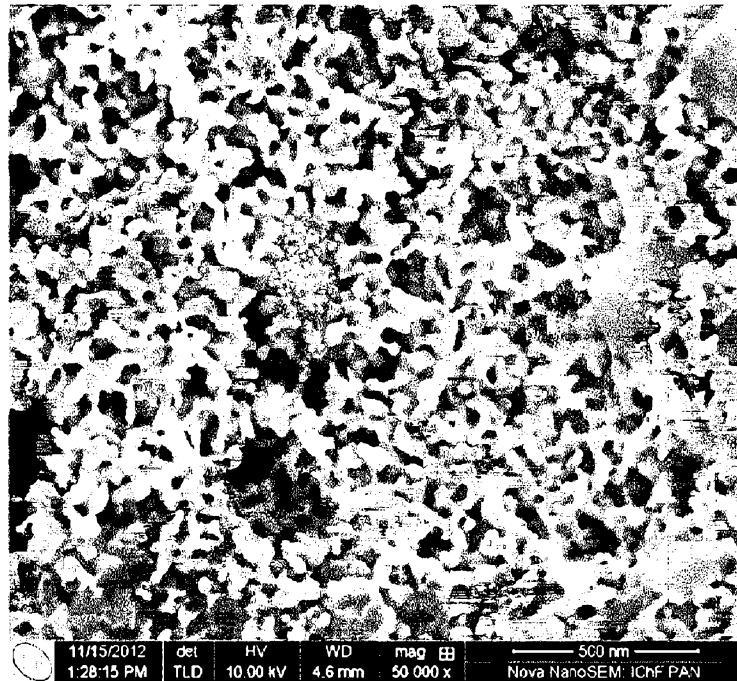


Fig. 4 c)

