

Czym jest NANOSREBRO?

Nano Srebro inaczej - Srebro koloidalne (*Argentum colloidal*), znane także jako **kolargol** lub **srebro koloidowe**, to surowiec farmaceutyczny do produkcji leków recepturowych, który jest połączeniem srebra z białkiem lub żelatyną.

Zastosowanie nanosrebra:

Nanostruktury srebra znalazły niezwykle szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach życia dzięki szczególnym właściwościom. Te dziedziny to między innymi medycyna i farmacja, rolnictwo czy wiele gałęzi przemysłu.

W medycynie nanosrebro posiada ogromny potencjał aplikacyjny ze względu na właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Jest ono wykorzystywane do dezynfekcji pomieszczeń medycznych, aby zapobiec zakażeniu pacjentów oraz personelu. Stosowane obecnie środki do dezynfekcji są coraz mniej skuteczne przeciw niektórym szczepom bakterii. Drobnoustroje, takie jak *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa*, które to występują w pomieszczeniach szpitalnych, wywołują przewlekłe infekcje uodporniając się na dyzefektanty [Russell 2004].

Gojenie się ran jest złożonym i wieloetapowym procesem, który obejmuje integrację działania wielu tkanek. W celu leczenia ran, takich jak owrzodzenia czy oparzenia, stosowane są opatrunki zawierające nanosrebro [Chaloupka i in. 2010]. Pierwszy komercyjny opatrunek z nanostrukturami srebra — „Anticoat” wykonany jest z dwóch warstw membran poliamidu estrowego, które są pokryte nanokrystalicznym srebrem [Bryaskova i in. 2011]. Zmniejsza on czas gojenia się ran o średnio 3,35 dnia w stosunku do zwykłych opatrunków [Huang i in. 2007]. Obecnie, w celu zwiększenia skuteczności przeciwbakteryjnej i wspomagania gojenia się ran, produkowane są nowe opatrunki, które między innymi charakteryzują się mniejszym ryzykiem adsorpcji srebra [Chen i Schluesener 2008].

Nanocząsteczki srebra są łączone również z materiałami takimi jak związki mineralne czy polimery, które to używane są w implantologii. To połączenie poprawia skuteczność biobójczą przeciwdziałając agregacji cząstek, która jest jednym z poważniejszych problemów występujących w stosowaniu implantów [Nel i in. 2006]. Jednym z pierwszych wszczepów zawierających nanostruktury srebra była silikonowa zastawka serca zaprojektowana w celu zapobiegania infekcjom bakteryjnym oraz w celu zmniejszenia reakcji zapalnej [Grunkemeier i in. 2006]. W stomatologicznej implantologii płytki tytanowe łączone są z nanosrebrem. Dzięki takiemu zastosowaniu bakterie takie jak *Porphyromonas gingivalis* oraz *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, które powodują choroby przyzębia, nie bytują na implantach [Liao i in. 2010]. W stomatologii coraz częściej są stosowane preparaty z dodatkiem nanosrebra w celu wyeliminowania bioty bakteryjnej. Obecnie są one najczęściej wykorzystywane w endodoncji. Na rynku istnieją również pasty do zębów zawierające nanocząsteczki srebra w celu lepszego zwalczania mikroflory jamy ustnej [Pokrowiecki i Mielczarek 2012].

Ze względu na działania niepożądane i niską biodostępność leków dostarczanych drogą konwencjonalną zaczęto stosować AgNPs jako nośniki szerokiej gamy składników terapeutycznych, takich jak farmaceutyki czy przeciwciała. [Mandal 2017]. Poprawie ulegają również takie cechy jak wydłużenie czasu działania leku czy czas uwalniania substancji aktywnej. Powierzchnia nanocząstek jest zdolna do przyłączenia ligandów, które pozwalają na dystrybucję leków do ściśle określonych miejsc w układzie biologicznym [Żwawiak i Sowa-Kasprzak 2014]. Ponadto produkty z

nanocząsteczkami srebra znalazły zastosowanie jako: związki zastępujące staw, substancje powlekające soczewki kontaktowe i cewniki oraz w diagnostyce raka [Naidu i in. 2015].

Dziedziną, w której nanocząsteczki srebra mogą znaleźć powszechne zastosowanie jest inżynieria tkankowa. Ma ona na celu hodowlę tkanek lub całych narządów w warunkach laboratoryjnych. W hodowli tkankowej rusztowanie dla komórek mogą stanowić naturalne, jak i sztuczne materiały, które odtwarzają kształt organów lub tkanek. Podczas namnażania komórek na rusztowaniu ważne jest, aby zachować sterylność. Zatem nanosrebro, w szczególności w postaci nanorurek, jest obiecującym materiałem do budowy podłoża dla hodowanych komórek ze względu na silne właściwości bakteriobójcze, jak i dzięki dużej wytrzymałości fizycznej i biokompatybilności [Krzosek 2015].

W kosmetologii nanosrebro wykorzystywane jest przede wszystkim ze względu na swoje właściwości biobójcze. Ponadto nanocząstki nie przenikają zbyt łatwo przez barierę skóry i wykazują skutecznie działanie przeciwko różnym grupom drobnoustrojów nawet przy niskich stężeniach. Na coraz częstsze zastosowanie nanocząstek srebra ma również jego stabilność chemiczna, aktywność biologiczna w szerokim zakresie temperatury i pH, dobra rozpuszczalność w wodzie oraz kompatybilność z innymi składowymi produktu [Rodewald 2013].

Nanosrebro jest obecnie stosowane w kosmetykach przeciwtrądzikowych, szamponach do włosów, żelach pod prysznic, chusteczkach antybakteryjnych, kremach, chusteczkach do higieny intymnej, w wodach kolońskich, chusteczkach do demakijażu, żelach po goleniu [Szlecht i Schroeder 2011].

Coraz częściej spotykane jest wykorzystanie nanocząsteczkowego srebra w budownictwie. Jest ono stosowane w materiałach takich jak: sidingi, izolacje, farby malarskie czy pokrycia dachowe. Zastosowanie nanometrycznego srebra sprawia, że materiały budowlane stają się odporne na działanie mikroorganizmów [Pulit i in. 2011].

Zastosowanie nanocząstek srebra w odkażaniu dokumentów archiwalnych i powierzchni obiektów historycznych jest wynikiem silnych właściwości przeciwdrobnoustrojowych nanosrebra. Zbadano, że nanostruktury srebra o stężeniu 90 ppm i rozmiarze od 10 do 100 nm są skuteczne w usuwaniu mikroorganizmów z badanych obiektów znajdujących się w muzeach i archiwach. Ponadto przy stężeniu wynoszącym 45 ppm usunięto 94% wszystkich drobnoustrojów z wyjątkiem bakterii takich jak *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus xylosus*, które to wykazują oporność [Gutarowska i in. 2012].

