

Nanočestice metala u antimikrobnim premazima

Jurić, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:172123>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ

Ana Jurić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidatkinja **Ana Jurić**

Predala je izraden završni rad dana: 17. rujna 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Ernest Meštrović, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Iva Rezić Meštrović, Sveučilište u Zagrebu Tekstilno-
tehnološki fakultet

prof. dr. sc. Sanja Lučić Blagojević, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred
povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 20. rujna 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ

Ana Jurić

NANOČESTICE METALA U ANTIMIKROBNIM PREMAZIMA

ZAVRŠNI RAD

Mentor:

prof. dr. sc. Ernest Meštrović

Komentor:

prof. dr. sc. Iva Rezić Meštrović, Sveučilište u Zagrebu Tekstilnotehnološki fakultet

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Ernest Meštrović, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Iva Rezić Meštrović, Sveučilište u Zagrebu Tekstilnotehnološki fakultet

prof. dr. sc. Sanja Lučić Blagojević, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

SAŽETAK:

Cilj ovog rada bio je istražiti na koji način formulacije koje sadrže nanočestice metala i djelatne tvari utječe na mikrobnu aktivnost. U radu je dan pregled područja s posebnim osvrtom na ulogu nanočestica u istraživanju i razvoju lijekova, medicinske opreme i pribora, s ciljem razvoja rješenja koja pomažu u antimikrobnoj zaštiti, s posebnim osvrtom na problem antimikrobne rezistencije. Nanočestice se zbog svoje velike površinske aktivnosti i reaktivnosti sve više koriste u raznim formulacijama. Kao modelni sustav odabrane su nanočestice bakra, koje su priređene postupkom redukcije bakrovih iona s askorbinskom kiselinom i stabilizirane polimerom. U priređenu smjesu dodat je antibiotik doksiciklin te je nakon homogenizacije formulacija dodatno stabilizirana želatinom kako bi bila pogodna za nanošenje na određene podloge. Priređene formulacije testirane su na niz mikroorganizama, uključujući *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*, te su u svim slučajevima pokazale antimikrobnu aktivnost. Rezultati pokazuju da kombinacija bakrenih nanočestica s doksiciklinom značajno pojačava antimikrobni učinak u usporedbi s pojedinačnom primjenom, ističući potencijal za primjenu u prevenciji i liječenju infekcija uzrokovanih rezistentnim mikroorganizmima. Ovaj pristup također nudi održiva i inovativna rješenja u borbi protiv sve prisutnijeg problema antimikrobne otpornosti, čime se otvara mogućnost daljnjeg razvoja formulacija koje bi mogle imati potencijalnu primjenu u medicinskoj praksi.

Ključne riječi: nanočestice, antimikrobna aktivnost, bakar, doksiciklin, antimikrobna rezistencija, formulacija

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate how formulations containing metal nanoparticles and active substances affect microbial activity. The paper provides an overview of the field with a special focus on the role of nanoparticles in the research and development of drugs, medical equipment, and supplies, with the goal of developing solutions that aid in antimicrobial protection, with particular emphasis on the issue of antimicrobial resistance. Due to their high surface activity and reactivity, nanoparticles are increasingly being used in various formulations. Copper nanoparticles were selected as the model system, which were prepared by the reduction of copper ions with ascorbic acid and stabilized with a polymer. Doxycycline was added to the prepared mixture, and after homogenization, the formulation was further stabilized with gelatin to make it suitable for application to specific substrates. The prepared formulations were tested on a range of microorganisms, including *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*, and in all cases, they exhibited antimicrobial activity. The results show that the combination of copper nanoparticles with doxycycline significantly enhances the antimicrobial effect compared to individual application, highlighting the potential for use in the prevention and treatment of infections caused by resistant microorganisms. This approach also offers sustainable and innovative solutions in the fight against the increasingly prevalent problem of antimicrobial resistance, opening the possibility for further development of formulations that could have potential applications in medical practice.

Keywords: nanoparticles, antimicrobial activity, copper, doxycycline, antimicrobial resistance, formulation

Ciljevi rada:

Cilj ovog rada bio je istražiti potencijal doksiciklina u kombinaciji s nanočesticama za poboljšanje njegovih antimikrobnih svojstava protiv specifičnih bakterija *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*.

Nanočestice u antimikrobnim premazima obuhvaćaju različite primjene u svrhu poboljšanja njihove efikasnosti i funkcionalnosti.

1. Brza primjena i jednostavno nanošenje:

razvijanje premaza koji se lako primjenjuju na različite površine i koji se brzo suše, čineći ih praktičnim za upotrebu u različitim industrijama.

2. Povećanjem efikasnosti antimikrobnih svojstava:

istražujemo načine na koje nanočestice mogu poboljšati antimikrobnost premaza, ciljajući različite slojeve bakterija, gljivica i virusa.

3. Dugotrajno djelovanje:

razvoj premaza koji oslobađaju antimikrobne agense postepeno, čime se osigurava dugotrajna zaštita površina.

4. Održivi materijali:

cilj je koristiti ekološki prihvatljive materijale i metode u proizvodnji nanočestica, smanjujući negativan utjecaj na okoliš.

5. Smanjenje troškova proizvodnje:

razvijanje pristupačnih i jednostavnih metoda za sintezu i primjenu antimikrobnih premaza kako bi bili ekonomski isplativi za široku primjenu.

6. Inovativne formulacije:

cilj je istražiti nove kombinacije nanočestica i baznih materijala kako bi se proširio spektar mikroorganizama protiv kojih su učinkoviti i omogućila primjena u različitim okruženjima.

SADRŽAJ:

1. Uvod.....	7
2. Nanočestice	9
2.1. Osnovne postavke o nanočesticama	9
2.2. Otkriće nanočestica	11
2.3. Svojstva tvari na nanometarskoj skali	15
2.4. Fizikalna svojstva nanočestica	15
2.5. Kemijska svojstva nanočestica	16
2.6. Biološka svojstva nanočestica	17
3. Nanočestice bakra	18
3.1. Postupci dobivanja nanočestica bakra	18
3.2. Fizikalna i kemijska svojstva nanočestica bakra.....	18
3.3. Antimikrobna svojstva i primjena u premazima nanočestica bakra	19
4. Antimikrobno djelovanje	21
4.1. Definicija i važnost antimikrobne zaštite	21
4.2. Antibiotici, osnovne postavke na kojima se temelji djelovanje antibiotika, osnovni mehanizmi djelovanja.....	22
4.3. Doksiciklin: otkriće, povijest, mehanizam djelovanja, primjena u medicini	26
4.4. Izazovi upotrebe antibiotika (otpornost, nuspojave)	29
5. Nanočestice metala kao antimikrobne tvari.....	30
5.1. Mehanizmi djelovanja nanočestica metala na mikroorganizme.....	32
5.2. Sinergističko djelovanje nanočestica i antibiotika	35
6. Metode određivanja efikasnosti antimikrobne zaštite na temelju bioloških testova.....	37
7. Eksperimentalni dio	39
7.1. Materijali	39
7.2. Metode i instrumenti.....	39
7.3. Priprema uzorka za analizu	44
8. Rezultati	50
9. Rasprava.....	57
10. Zaključak.....	58

11. Literatura	59
12. Popis slika:	62
13. Popis tablica:	64
14. Životopis	65

ZAHVALA

Zahvaljujem svim osobama koje su na bilo koji način pridonijele nastanku ovog završnog rada.

Prije svega, želim izraziti svoju zahvalnost svom mentoru, prof. dr. sc. Ernest Meštroviću, na stručnoj podršci, korisnim savjetima i nesebičnom dijeljenju znanja kroz cijeli proces izrade ovog rada. Njegova stručnost i strpljenje bili su od neprocjenjive važnosti za moj akademski napredak.

Zahvaljujem se svojoj obitelji i prijateljima, čija su podrška, razumijevanje i ohrabrenje bili moj oslonac tijekom ovog izazovnog razdoblja. Bez njihove pomoći i motivacije, ovaj rad ne bi bio moguć.

Posebnu zahvalnost dugujem i svim profesorima te “mojim curama” s fakulteta, čija su predavanja, savjeti i razgovori potaknuli moja razmišljanja i pomogli mi da razvijem dublje razumijevanje teme.

Na kraju, zahvaljujem svim istraživačima i autorima čiji su radovi i istraživanja poslužili kao temelj i inspiracija za izradu ovog završnog rada.

Naposlijetku, najveću hvalu upućujem dragome Bogu.

1. Uvod

U današnje vrijeme tehnologija povezivanja s nanočesticama omogućuje pretvaranje gotovo svake tvari, a osobito metala i njihovih oksida, u nanočestice. Međutim, sve veći naglasak stavlja se na razvoj metoda koje su što učinkovitije i ekološki prihvatljive, slijedeći principe zelene i održive kemije. Jedan od najvažnijih materijala u ovom području je bakar, koji zbog svojih kemijskih svojstava predstavlja izvrstan izvor za sintezu nanočestica. Bakrene nanočestice privukle su znatnu pažnju u znanstvenim istraživanjima zbog svoje visoke reaktivnosti i potencijala za široku primjenu, posebice u biomedicini. Jedan od ključnih izazova u modernoj medicini jest borba protiv rezistencije mikroorganizama na antibiotike. U tom kontekstu, sinteza bakrenih nanočestica i njihovo kombiniranje s postojećim antibioticima, poput doksiciklina, može otvoriti nova vrata u suzbijanju rezistentnih bakterijskih sojeva.

Doksiciklin je poznat po svojim antimikrobnim svojstvima, no istraživanja sve više upućuju na to da kombinacija s metalnim nanočesticama može pojačati njegovu učinkovitost. Motivacija za ovo istraživanje proizlazi stoga iz potrebe za pronalaskom novih formulacija koje će imati sinergijski učinak, čime bi se unaprijedila učinkovitost terapija i smanjila otpornost mikroorganizama na već poznate lijekove.

Formulacije koje u svojem sastavu sadržavaju nanočestice metala i metalnih oksida predstavljaju inovativan pristup koji vodi prema osmišljavanju antimikrobnih premaza koji imaju niz mogućnosti primjene. Spomenuti premazi koriste nanočestice, koje zbog svoje male veličine i specifičnih svojstava imaju snažan antimikrobni učinak. U zadnjih dvadeset godina istraživanje vezano uz nanočestice postalo je predmet interesa raznih znanstvenika i stručnjaka što je dovelo do razvoja različitih prototipova i primjene tih tehnologija u različitim industrijama, uključujući medicinu, prehrambenu industriju, tekstilnu industriju, a nerijetko su nanočestice prisutne i u proizvodima široke potrošnje.

Razlog za to proizlazi iz činjenice da nanočestice imaju specifična svojstva zahvaljujući svojoj maloj veličini. U slučaju kada takve čestice dolaze u doticaj s mikroorganizmima dolazi do interakcije čestica i samih stanica, što u slučaju mikroorganizama znači interakciju čestice i samog mikroorganizma. Pri tome, nanočestice različitih kemijskih sastava, morfologije i veličine imaju različite mehanizme djelovanja kojima narušavaju funkcioniranje stanica bakterija.

, Najčešće korištene nanočestice u antimikrobnim premazima uključuju srebro, bakar, cink-oksidi i titan-dioksidi.

Ovaj rad usmjeren je na pripremu i analizu bakrenih nanočestica te ispitivanje njihovog utjecaja na djelovanje doksiciklina. Cilj istraživanja je dokazati da kombinacija bakrenih nanočestica i antibiotika može pružiti značajan doprinos u rješavanju globalnog problema otpornosti bakterija, čime bi se unaprijedila postojeća terapijska sredstva. Bakar uzrokuje oksidativni stres u bakterijskim stanicama, oštećuje njihove stanične membrane i potiče razgradnju DNA i proteina. Koristi se za oblaganje površina u bolnicama, na kvakama, ručkama i drugim dodirnim točkama kako bi se spriječilo širenje infekcija.^[1] Nanočestice bakra (CuNPs) pružaju učinkovitu zaštitu protiv širokog spektra mikroorganizama.

Doksiciklin je antibiotik iz skupine tetraciklina, poznat po širokom spektru djelovanja protiv različitih bakterijskih patogena. Zbog svoje sposobnosti inhibicije sinteze proteina u bakterijskim stanicama, koristi se u liječenju različitih bakterijskih infekcija.^[2] Međutim, razvoj rezistencije na antibiotike predstavlja ozbiljan problem, što povećava interes za kombiniranje tradicionalnih antibiotika s naprednim tehnologijama, poput nanočestičnih premaza.

2. Nanočestice

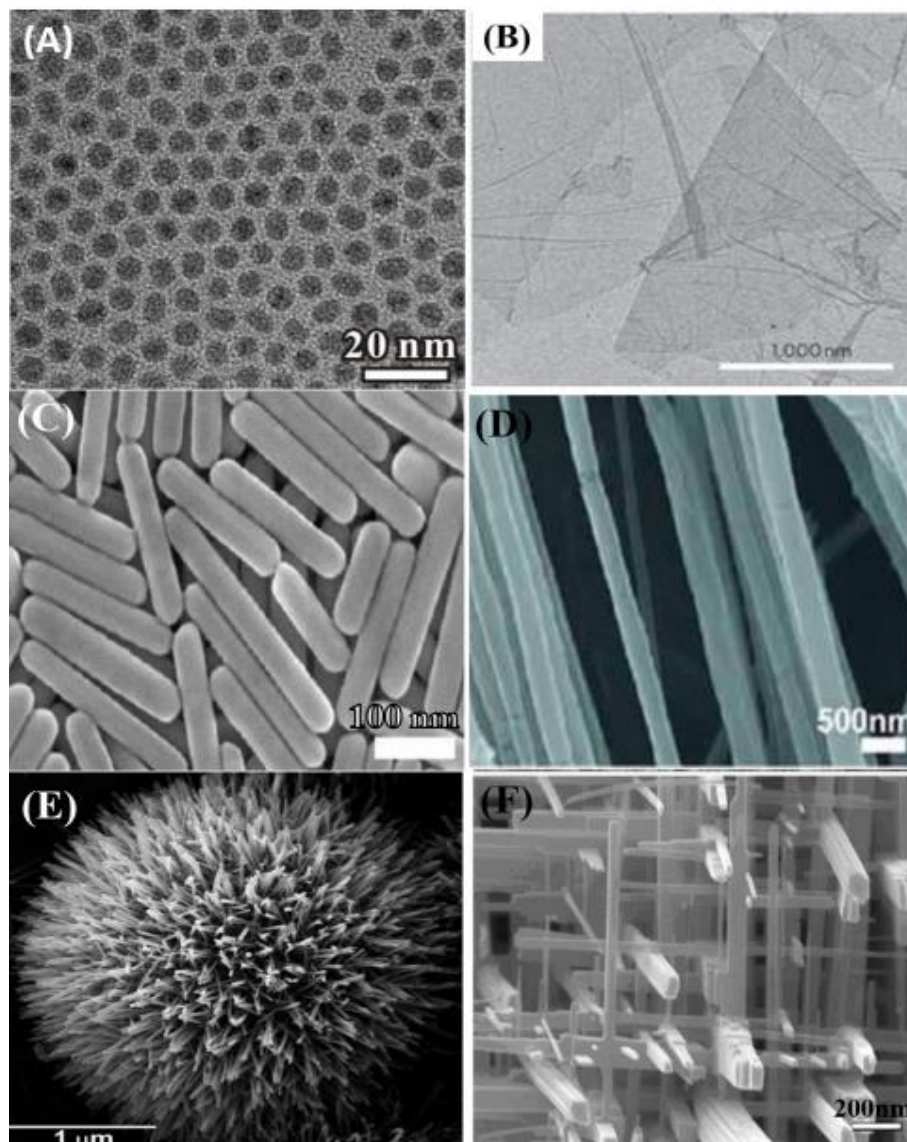
2.1. Osnovne postavke o nanočesticama

Nanočestica je maleni fragment materije promjera manjeg od 100 nm. Premda neki autori koriste termin nanočestica za sve što je manje od 1 mikrona. Unatoč svojoj sićušnoj veličini, nanočestica se ponaša kao cjelovita jedinica u pogledu svojih svojstava i transporta. Istraživanje nanočestica jedno je od najintenzivnije proučavanih područja danas zbog svoje široke primjenjivosti u brojnim industrijama.