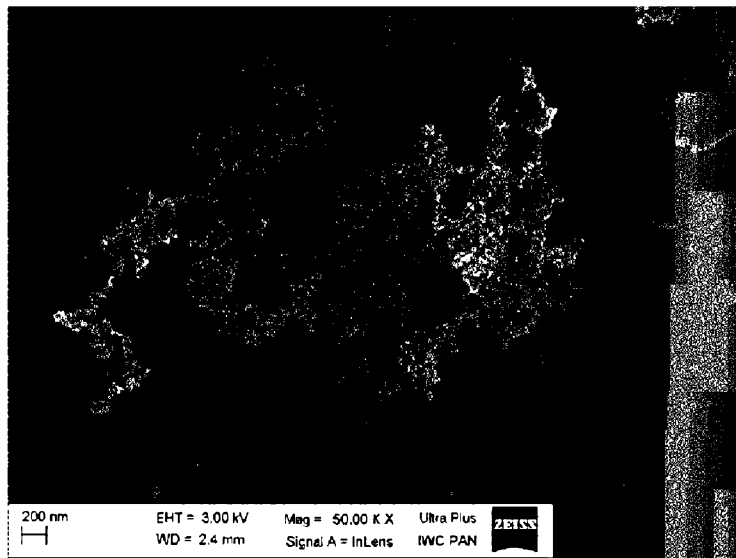


Fig. 5

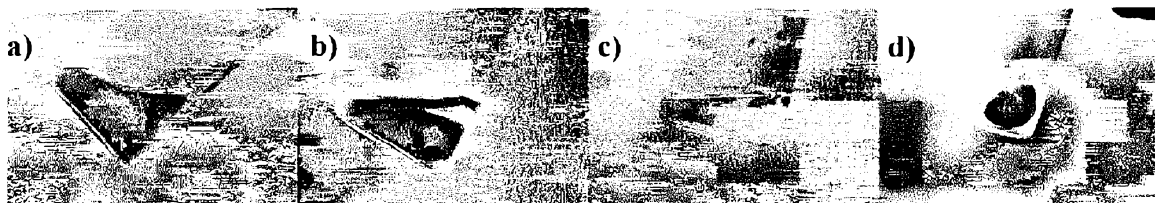


Fig. 6



Fig. 7

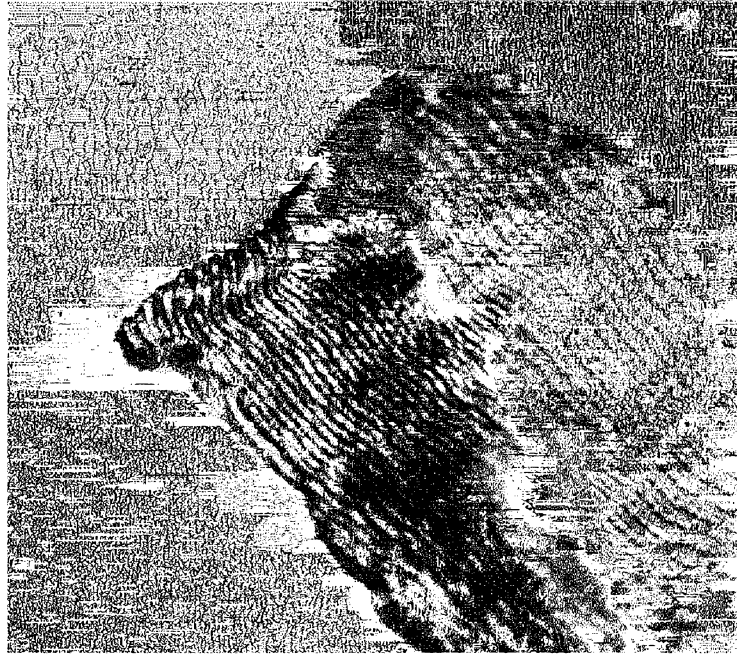