Nanometryczne srebro znajduje także zastosowanie w ochronie środowiska pracy oraz środowiska naturalnego. Przeciwdrobnoustrojowe właściwości nanostruktur sprawiają, że są one wykorzystywane w systemach oczyszczania wody i powietrza z zanieczyszczeń pochodzenia biologicznego i chemicznego. W trakcie przeprowadzonych w 2008 roku badań ukazano, że fragmenty filtrów powietrza, które zostały zbudowane z włókna węglowego z dodatkiem nanosrebra o rozmiarach od 12 do 15 nm wykazują całkowite zahamowanie wzrostu drobnoustrojów takich jak *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli* już po 10-minutowym kontakcie [Krzosek 2015]. Wyniki badań wskazują na to, że nanostruktury srebra niebawem znajdą powszechne zastosowanie w przemyśle spożywczym, gdzie stan powietrza pomieszczeń jest bardzo ważny dla zdrowia pracowników, jak również jakości produkowanej żywności.

Nanotechnologia znajduje bardzo ważne zastosowanie w rolnictwie i produkcji zwierzęcej. Głównym zadaniem substancji wzbogaconych nanosrebrem jest sterylizacja wyposażenia i budynków inwentarskich i fermowych, szklarni, magazynów, narzędzi, miejsc składowania odchodów zwierzęcych, żywności, opakowań, pojemników do przechowywania ściółki i pasz. W produkcji

zwierząt nanocząsteczki srebra są stosowane do odkażania wymion, kopyt i racic zwierząt gospodarskich [Czyż i in. 2011].

Toksyczność nanosrebra

Powszechna obecność produktów zawierających nanocząstki srebra sprawia, że obawy odnośnie ich stosowania stają się coraz większe. Mimo tego, że nanostruktury od zawsze występują w naturze to dynamiczny wzrost ich produkcji oraz rozwój nanotechnologii sprawiły, że w ostatnich latach obserwujemy zwiększenie liczby badań nad efektem ich działania na eukarionty i środowisko naturalne [Wolska i in. 2017]. Nanocząsteczki zwykle charakteryzują się innymi właściwościami niż ich odpowiedniki w makroskopowej skali. Dlatego też badania nad toksycznością powinny być przeprowadzane osobno dla nanomateriałów. W przypadku zastosowań biologicznych zmniejszenie rozmiaru metalu do skali nanometrycznej wiąże się ze wzrostem cytotoxyczności [Runowski 2014]. Jest to związane między innymi z większą powierzchnią czynną, przez co zwiększoną reaktywnością i oddziaływaniem z innymi związkami w otoczeniu w porównaniu z materiałami konwencjonalnymi. Wykazują się one również wyższą bioprzyswajalnością, przez co łatwiej ulegają adsorpcji w konkretnych narządach, tkankach i komórkach. Ponadto nanostruktury zachowują się jak nośniki zanieczyszczeń, zwiększając ich rozprzestrzenianie w środowisku. [Czyż i in. 2011]. Aby rzetelnie ocenić ryzyko wykorzystywania nanostruktur należy uzyskać informacje na poziomie pojedynczych organizmów, grup organizmów, jak i całych ekosystemów [Kahru i Dubourguier 2010].

Zagrożeniem dla środowiska naturalnego najczęściej stają się nanocząsteczki projektowane. Biorąc pod uwagę ich obieg, stwierdza się, że przenikają one do systemów naturalnych, takich jak powietrze, woda oraz gleby przez ścieki przemysłowe i komunalne oraz w postaci substancji dodawanych do środków ochrony roślin. Potencjalnym zagrożeniem dla środowiska jest bioakumulacja nanocząstek w tych systemach. Ważną kwestią w ocenie toksyczności nanostruktur projektowanych jest określenie czy i w jakim stopniu ulegają one degradacji w środowisku [Baun i in. 2009; Bystrzejewska-Piotrowska i in. 2009; Brar i in. 2010].

Nanostruktury srebra wykazują się dużą aktywnością biobójczą. Przenikając do środowiska naturalnego, stanowią poważny problem w prawidłowym funkcjonowaniu ekosystemów, w szczególności mikroorganizmów występujących w glebie. Nanosrebro eliminując podatne na jego działanie gatunki obniża ich bioróżnorodność. Stanowi ono zagrożenie dla drobnoustrojów stosowanych w procesach bioremediacji gruntów i biodegradacji zanieczyszczeń. Ponadto nanocząstki srebra zagrażają bakteriom z rodzaju *Bradyrhizobium*, które to odpowiedzialne są za wiązanie azotu, co może prowadzić do zaburzenia cyklu obiegu pierwiastków [Kumar i in. 2011].

Nanocząsteczki przedostają się do środowiska naturalnego ze źródeł powierzchniowych lub punktowych. Źródła punktowe to oczyszczalnie ścieków, spalarnie i składowiska odpadów oraz miejsca produkcji nanostruktur. Natomiast powierzchniowe źródła są związane z uwalnianiem nanocząstek poprzez użytkowanie produktów, które je zawierają [Vlachogianni i Valavanidis 2014]. Przykładem źródła tego rodzaju jest uwalnianie jonów srebra i srebra w postaci koloidalnej ze skarpetek zawierających nanosrebro [Benn i Westerhoff 2008]. Ponadto Farkas (i in.) w swoich badaniach wykazali, że w wodach odpływowych z pralki, wzbogaconej o nanosrebro, jego zawartość wynosiła 11 µg / l [Farkas i in. 2011].

Przedostawanie się nanocząstek do atmosfery następuje w spalarniach podczas utylizacji produktów zawierających nanostruktury. Jest ona obciążona tego typu zanieczyszczeniami w mniejszym stopniu

porównując ją do innych systemów naturalnych. Związane jest to ze stosunkowo niedługim czasem przebywania nanocząstek mniejszych niż 100 nm w atmosferze [Vlachogianni i Valavanidis 2014].

Stopień zagrożenia wód gruntowych jak i powierzchniowych przez nanometale jest nieznany. Jednakże potencjalne zagrożenie wynikające z ich transportu do tych zbiorników wodnych może być większe niż sądzono, gdyby nanosrebro tworzyło stabilne zawiesiny w wodzie. Z tego względu istnieje potrzeba określenia dokładnego zachowania i mobilności nanostruktur srebra w środowisku [Tolaymat i in. 2010]. Toksyczność, biodostępność i mobilność nanosrebra jest uwarunkowana stabilnością koloidalną, na którą wpływają czynniki takie jak warunki środowiskowe, pH czy siła jonowa [Römer i in. 2011]. Badania wykazują, że naturalne substancje organiczne, które występują w wodzie, wpływają znacząco na właściwości srebra, co ma wpływ na toksyczność i transport nanometrycznego srebra w środowisku wodnym [Delay i in. 2011]. Wykazano, że nanocząstki srebra wykazują toksyczne działanie na organizmy wodne. Działają one niekorzystnie między innymi na pstrąga tęczowego uszkadzając jego hepatocyty [Farkas i in. 2010] czy wywierając niekorzystny wpływ na zarodki danio pręgowanego [Massarsky i in. 2013].