Razlikuju se od većih čestica istog materijala jer im mala veličina daje posebna fizikalna i kemijska svojstva.^[3] Zbog svoje veličine, nanočestice imaju relativno veliku površinu u odnosu na svoj volumen.^[3] Ova povećana površinska energija često rezultira povećanom reaktivnošću, što ih čini korisnima u raznim tehnološkim i biomedicinskim primjenama.^[3] Nanočestice su jedinstvene u smislu da čine poveznicu između materijala u masi i materijala na atomskoj ili molekularnoj razini.

Fizikalna i kemijska svojstva nanočestica koja se mogu razlikovati od masovnih oblika istih materijala uključuju boju, temperaturu taljenja, kemijsku reaktivnost, električnu vodljivost, magnetizam, mehaničku čvrstoću ili kristalnu strukturu(Slika 1).

Nanočestice također mogu prodrijeti u stanice i tkiva na način koji veće čestice ne mogu, što je ključno za primjene u medicini, poput ciljane dostave lijekova ili dijagnostičkih testova.



Slika 1.: Nanomaterijali s različitim morfologijama: (A) neporozne Pd nanočestice (0D) [9,10], autorska prava Zhang et al.; licenca Springer, 2012., (B) grafenske nano-ploče (2D) [11], autorska prava 2012., Springer Nature, (C) Ag nanošipke (1D) [12], autorska prava 2011., Američko kemijsko društvo, (D) nanovlakna polietilen oksida (1D) [13], autorska prava 2010., Američko kemijsko društvo, (E) ZnO nanožice u obliku morskog ježa (3D), reproducirano iz [14] uz dozvolu Kraljevskog kemijskog društva, (F) WO₃ nanomreža (3D) [15], autorska prava 2005., Wiley-VCH.

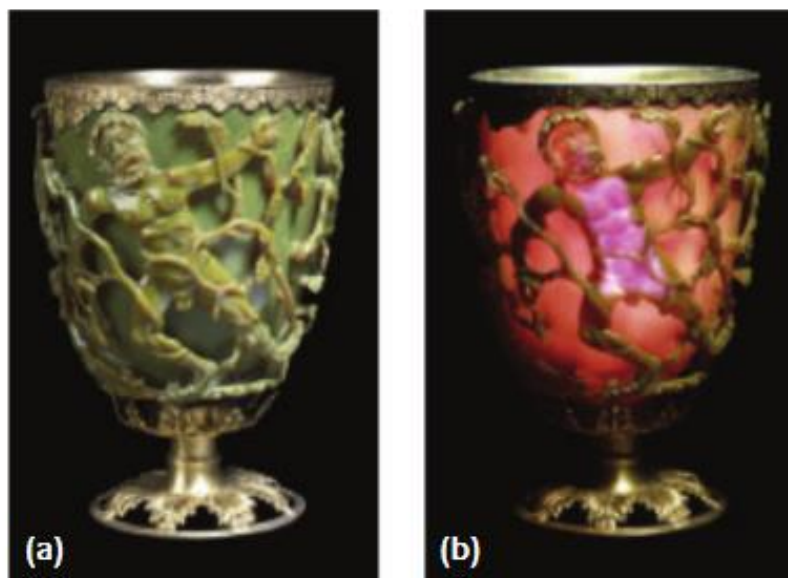
2.2. Otkriće nanočestica

Povijesni razvoj nanočestica je fascinantna priča koja se proteže kroz stoljeća, od intuitivne upotrebe nanočestica u drevnim civilizacijama do moderne nanotehnologije koja se razvila u posljednjim desetljećima.

Stari Egipćani su koristili nanomaterijale prije više od 4000 godina, "*egipatsko plavo*" bio je prvi sintetički pigment koji su Egipćani pripremali i koristili koristeći sinteriranu smjesu stakla i kvarca veličine nanometara oko 3. stoljeća pr. Kr.

Sinteza metalnih nanočestica kemijskim metodama datira još iz 14. i 13. stoljeća pr. Kr., kada su Egipćani i Mezopotamci počeli proizvoditi staklo koristeći metale, što se može smatrati početkom ere metalnih nanočestica.

Jedan od najpoznatijih primjera je Lycurgusova čaša, rimski artefakt iz 4. stoljeća, koja mijenja boju iz zelene u crvenu ovisno o izvoru svjetlosti (Slika 2). Ovaj efekt nastaje zbog prisutnosti zlatnih i srebrnih nanočestica u staklu.



Slika 2.: Lycurgova čaša 1958,1202.1 pod reflektiranim (a) i propuštenim (b) svjetlom. Prikaz scene u kojoj je Lykurg zapleten u lozu, nakon što se Ambrozija transformirala u izdanak vinove loze. Odsjek za prapovijest i Europu, Britanski muzej. Visina: 16,5 cm (s modernim metalnim postoljem), promjer: 13,2 cm. © Povjerenici Britanskog muzeja.

U srednjem vijeku, staklari su koristili nanočestice zlata i srebra za stvaranje živopisnih boja u vitrajima crkava. Iako nisu razumjeli znanstvene osnove ovog fenomena, koristili su ga zbog estetskog učinka.

Prvi znanstveni rad o nanočesticama pripada Michaelu Faradayu, koji je 1857. godine istraživao optička svojstva koloidnih otopina zlata. Faradayev rad bio je revolucionaran jer je prvi ukazao na specifična svojstva materijala kada su prisutni u vrlo malim veličinama, iako u to vrijeme koncept nanočestica još nije bio razvijen. Njegova istraživanja postavila su temelje za daljnje proučavanje nanomaterijala i nanotehnologije, koja je danas jedno od najdinamičnijih područja znanosti i inženjerstva.

Zanimljivo je napomenuti da su nanočestice bile prisutne kroz cijelu povijest civilizacije, iako zanatlije i majstori iz davnih vremena, kao i znanstvenici i inženjeri renesanse, nisu imali spoznaju o stvarnoj veličini čestica prisutnih u određenim materijalima ili smjesama. Primjeri uključuju srednjovjekovne vitraje, gdje se zlato koristilo u obliku nanočestica kako bi stvorilo bogate crvene i ljubičaste tonove, a da pritom nisu znali za nanoznanost. Svako novo područje znanosti obično je povezano s nekim povijesnim kontekstom ili osobom koja ističe važnost određenog fenomena.

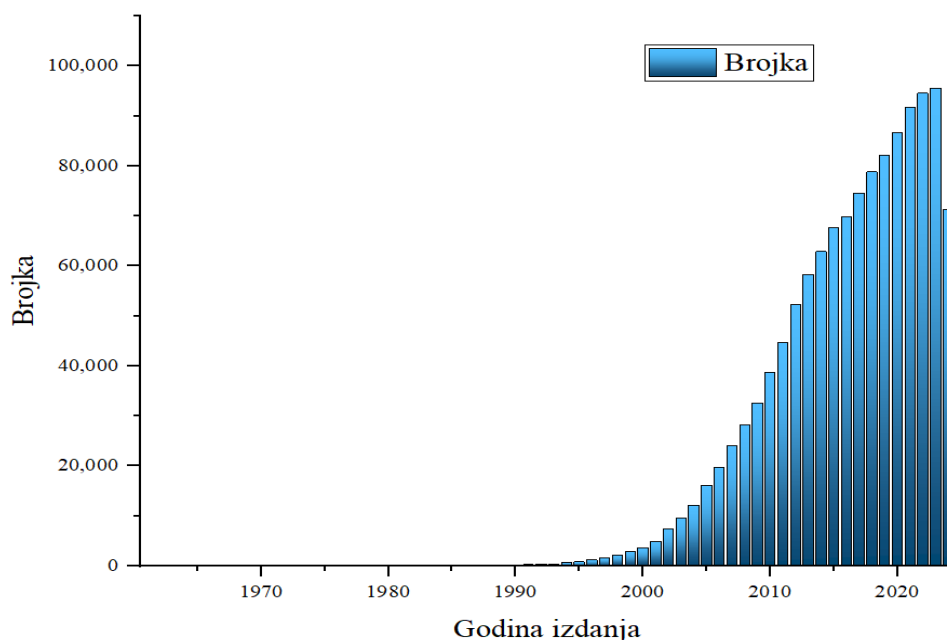
Jedna od ključnih osoba koja je pridonijela usmjeravanju znanstvenog fokusa na istraživanje kako se svojstva materijala mijenjaju s promjenom veličine bio je američki fizičar Richard Feynman. Feynman je 1959. godine održao svoje poznato predavanje pod nazivom "*There's Plenty of Room at the Bottom*", koje je često citirano kao početna točka modernog razvoja nanotehnologije. U tom predavanju, Feynman je predvidio mogućnost manipulacije atomima i molekulama na vrlo malim razinama te istaknuo kako bi takva manipulacija mogla dovesti do nevjerojatnih otkrića u znanosti i tehnologiji. Njegova vizija bila je toliko napredna da je opisao svijet u kojem bi znanstvenici i inženjeri mogli upravljati materijom na atomskoj razini, što bi omogućilo stvaranje novih, izuzetno malih uređaja i materijala s jedinstvenim svojstvima.

Feynman nije samo predložio ovu ideju, već je bio i praktičan vizionar. Ponudio je dvije nagrade: jednu za prvi mikroskop koji bi mogao pisati tekst na površini veličine manjoj od 1/25.000 inča (0,001016 cm), a drugu za prvi motor veličine manjih od 1/64 inča (0,0396875 cm). Ove nagrade simbolizirale su njegovu vjeru u to da će buduća znanost ostvariti njegovu

viziju rada na atomskoj skali. Njegovo predavanje inspiriralo je generacije znanstvenika da istražuju mogućnosti na nanoskalama, što je na kraju dovelo do razvoja moderne nanotehnologije (Slika 3).

Zbog Feynmana, koncept nanoznanosti postao je središnje pitanje u mnogim znanstvenim istraživanjima, a njegova vizija o manipulaciji materijalima na atomskoj razini danas je stvarnost u raznim disciplinama poput medicine, elektronike i energetike. Njegov doprinos ne samo da je otvorio vrata znanosti o nanočesticama, već je i dao čvrste temelje za stvaranje inovacija koje oblikuju naš današnji svijet.

Japanski znanstvenik Norio Taniguchi prvi je upotrijebio pojam "nanotehnologija" 1974. godine, definiranjem tehnika obrade na razini nanometra.



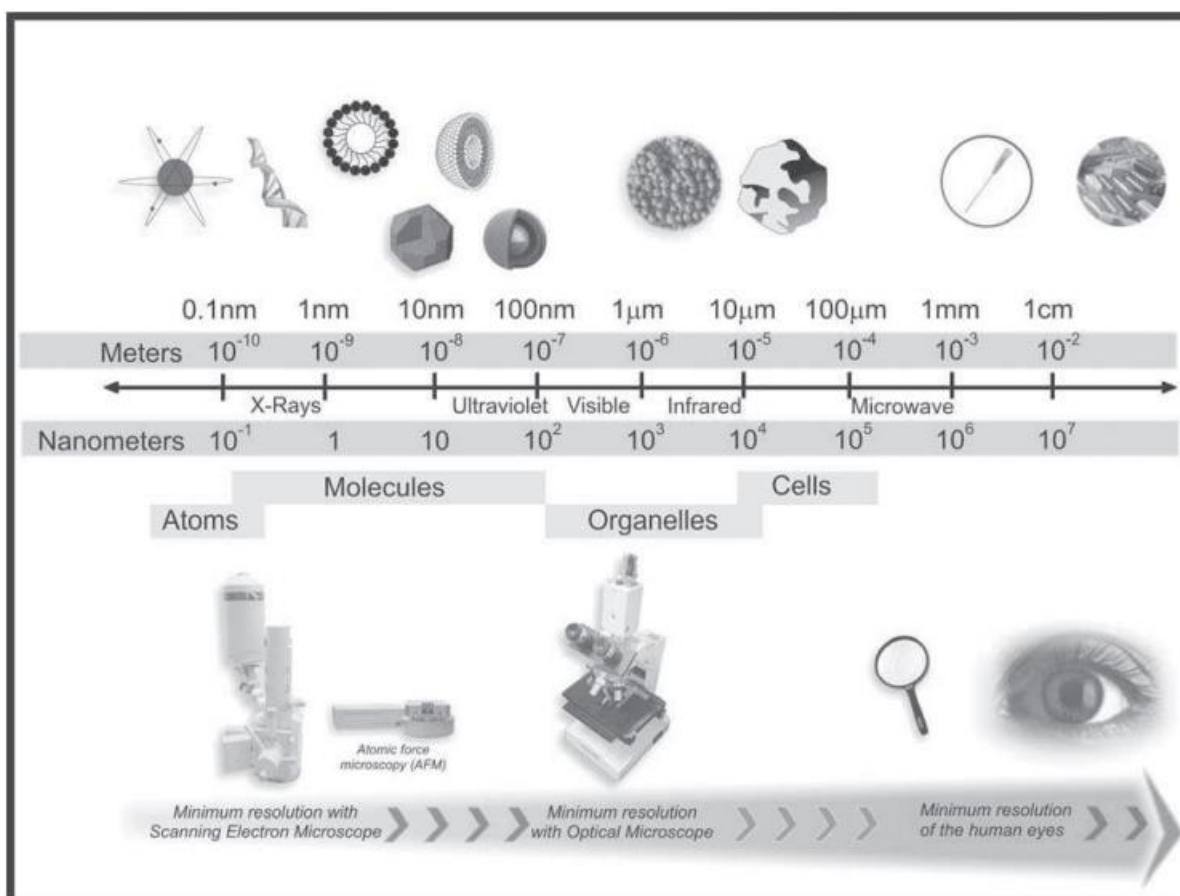
Slika 3.: Eksponencijalan porast broja objavljenih članaka o nanočesticama u zadnjih 70 godina prikazuje porast znanstvenog interesa u tom području

Otkrivanje fulerena (C₆₀) 1985. godine i ugljikovih nanocjevčica krajem 1980-ih i početkom 1990-ih obilježilo je važan trenutak u nanotehnologiji. Ovi materijali pokazali su izvanredna svojstva koja su brzo postala područje intenzivnog istraživanja.

Danas nanočestice imaju široku primjenu u različitim industrijama, uključujući elektroniku, energetiku, medicinu, kemijsku industriju i okolišnu tehnologiju. Istraživanja u području nanotehnologije neprestano napreduju, s fokusom na stvaranje naprednih materijala, poboljšanje učinkovitosti u medicinskim tretmanima, te rješavanje okolišnih izazova.

2.3. Svojstva tvari na nanometarskoj skali

Promjene u fizikalnim, kemijskim i biološkim svojstvima na nanometarskoj skali su ključni aspekti nanotehnologije i predstavljaju temelj mnogih inovacija i primjena u ovoj znanstvenoj i tehnološkoj disciplini (Slika 4).



Slika4.: Grafički prikaz nanometarske skale (od makro do nanorazine)

2.4. Fizikalna svojstva nanočestica

Kada se veličina čestica smanjuje na nanometarsku skalu, dolazi do značajnog povećanja površinske površine u odnosu na volumen. Ovo povećanje površinske površine omogućava nanočesticama veću reaktivnost i efikasnost u različitim kemijskim procesima, jer veći broj atoma na površini dolazi u kontakt s okolinom. Takva svojstva su posebno korisna u katalizatorima i u raznim biološkim i kemijskim primjenama.

Nanočestice također posjeduju jedinstvena mehanička svojstva u usporedbi s većim materijalima. Na primjer, određene nanočestice mogu biti znatno čvršće ili otpornije na udarce u odnosu na veće čestice, dok neke mogu pokazivati veću krhkost. Te promjene u mehaničkim svojstvima čine nanočestice pogodnim za primjenu u materijalima koji zahtijevaju kombinaciju čvrstoće i fleksibilnosti, kao što su superlagani kompoziti.

Električna svojstva nanočestica također mogu doživjeti dramatične promjene na nanometarskoj skali. Materijali koji su u velikim količinama izolatori, mogu postati poluvodiči ili čak vodiči kada su u obliku nanočestica. Ove promjene su od posebnog značaja u razvoju novih elektroničkih i optičkih uređaja, jer nanočestice mogu pružiti mogućnost kontrole električnih svojstava na način koji nije moguć s makroskopskim materijalima.

2.5. Kemijska svojstva nanočestica

Kemijska stabilnost nanočestica predstavlja izazov jer, iako njihova povećana reaktivnost može biti izuzetno korisna u mnogim primjenama, istovremeno može dovesti do problema s dugoročnom stabilnošću. Zbog veće specifične površine, nanočestice brže reagiraju s okolišem, što može uzrokovati kemijsku degradaciju ili promjenu njihovih svojstava. Ova nestabilnost može biti naročito izražena kada su nanočestice izložene zraku, vodi ili drugim reaktivnim kemikalijama, pa se često koriste različite tehnike premazivanja ili stabilizatori kako bi se očuvala njihova funkcionalnost kroz dulji vremenski period.