Fig. 8

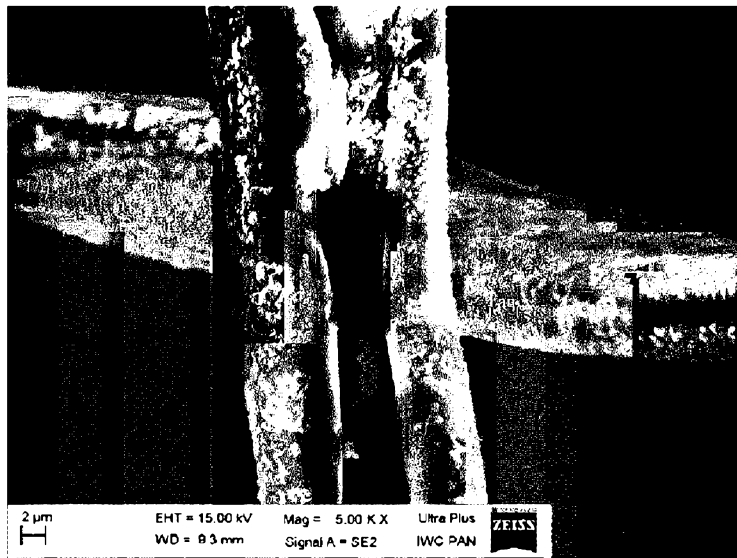


Fig. 9

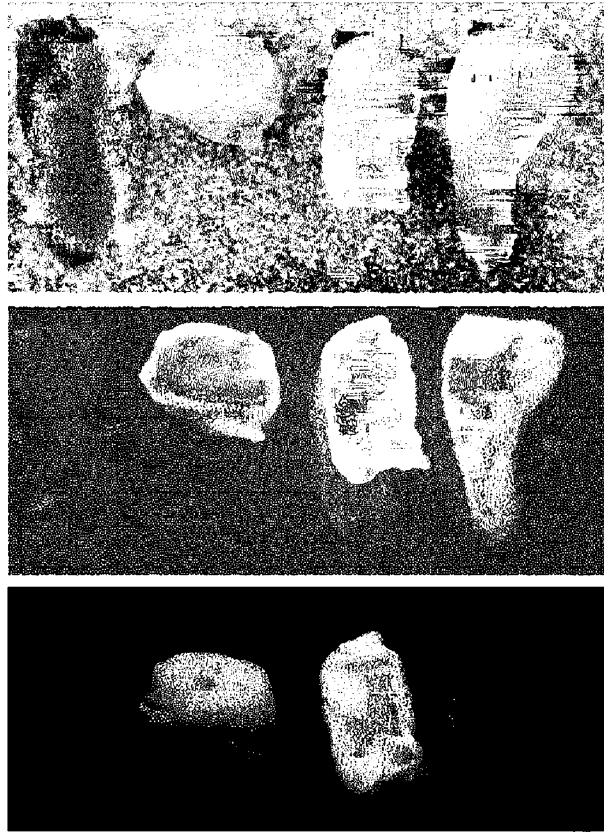
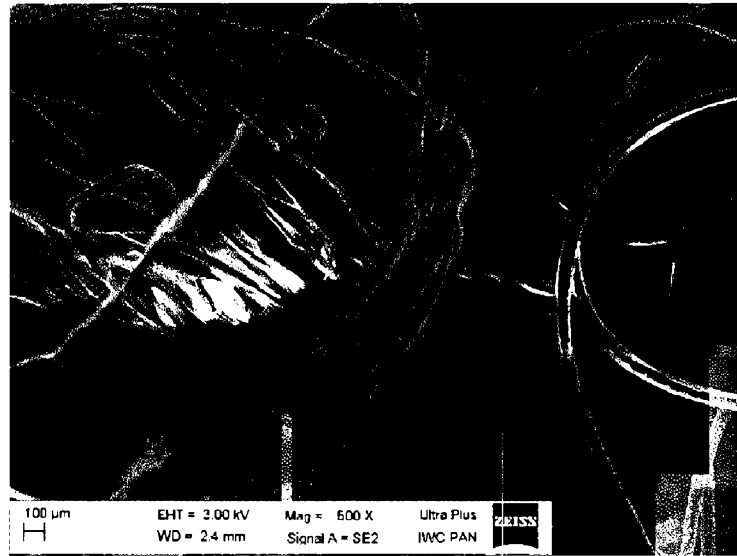


Fig. 10

a)



b)