Ocenę ryzyka dla środowiska, wywołanego przez nanostruktury, wykonuje się porównując przewidywane stężenie badanej substancji w środowisku (PEC) do stężenia tego związku bez przewidywanego działania w środowisku (PNEC). Jeśli współczynnik PEC/PNEC jest ≤ 1 , to nie występuje ryzyko dla środowiska, natomiast, gdy $PEC/PNEC > 1$, to takie ryzyko istnieje [Gruszecka i Helios-Rybicka 2009].

Pierwotnie nanocząstki srebra uważane były za nietoksyczne dla komórek zwierząt. Ich przedawkowanie wiązało się jedynie z efektem ubocznym, który objawiał się zmianą pigmentacji skóry, zwaną srebrzycą. Niemniej jednak ostatnie badania coraz częściej ukazują toksyczne działanie nanosrebra, zwłaszcza wobec ssaków.

W wielu badaniach wykazano, że nanocząstki srebra mogą się dostać do organizmu przez drogę pokarmową oraz inhalacyjną. Natomiast badania nad przedostawaniem się AgNPs drogą dermalną nie są jednoznaczne. Poprzez wdychanie, nanosrebro dociera do płuc, skąd jest wchłaniane do krwioobiegu. W ten sposób dostaje się ono do narządów wewnętrznych. Drogą pokarmową nanocząsteczki przedostają się do jelit, a następnie są wchłaniane do krwi i dalej do innych organów, podobnie jak ma to miejsce przy inhalacji [Świdwińska-Gajewska i Czerczak 2014].

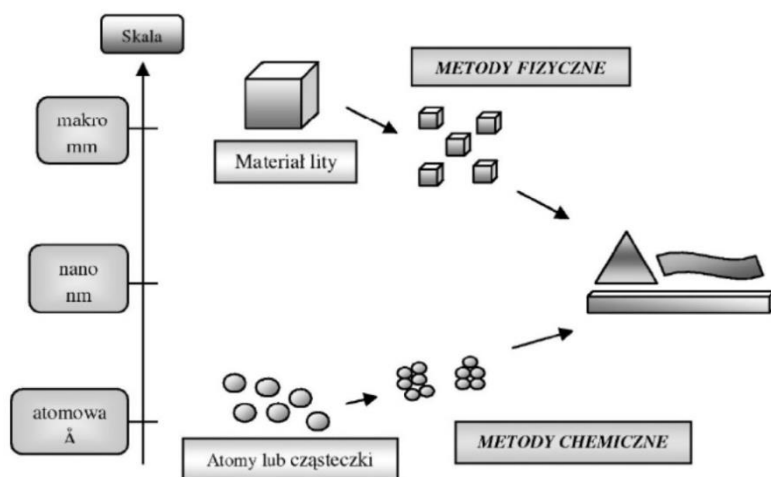
Większość doświadczeń, w których bada się toksyczność nanosrebra, prowadzona jest w warunkach *in vitro*. Jak dotąd eksperymenty wykonywano na komórkach ryb, glonów, skorupiaków, pierwotniaków i nicieni oraz na liniach komórkowych pochodzących od ssaków [Bondarenko i in. 2013]. Badania *in vivo* przeprowadzano na kawii, myszach, szczurach, królikach, rybach oraz na świni domowej [Likus i in. 2013]. W doświadczeniach, w których nanocząsteczki srebra dostawały się do organizmu poprzez inhalację, zauważono, że mają one wpływ głównie na wątrobę i płuca, gdzie powodowały procesy zapalne i zmiany histopatologiczne. U zwierząt narażanych drogą pokarmową, obserwowano zmiany histopatologiczne jelit, wzrost aktywności enzymów oraz procesy zapalne w wątrobie i jelitach. Nanocząsteczki docierając do mózgu wywoływały efekty neurotoksyczne między innymi powodując zaburzenia pamięci krótkotrwałej oraz obniżenie wyników oceniających funkcje poznawcze. Ponadto Park (i in.) wykazali genotoksyczne działanie nanocząstek srebra. W badaniach w warunkach *in vitro* wykorzystując test kometowy i mikrojądrowy uzyskano wyniki, które świadczyły o uszkodzeniu DNA komórek [Park i in. 2011]. Jednakże w badaniach *in vivo* nie udało się potwierdzić takiego działania srebra. Istnieją również niepokojące wyniki, które ukazują szkodliwy wpływ AgNPs na rozrodczość. Badając gryzonie, odnotowano, że nanosrebro wpływa między innymi na opóźnienia

pokwitania, obniżenie poziomu hormonów płciowych, a także na pogorszenie jakości nasienia [Świdwińska-Gajewska i Czerczak 2014].

Ze względu na szybki rozwój nanotechnologii i wprowadzenie nanocząstek do wielu produktów użytkowych należy zastanowić się nad ich bezpieczeństwem. Z racji tego, że większość badań toksyczności nanocząstek srebra opiera się na eksperymentach komórkowych *in vitro* i stosunkowo krótkotrwałych eksperymentach na zwierzętach, należy zwrócić szczególną uwagę na wpływ nanosrebra na ludzi, szczególnie narażonych zawodowo. Obecnie w Polsce obowiązuje najwyższe dopuszczalne stężenie srebra (NDS), które dotyczy frakcji wdychanej, wynoszące 0,05 mg/m³. Natomiast nie zostało do tej pory ustalone najwyższe dopuszczalne stężenie pułapowe ani najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe. Normatyw ten został ustalony w 1983 roku [Dz.U. z 2014 r., poz. 817]. Ze względu na wyniki badań, które zostały przeprowadzone w ostatnich latach, które wskazują na szkodliwe działanie nanosrebra, istnieje potrzeba zaktualizowania NDS dla srebra, wyodrębniając wartości dla frakcji nanocząstek.

Metody syntezy nanosrebra

W celu syntezy nanocząstek stosuje się dwie główne strategie. Pierwsza z nich — bottom-up — opiera się na osiągnięciu skali nano poprzez budowę od podstaw, począwszy od pojedynczych atomów, przez dodawanie kolejnych. W zależności od pożądanych właściwości końcowego produktu, materiałem budulcowym mogą być atomy, cząsteczki lub nanostruktury. Ze względu na możliwość dużej kontroli nad rozmiarem, metoda bottom-up jest najczęściej stosowaną metodą syntezy nanocząstek. Druga grupa metod — top-down — polega na podziale makroskopowego materiału na cząsteczki o rozmiarach nanometrycznych [Kelsall i in. 2008]. Ideę tych dwóch strategii przedstawia poniższy schemat.