S druge strane, reaktivnost nanočestica je jedno od njihovih najvažnijih svojstava. Zbog njihove veće specifične površine, značajno je povećana mogućnost kemijskih reakcija, što ih čini izuzetno učinkovitim u katalitičkim procesima. Nanočestice lakše stupaju u reakcije s drugim tvarima, čime pospješuju brzinu i učinkovitost kemijskih reakcija. Ova povećana reaktivnost posebno je korisna u industrijskim procesima poput proizvodnje goriva, kemijskih spojeva ili u farmaceutskoj industriji, gdje se nanočestice koriste za ubrzavanje reakcija ili poboljšanje kvalitete proizvoda. Kataliza, u kojoj nanočestice često igraju ključnu ulogu, omogućava efikasniju i ekološki prihvatljiviju proizvodnju različitih kemikalija.

2.6. Biološka svojstva nanočestica

Zbog svoje izuzetno male veličine, nanočestice imaju jedinstvenu sposobnost prolaska kroz biološke barijere koje su nepristupačne većim česticama. Ovo svojstvo im omogućuje da dosegnu specifična tkiva, organe ili stanice unutar tijela, što je posebno korisno u području ciljane dostave lijekova. Na taj način se lijekovi mogu dostaviti izravno na mjesto bolesti, smanjujući nuspojave i povećavajući učinkovitost tretmana. Ova sposobnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru, crijevne stijenke ili stanične membrane čini nanočestice ključnim alatom u modernoj medicini, posebno u dijagnostici, terapiji tumora i drugim biomedicinskim primjenama.

Također zbog svoje specifične veličine i površinskih svojstava, imaju sposobnost interakcije s biomolekulama poput proteina, nukleinskih kiselina i lipida na način koji se razlikuje od interakcija većih čestica. Te interakcije mogu mijenjati strukturu i funkciju biomolekula, što može biti korisno u istraživanju biologije stanice, ali i u terapiji i dijagnostici. Na primjer, nanočestice mogu biti dizajnirane tako da se vežu za specifične proteine ili DNA sekvence, omogućujući precizno isporučivanje terapijskih molekula ili dijagnostičkih sredstava. Međutim, ove interakcije također nose potencijalne rizike, jer nepredvidive promjene u strukturi biomolekula mogu izazvati neželjene biološke učinke.

3. Nanočestice bakra

3.1. Postupci dobivanja nanočestica bakra

Nanočestice bakra mogu se dobiti kemijskim metodama, kao što su redukcija bakrovih soli uz pomoć redukcijских agenasa poput natrijevog borohidrida. Također, fizikalne metode, poput taloženja isparavanjem ili elektrokemijskog postupka, omogućuju kontroliranu sintezu nanočestica različitih veličina i oblika (Tablica 1).

Tablica 1: Postupci dobivanja nanočestica

Kemijske metode	Fizikalne metode	Biološke metode
Kemijska redukcija	Mehaničko mljevenje	Biosinteza
Sol-gel metoda	Sputtering (raspršivanje)	Mikrobna sinteza
Elektrokemijska redukcija	Laserska ablacija	
Termalna razgradnja		

3.2. Fizikalna i kemijska svojstva nanočestica bakra

Fizikalna i kemijska svojstva nanočestica bakra prikazana su u Tablici 2. Fizikalna svojstva nanočestica bakra uključuju visoku površinsku energiju i odličnu toplinsku i električnu vodljivost, zbog njihove male veličine i velike specifične površine. Kemijska svojstva sklonost reaktivnosti i oksidaciji, ali imaju i izražena antimikrobna svojstva te se koriste kao katalizatori u različitim kemijskim reakcijama.

Tablica 2: Fizikalna i kemijska svojstva nanočestica

Fizikalna svojstva	Kemijska svojstva
Veličina i oblik	Reaktivnost
Optička svojstva	Oksidacija

Električna vodljivost	Antimikrobna svojstva
Toplinska vodljivost	Katalitička aktivnost
Mehanička svojstva	Kemijska stabilnost

3.3. Antimikrobna svojstva i primjena u premazima nanočestica bakra

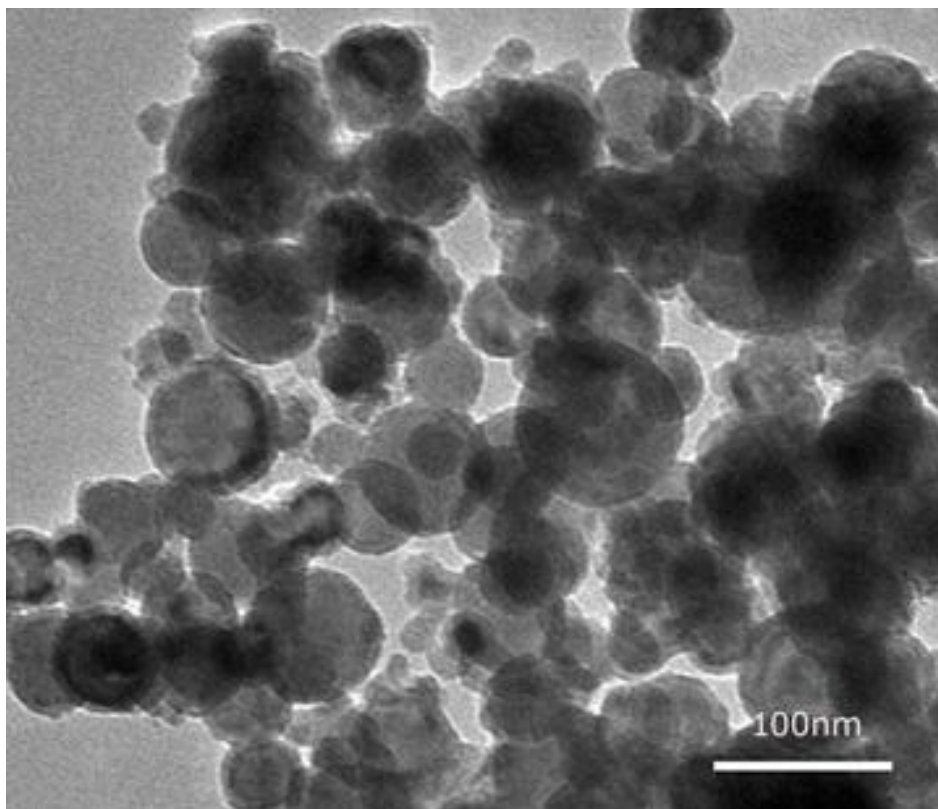
Antimikrobna svojstva bakra poznata su već godinama, a kroz povijest se ovaj metal koristio kao učinkovito sredstvo za suzbijanje mikroorganizama poput bakterija, virusa i gljivica. U novije vrijeme, s razvojem nanotehnologije, bakar i njegove nanočestice (engleski copper nanoparticles, Cu NP) postali su ključni u modernim antimikrobnim tretmanima.^[4] Bakrove nanočestice, zahvaljujući svojoj maloj veličini i povećanoj površinskoj reaktivnosti u usporedbi s bakrom u rasutom stanju, pokazuju značajno jaču sposobnost uništavanja mikroorganizama. Ova povećana reaktivnost omogućuje nanočesticama bakra da učinkovitije napadaju stanične membrane patogena, uzrokujući njihovo oštećenje i smrt stanica.^[4]

Bakrove nanočestice koriste se u raznovrsnim područjima poput medicine, tekstilne industrije, prehrambene industrije i poljoprivrede. U medicini i zdravstvu, njihova primjena je posebno važna zbog njihove sposobnosti smanjenja prijenosa patogena u bolničkim okruženjima. Premazi na bazi bakrovih nanočestica primjenjuju se na površinama koje su često izložene mikroorganizmima, čime se značajno smanjuje mogućnost prijenosa zaraznih bolesti. Također, bakrove nanočestice koriste se u prevlakama za medicinske uređaje poput katetera, endoskopske opreme i implantata kako bi se smanjio rizik od infekcija povezanih s invazivnim medicinskim postupcima.

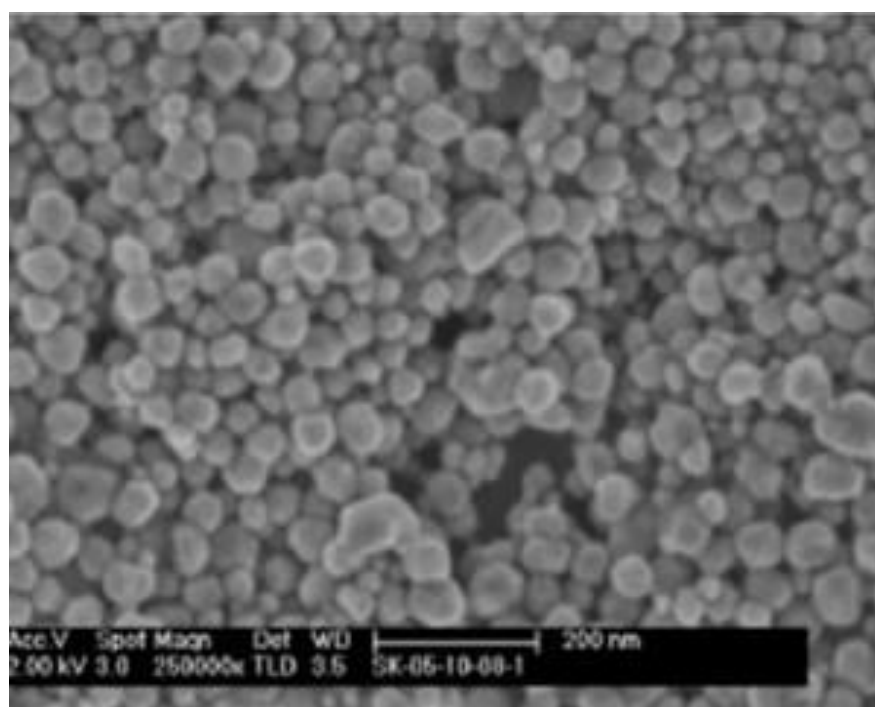
Osim toga, istraživanja su pokazala da bakrove nanočestice mogu biti učinkovite i u borbi protiv bakterija otpornih na antibiotike, što ih čini vrijednim oružjem u borbi protiv rastuće prijetnje multirezistentnih patogena. Njihova antimikrobna aktivnost također je relevantna u tekstilnoj industriji, gdje se koriste za izradu antimikrobnih tkanina, te u prehrambenoj industriji, gdje pomažu u održavanju higijene i produžavanju trajnosti proizvoda. U poljoprivredi se koriste za zaštitu biljaka od štetnih mikroorganizama, čime pridonose povećanju prinosa i sigurnosti hrane.

Sve ove primjene naglašavaju ključnu ulogu bakrovih nanočestica u suvremenoj borbi protiv

patogena, posebno u medicinskom sektoru, gdje su prevencije infekcija i sigurnost pacijenata od presudne važnosti.



Slika 5.: Nanočestice bakra (Cu, 99.9% 40-60 nm)



Slika 6.: Nanočestice bakra (Cu, 99.9%, APS: 100-250 nm)

4. Antimikrobno djelovanje

4.1. Definicija i važnost antimikrobne zaštite

Antimikrobna zaštita je pojam koji obuhvaća sve metode i tehnologije usmjerene na sprječavanje širenja, rasta i razmnožavanja mikroorganizama, uključujući viruse, bakterije, gljivice i druge patogene. Ova zaštita je od ključne važnosti u mnogim industrijskim i svakodnevnim područjima jer osigurava očuvanje zdravlja, sigurnost proizvoda te smanjenje rizika od zaraznih bolesti. Metode antimikrobne zaštite mogu uključivati primjenu kemijskih dezinficijensa, biocidnih premaza, nanočestica, sterilizacije te korištenje specijaliziranih materijala. U prehrambenoj industriji, antimikrobna zaštita ima ključnu ulogu u održavanju higijenskih standarda. Koristi se za dezinfekciju opreme, proizvodnih linija i skladišnih prostora kako bi se spriječila kontaminacija hrane mikroorganizmima koji mogu uzrokovati kvarenje proizvoda ili uzrokovati bolesti kod potrošača. Primjena antimikrobnih tehnologija omogućuje produljenje trajnosti hrane, osiguravajući dulje zadržavanje svježine i smanjenje bacanja hrane. Antimikrobni aditivi u ambalaži također pomažu očuvanju proizvoda tijekom transporta i skladištenja.

U zdravstvenoj industriji, antimikrobna zaštita igra ključnu ulogu u sprječavanju infekcija, posebno u bolničkim uvjetima gdje su pacijenti podložniji napadima patogena. Antimikrobni zavoji i obloge za rane često se koriste kako bi se spriječila infekcija, ubrzalo zacjeljivanje i smanjio rizik od komplikacija. Medicinska oprema, poput katetera, endoskopa i kirurških instrumenata, može biti premazana antimikrobnim slojevima kako bi se smanjila mogućnost prijenosa infekcija i osigurala sterilnost. U doba pandemija, antimikrobni premazi na zaštitnim maskama i odjeći dodatno su pridonijeli smanjenju širenja virusa.

Osim prehrambene i zdravstvene industrije, antimikrobna zaštita ima široku primjenu u drugim područjima poput tekstilne industrije, gdje se antimikrobne tkanine koriste za proizvodnju radne odjeće, posteljine i sportske opreme kako bi se smanjio rizik od prijenosa infekcija. Također, u građevinskoj industriji, antimikrobni premazi na površinama koje su često u dodiru s ljudima, kao što su kvake i ručke, smanjuju rizik od širenja bolesti u javnim prostorima.

Kombinacija različitih metoda i tehnologija antimikrobne zaštite omogućuje učinkovitiju kontrolu patogena i osigurava višu razinu sigurnosti u svim sektorima gdje je higijena i prevencija infekcija od ključne važnosti.

4.2. Antibiotici, osnovne postavke na kojima se temelji djelovanje antibiotika, osnovni mehanizmi djelovanja

Antibiotici su lijekovi koji se kroz čitavu povijest koriste za liječenje bakterijskih infekcija i odigrali su ključnu ulogu u medicini, spasivši bezbroj života diljem svijeta.^[5] Njihovom primjenom, mnoge zarazne bolesti koje su u prošlosti bile smrtonosne, poput upale pluća, tuberkuloze i sepse, stavljene su pod kontrolu. Time su značajno smanjili smrtnost i komplikacije uzrokovane bakterijskim infekcijama, omogućujući učinkovitije i sigurnije liječenje pacijenata.^[6] Uvođenje antibiotika u medicinsku praksu, osobito od sredine 20. stoljeća, transformiralo je način na koji se bolesti tretiraju i pružilo temelj za moderne medicinske intervencije.

Antibiotici djeluju na način da uništavaju bakterije ili sprječavaju njihov rast i razmnožavanje. Ovisno o vrsti antibiotika, neki uništavaju stanične membrane bakterija ili ometaju sintezu stanične stijenke, dok drugi inhibiraju ključne metaboličke procese unutar bakterije, poput sinteze proteina ili replikacije DNA. Time se bakterijama onemogućava normalan rast, a imunološki sustav može učinkovitije djelovati protiv infekcije. Važno je naglasiti da antibiotici ciljaju specifične dijelove bakterijskih stanica ili procese koji su ključni za njihov rast i preživljavanje, što im omogućuje selektivnost u djelovanju – ne napadaju ljudske stanice, već samo patogene mikroorganizme.

Postoje različite vrste antibiotika koje se mogu klasificirati prema podrijetlu i načinu sinteze. Prirodni antibiotici su oni koje proizvode mikroorganizmi, poput bakterija i gljivica, a prvi primjer takvog antibiotika je penicilin, kojeg je otkrio Alexander Fleming 1928. godine. Polusintetski antibiotici su derivati prirodnih antibiotika koji su kemijski modificirani kako bi se poboljšala njihova učinkovitost ili proširio spektar djelovanja protiv različitih bakterija. Sintetski antibiotici, s druge strane, u potpunosti su kemijski sintetizirani u laboratoriju i često nude prednosti poput boljeg farmakološkog profila ili smanjenja nuspojava.

Iako su antibiotici neprocjenjivi u borbi protiv bakterijskih infekcija, njihova pretjerana i nepravilna uporaba dovela je do pojave otpornosti bakterija na antibiotike. To je jedan od

najvećih izazova u modernoj medicini, jer otpornost smanjuje učinkovitost terapije i vodi do komplikacija u liječenju ozbiljnih infekcija. Zbog toga se danas sve više radi na istraživanju novih antibiotika i alternativnih terapija kako bi se suzbila ova prijetnja te osiguralo da antibiotici i dalje ostanu učinkovito oružje u borbi protiv bolesti.