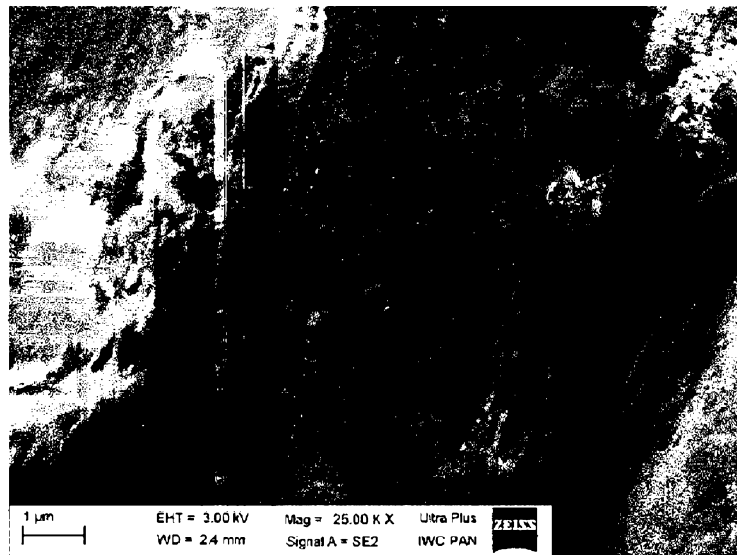


Fig. 11

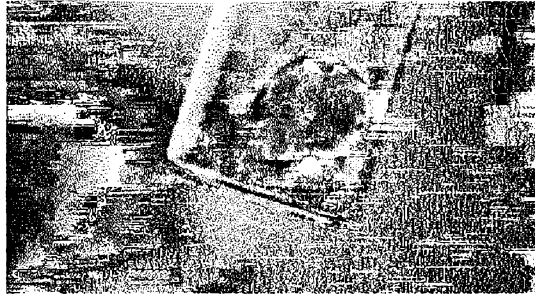


Fig. 12

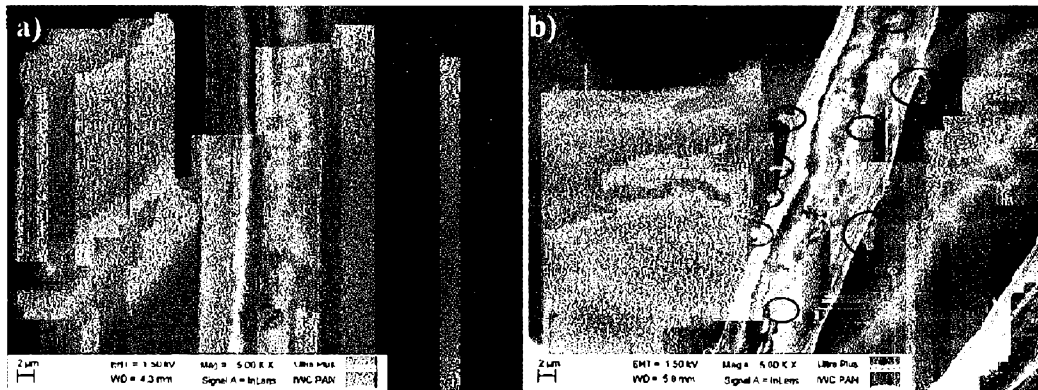


Fig. 13

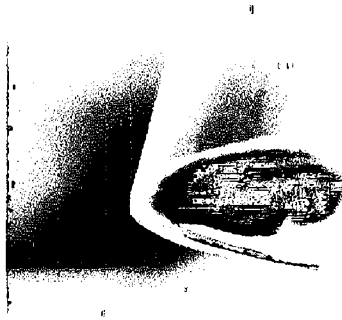


Fig. 14

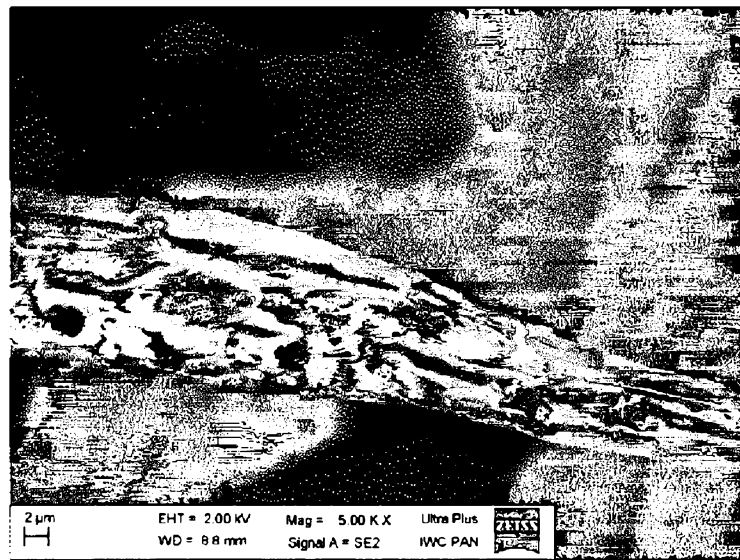


Fig. 15

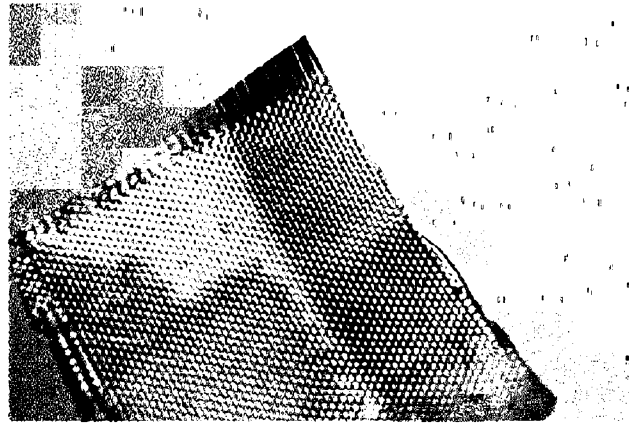


Fig. 16

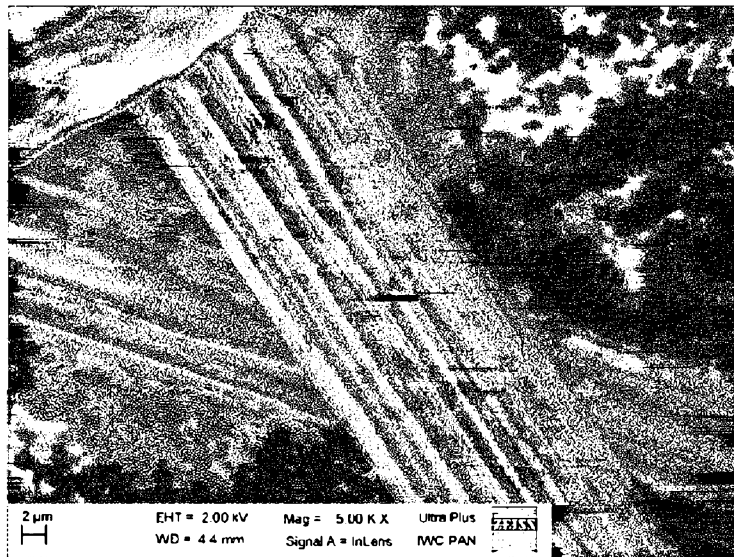


Fig. 17

a)



b)