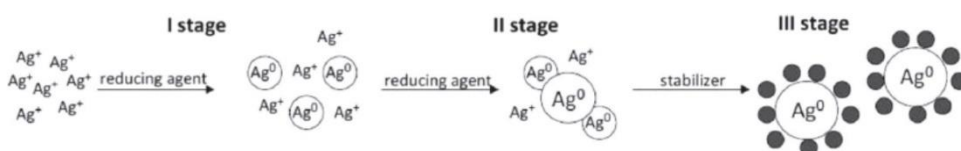


Ryc. 1. Schematycznie przedstawienie metod bottom-up i top-down [Kelsall R.W., Hamley I.W., Geoghegan M. 2008. Nanotechnologie. Tłum. i red. K. Kurzydłowski. PWN. Warszawa: 31.]

Najczęściej syntetyzuje się nanocząsteczki srebra na drodze chemicznej. Zalety tych metod to precyzja w modelowaniu wielkości nanocząstek, łatwość prowadzenia syntezy, jej krótki czas oraz niskie koszty. Najbardziej powszechnym podejściem do chemicznych metod wytwarzania AgNPs jest redukcja soli srebra organicznymi i nieorganicznymi środkami redukującymi i stabilizacja powstałego roztworu. Morfologia nanosrebra może być kontrolowana przez dobranie odpowiednich parametrów syntezy oraz stężeń odczynników. Uzyskanie większych nanocząstek wiąże się ze zmniejszeniem stosunku molowego soli srebra do reduktora. Natomiast mniejszy stosunek spowoduje powstanie mniejszych nanocząsteczek. Również dobierając odpowiednią molowość soli i stabilizatora można modyfikować wielkość cząstek [Malina i in. 2010].

Najczęściej wykorzystywanym źródłem atomów srebra, ze względu na stałe tempo syntezy przez całą reakcję, jest AgNO_3 . Ponadto stosuje się również sole takie jak AgPF_6 , AgBF_4 czy AgClO_4 , jednakże wykazują się one zmniejszeniem szybkości reakcji już po około 10 minutach jej trwania. Do redukcji jonów srebra stosuje się: kwas askorbinowy, D-glukozę, etanol, utropinę, hydrochinon, formaldehyd, kwas galusowy, cytrynian sodu, bromowodorek sodu, DMD, odczynnik Tollensa oraz glikol etylenowy. W procesie syntezy powstaje zawiesina nanocząstek srebra, która wykazuje predylekcję do tworzenia agregatów. Dlatego też istotne jest dodawanie substancji stabilizujących. Najczęściej stosuje się związki, takie jak: PVP, PVA, SDS, CTAB, oraz PMAA. Warto zaznaczyć, że związki takie jak na przykład kwas galusowy lub cytrynian sodu mogą pełnić rolę stabilizatora jak i reduktora [Malina i in. 2010, Iravani i in. 2014].

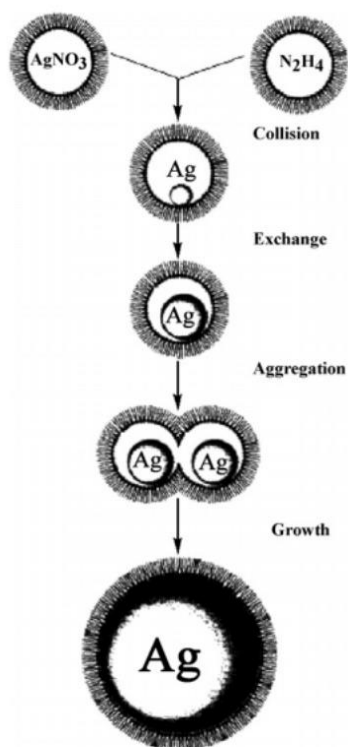
Syntezę nanocząstek srebra, wykorzystującą redukcję chemiczną, można podzielić na trzy etapy. W pierwszym z nich dochodzi do przekazania elektronów z reduktora na jony srebra Ag^+ , co jest wynikiem reakcji redoks. Po redukcji powstają wolne atomy srebra Ag^0 , które zderzając się ze sobą tworzą 1-2 nm jądra. W kolejnym etapie dochodzi do wzrostu nanocząstek polegającym na dalszej redukcji kationów srebra na powierzchni powstałych jąder. Etap trzeci polega na dodaniu stabilizatora, który zapobiegne agregacji nanometrycznych cząstek [Malina i in. 2010]. Syntezę nanocząstek na drodze redukcji chemicznej przedstawia poniższy schemat.



Ryc. 2. Schemat tworzenia nanocząsteczek srebra na drodze redukcji chemicznej [Malina D., Sobczak-Kupiec A., Kowalski Z. 2010. Nanocząstki srebra – przegląd chemicznych metod syntezy. Chemia. Czasopismo Techniczne, 107, 10: 183- 192.]

Nanostruktury srebra są również otrzymywane z wykorzystaniem mikroemulsji, które tworzą systemy odwróconej miceli. Są to mieszaniny składające się z wody, surfaktanta, oleju oraz kosurfaktanta. Synteza AgNPs polega na połączeniu dwóch mikroemulsji, gdzie jedna z nich zawiera reduktor, natomiast druga sole srebra. Metoda ta składa się z pięciu etapów. Pierwszy z nich polega na zderzeniu odwrótnych miceli i wymianie reagentów. W kolejny etap następuje otwarcie warstwy surfaktanta. Prowadzi to do wymiany reagentów między micelami wskutek dyfuzji. Następnie dochodzi do nukleacji. Ostatnim etapem jest zamknięcie i wzrost miceli zawierającej nanocząsteczkę srebra. System odwróconej miceli pozwala na dokładne określenie wielkości nanocząstek poprzez

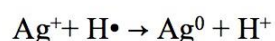
zmianę średnicy mikrokropli [Malina i in. 2010]. Syntezę z wykorzystaniem tej metody przedstawia poniższy schemat.



Ryc. 3. Schemat tworzenia nanocząsteczek srebra w systemie odwrotnej miceli [Zhang W., Qiao X., Chen J. 2007. Synthesis of silver nanoparticles—Effects of concerned parameters in water/oil microemulsion. Materials Science and Engineering: B, 142, 1: 1-15.]