Djelovanje antibiotika temelji se na nekoliko osnovnih postavki koje osiguravaju njihovu učinkovitost u borbi protiv bakterijskih infekcija, a pritom minimalno oštećuju ljudske stanice. Jedna od najvažnijih karakteristika antibiotika je selektivna toksičnost.^[7] To znači da antibiotici djeluju na specifične bakterijske stanice, dok ne utječu negativno na ljudske stanice. Razlike u strukturi i funkciji između bakterija i ljudskih stanica omogućuju da antibiotici ciljaju bakterijske komponente poput stanične stijenke, što ljudske stanice nemaju, čime se osigurava njihova sigurnost za primjenu kod ljudi.

Antibiotici ciljanju esencijalne dijelove bakterija, bez kojih bakterije ne mogu preživjeti. To mogu biti ključne komponente poput ribosoma koji su odgovorni za sintezu proteina, ili molekula DNA. Inhibicijom ovih komponenti, antibiotici zaustavljaju ključne procese unutar bakterijskih stanica, što vodi do njihovog uništenja ili sprječavanja daljnjeg rasta. Također, antibiotici ciljanju specifične metaboličke procese unutar bakterija, poput sinteze stanične stijenke ili sinteze nukleinskih kiselina. Ovi procesi su vitalni za preživljavanje bakterija, a njihovo ometanje čini bakterije nesposobnima za nastavak rasta i razmnožavanja.^[8]

Razlika u strukturi između bakterijskih i ljudskih stanica također igra ključnu ulogu u tome zašto antibiotici ne oštećuju ljudske stanice. Bakterijske stanice su male i jednostavnije od ljudskih, s oko 1/100 veličine ljudske stanice. Ove razlike u veličini i složenosti omogućuju selektivno djelovanje antibiotika, što znači da se bakterije ciljaju, dok ljudske stanice ostaju netaknute. Mnogi antibiotici također zaustavljaju rast i diobu bakterija, čime pomažu imunološkom sustavu da se učinkovitije bori protiv infekcije. Inhibicija bakterijskog rasta daje tijelu više vremena da se izbori s infekcijom i spriječi njezino širenje.

Prevenција razvoja otpornosti na antibiotike je sve veći izazov. Jedna od metoda za sprječavanje razvoja otpornosti je korištenje kombinacija različitih antibiotika koji djeluju na različite bakterijske procese. Time se smanjuje mogućnost da bakterije postanu otporne na više antibiotika u isto vrijeme. Ova metoda usporava razvoj otpornosti i pomaže u održavanju učinkovitosti antibiotika.

Antibiotici mogu biti širokog ili uskog spektra djelovanja. Antibiotici širokog spektra djeluju na veliki broj različitih bakterijskih vrsta, dok oni uskog spektra ciljaju specifične vrste bakterija. Ovisno o vrsti infekcije i patogenu koji ju uzrokuje, odabir odgovarajućeg antibiotika osigurava uspješan ishod liječenja.

Jedan od osnovnih mehanizama djelovanja antibiotika je inhibicija sinteze stanične stijenke. Antibiotici koji djeluju na ovaj način ometaju proces stvaranja peptidoglikana, ključnog građevnog materijala stanične stijenke bakterija. Bez peptidoglikana, stanična stijenka postaje slaba i nestabilna, što na kraju vodi do loma stanične stijenke i smrti bakterije. Primjeri antibiotika koji koriste ovaj mehanizam uključuju peniciline i cefalosporine, koji su među najstarijim i najčešće korištenim antibiotikom.

Drugi važan mehanizam djelovanja antibiotika je inhibicija sinteze proteina. Ovi antibiotici djeluju tako da se vežu na bakterijske ribosome, specifične komponente stanice odgovorne za proizvodnju proteina. Ovisno o tome na koju podjedinicu ribosoma se vežu, mogu blokirati različite faze procesa sinteze proteina. Na primjer, antibiotici poput tetraciklina ciljaju 30S podjedinicu ribosoma, sprječavajući bakterije da stvaraju proteine potrebne za njihov rast i preživljavanje.^[9]

Treći mehanizam uključuje inhibiciju sinteze nukleinskih kiselina, koje su esencijalne za replikaciju i transkripciju bakterijskog genoma. Antibiotici koji djeluju na ovaj način ometaju procese kao što su replikacija DNA ili sinteza RNA, čime sprečavaju bakterije da se razmnožavaju i preživljavaju. Na primjer, rifampicin inhibira RNA polimerazu, ključni enzim za sintezu RNA, čime se zaustavlja proizvodnja proteina i drugih vitalnih molekula u bakterijama.

Neki antibiotici djeluju tako da oštećuju staničnu membranu bakterija. Ovi antibiotici narušavaju strukturu stanične membrane, što dovodi do gubitka integriteta membrane i smrti bakterije. Primjer takvog antibiotika su polimiksini, poput kolistina, koji su poznati po svojoj sposobnosti da destabiliziraju stanične membrane bakterija i uzrokuju njihovu smrt.

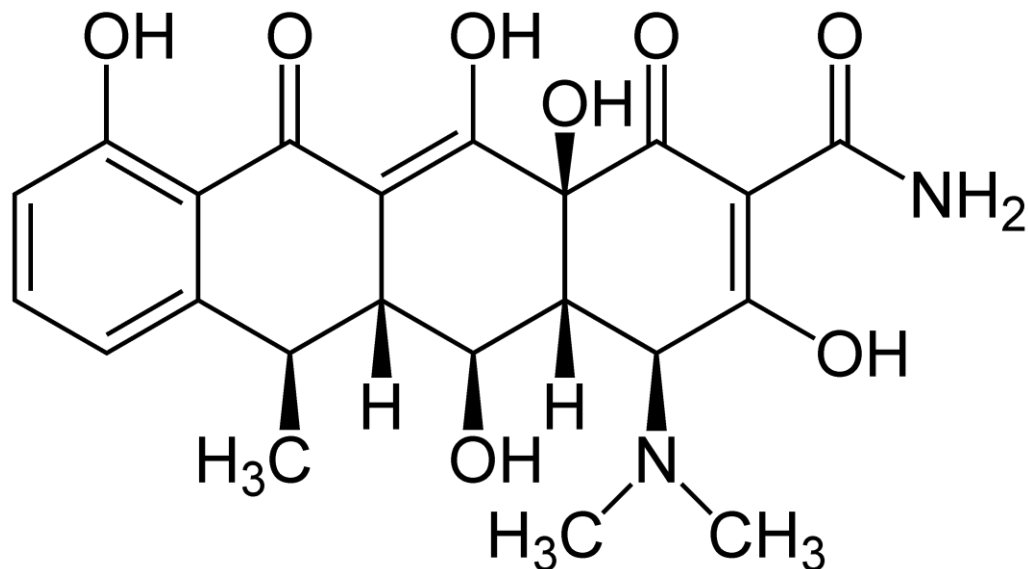
Inhibicija ključnih metaboličkih puteva također je značajan mehanizam djelovanja antibiotika. Ovi antibiotici ometaju specifične metaboličke procese unutar bakterija, koji su potrebni za njihovo preživljavanje i rast. Na primjer, sulfonamidi blokiraju sintazu folne kiseline, koja je vitalna za sintezu nukleinskih kiselina i drugih ključnih molekula u bakterijama.

Konačno, neki antibiotici djeluju inhibirajući funkciju enzima koji su povezani s vitalnim bakterijskim procesima. Ovi antibiotici ciljaju enzime koje bakterije koriste za važne funkcije kao što su stanična stijenka i sinteza proteina. Beta-laktam antibiotici, poput penicilina, inhibiraju transpeptidaze, enzime koji su ključni za sintezu peptidoglikana, čime ometaju rast i stabilnost bakterijske stijenke.^[9]

Svaki od ovih mehanizama djelovanja omogućuje antibioticima da se specifično ciljaju bakterije i smanje njihovu sposobnost preživljavanja i razmnožavanja, čime se pomaže u liječenju bakterijskih infekcija.

4.3. Doksiciklin: otkriće, povijest, mehanizam djelovanja, primjena u medicini

Doksiciklin je otkriven 1957. godine kao rezultat istraživanja tetraciklina, antibiotika koji su se pokazali izuzetno važnima sredinom 20. stoljeća zbog svog širokog spektra djelovanja na različite vrste bakterija. Tetraciklini su prvi put uvedeni u medicinsku praksu zbog svoje sposobnosti da učinkovito liječe brojne bakterijske infekcije, ali su pokazivali neke nedostatke, uključujući ograničenu stabilnost i nuspojave (Slika 7).



Slika 7.: Strukturna formula Doksiciklina

Prvi put je sintetiziran i patentiran početkom 1960-ih godina od strane farmaceutske tvrtke Pfizer. Kao derivat starijih tetraciklina, doksiciklin je bio razvijen s ciljem poboljšanja farmakokinetičkih svojstava, smanjenja nuspojava te poboljšanja stabilnosti u usporedbi s prethodnim članovima tetraciklinske skupine. Njegova formulacija omogućila je bolju apsorpciju i duže zadržavanje u tijelu, što je značilo da je mogao biti učinkovit na nižim dozama i s rjeđim doziranjima.

Registriran je pod trgovačkim imenom Vibramycin i vrlo brzo je stekao značajnu popularnost kao široko korišteni antibiotik zbog svoje visoke učinkovitosti i dugog poluvremena eliminacije. Ovo dugotrajno djelovanje omogućava pacijentima da uzimaju lijek samo jednom ili dvaput dnevno, što poboljšava pridržavanje terapiji i smanjuje potrebu za čestim doziranjem. Njegova

dobra oralna biodostupnost, koja omogućuje učinkovito apsorbiranje iz probavnog trakta, dodatno je doprinijela njegovom uspjehu i širokoj primjeni u medicini.

Otkrivenje doksiciklina predstavljao je značajan napredak u terapiji bakterijskih infekcija, jer je omogućilo dulje i učinkovitije liječenje uz smanjenje učestalosti primjene lijeka. Time je doksiciklin postao ključni alat u borbi protiv različitih bakterijskih bolesti i nastavlja biti važan dio antibiotske terapije u modernoj medicini.

Doksiciklin djeluje na bakterijske stanice kroz nekoliko specifičnih mehanizama, što ga čini učinkovitim antibioticima za liječenje bakterijskih infekcija. Njegovo djelovanje prvenstveno se temelji na interakciji s bakterijskim ribosomima, ključnim komponentama za sintezu proteina unutar bakterijskih stanica. Doksiciklin specifično se veže na 30S podjedinicu bakterijskog ribosoma, koja igra ključnu ulogu u procesu sinteze proteina. Ova veza ometa funkciju ribosoma, čime se sprječava normalno odvijanje procesa elongacije proteina.

S obzirom na to da su proteini esencijalni za rast i funkciju bakterijskih stanica, inhibicija njihove sinteze uzrokuje zaustavljanje rasta i razmnožavanja bakterija. Ovaj mehanizam djelovanja daje priliku imunološkom sustavu domaćina da učinkovitije eliminira bakterijske patogene, čime se doksiciklin ponaša kao bakteriostatski lijek. To znači da, iako ne ubija bakterije izravno, doksiciklin zaustavlja njihov rast i razmnožavanje, čime omogućuje imunološkom sustavu da preuzme kontrolu i riješi se infekcije.

Jedan od ključnih razloga za uspješnost doksiciklina je njegova selektivnost prema bakterijskim ribosomima. Doksiciklin djeluje specifično na bakterijske ribosome, jer su oni različiti od ljudskih ribosoma. Ljudski ribosomi imaju 80S strukturu, dok bakterijski ribosomi imaju 70S strukturu. Ova razlika omogućava doksiciklinu da cilja bakterijske ribosome bez značajnog utjecaja na ljudske stanice, čime se smanjuje toksičnost i neželjeni učinci na ljudsko tijelo.

Sve ove karakteristike čine doksiciklin učinkovitim i selektivnim antibiotikom koji se koristi za liječenje širokog spektra bakterijskih infekcija, pružajući visoku razinu terapijske učinkovitosti uz minimalne nuspojave.

Široko je korišten antibiotik s brojnim primjenama u medicini, zbog svoje sposobnosti da učinkovito liječi različite vrste bakterijskih infekcija. Ovaj antibiotik se koristi za liječenje

respiratornih infekcija poput bronhitisa i sinusitisa, gdje pomaže u eliminaciji patogenih bakterija koje uzrokuju upalu dišnih puteva. U slučaju spolno prenosivih bolesti, doksiciklin je učinkovit u liječenju klamidije i upalnih bolesti zdjelice, pružajući bitnu terapiju za sprječavanje dugotrajnih komplikacija i prijenos bolesti.

Osim toga, doksiciklin se često koristi za liječenje kožnih infekcija i akni. Njegova sposobnost da smanji upalu i inhibira rast bakterija čini ga korisnim u terapiji stanja poput acne vulgaris, koja može biti uzrokovana bakterijskim infekcijama. Također je indiciran za bolesti uzrokovane krpeljima, uključujući lajmsku bolest i ropne groznice, jer učinkovito suzbija bakterije koje prenose ti paraziti.

U kontekstu malarije, doksiciklin se koristi kao profilaktičko sredstvo, što znači da se može primijeniti kako bi se spriječila infekcija malarijom u područjima gdje je bolest endemska. Također se primjenjuje u liječenju infekcija uzrokovanih atipičnim bakterijama poput Mycoplasma, Ureaplasma i Legionella, koje su poznate po svojoj otpornosti na druge antibiotike.

Doksiciklin je koristan i u terapiji kolere i drugih gastrointestinalnih infekcija, gdje pomaže u smanjenju simptoma i suzbijanju patogenih bakterija koje uzrokuju proljev i druge probavne smetnje. U oftalmologiji, ovaj antibiotik se koristi za liječenje očnih infekcija poput konjunktivitisa uzrokovanih klamidijom, pomažući u brzom oporavku i sprječavanju komplikacija.

4.4. Izazovi upotrebe antibiotika (otpornost, nuspojave)

Mnogobrojni izazovi povezani su uz upotrebu antibiotika, a izuzetno su problematični slučajevi prekomjerne primjene, neodgovarajućeg doziranja, te prisutnosti metabolita lijekova u okolišu. Tablica 3 prikazuje izazove upotrebe antibiotika.

Tablica 3: Mehanizmi otpornosti i nuspojave

Mehanizmi otpornosti	Nuspojave
Promjena ciljnog mjesta	Gastrointestinalne nuspojave (mučnina, povraćanje, proljev i bolovi u trbuhu)
Enzimska inaktivacija	Alergijske reakcije (osip, svrbež i oticanje)
Smanjena propusnost	Fotosenzitivnost (mogu povećati osjetljivost kože na sunčevu svjetlost)
Izbacivanje antibiotika	Hematološke nuspojave (mogu uzrokovati poremećaje u krvnim stanicama, poput anemije)
Genetička adaptacija	Neurotoksičnost (glavobolja, vrtoglavica, konfuzija)
	Nefrotoksičnost (mogu biti toksični za bubrege)
	Ototoksičnost (gubitak sluha)
	Hepatotoksičnost (oštećenje jetre)

5. Nanočestice metala kao antimikrobne tvari

Nanočestice bakra, srebra i zlata imaju širok spektar primjena zahvaljujući svojim jedinstvenim fizikalnim, kemijskim i biološkim svojstvima, što ih čini iznimno korisnima u različitim industrijama i tehnologijama.

Nanočestice bakra (Cu) koriste se u mnogim tehnološkim i industrijskim aplikacijama zbog svojih izvanrednih električnih vodljivosti i katalitičkih svojstava.^[10] U solarnoj industriji, nanočestice bakra igraju ključnu ulogu u poboljšanju učinkovitosti solarnih ćelija, dok se u proizvodnji superkondenzatora koriste za pohranu električne energije. Osim toga, nanočestice bakra služe kao katalizatori u organskim reakcijama, uključujući sintezu farmaceutskih spojeva i proizvodnju biogoriva, čime doprinose unapređenju kemijskih procesa. U razvoju senzora, nanočestice bakra poboljšavaju osjetljivost na detekciju plinova, biomolekula i drugih kemijskih tvari. Snažna antimikrobna svojstva ovih nanočestica omogućuju njihovu upotrebu u premazima za medicinske uređaje, tekstil i druge materijale, čime se značajno smanjuje prijenos infekcija i povećava sigurnost korisnika.^[10]

Nanočestice srebra (Ag) su poznate po svojoj iznimnoj antimikrobnoj aktivnosti i koriste se u različitim područjima.^[10] U medicini, nanočestice srebra nalaze primjenu u oblogama za rane i kao premazi za medicinske uređaje, što pomaže u sprječavanju infekcija i poticanju bržeg ozdravljenja. U kozmetičkoj industriji, zbog svojih antibakterijskih svojstava i potencijala za smanjenje upala i akni, nanočestice srebra koriste se u proizvodima za njegu kože. U ekološkim primjenama, nanočestice srebra integrirane su u filtre i sustave za pročišćavanje vode, gdje učinkovito eliminiraju patogene mikroorganizme i poboljšavaju kvalitetu vode.