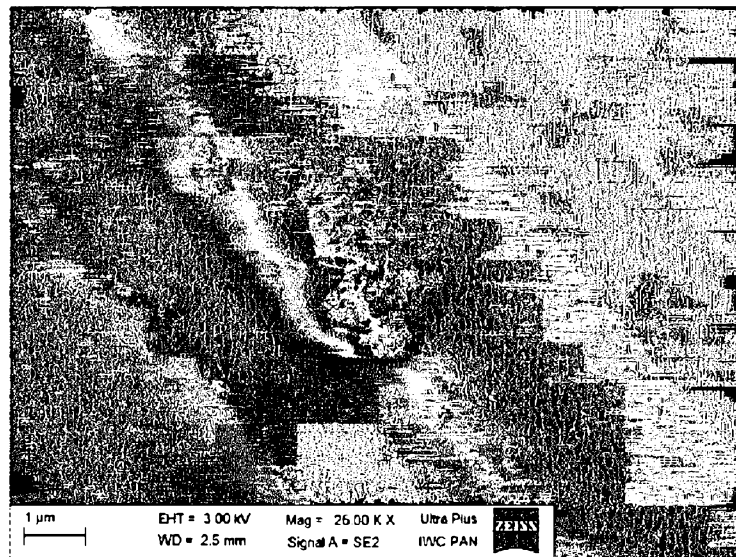


Fig. 18

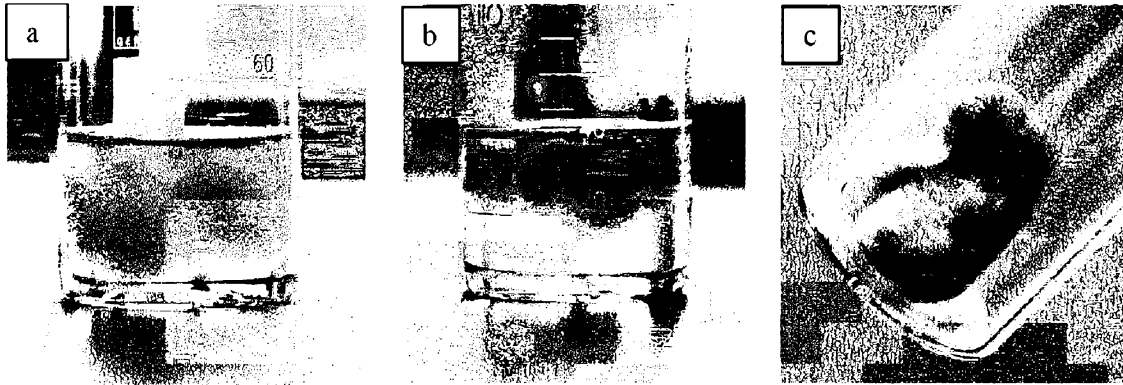


Fig. 19

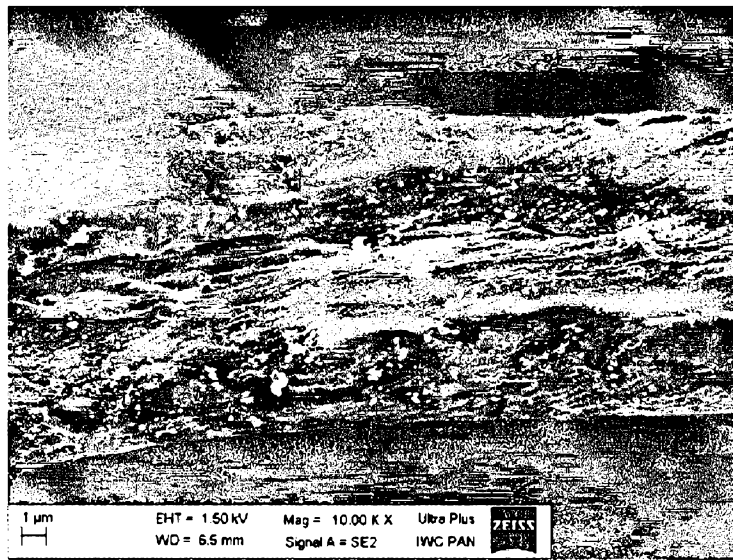


Fig. 20

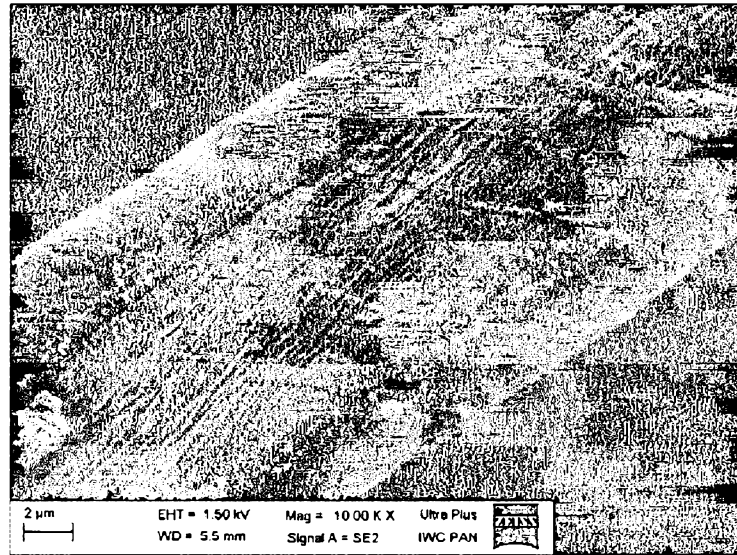


Fig. 21