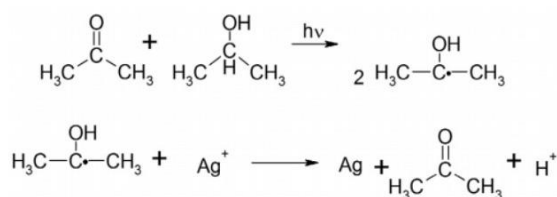
Jednym z fizykochemicznych sposobów syntezy nanocząstek srebra jest wykorzystanie ablacji laserowej. Jest to metoda polegająca na odparowaniu materiału z powierzchni ciała stałego do plazmy lub stanu gazowego, pomijając stan ciekły. Do ablacji wykorzystuje się lasery pracy ciągłej, bądź impulsowe, gdzie stosuje się wiązkę lasera o dużej mocy. Źródłem srebra jest „target”, który wykonany jest z czystego metalu. Z jego powierzchni, przy użyciu lasera, odparowuje się atomy metalu. Przedostają się one do roztworu, gdzie są otaczane przez cząsteczki substancji stabilizującej, na przykład przez SDS. W ten sposób dochodzi do formowania nanocząsteczek srebra [Krajczewki i Kudelski 2015].

Nanosrebro wytwarzane jest także z użyciem metody sonochemicznej. Polega ona na redukcji jonów Ag^+ w atmosferze gazu obojętnego wykorzystując ultradźwięki o częstotliwości 20-50 kHz. Synteza przeprowadzana jest w temperaturze 10°C w wodzie. Rozpada się ona pod wpływem ultradźwięków wytwarzając wolne rodniki $\text{H}^\bullet$ oraz $\text{HO}^\bullet$. Następnie jony srebra reagują z rodnikiem wodorowym zgodnie z poniższym równaniem:



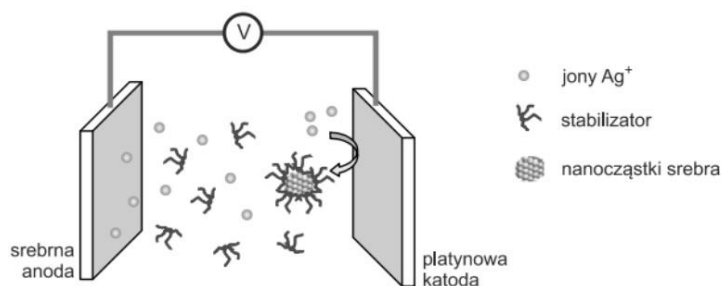
Wadą tej metody jest niski stopień kontroli morfologii nanocząstek. Ich rozmiar jest zależny przede wszystkim od stężenia prekursora w roztworze, który jest poddawany działaniu ultradźwięków [Żelechowska 2014, Wolska i in. 2017].

Fotocchemiczna metoda syntezy AgNPs polega na redukcji jonów srebra przy użyciu promieniowania ultrafioletowego. W jednym z zastosowań tej metody stosuje się sole srebra, izopropanol oraz aceton. Pod wpływem UV cząsteczka acetonu jest wzbudzana i reagując z cząsteczką izopropanolu uwalnia dwa wolne rodniki. Następnie reagują one z jonami srebra i redukuje je do Ag^0 , jak na równaniu:



Zaletą fotocchemicznej syntezy jest precyzyjna kontrola rozmiaru nanocząstek poprzez zmianę długości fali stosowanego światła. Pozwala to otrzymać mały rozrzut wymiarów nanostruktur srebra, które mają wielkość kilku nanometrów. Z kolei wadą tej, jak i większości metod fotocchemicznych, jest ograniczenie objętości roztworu poddawanego naświetlaniu [Żelechowska 2014, Krajczewki i Kudelski 2015].

Elektrochemiczna metoda syntezy nanocząstek srebra jest stosunkowo rzadko stosowana ze względu na duże koszty prowadzenia procesu. Przy jej użyciu uzyskuje się materiały o bardzo dużej czystości, dzięki czemu znajdują one zastosowanie w farmacji, medycynie oraz kosmetyce. Wytwarzanie nanocząsteczek odbywa się poprzez redukcję srebra przy użyciu cyklicznej woltametrii lub metody galwanostatycznej. Pierwsza z nich polega na wykorzystaniu platynowej blaszki (elektroda pomocnicza), srebrnego pręta (elektroda pracująca) oraz elektrody odniesienia – Ag/AgCl . System ten zanurzany jest w roztworze NaNO_3 . Druga z metod wykorzystuje dwa srebrne druty, które służą jako katody, oraz trzy srebrne elektrody anodowe [Malina i in. 2010]. Początkowo elektrochemiczna synteza nanocząstek metali przeprowadzana była w układzie dwuelektrodowym, gdzie anodą była srebrna blaszka, natomiast katoda wykonana była z platyny. Elektrody zanurzone były w mieszaninie acetonitrylu oraz tetrahydrofuranu z dodatkiem soli tetraalkiloamoniowej [Żelechowska 2014]. Pierwotną metodą przedstawia Rycina 4.



Ryc. 4. Schemat tworzenia nanocząsteczek srebra na drodze elektrochemicznej [Żelechowska K. 2014. Nanotechnologia w chemii i medycynie. Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej. Gdańsk.]

Stabilizatorami stosowanymi w tej metodzie są między innymi sole tetraoctyloamonowe, PEG, PVP oraz DNA. Wykorzystanie matrycy DNA umożliwia wytworzenie nanocząstek srebra o różnej długości [Jin i in. 2011]. Synteza elektrochemiczna jest stosowana również bez użycia związków stabilizujących, gdzie morfologia powstających nanostruktur jest modyfikowana poprzez zmianę parametrów procesu, takich jak gęstość prądu oraz potencjał elektrod [Wolska i in. 2017].

Poza fizykochemicznymi i chemicznymi metodami, do wytwarzania nanocząsteczek srebra, stosuje się syntezę fizyczną. Polega ona na ogrzewaniu srebra w wysokiej temperaturze, wskutek czego zostaje ono odparowane, co prowadzi do powstawania jonów srebra. Następnie w procesie nukleacji powstają zarodki, które przekształcają się w nanocząstki. Podczas chłodzenia następuje kondensacja nanosrebra. Z użyciem tej metody powstają nanocząsteczki, które są jednolite wielkościowo. Ponadto nie stosuje się związków, które mogłyby zanieczyścić syntetyzowany materiał. Natomiast jedną z wad fizycznego wytwarzania AgNPs jest zastosowanie pieca, który zajmuje dużą powierzchnię oraz wymaga użycia energii powyżej kilku kilowatów [Iravani i in. 2014].

Biologiczne metody syntezy nanocząstek są szybkie oraz generują niskie koszty. Ponadto są przyjazne dla środowiska, co sprawia, że stają się one konkurencyjne dla metod chemicznych. W celu wytworzenia nanosrebra stosuje się mikroorganizmy, białka, witaminy oraz ekstrakty roślinne. Synteza AgNPs przy użyciu białek wymaga obecności niewielkich skupisk srebra metalicznego, do którego, poprzez adhezję, przyłączają się peptydy. W następstwie tego tworzy się środowisko redukcyjne, gdzie kationy srebra są redukowane i dochodzi do wzrostu kryształu, który osiąga rozmiar od 60 do 150 nm [Naik i in. 2002].