Nanočestice zlata (Au) imaju značajnu primjenu u medicini, osobito u ciljanom isporučivanju lijekova. Ove nanočestice djeluju kao nosači koji omogućuju preciznu dostavu lijekova izravno u bolesne stanice, što smanjuje nuspojave i povećava učinkovitost terapije. U tehnikama optičke mikroskopije, zlato se koristi zbog svojih specifičnih optičkih svojstava, što omogućuje detekciju tumora i drugih bolesti s visokom osjetljivošću. Osim toga, nanočestice zlata služe kao katalizatori u različitim kemijskim reakcijama, uključujući oksidacijske reakcije, čime pridonose unapređenju kemijske proizvodnje i istraživanja.

Sve ove primjene pokazuju kako jedinstvena svojstva nanočestica omogućuju njihovu integraciju u različite tehnološke i medicinske inovacije, pružajući rješenja za brojne izazove u industriji, ekologiji i zdravstvu.

5.1. Mehanizmi djelovanja nanočestica metala na mikroorganizme

Oštećenje stanične membrane predstavlja jedan od ključnih mehanizama putem kojih nanočestice metala, poput onih od bakra, srebra ili zlata, djeluju na mikroorganizme. Zbog svojih malih dimenzija i visoke površinske energije, nanočestice metala mogu ozbiljno utjecati na integritet staničnih membrana. Nanočestice metala često posjeduju pozitivni naboj, dok su stanične membrane obično negativno nabijene. Ova elektrostatčka privlačnost može uzrokovati privremeno ili trajno oštećenje membrane. Nanočestice mogu se privući na površinu stanice i uzrokovati morfološke promjene, što često rezultira pucanjem stanične membrane.^[11]

Mala veličina nanočestica omogućuje im penetraciju kroz staničnu membranu, uzrokujući fizičke rupe ili pore. Ove pore ometaju integritet membrane i njenu funkcionalnost, čime se stanična membrana čini propusnom i disfunkcionalnom. Osim toga, nanočestice mogu uzrokovati agregaciju na površini stanice, što dodatno opterećuje stanicu i pogoršava oštećenje membrane. Ova agregacija može stvoriti područja visokog lokalnog pritiska ili abrazije, čime se dodatno smanjuje stabilnost membrane.

Pored fizičkih oštećenja, nanočestice metala također mogu generirati reaktivne kisikove vrste (ROS), kao što su superoksid, vodikov peroksid i hidroksilni radikali. Ovi visoko reaktivni spojevi igraju ključnu ulogu u izazivanju oksidativnog stresa unutar mikroorganizama. Oksidativni stres može dovesti do peroksidacije lipida u membrani, što rezultira daljnjim oštećenjem membrane i njenom disfunkcionalnošću. Lipidna peroksidacija oštećuje strukturu membrane, čineći je propusnom i nesposobnom za pravilno funkcioniranje. Reaktivne kisikove vrste, koje se obično proizvode tijekom normalnog metabolizma kisika unutar mitohondrijske matrice, mogu uzrokovati ozbiljne štete unutar stanice, uključujući oštećenje proteina i DNA. Ova dodatna oštećenja mogu oslabiti mikroorganizme i doprinijeti njihovom uništavanju ili smanjenju njihove sposobnosti preživljavanja.^[11]

Inhibicija enzimskih sustava je ključan proces koji utječe na biokemijske reakcije unutar stanica ili organizama, smanjujući ili potpuno zaustavljajući aktivnost određenih enzima. Ova inhibicija može značajno narušiti metaboličke procese, što može biti korisno za terapijske svrhe ili za kontrolu bakterijskih infekcija. Nanočestice i antibiotici igraju važnu ulogu u ovom procesu, svaki na svoj način.

Nanočestice mogu inhibirati ključne enzime unutar bakterija ili destabilizirati ribosome, što ometa njihov normalan rad i doprinosi njihovom uništavanju. Na primjer, određene nanočestice mogu se vezati na enzimsku aktivna mjesta ili alosterička mjesta, čime se smanjuje enzimatska aktivnost i ometa normalna biokemijska funkcija stanice.

S druge strane, antibiotici su dizajnirani da ciljanje specifičnih metaboličkih puteva u bakterijama. Na primjer, tetraciklini inhibiraju sintezu proteina vezanjem na ribosome bakterija, dok penicilini ometaju sintezu stanične stijenke, a kinoloni blokiraju sintezu DNA. Ovi antibiotici omogućavaju selektivno suzbijanje bakterijskog rasta i preživljavanja, dok minimiziraju štetne učinke na ljudske stanice.

Postoji nekoliko vrsta inhibicije enzimskih sustava, svaka sa svojim specifičnim mehanizmom djelovanja:

Kompetitivna inhibicija nastaje kada inhibitor konkuretno s prirodnim supstratom za vezanje na aktivno mjesto enzima. Kada inhibitor zauzme aktivno mjesto, supstrat ne može pristupiti, što dovodi do smanjenja brzine reakcije. Ova vrsta inhibicije može se prevladati povećanjem koncentracije supstrata.

Nekompetitivna inhibicija uključuje vezanje inhibitora na enzim na drugom mjestu, poznatom kao alosteričko mjesto. Ova veza mijenja oblik enzima, smanjujući njegovu katalitičku aktivnost bez obzira na koncentraciju supstrata. Ova vrsta inhibicije može smanjiti efikasnost enzima, neovisno o količini dostupnog supstrata.

Nepovratna inhibicija se javlja kada inhibitor trajno veže enzim, često putem kovalentne veze. Ova trajna deaktivacija enzima može biti rezultat djelovanja toksina ili određenih lijekova, koji uzrokuju dugotrajno ili stalno smanjenje enzimatske aktivnosti.

Feed-back inhibicija je regulacijski mehanizam u kojem krajnji proizvod metaboličkog puta inhibira enzim koji sudjeluje u ranijem koraku tog puta. Ova vrsta inhibicije pomaže u održavanju ravnoteže unutar stanice sprječavajući prekomjernu proizvodnju krajnjeg proizvoda.

Nekompetitivna alosterička inhibicija uključuje vezanje alosteričkih inhibitora na specifična alosterička mjesta na enzimu, uzrokujući promjene u njegovoj strukturi. Ove promjene smanjuju sposobnost enzima da veže supstrat ili provodi reakciju, čime se smanjuje enzimatska aktivnost i utječe na metabolizam.

Tablica 4: Vrste inhibicije enzimskih sustava

Vrste inhibicije enzimskih sustava	Primjer
Kompetitivna	lijekovi koji inhibiraju enzime u biosintezi folne kiseline kod bakterija (npr. sulfonamidi)
Nekompetitivna	neki pesticidi i toksini djeluju kao nekompetitivni inhibitori važnih enzimskih sustava
Nepovratna	Penicilin djeluje nepovratno inhibirajući enzime koji sudjeluju u sintezi stanične stijenke bakterija
Feed-back	inhibicija enzima u sintezi aminokiselina kada su razine tih aminokiselina visoke

5.2. Sinergističko djelovanje nanočestica i antibiotika

Kombinirano djelovanje nanočestica i antibiotika predstavlja inovativni i sve važniji pristup u borbi protiv bakterijskih infekcija, posebno onih uzrokovanih rezistentnim mikroorganizmima. Ovaj pristup oslanja se na sinergistički učinak nanočestica metala i antibiotika kako bi se povećala ukupna antimikrobna učinkovitost terapije. Nanočestice, zahvaljujući svojoj izuzetnoj površinskoj površini i mogućnosti interakcije s bakterijskim stanicama na način koji nije moguć za veće čestice, mogu poboljšati prodiranje antibiotika u bakterijske stanice i pojačati njihovu djelotvornost.

Kombinacija nanočestica i antibiotika omogućava smanjenje potrebne doze antibiotika, što može smanjiti rizik od nuspojava i potencijalno smanjiti vjerojatnost razvoja dodatne rezistencije. Nanočestice mogu pojačati učinak antibiotika na nekoliko načina: povećanjem bioaktivnosti antibiotika, poboljšanjem njihove stabilnosti i omogućavanjem ciljanog isporučivanja lijekova direktno na mjesto infekcije. Ovaj pristup ne samo da poboljšava učinkovitost liječenja, već također može smanjiti potrebu za velikim dozama antibiotika, što je ključno u borbi protiv globalne prijetnje bakterijske rezistencije.

Kombinirano djelovanje nanočestica i antibiotika otvara mogućnosti za razvoj novih i naprednih terapijskih strategija. Na primjer, lokalna primjena ovih kombinacija u obliku kreme, gelova ili obloga za rane omogućava izravnu i intenzivnu borbu protiv infekcija u specifičnim područjima, čime se poboljšava liječenje kroničnih rana ili površinskih infekcija. Ove formulacije mogu pružiti dugotrajnu antimikrobnu aktivnost i smanjiti potrebu za sustavnom primjenom antibiotika.

Sistemsom primjenom kombinacije nanočestica i antibiotika moguće je učinkovitije liječenje teških i dubokih infekcija koje su inače otporne na standardne terapije. Ova strategija može omogućiti bolju kontrolu nad infekcijama koje se ne mogu adekvatno liječiti konvencionalnim metodama, te pružiti nove mogućnosti za liječenje teških bolesti kao što su sepsa ili infekcije uzrokovane multirezistentnim sojevima bakterija.

Sve u svemu, integracija nanočestica s antibiotikom predstavlja značajan korak prema naprednijim, učinkovitijim i sigurnijim strategijama u borbi protiv bakterijskih infekcija,

omogućujući znanstvenicima i kliničarima da se suoče s izazovima rezistencije na antibiotike na inovativan i potencijalno vrlo uspješan način (Tablica 5).

Tablica 5: Antimikrobni utjecaj nanočestica i antibiotika doksiciklina

ELEMENT	VELIČINA	MIKROORGANIZMI NA KOJE DJELUJU OPISANI SUSTAVI
polimerne nanočestice	Koncentracija doksiciklin je određen UV-Vis spektroskopijom pri 350 nm	Brucella melitensis
Zlatne nanočestice	UV-VIS (300-800nm)	Tumor kod ljudi
nanočestice polimer-surfaktanta	Prosječna veličina čestica svih serija mjerena laserskom difrakcija u rasponu je od 331–850 nm	Escherichia coli and Staphylococcus aureus
Polimerne nanočestice	analizirano pomoću UV spektrofotometra na 269 nm	tumorska masa kod miševa
Polimerne nanočestice	lijek je ispitivan spektrofotometrijski na 269 nm (vidljivo UV zračenje spektrofotometar)	Testiranje antitumorskih/antiangiogenih Akcija u eksperimentalnom raku debelog crijeva kod miševa
Deksametazon i doksiciklin dopirane nanočestice	Veličina čestica od približno 250 nm	Ljudska koštana srž Matične stanice
Doksiciklin inkapsulirani čvrsti lipid nanočestice	DLS rezultati SLN-a pokazuju veličinu promjera 258,8 nm koja povećano je na 299,3 nm za DOX-SLN	Brucella melitensis

kitozan nanočestice	Dvije formulacije proizvele su sferno oblikovane nanočestice napunjene drogom. Kugle su se kretale veličine od 30 do 220 nm promjera za DCNP4 i promjera od 200 do 320 nm za DCNP6.	Escherichia coli
Srebrne nanočestice	Apsorpcija UV-VIS-a spektri AgNP-a opaženi su u rasponu od 300-800 nm. A Snažan vrh specifičan za sintezu srebrnih nanočestica bio je dobiveno na 420-430 nm.	Klebsiella pneumonia

6. Metode određivanja efikasnosti antimikrobne zaštite na temelju bioloških testova

Određivanje efikasnosti antimikrobne zaštite putem bioloških testova ključno je za procjenu učinkovitosti antimikrobnih agenasa, uključujući antibiotike, antimikrobne peptide i druge kemijske ili biološke agense. Ovi testovi omogućuju znanstvenicima i kliničarima da ocijene kako različiti agensi djeluju na mikroorganizme i pomažu u odabiru najprikladnijih tretmana za specifične infekcije.

Postoji nekoliko metoda za evaluaciju antimikrobne aktivnosti koje se temelje na različitim biološkim testovima:

Test minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) je jedan od najčešće korištenih metoda za procjenu antimikrobne aktivnosti. Ovaj test mjeri najnižu koncentraciju antimikrobnog agenasa

koja je potrebna za inhibiciju vidljivog rasta bakterija u tekućem mediju.^[12] Test se najčešće provodi u mikropločama ili epruvetama, gdje se bakterije kultiviraju u prisutnosti različitih koncentracija agensa.^[12] MIC predstavlja najmanju koncentraciju agensa koja ne pokazuje znakove rasta bakterija, što omogućava određivanje minimalne količine lijeka koja je potrebna za učinkovito suzbijanje bakterija. Ovaj test se koristi za određivanje učinkovitosti antibiotika, antimikrobnih peptida, i drugih terapijski relevantnih spojeva.^[12]

Test minimalne baktericidne koncentracije (MBC) nadopunjuje MIC testiranjem s ciljem određivanja najniže koncentracije antimikrobnog agensa koja uzrokuje smrt bakterija, a ne samo njihovu inhibiciju. Nakon što se odredi MIC, uzorci se prenose na agar ploče bez antibiotika kako bi se provjerilo postoji li vidljiv rast bakterija. MBC predstavlja najnižu koncentraciju pri kojoj nema vidljivog rasta na agar ploči, što ukazuje na to da su bakterije bile ubijene, a ne samo inhibirane. Ovaj test je koristan za procjenu baktericidnog učinka antibiotika ili drugih antimikrobnih sredstava.^[13]

Disk difuzijski test, poznat i kao Kirby-Bauer test, koristi diskove natopljene antimikrobnim agensima koji se postavljaju na agar ploče inokulirane bakterijama. Promjer zone inhibicije oko diskova mjeri se kako bi se odredila učinkovitost agensa; veći promjer zone inhibicije označava veću aktivnost agensa protiv bakterija. Ovaj test je rutinski korišten u mikrobiološkim laboratorijima za testiranje antibiotika na različitim sojevima bakterija i pruža brze rezultate o osjetljivosti bakterija na određene lijekove.^[14]

E-test, ili epsilometrijski test, kombinira aspekte disk difuzijskog testa i MIC testa. Ovaj test koristi trakice s kontinuiranim rasponom koncentracija antimikrobnog agensa koje se postavljaju na agar ploče inokulirane bakterijama. MIC se određuje prema točki na trakici gdje je rast bakterija inhibiran. Ova metoda omogućava precizno određivanje MIC za različite antimikrobne agense i pruža detaljan uvid u koncentraciju potrebnu za postizanje antimikrobnog učinka.^[15]

7. Eksperimentalni dio

7.1. Materijali

Popis materijala korištenih u izvedbi eksperimenta uključuje niz sastojaka i kemikalija koji su ključni za različite faze istraživanja i provedbu eksperimenta. Ovi materijali su pažljivo odabrani kako bi se osigurala točnost i valjanost rezultata.

1. Destilirana voda
2. Stabilizator- Polivinilpirolidon, $(C_6H_9NO)_n$
3. Nanočestice bakra
4. Modra galica, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
5. Doksiciklin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$
6. Želatina
7. L(+)-Askorbinska kiselina (vitamin C)

7.2. Metode i instrumenti

Destilirana voda je osnovni materijal koji se koristi za pripremu otopina i ispiranje opreme. Budući da je slobodna od nečistoća i iona, omogućava točno mjerenje i kontrolu uvjeta u eksperimentu.