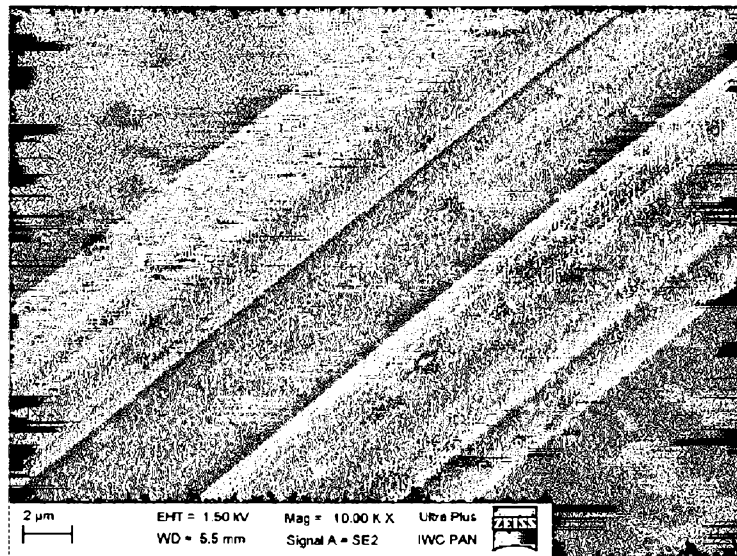


Fig. 22

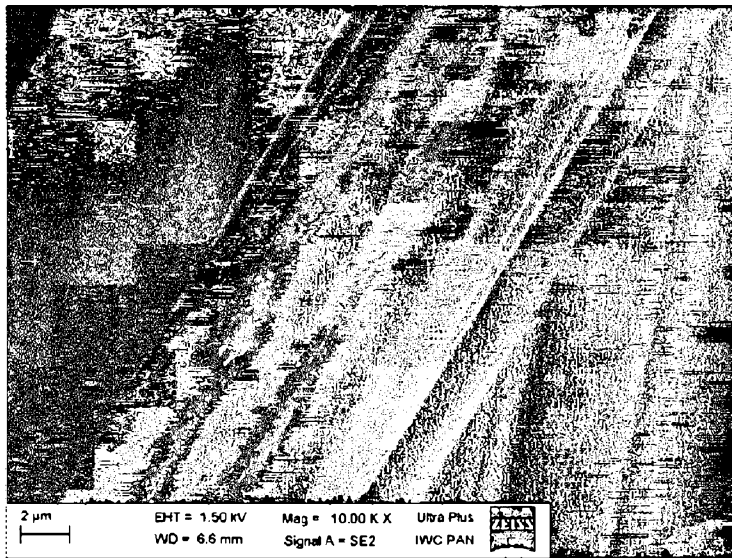


Fig. 23

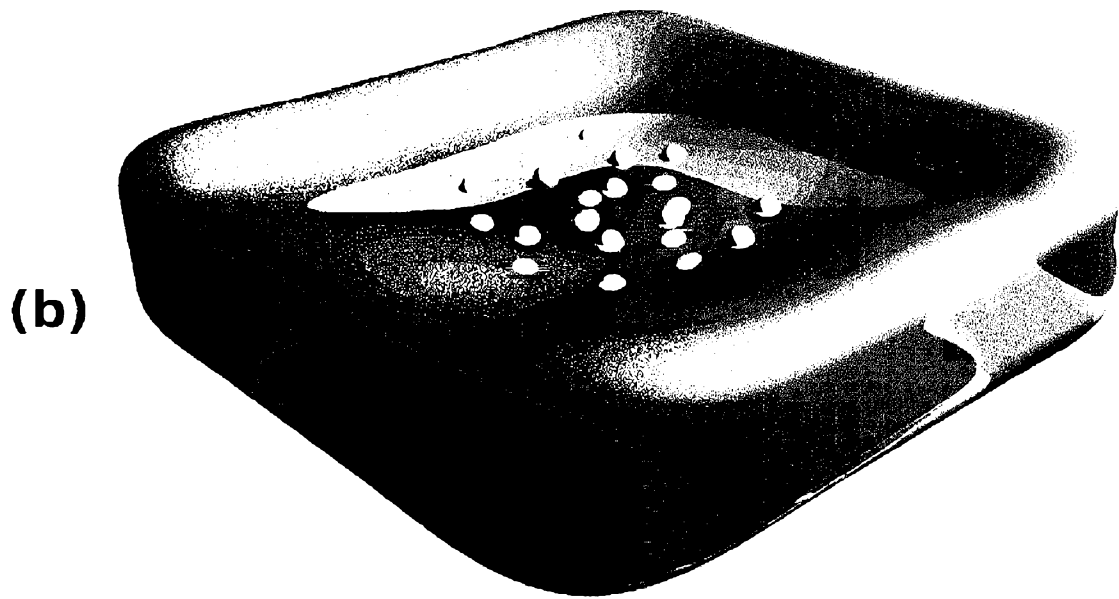
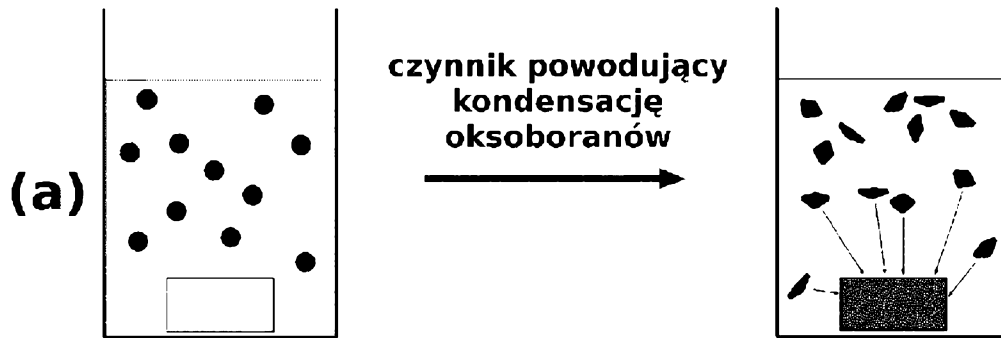


Fig. 23 c)