Zastosowanie mikroorganizmów w syntezie może dziwić, ze względu na biobójcze właściwości nanosrebra. Wybrane drobnoustroje posiadają takie zdolności ze względu na zwiększoną oporność na toksyczność. Do tej pory opisanych zostało kilkanaście organizmów mogących prowadzić syntezę. Pierwsza informacja dotycząca biosyntezy AgNPs dotyczyła bakterii *Pseudomonas stutzeri* AG259, która jest organizmem naturalnie występującym w kopalniach srebra. Hodowana na podłożu płynnym z dodatkiem AgNO_3 gromadzi wewnątrz swoich komórek cząstki srebra o rozmiarach 20-50 nm [Klaus i in. 1999]. Grzyb *Alternaria alternata* posiada podobne zdolności. Wykazuje się on zewnątrzkomórkową syntezą nanostruktur srebra o wymiarach 20-60 nm [Gajbhiye i in. 2009]. Również *Bacillus subtilis* potrafi syntetyzować poza swoją komórką nanocząstki w obecności jonów srebra. Tak jak w przypadku chemicznych metod, biosynteza polega na redukcji jonów srebra do wolnego metalu. Mikroorganizmy wykorzystują do tego wysoką aktywność reduktazy azotanowej,

która indukowana jonami srebra, redukuje je w obecności NADH i innych białek [Wolska i in. 2017]. Enzym ten z powodzeniem jest stosowany również w warunkach *in vitro* tworząc nanostruktury srebra o rozmiarach 10-25 nm, które stabilizuje się fitochelatyną [Kumar i in. 2007].

Biosynteza nanosrebra może zachodzić także przy użyciu ekstraktów roślinnych. Shankar (i in.) opisali wytwarzanie nanocząstek przez redukcję AgNO_3 z wykorzystaniem wyciągu z pelargonii pachnącej (*Pelargonium graveolens*). Powstałe struktury miały wielkość od 16 do 40 nm [Shankar i in.]. Do redukcji srebra przyczyniają się obecne w roślinie polifenole. Do syntezy nanocząsteczek srebra stosowane są również ekstrakty z roślin takich jak bazylia, aloes, sosna, magnolia czy miłorząb. W biosyntezie znane jest także zastosowanie ekstraktów z warzyw oraz owoców takich jak banany czy pomarańcze [Siemieniec i Kruk 2014].

Mechanizmy działania nanosrebra na bakterie

Coraz częstszym zastosowaniem spośród najnowszych rodzajów środków biobójczych wyróżnia się nanosrebro. Jego antybakteryjne właściwości znane są od dawna. Srebro oraz koloidy srebra były stosowane już w wieku XIX w prewencji i leczeniu infekcji wywołanych przez mikroorganizmy [Sintubin i in. 2012]. Współcześnie terapeutyczne znaczenie nanocząsteczek srebra wzrasta ze względu na brak skutecznych leków przeciwdrobnoustrojowych. Srebro jonowe zostało wyparte z użycia na rzecz nanocząstek srebra, ponieważ było podatne na tworzenie kompleksów precipitacji, przez co ulegało inaktywacji. Nanosrebro jest potencjalnie bezpieczniejsze, a jego właściwości bakteriobójcze mogą być dodatkowo wzmacniane, między innymi, przez dodatek stabilizatorów [Wolska i in. 2017].

Ściana komórkowa bakterii zbudowana jest głównie z mureiny, która składa się z długich łańcuchów polisacharydowych, połączonych mostkami peptydowymi. W przypadku bakterii Gram-dodatnich jest ona wielowarstwowa, natomiast Gram-ujemne cechują się pojedynczą warstwą mureiny, lecz dodatkowo jest ona otoczona błoną zewnętrzną. Jednym z bakteriobójczych mechanizmów działania jest wiązanie się jonów srebra, uwalnianych z powierzchni nanocząstek, ze ścianą komórkową [Wzorek i Konopka 2007]. Wykazano, że nanostruktury srebra o rozmiarach od kilku do kilkunastu nanometrów doprowadzają do powstawania perforacji w ścianie bakterii, doprowadzając do ich śmierci [Gogoi i in. 2006]. Jony srebra mogą także powodować odklejenie się ściany od błony komórkowej u bakterii z gatunku *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, powodując ich unicestwienie [Feng i in. 2000]. Bakterie Gram-dodatnie wykazują się większą odpornością na działanie nanosrebra niż Gram-ujemne, z faktu posiadania większej ilości mureiny, która posiadając ładunek ujemny, wiąże kationy srebra w obrębie ściany komórkowej, przez co ogranicza przedostawanie się ich do wnętrza bakterii [Wzorek i Konopka 2007].

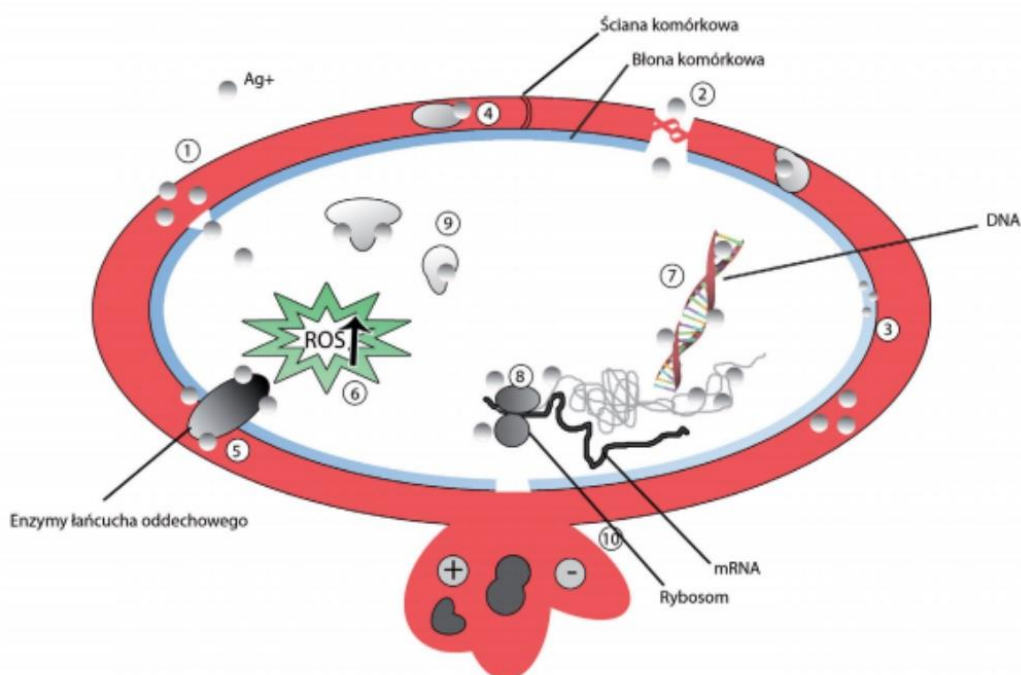
Nanocząsteczki srebra odpowiedzialne są również za uszkodzenia błony komórkowej. Naruszając ją prowadzą do przerwania łańcucha transportu elektronów, czego wynikiem są zaburzenia metabolizmu [Li i in. 2010]. Takie działanie związane jest ze zdolnością nanosrebra do pochłaniania tlenu oraz katalizowania reakcji utleniania. Tlen zaabsorbowany na powierzchni jonów srebra usuwa atom wodoru z grup tiolowych (-SH) cysteiny. Usunięcie wodoru wiąże się z powstaniem wiązania -S-S- pomiędzy aminokwasami. Jeśli taka reakcja zajdzie wewnątrz kanału przenoszenia elektronów, to dojdzie do jego zamknięcia, przez co bakteria straci możliwość oddychania komórkowego, w konsekwencji czego ginie [Wzorek i Konopka 2007]. Nanocząstki srebra są także w stanie