Slika 8.: IKA Rotacijski isparivač

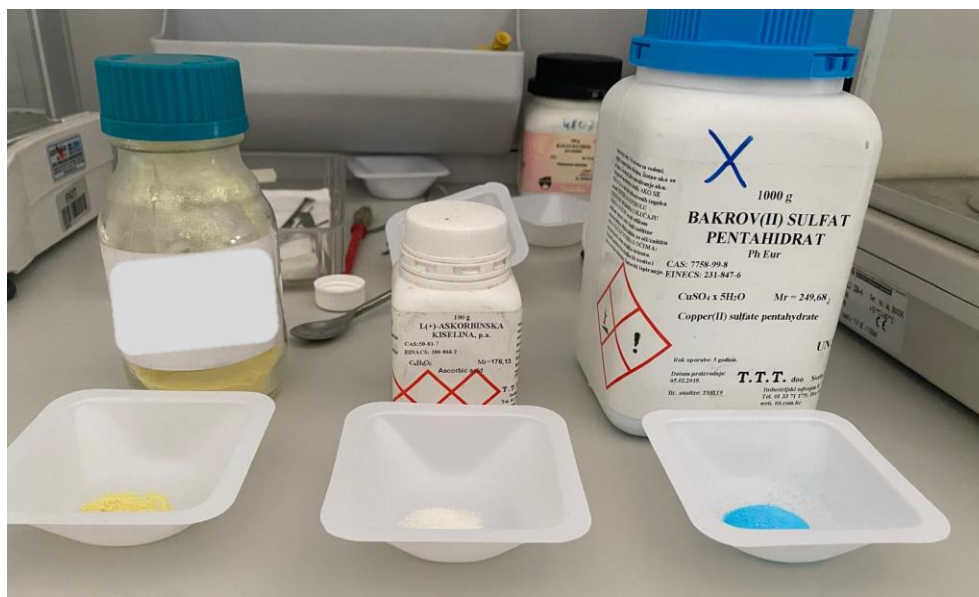


Slika 9.: Vakuumski sustav LABOXACT®
kupka



Slika 10.: IKA HB 10 digitalna vodena
kupka

Rotacijski isparivač, poznat i kao rotavapor, je sofisticirani laboratorijski uređaj koji se koristi za isparavanje otapala iz tekućih uzoraka. Njegov rad temelji se na principu isparavanja pod sniženim tlakom, čime se smanjuje temperatura potrebna za isparavanje i minimizira toplinski stres na uzorku (Slika 8).



Slika 11.: Doksiciklin, L(+)-Askorbinska kiselina (vitamin C), Modra galica

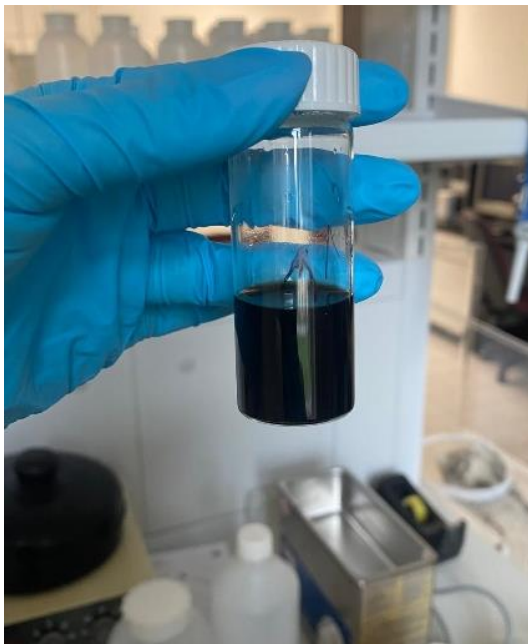
Doksiciklin ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) prikazan na slici 11 je antibiotik koji je korišten u eksperimentu zbog svojih poznatih antibakterijskih svojstava. Ovaj spoj je ključan za procjenu učinkovitosti protiv specifičnih bakterija i interakciju s nanočesticama.

L(+)-askorbinska kiselina, poznata i kao vitamin C, korištena je kao redukcijsko sredstvo. Vitamin C može smanjiti oksidacijska stanja i time utjecati na kemijske reakcije u eksperimentu, uključujući one u kojima su prisutne nanočestice.

Modra galica, poznata i kao bakrov(II) sulfat pentahidrat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), korištena je kao izvor bakrovih iona. Ovaj spoj je korišten za pripremu rješenja koje omogućava ispitivanje učinaka bakrovih iona na testirane uzorke.

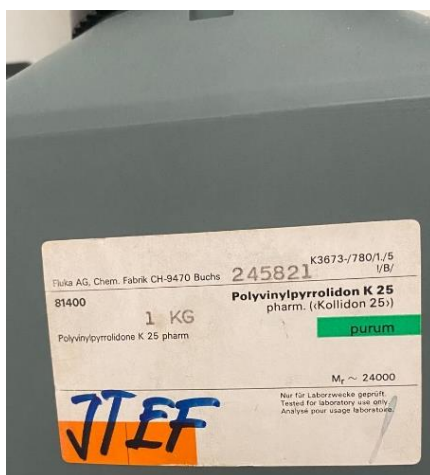
Nanočestice bakra, koje su korištene u eksperimentu, predstavljaju materijal od posebnog interesa zbog svojih specifičnih fizikalnih i kemijskih svojstava. Ove nanočestice su korištene zbog

njihovih potencijalnih antimikrobnih i katalitičkih svojstava, te njihove interakcije s drugim kemijskim spojevima u eksperimentu (Slika 12).



Slika12.: Nanočestice bakra u reakcijskoj posudi

Stabilizator, polivinilpirolidon (PVP), je polimerni spoj koji se koristi za stabilizaciju nanočestica tijekom eksperimenta. PVP pomaže u održavanju stabilne disperzije nanočestica, sprječavajući njihovo aglomeriranje i osiguravajući ravnomjernu raspodjelu u otopini. Formula PVP-a je $(C_6H_9NO)_n$, a njegova upotreba je ključna za pripremu stabilnih suspenzija nanočestica (Slika 13).



Slika13.: Stabilizator- Polivinilpirolidon, $(C_6H_9NO)_n$

Želatina je biopolimer koji je korišten kao sredstvo za geliranje u eksperimentu. Ova tvar pomaže u stvaranju geliranih otopina i premaza, te doprinosi stabilizaciji različitih komponenti u eksperimentalnom okruženju (Slika 14).



Slika14.: Želatina, laboratorijska vaga na 4 decimale Sartorius

7.3. Priprema uzorka za analizu

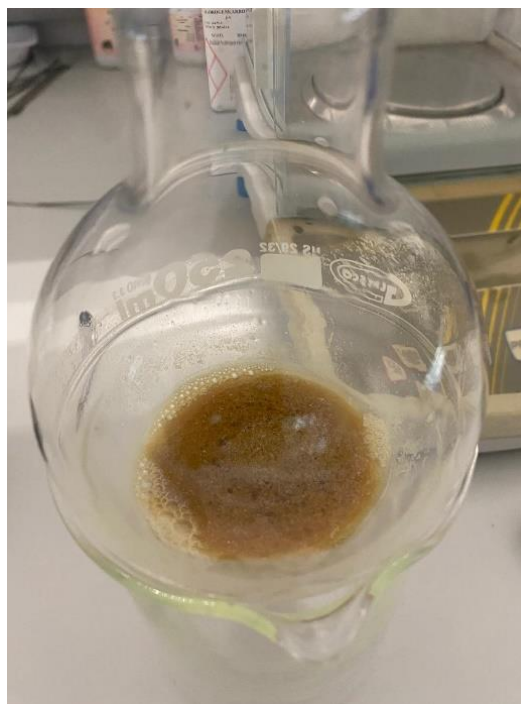
Početni korak uključivao je pripremu otopine koja se sastojala od 10 mL destilirane vode i 5 mL nanočestica. Ova smjesa je pažljivo izlivena u okruglu tikvicu koja je potom postavljena na rotirajući mehanizam u rotavaporu. Rotirajući mehanizam osigurava ravnomjerno raspoređivanje uzorka unutar tikvice, što značajno povećava površinu kontakta između tekućine i toplinskog izvora. Ovo ravnomjerno raspoređivanje pomaže u ubrzavanju procesa isparavanja, omogućujući učinkovitije uklanjanje otapala.

Tikvica je smještena u vruću kupku koja održava konstantnu temperaturu potrebnu za isparavanje otapala. Vruća kupka je napunjena vodom, a temperatura je pažljivo kontrolirana kako bi se osigurala optimalna učinkovitost procesa isparavanja. Precizna kontrola temperature ključna je za postizanje dosljednih rezultata i sprječavanje potencijalnih problema tijekom eksperimenta.

Nakon što se otapalo potpuno isparilo iz posude, ispareni plinovi prolaze kroz kondenzator.



Slika 15.: Okrugla tikvica spojena na rotavapor otapala



Slika 16.: Ostatak nakon isparenog otapala

U drugom dijelu eksperimenta, započeli smo s pripremom dviju otopina u staklenim bočicama.

Prva otopina sastojala se od 0,0514 g doksiciklina pomiješanog s 10 mL destilirane vode. Druga otopina sadržavala je 0,0517 g stabilizatora, također razrijeđenog u 10 mL destilirane vode. Nakon pripreme ovih osnovnih otopina, pomiješali smo ih u tikvici s ravnim dnom, zajedno s dodatnim komponentama: 1,0215 g modre galice, 1,0132 g L(+) askorbinske kiseline i 0,5025 g doksiciklina.

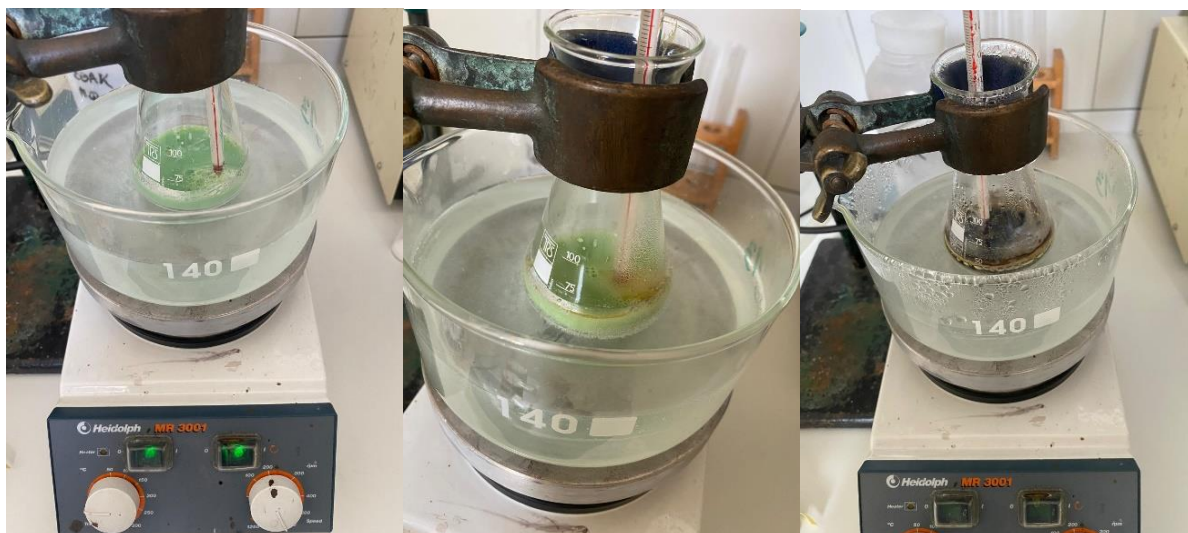
Smjesa iz tikvice je zatim zagrijavana na temperaturi od 80°C. Ova temperatura je odabrana kako bi se osigurala potpuna reakcija između sastojaka i omogućila željena promjena boje, što je znak da su se komponente adekvatno spojile. Proces zagrijavanja trajao je sve dok promjena boje nije postala očigledna, što ukazuje na završetak kemijske reakcije ili reakcijskog procesa.

Nakon što je smjesa postigla željenu promjenu boje i bila adekvatno zagrijana, ostavili smo je da se ohladi na sobnu temperaturu. Hlađenje je omogućilo da se sastojci stabiliziraju i formiraju čvrste komponente. Kada se smjesa ohladila, filtrirali smo otopinu pomoću Büchnerovog lijevka, koji je omogućio učinkovito uklanjanje krutih ostataka i nečistoća. Ovaj postupak filtracije omogućio je dobivanje čistog krajnjeg produkta.

Krajnji produkt eksperimenta uključivao je smolu koja se formirala tijekom reakcije, te otopinu doksiciklina obogaćenu nanočesticama. Smola i otopina predstavljaju rezultat kompleksne kemijske interakcije među korištenim komponentama i stoga su važne za daljnje analize i primjene.



Slika17.: Doksiciklin i stabilizator otopljeni u 10mL destilirane vode



Slika18.: Proces zagrijavanja otopine na 80°C



Slika19.: Filtracija produkta s Büchnerovim lijevkom



Slika 20.: Ddobiveni produkti (smola i doksiciklin s Cu nanočesticama)

Zbog postignutog rezultata s prethodnom smolom, odlučili smo ponoviti eksperiment s modificiranim količinama materijala kako bismo usporedili učinke i optimizirali postupak. U ovom ponovljenom eksperimentu, koristili smo sljedeće količine materijala: 1,0470 g modre galice, 1,0016 g L(+) askorbinske kiseline, i 0,5132 g doksiciklina. Kao dodatak, uključili smo 0,5077 g želatine, koja je dodana u otopinu kako bismo stvorili geliranu smjesu. Želatina igra ključnu ulogu u stabiliziranju različitih komponenata u eksperimentalnom okruženju i omogućava stvaranje premaza s poboljšanim svojstvima.

Nakon dodavanja želatine, otopinu smo ponovno zagrijavali na 80 °C, održavajući konstantnu temperaturu kako bismo osigurali pravilno otapanje i reakciju svih komponenti. Nakon što smo postigli željeni temperaturni uvjet i omogućili otopini da se potpuno izmiješa, proces hlađenja i filtriranja je nastavio. Otopinu smo filtrirali kroz Büchnerov lijevjak kako bismo uklonili eventualne nečistoće.

Za finalni korak eksperimenta, čistu otopinu smo kapljično nanosili na Petrijeve zdjelice i prethodno pripremljene flastere. Ova metoda nanošenja omogućuje ravnomjernu raspodjelu otopine na željenim površinama, čime se omogućuje pravilno stvaranje i ispitivanje efekata gelirane smjese. Tako pripremljeni uzorci su potom ostavljeni da se osuše i stvore čvrste premaze, što omogućuje daljnju analizu i procjenu učinkovitosti eksperimentalnog postupka.



Slika 21.: Pripremljena otopina prije i nakon zagrijavanja



Slika 22.: Filtrat dobiven nakon filtracije kroz Büchnerov lijevak



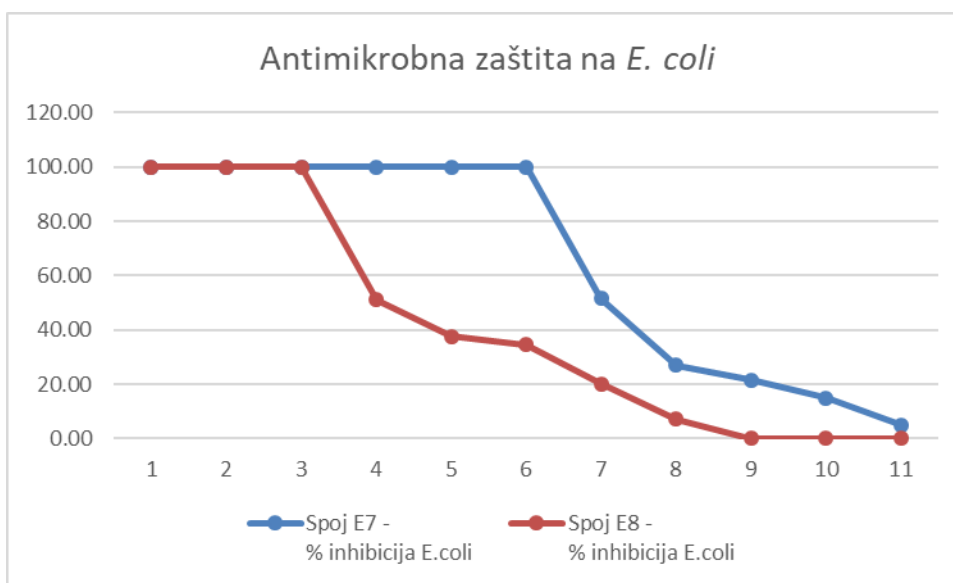
Slika 23.: Dobivena smjesa doksiciklina i nanočestica

8. Rezultati

Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 24 – 31, te u Tablicama 6 – 10.