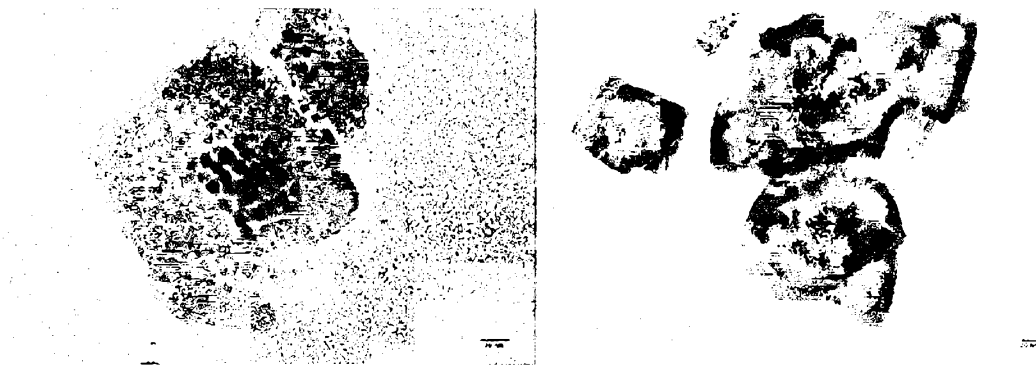


Fig. 24

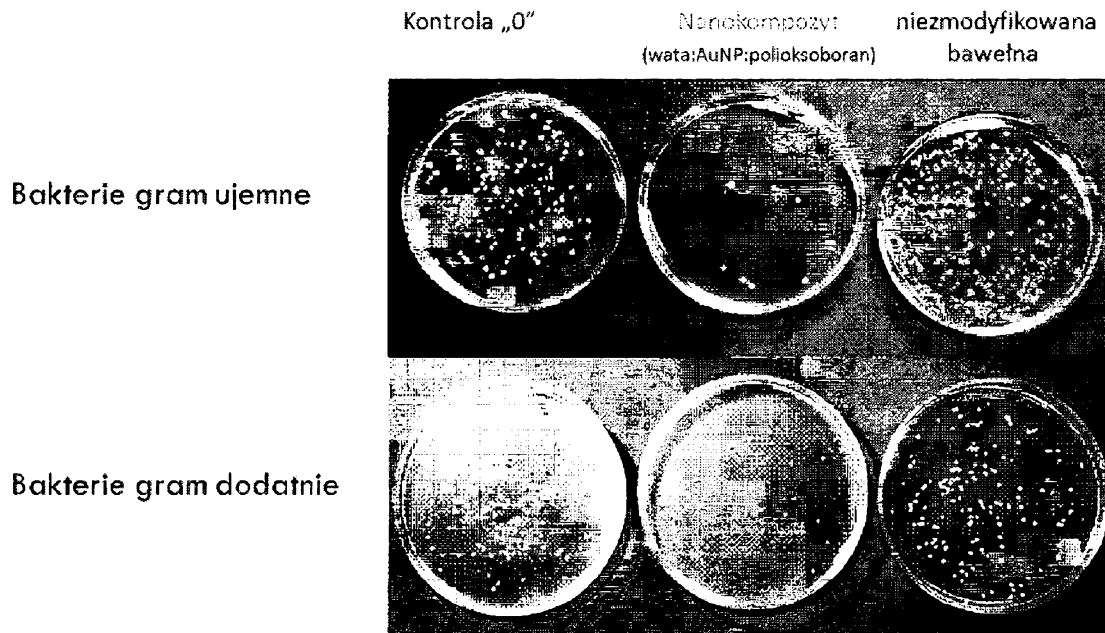
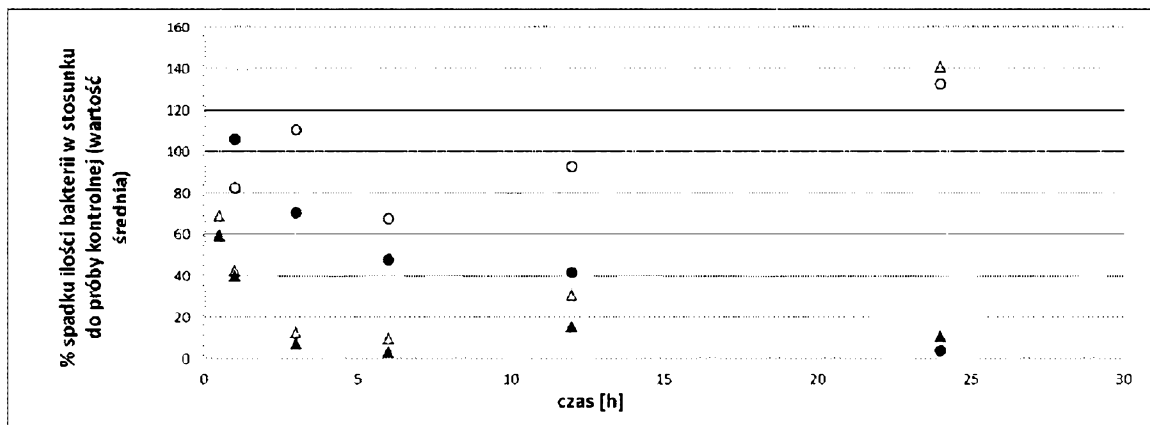


Fig. 25



pełne koła - średnia E.Coli (Au nanokompozyt)

puste koła - średnia E.Coli (kontrola -material bez modyfikacji)

pełne trójkąty - średnia S.Epi (Au nanokompozyt)

puste trójkąty - średnia S.Epi (kontrola -material bez modyfikacji)