akumulować się w obrębie bakteryjnej błony komórkowej, przez co zwiększa się jej przepuszczalność i następuje śmierć komórki [Nel i in. 2006].

Jony srebra, a także całe nanocząsteczki, mają możliwość wnikania do wnętrza komórki. Przedostając się do cytoplazmy mają możliwość katalizowania wewnątrzkomórkowych reakcji oraz oddziaływania z komórkowymi strukturami. Reagując z grupami funkcyjnymi aminokwasów siarkowych, odpowiedzialne są za uszkodzenia białek receptorowych, transportowych, jak i enzymów, co zaburza prawidłowe funkcjonowanie komórki. Udowodniono, że kationy srebra wpływają także na materiał genetyczny. Są one w stanie zaburzać ekspresję genów, przez co hamowana jest synteza białek, które kodują. Jony srebra reagują również z resztami fosforanowymi nukleotydów, przez co DNA bakterii traci potencjał replikacyjny [Krzosek 2015].

Bakteriobójcze właściwości nanocząstek srebra wiążą się także z powstawaniem reaktywnych form tlenu (ROS). Są to reaktywne indywidua chemiczne, zawierające atomy tlenu z niesparowanym elektronem. Wywierają one szkodliwy wpływ na metabolizm mikroorganizmów [Marambio-Jones i Hoek 2010]. Wykazano, że nanostruktury srebra o wielkości 15 nm odpowiadały za wzrost stężenia ROS wewnątrz komórek bakterii nitryfikacyjnych. Zauważono, że duże stężenie reaktywnych form tlenu wykazało silną korelację ze stopniem zahamowania wzrostu drobnoustrojów [Choi i Hu 2008].

Rycina 5 obrazuje omawiane wyżej mechanizmy działania nanocząsteczek srebra na komórki bakterii.



Ryc. 5. Mechanizm działania jonów srebra na komórkę bakterii na przykładzie bakterii Gram-dodatniej [Kędziora A., Sobik K. 2013. Oporność bakterii na nanosrebro – problem stary czy nowy? Kosmos, 301, 62: 557-570.]

1) Wiązanie do warstwy fosfolipidowej błony komórkowej; 2) Tworzenie porów w osłonach zewnętrznych bakterii, ich destabilizacja i wzrost przepuszczalności; 3) Akumulacja srebra w błonie i ścianie komórkowej; 4) Wiązanie srebra do grup funkcyjnych oraz centrum aktywnego enzymów i białek ściany komórkowej; 5) Powinowactwo do grup sulfhydrylowych cytochromu b; 6) Wzmożona

produkcja reaktywnych form tlenu (ROS); 7) Oddziaływanie srebra z DNA; 8) Interakcja srebra z rybosomem; 9) Denaturacja białek komórkowych; 10) Niekontrolowany transport jonów, wyciek metabolitów i protonów z wnętrza komórki bakterii.

Coraz większe obawy stwarza oporność bakterii środowiskowych jak i izolatów klinicznych na nanosrebro. Pierwsze informacje dotyczące mikroorganizmów opornych na działanie srebra pojawiły się w roku 1975 [McHugh i in. 1975]. Od tego czasu obserwowany jest ciągły wzrost oporności na ten metal. Może ona wynikać z posiadania przez bakterię wrodzonych jak i nabytych mechanizmów obronnych [Kędziora i Sobik 2013]. Ze względu na te drugie należy ograniczyć niekontrolowane wykorzystywanie nanocząsteczek srebra w wielu dziedzinach życia.

LITERATURA

1. Alanazi F.K., Radwan A.A., Alsarra I.A. 2010. Biopharmaceutical applications of nanogold. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18, 4: 179-193.
2. Ashby M.F., Ferreria P.J., Schodek D.L. 2009. *Nanotechnologies and Design. An Introduction for Engineers and Architects*. Elsevier.
3. Baun A., Hartmann N.B., Grieger K.D., Hansen S.F. 2009. Setting limits for engineered nanoparticles in European surface waters – are current approaches appropriate? *J. Environ. Monit.*, 11, 10: 1774-1781.
4. Benn T.M., Westerhoff P. 2008. Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 11: 4133-4139.
5. Bielecki S., Kalinowska H. 2008. Biotechnologiczne nanomateriały. *Postępy Mikrobiologii*, 47, 3: 163-169.
6. Bondarenko O., Juganson K., Ivask A., Kasemets K., Mortimer M., Kahru A. 2013. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Arch. Toxicol.*, 87, 7: 1181-1200.
7. Brar S.K., Verma M., Tyagi R.D., Surampalli R.Y. 2010. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge – Evidence and impacts. *Waste Management*, 30, 3: 504-520.
8. Bryaskova R., Pencheva D., Nikolov S., Kantardjiev T. 2011. Synthesis and comparative study on the antimicrobial activity of hybrid materials based on silver nanoparticles (AgNPs) stabilized by polyvinylpyrrolidone (PVP). *J. Chem. Biol.*, 4, 4: 185-91.
9. Burda C., Chen X., Narayanan R., El-Sayed M.A. 2005. Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chem. Rev.*, 105, 4: 1025-1102.
10. Bystrzejewska-Piotrowska G., Golimowski J., Urban P.L. 2009. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Management*, 29, 9: 2587-2595.
11. Chaloupka K., Malam Y., Seifalian A.M. 2008. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.*, 28, 11: 580-588.
12. Chen X., Schluesener H.J. 2008. Nanosilver: A nanoparticle in medical application. *Toxicology Letters*, 176, 1: 1-12.
13. Choi O., Hu Z. 2008. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity of nitrifying bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 12: 4583-4588.
14. Czyż K., Dobrzański Z., Patkowska-Sokoła B., Zabłocka M. 2011. Rozwój i zastosowania nanotechnologii. *PTZ – Przegląd Hodowlany*, 10: 32-35.
15. Delay M., Dolt T., Woellhaf A., Sembritzki R., Frimmel F.H. 2011. Interactions and stability of silver nanoparticles in the aqueous phase: Influence of natural organic matter (NOM) and ionic strength. *J.*

Chromatogr.A, 1218, 27: 4206-4212.