Tablica 6: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Escherichia coli*

Spoj A - % inhibicija <i>E. coli</i>	Spoj B - % inhibicija <i>E. coli</i>
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	50,96
100,00	37,50
100,00	34,42
51,61	20,03
26,97	7,23
21,57	0,00
15,00	0,00
5,02	0,00

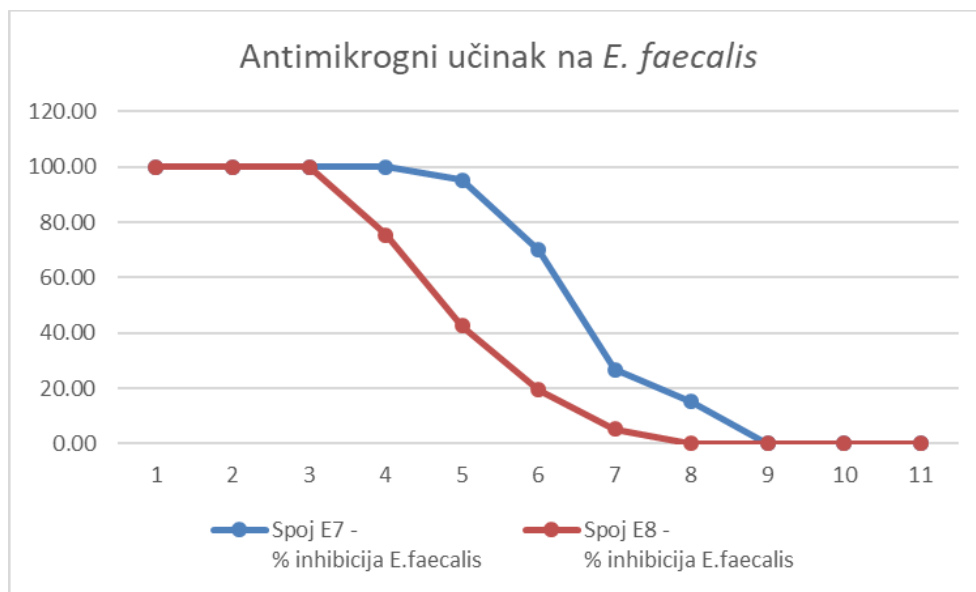


Slika 24.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *E. coli*

Iz Tablice 6 i slike 25 može se vidjeti kako je spoj A (E7 oznaka u eksperimentu) puno učinkovitije inhibirao rast mikroorganizama nego spoj B (E8 oznaka u dnevniku rada), te je nakon 9 sati u potpunosti suzbio rast bakterija, dok je spoj B to uspio tek nakon 11 sati djelovanja.

Tablica 7: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Enterococcus faecalis*

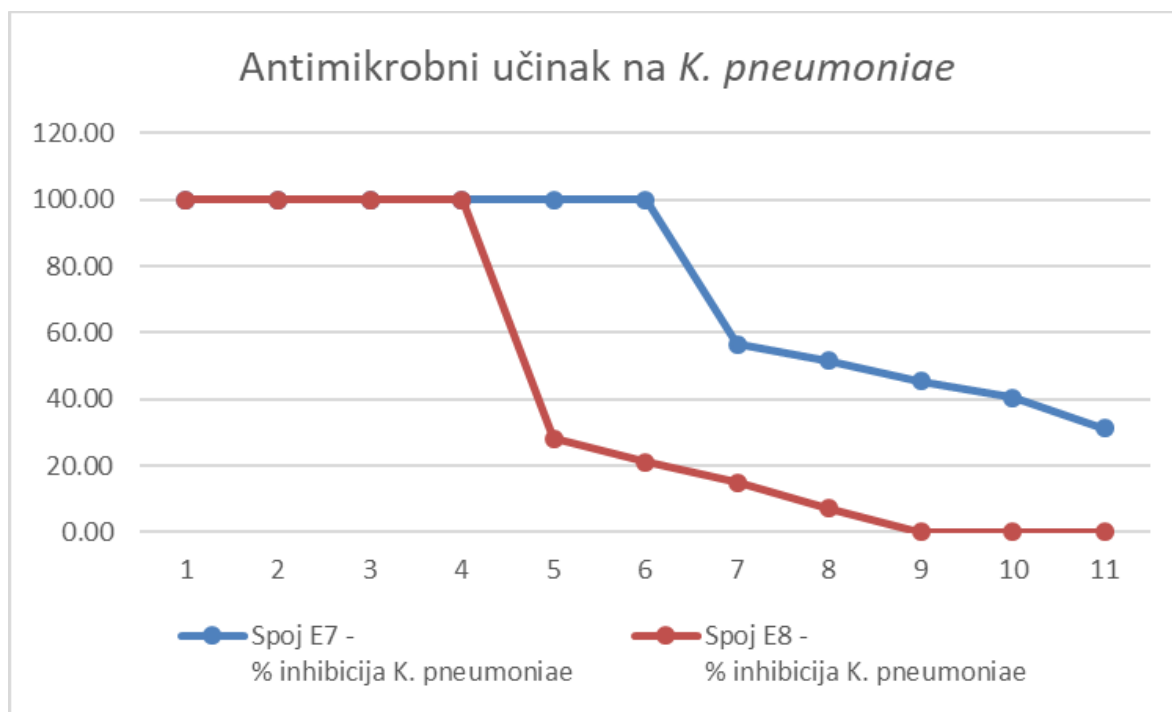
Spoj A - % inhibicija <i>E. faecalis</i>	Spoj B - % inhibicija <i>E. faecalis</i>
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	75,34
95,23	42,54
69,89	19,52
26,66	5,23
15,24	0,00
0,00	0,00
0,00	0,00
0,00	0,00



Slika 25.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *E. faecalis*

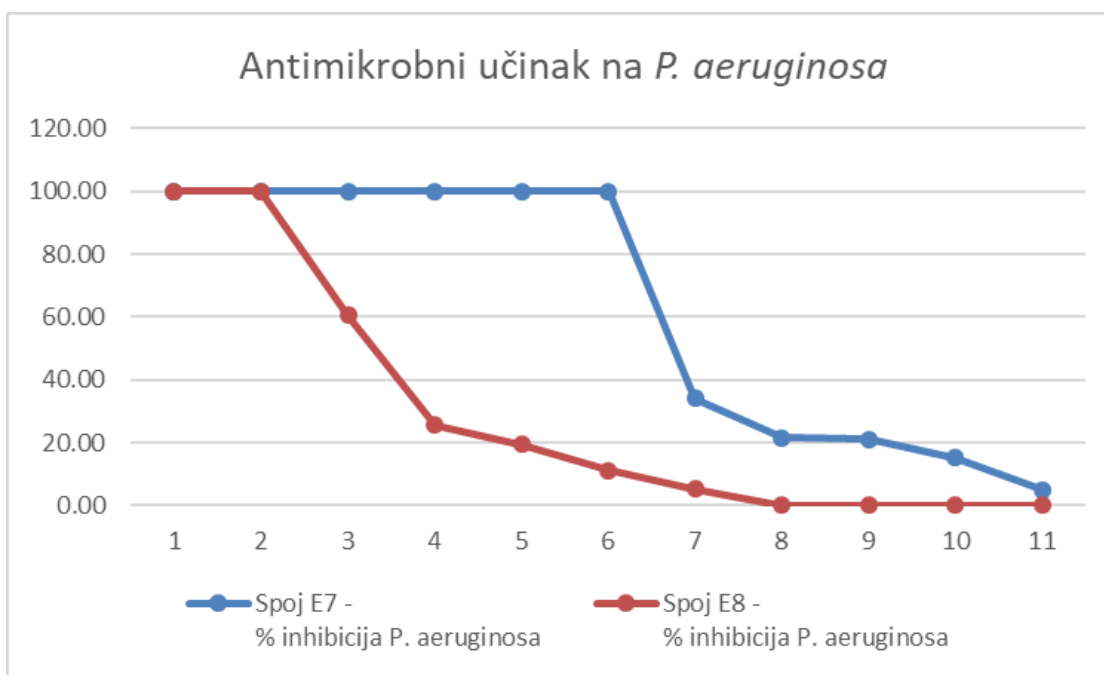
Tablica 8: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Klebsiella pneumoniae*

Spoj A - % inhibicija <i>K. pneumoniae</i>	Spoj B - % inhibicija <i>K. pneumoniae</i>
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	28,18
100,00	21,08
56,45	15,04
51,43	7,05
45,45	0,00
40,53	0,00
31,23	0,00

Slika 26.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *K. pneumoniae*

Tablica 9.: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Pseudomoniae aeruginosa*

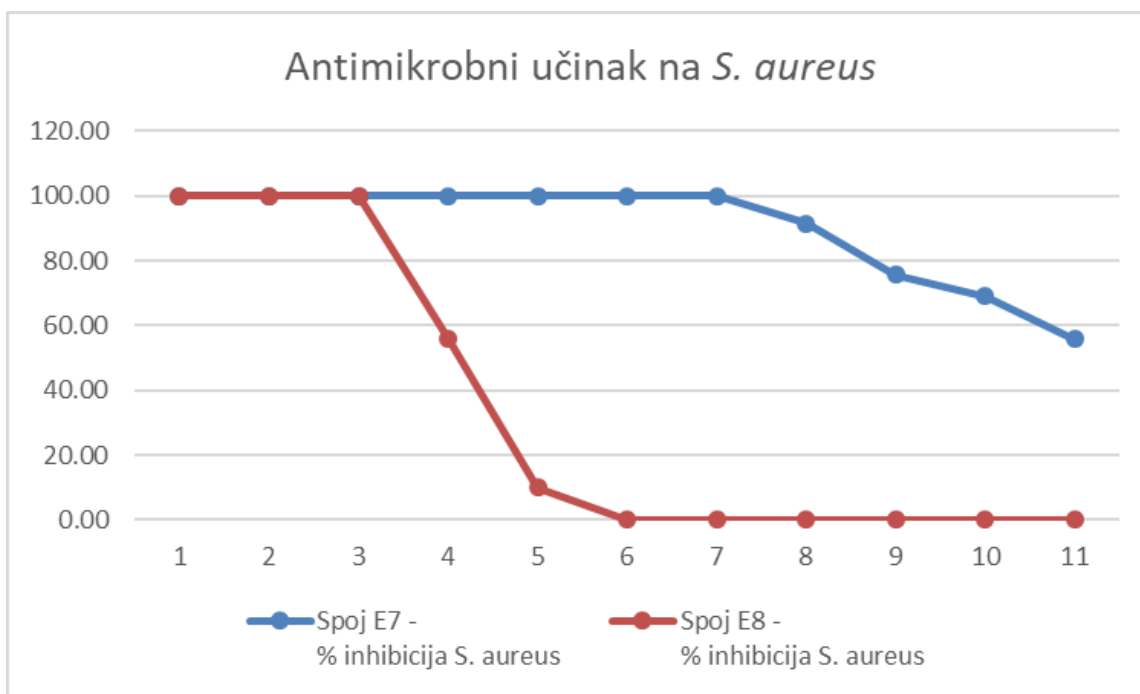
Spoj A - % inhibicija <i>P. aeruginosa</i>	Spoj B - % inhibicija <i>P. aeruginosa</i>
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	60,41
100,00	25,66
100,00	19,31
100,00	11,13
34,00	5,23
21,49	0,00
21,05	0,00
15,13	0,00
5,05	0,00



Slika 27.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *P. aeruginosa*

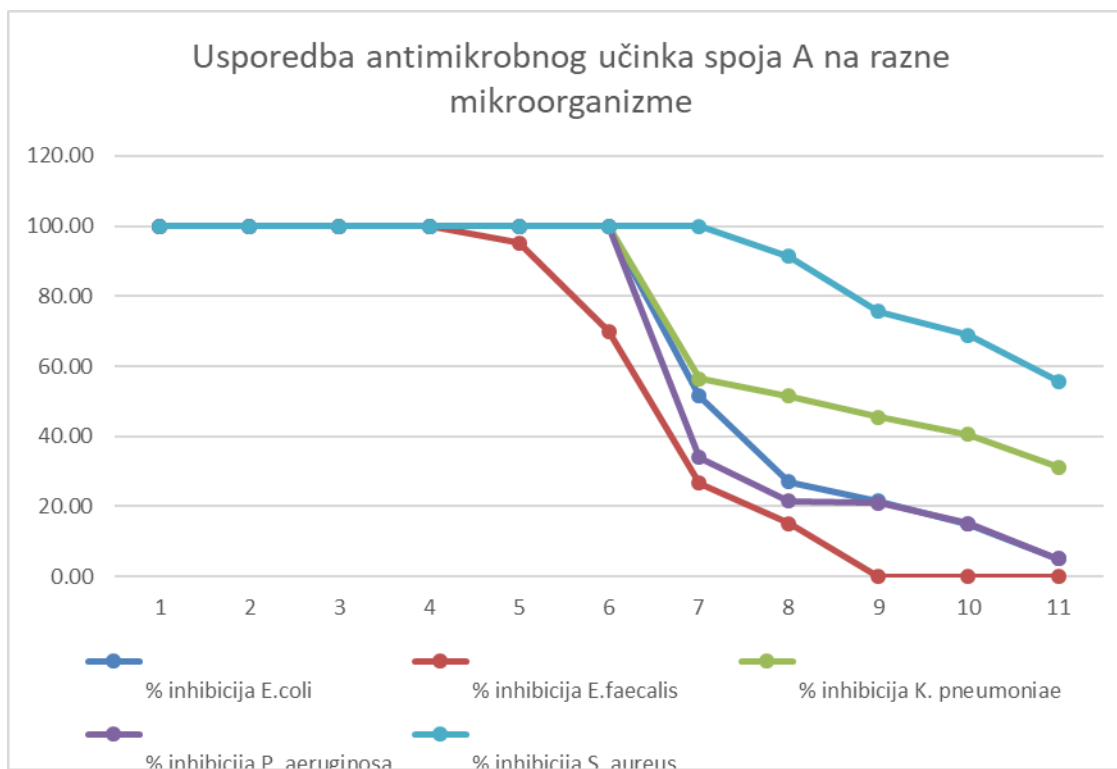
Tablica 10: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Staphylococcus aureus*

Spoj A - % inhibicija <i>S. aureus</i>	Spoj B - % inhibicija <i>S. aureus</i>
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	100,00
100,00	55,75
100,00	9,93
100,00	0,00
100,00	0,00
91,39	0,00
75,60	0,00
68,90	0,00
55,7	0,00

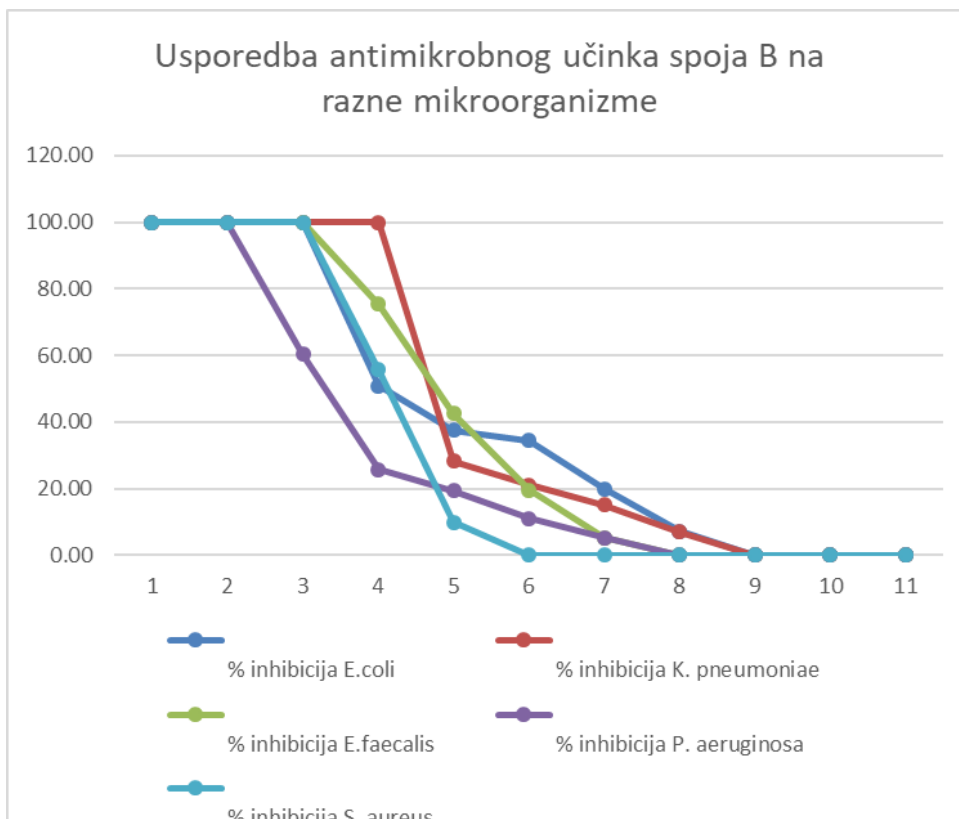
Slika 28.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *S. aureus*

Komparativna usporedba učinka ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na razne modelne

mikroorganizme prikazana je na slikama 30 i 31.