Fig. 26

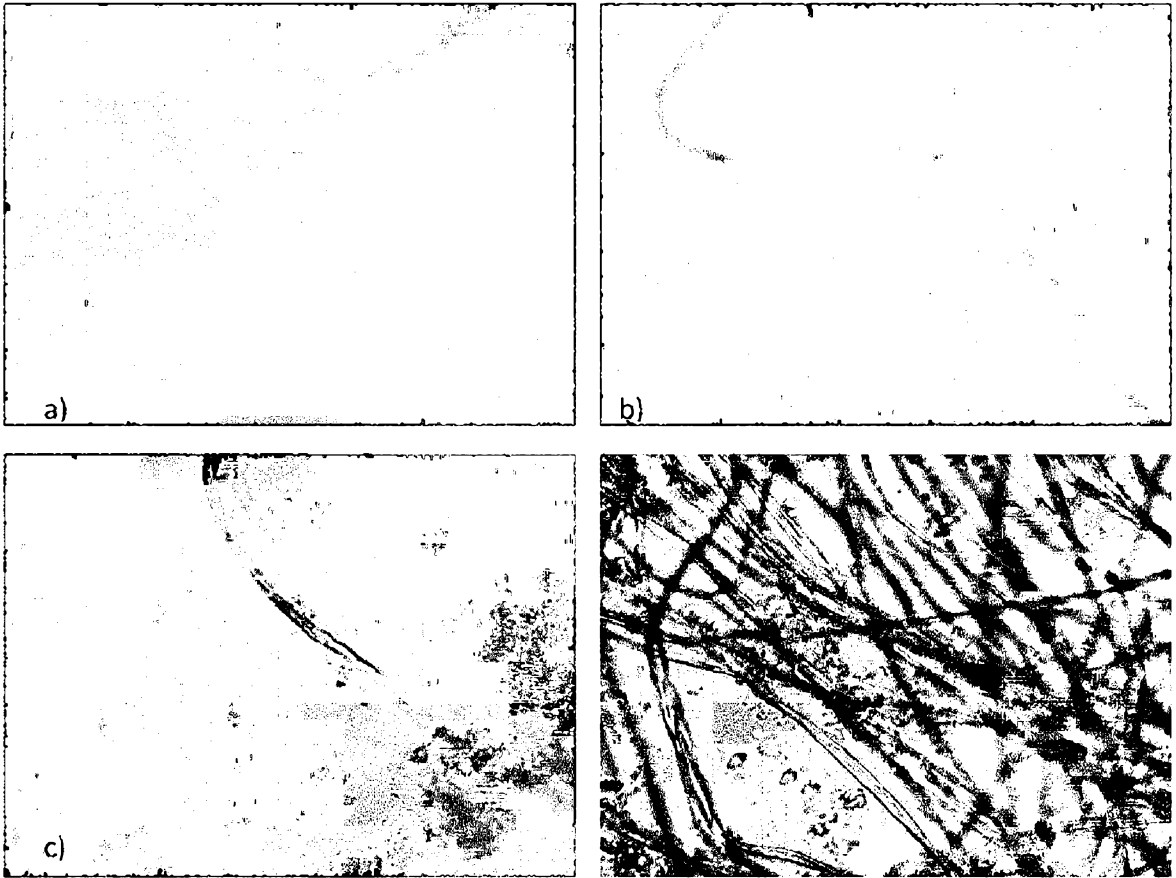


Fig. 27

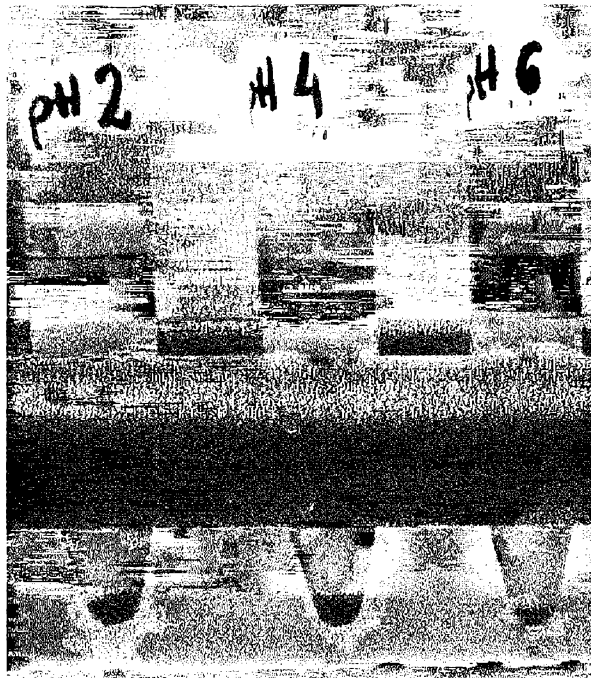


Fig. 28

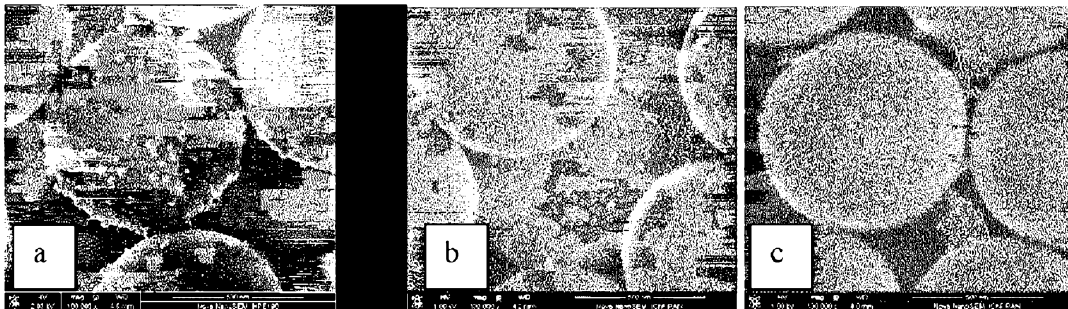


Fig. 29