Slika 29.: Sumarna usporedba učinka ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na razne modelne mikroorganizme spoja A



Slika 30.: Sumarna usporedba učinka ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na razne modelne mikroorganizme spoja B

9. Rasprava

Iz Tablice 6 i slike 25 može se vidjeti kako je spoj B (E8 oznaka u eksperimentu) puno učinkovitije inhibirao rast mikroorganizama nego spoj A (E7 oznaka u dnevniku rada), te je nakon 9 sati u potpunosti suzbio rast bakterija *E. Coli*, dok je spoj A to uspio tek nakon 11 sati djelovanja.

Za razliku od toga, kod suzbijanja rasta mikroorganizma *E. Faecalis* oba su spoja (A i B) bila skoro jednako djelotvorna te je spoj B u potpunosti suzbio rast bakterija nakon 8 sati, a spoj A nakon 9 sati, kao što je prikazano u Tablici 7 i na slici 26.

Puno je slabiji antimikrobni učinak bio postignut kod inhibicije na mikroorganizmu *K. Pneumoniae*. Slika 27 pokazuje kako je on za spoj B postignut nakon 9 sati, dok kod spoja A nije bio postignut niti nakon svog vremena provođenja eksperimenta (Tablica 8).

Djelovanje na mikroorganizam *P. aeruginosa* oba spoja bilo je usporedivo sa djelovanjem na *E. Faecalis* pri čemu je spoj B bio učinkovit nakon 8 sati, a spoj A nakon 11 (Slika 28 i Tablica 9). Naj snažniji učinak spoj B pokazao je na modelnom mikroorganizmu *S. Aureus* pri čemu je već nakon 6 sati u potpunosti inhibirao (suzbio) rast mikroorganizama. Za razliku od njega spoj A to nije pokazao niti nakon 11 sati.

Sumarnim usporedbama zaključeno je kako

- Iz sumarne usporedbe djelovanja spoja A na različite mikroorganizme, kao što se vidi iz slike 30, može se zaključiti kako spoj A ima naj snažniji učinak na suzbijanje *E. Faecalis*, zatim na *P. Aeruginosa*, i nešto slabiji na *E. Coli*. Znatno slabiji ima na *K. Pneumoniae*, a najslabiji na *S. Aureus*.
- Iz sumarne usporedbe djelovanja spoja B na različite mikroorganizme vidljivo je kako je najjači učinak bio na inhibiciju *S. Aureus* (već nakon 6 sati), zatim na *P. Aeruginosa* te *E. Faecalis* (nakon 8 sati), te najslabiji na *K. Pneumoniae* i *E. Coli* (tek nakon 9 sati). Spoj B je bio mnogo snažniji antimikrobni reagens nego spoj A.

Buduće smjernice istraživanja trebale bi obuhvatiti korake optimizacije procesa te karakterizacije nanočestica i doksiciklina suvremenim instrumentalnim metodama, poput spektroskopskih, mikroskopskih ili kromatografskih tehnika.

10. Zaključak

Antimikrobni nanočestični premazi i doksiciklin predstavljaju kombinaciju koja može značajno unaprijediti kontrolu i liječenje infekcija, posebno u okruženjima gdje je mikrobiološka čistoća od vitalne važnosti. Korištenje nanočestica za poboljšanje djelotvornosti antibiotika i smanjenje rizika od infekcija predstavlja važan korak prema smanjenju globalnog problema antimikrobne rezistencije.

Kombinacija antimikrobnih nanočestica s doksiciklinom može poboljšati učinkovitost liječenja infekcija, posebno onih uzrokovanih bakterijama otpornih na antibiotike. Nanočestice mogu omogućiti ciljanije isporučivanje lijeka, smanjujući potrebnu dozu antibiotika i time minimizirajući nuspojave i rizik od razvoja rezistencije.

Nanočestični premazi u antimikrobnim metalima predstavljaju ključnu tehnologiju za kontrolu i prevenciju mikrobiološke kontaminacije u različitim industrijama. Njihova primjena može značajno smanjiti rizik od infekcija, osobito u medicinskim i javnim okruženjima, te doprinijeti globalnim naporima u borbi protiv antimikrobne rezistencije.

11. Literatura

- [1] Airey, P., Verran, J. *Potential use of copper as a hygienic surface: Problems associated with cumulative soiling and cleaning.* (2007) *Journal of Hospital Infection*, 67(3), 272-278
- [2] Cover NF, Lai-Yuen S, Parsons AK, Kumar A. *Synergetic effects of doxycycline-loaded chitosan nanoparticles for improving drug delivery and efficacy.* *Int J Nanomedicine.* 2012;7:2411-9. doi: 10.2147/IJN.S27328. Epub 2012 Jun 25.
- [3] Sevinc Kurbanoglu, Sibel A. Ozkan, Arben Merkoçi, *Nanomaterials-based enzyme electrochemical biosensors operating through inhibition for biosensing applications,* *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 89, Part 2, 2017, Pages 886-898, ISSN 0956-5663,
- [4] Manoj B. Gawande, Anandarup Goswami, François-Xavier Felpin, Tewodros Asefa, Xiaoxi Huang, Rafael Silva, Xiaoxin Zou, Radek Zboril, and Rajender S. Varma *Chemical Reviews* 2016 116 (6), 3722-3811
- [5] Gautam Dantas et al. *,Bacteria Subsisting on Antibiotics.* *Science* 320, 100-103 (2008). DOI: 10.1126/science.1155157
- [6] Ali Almajid, Shatha Almuyidi, Shatha Alahmadi, Sarah Bohaligah, Layal Alfaqih, Abdulelah Alotaibi, Albatul Almarzooq, Asmaa Alsarihi, Zaina Alrawi, Rahaf Althaqfan, Rahma Alamoudi, Sultan Albaqami, Alaa H Alali, ‘*Myth Busting in Infectious Diseases*’: A Comprehensive Review, *Cureus*, 10.7759/cureus.57238, (2024). *antibiot*
- [7] D.G. Allison, P. Gilbert, P.A. Lambert, 26 - *Antimicrobial Action: Basic Principles*, Editor(s): Max Sussman, *Molecular Medical Microbiology*, Academic Press, 2002
- [8] Gallo, G., Lancini, G., Parenti, F. *Antibiotics: A Multidisciplinary Approach.* *Sjedinjene Američke Države: Springer US.* (2013)
- [9] Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. *Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians.* *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2017 Jul-Sep;33(3):300-305. doi: 10.4103/joacp.JOACP_349_15. PMID: 29109626; PMCID: PMC5672523.
- [10] Pantidos, Nikolaos & Edmundson, Matthew & Horsfall, Louise. *Room temperature bioproduction, isolation and anti-microbial properties of stable elemental copper nanoparticles.* *New biotechnology.* 40. 10.1016/j.nbt.2017.10.002. (2017)
- [11] Abayeneh Girma, *Alternative mechanisms of action of metallic nanoparticles to mitigate the global spread of antibiotic-resistant bacteria,* *The Cell Surface*, Volume 10, 2023, 100112, ISSN 2468-2330,

- [12] Kowalska-Krochmal B, Dudek-Wicher R. *The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance*. Pathogens. 2021 Feb 4;10(2):165. doi: 10.3390/pathogens10020165. PMID: 33557078; PMCID: PMC7913839.
- [13] Sarah M Schrader, Hélène Botella, Julien Vaubourgeix, *Reframing antimicrobial resistance as a continuous spectrum of manifestations*, Current Opinion in Microbiology, Volume 72, 2023, 102259, ISSN 1369-5274
- [14] Schiller H, Young C, Schulze S, Tripepi M, Pohlschroder M. *A Twist to the Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test: an Accessible Laboratory Experiment Comparing Haloferax volcanii and Escherichia coli Antibiotic Susceptibility to Highlight the Unique Cell Biology of Archaea*. J Microbiol Biol Educ. 2022 Jan 31;23(1):e00234-21. doi: 10.1128/jmbe.00234-21. PMID: 35340443; PMCID: PMC8943627.
- [15] Nachnani S, Scuteri A, Newman MG, Avanesian AB, Lomeli SL. *E-test: a new technique for antimicrobial susceptibility testing for periodontal microorganisms*. J Periodontol. 1992 Jul;63(7):576-83. doi: 10.1902/jop.1992.63.7.576. PMID: 1324301.
- [16] Alshaman R, Alattar A, El-Sayed RM, Gardouh AR, Elshaer RE, Elkazaz AY, Eladl MA, El-Sherbiny M, Farag NE, Hamdan AM, Zaitone SA. *Formulation and Characterization of Doxycycline-Loaded Polymeric Nanoparticles for Testing Antitumor/Antiangiogenic Action in Experimental Colon Cancer in Mice*. Nanomaterials (Basel). 2022 Mar 3;12(5):857. doi: 10.3390/nano12050857.
- [17] Gardouh AR, Attia MA, Enan ET, Elbahaie AM, Fouad RA, El-Shafey M, Youssef AM, Alomar SY, Ali ZA, Zaitone SA, Qushawy MKE. *Synthesis and Antitumor Activity of Doxycycline Polymeric Nanoparticles: Effect on Tumor Apoptosis in Solid Ehrlich Carcinoma*. Molecules. 2020 Jul 15;25(14):3230. doi: 10.3390/molecules25143230
- [18] Hosseini SM, Farmany A, Abbasalipourkabir R, Soleimani Asl S, Nourian A, Arabestani MR. *Doxycycline-encapsulated solid lipid nanoparticles for the enhanced antibacterial potential to treat the chronic brucellosis and preventing its relapse: in vivo study*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2019 Nov 9;18(1):33. doi: 10.1186/s12941-019-0333-x.
- [19] Kazmi SAR, Qureshi MZ, Masson JF. *Drug-Based Gold Nanoparticles Overgrowth for Enhanced SPR Biosensing of Doxycycline*. Biosensors (Basel). 2020 Nov 19;10(11):184. doi: 10.3390/bios10110184.
- [20] Kumar, N., S. Das, A. Jyoti, and S. Kaushik. "SYNERGISTIC EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES WITH DOXYCYCLINE AGAINST KLEBSIELLA PNEUMONIA".

International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, vol. 8, no. 7, July 2016, pp. 183-6, <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijpps/article/view/11532>.

- [21] Pokharkar V, Patil V, Mandpe L. *Engineering of polymer-surfactant nanoparticles of doxycycline hydrochloride for ocular drug delivery*. Drug Deliv. 2015;22(7):955-68. doi: 10.3109/10717544.2014.893381. Epub 2014 Mar 6.
- [22] Seleem MN, Jain N, Pothayee N, Ranjan A, Riffle JS, Sriranganathan N. *Targeting Brucella melitensis with polymeric nanoparticles containing streptomycin and doxycycline*. FEMS Microbiol Lett. 2009 May;294(1):24-31. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01530.x. Epub 2009 Mar 24.
- [23] Toledano-Osorio M, López-García S, Osorio R, Toledano M, García-Bernal D, Sánchez-Bautista S, Rodríguez-Lozano FJ. *Dexamethasone and Doxycycline Doped Nanoparticles Increase the Differentiation Potential of Human Bone Marrow Stem Cells*. Pharmaceutics. 2022 Sep 4;14(9):1865. doi: 10.3390/pharmaceutics14091865.

12. Popis slika:

Slika 1.: Nanomaterijali s različitim morfologijama: (A) neporozne Pd nanočestice (0D) [9,10], autorska prava Zhang et al.; licenca Springer, 2012., (B) grafenske nano-ploče (2D) [11], autorska prava 2012., Springer Nature, (C) Ag nanošipke (1D) [12], autorska prava 2011., Američko kemijsko društvo, (D) nanovlakna polietilen oksida (1D) [13], autorska prava 2010., Američko kemijsko društvo, (E) ZnO nanožice u obliku morskog ježa (3D), reproducirano iz [14] uz dozvolu Kraljevskog kemijskog društva, (F) WO₃ nanomreža (3D) [15], autorska prava 2005., Wiley-VCH.

Slika 2.: Lycurgova čaša 1958,1202.1 pod reflektiranim (a) i propuštenim (b) svjetlom. Prikaz scene u kojoj je Lykurg zapleten u lozu, nakon što se Ambrozija transformirala u izdanak vinove loze. Odsjek za prapovijest i Europu, Britanski muzej. Visina: 16,5 cm (s modernim metalnim postoljem), promjer: 13,2 cm. © Povjerenici Britanskog muzeja.

Slika 3.: Eksponencijalan porast broja objavljenih članaka o nanočesticama u zadnjih 70 godina prikazuje porast znanstvenog interesa u tom području

Slika4.: Grafički prikaz nanometarske skale (od makro do nanorazine)

Slika 5.: Nanočestice bakra (Cu, 99.9% 40-60 nm)

Slika 6.: Nanočestice bakra (Cu, 99.9%, APS: 100-250 nm)

Slika 7.: Strukturna formula Doksiciklina

Slika 8.: IKA Rotacijski isparivač

Slika 9.: Vakuumski sustav LABOACT[®]

Slika 10.: IKA HB 10 digitalna vodena kupka

Slika 11.: Doksiciklin, L(+)-Askorbinska kiselina (vitamin C), Modra galica

Slika12.: Nanočestice bakra u reakcijskoj posudi

Slika13.: Stabilizator- Polivinilpirolidon, (C₆H₉NO)_n

Slika14.: Želatina, laboratorijska vaga na 4 decimale Satorius

Slika 15.: Okrugla tikvica spojena na rotavapor

Slika 16.: Ostatak nakon isparenog otapala

Slika17.: Doksiciklin i stabilizator otopljeni u 10mL destilirane vode

Slika18.: Proces zagrijavanja otopine na 80°C

Slika19.: Filtracija produkta s Büchnerovim lijevkom

Slika20.: Dobiveni produkti (smola i doksiciklin s Cu nanočesticama)

Slika 21.: Pripremljena otopina prije i nakon zagrijavanja

Slika 22.: Filtat dobiven nakon filtracije kroz Büchnerov lijevak

Slika 23.: Dobivena smjesa doksiciklina i nanočestica

Slika 24.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *E. coli*

Slika 25.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *E. faecalis*

Slika 26.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *K. pneumoniae*

Slika 27.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *P. aeruginosa*

Slika 28.: Antimikrobni učinak ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na modelni mikroorganizam *S. aureus*

Slika 29.: Sumarna usporedba učinka ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na razne modelne mikroorganizme spoja A

Slika 30.: Sumarna usporedba učinka ispitivanih nanočestica bakra uz doksiciklin na razne modelne mikroorganizme spoja B

13. Popis tablica:

Tablica 1: Postupci dobivanja nanočestica

Tablica 2: Fizikalna i kemijska svojstva nanočestica

Tablica 3: Mehanizmi otpornosti i nuspojave

Tablica 4: Vrste inhibicije enzimskih sustava

Tablica 5: Antimikrobni utjecaj nanočestica i antibiotika doksiciklina

Tablica 6: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Escherichia coli*

Tablica 7: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Enterococcus faecalis*

Tablica 8: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Klebsiella pneumoniae*

Tablica 9: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Pseudomonas aeruginosa*

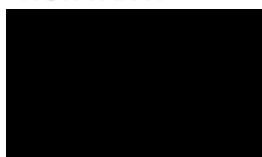
Tablica 10: Dobiveni rezultati inhibicije modelnog mikroorganizma *Staphylococcus aureus*

14. Životopis

ANA JURIĆ



KONTAKTI



O MENI

Motivirana i odgovorna osoba, uvijek spremna pomoć. Dobra u timskom radu i komuniciranju s ljudima. Posvećena kontinuiranom usavršavanju, učenju novih stvari i rješavanju problema kroz inovativne metode i uz pomoć timske suradnje.

JEZICI

engleski

njemački

talijanski

hrvatski

OBRAZOVANJE

Student, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb

Trenutno završavam treću godinu na fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu i upisujem diplomski studij na istom.

VJEŠTINE

Word

Excel

PowerPoint

Origin

HOBIJI

Planinarenje, vježbanje, crtanje, kuhanje...