16. Drexler E.K. 1992. Nanosystems: Molecular Machinery Manufacturing and Computation. Wiley-Interscience, Nowy Jork.
17. Farkas J., Christian P., Urrea J.A.G., Roos N., Hassellöv M., Tollefesen K.E., Thomas K.V. 2010. Effects of silver and gold nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 96, 1: 44-52.
18. Feng Q.L., Wu J., Chen G.Q., Cui F.Z., Kim T.N., Kim J.O. 2000. A mechanism study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Biomed. Mater. Res.*, 52, 4: 662-668.
19. Feynman R.P. 1960. There's Plenty of Room at the Bottom. *Engineering and Science*, 23, 5: 22-36.
20. Franks A. 1987. Nanotechnology. *Journal of Physics. E.: Scientific Instruments*, 20, 12: 1442-1451.
21. Gajbhiye M., Kesharwani J., Ingle A., Gade A., Rai M. 2009. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine*, 5, 4: 382-386.
22. Georgy M., Boucard V., Debleds O., Dal Zotto C., Campagne J. 2009. Gold(III)-catalyzed direct nucleophilic substitution of propargylic alcohols. *Tetrahedron*, 65, 9: 1758-1766.
23. Gogoi S.K., Gopinath P., Paul A., Ramesh A., Ghosh S.S., Charropadhyay A. 2006. Green fluorescent protein-expressin *Escherichia coli* as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles. *Langmuir*, 22: 9322-9328.
24. Grunkemeier G.L., Jin R., Starr A. 2006. Prosthetic heart valves: Objective Performance Criteria versus randomized clinical trial. *Ann. Thorac. Surg.*, 82, 3: 776-780.
25. Gruszecka A., Helios-Rybicka E. 2009. Pb, Tl i As w wodach, osadach i glebach w otoczeniu składowisk odpadów poflotacyjnych w rejonie Bukowna – ocena ryzyka ekologicznego. *Geologia*, 35, 2/1: 233 – 242.
26. Gutarowska B., Skora J., Zduniak K., Rembisz D. 2012. Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 68: 7-17.
27. Huang Y., Li X., Liao Z., Zhang G., Liu Q., Tang J., Peng Y., Liu X., Luo Q. 2007. A randomized comparative trial between Acticoat and SD-Ag in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. *Burns*, 33, 2: 161-166.
28. Hutchings G.J. 2004. New Directions in gold catalysis. *Gold Bulletin*, 37: 1-2.
29. Irvani S., Korbekandi H., Mirmohammadi S.V., Zolfaghari B. 2014. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res. Pharm. Sci.*, 9, 6: 385-406.
30. Jin J.Y., Ouyang X.Y., Li J., Jiang J., Wang H., Wang Y.X., Yang R. 2011. DNA template-synthesized silver nanoparticles: A new platform for high-performance fluorescent biosensing of biothiols. *Sci. China Chem.*, 54: 1266- 1272.
31. Jung A. 2014. Nanocząstki w zastosowaniach medycznych – kierunek przyszłości? *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 10, 2: 104-110.
32. Kachel-Jakubowska M., Szymanek M., Dziwulska-Hunek A. 2015. Nanotechnologia – możliwości rozwoju i zastosowań. Protokół dostępu: http://www.ptzp.org.pl/files/konferencje/kzz/artyk_pdf_2015/T1/t1_0092.pdf (02.12.2017)
33. Kahru A., Dubourguier H-C. 2010. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology*, 269: 105-119.
34. Kelsall R.W., Hamley I.W., Geoghegan M. 2008. Nanotechnologie. Tłum. i red. K. Kurzydłowski. PWN. Warszawa.
35. Kędziora A., Sobik K. 2013. Oporność bakterii na nanosrebro – problem stary czy nowy? *Kosmos*, 301, 62: 557-570.
36. Klaus T., Joerger R., Olsson E., Granqvist C-G. 1999. Silver-based crystalline nanoparticles,

- microbially fabricated. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 96, 24: 13611-13614.
37. Krajczewski J., Kudelski A. 2015. Fotochemiczna synteza nanocząstek srebra i złota. *Wiadomości Chemiczne*, 69: 3-4.
 38. Krzosek Ł. 2015. Analiza właściwości bakterio- i grzybobójczych preparatów zawierających nanocząstki srebra oraz ocena ich praktycznego zastosowania w przemyśle drobiarskim. Praca doktorska. UP w Lublinie, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska.
 39. Kumar N., Shah V., Walker V.K. 2011. Perturbation of an arctic soil microbial community by metal nanoparticles. *J. Hazard. Mater.*, 190, 1-3: 816-822.
 40. Kumar S.A., Abyaneh M.K., Gosavi S.W., Kulkarni S.K., Pasricha R., Ahmad A., Khan M.I. 2007. Nitrate reductase-mediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO₃. *Biotechnol. Lett.*, 29, 3: 439-445.
 41. Li W.R., Xie X.B., Shi Q.S., Zeng H.Y., Ou-Yang Y.S., Chen Y.B. 2010. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85, 4: 1115-1122.
 42. Liao J., Anchun M., Zhu Z., Quan Y. 2010. Antibacterial titanium plate deposited by silver nanoparticles exhibits cell compatibility. *Int. J. Nanomedicine*, 5: 337-342.
 43. Likus W., Bajor G., Siemianowicz K. 2013. Nanosilver – does it have only one face? *Acta Biochim. Pol.*, 60, 4: 495-501.
 44. Malina D., Sobczak-Kupiec A., Kowalski Z. 2010. Nanocząstki srebra – przegląd chemicznych metod syntezy. *Chemia. Czasopismo Techniczne*, 107, 10: 183- 192.
 45. Mandal A.K. 2017. Silver nanoparticles as drug delivery vehicle against Infections. *Global Journal of Nanomedicine*, 3, 2: 1-4.
 46. Marambio-Jones C., Hoek E.M.V. 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J. Nanopart. Res.*, 12, 5: 1531-1551.
 47. Maruyama M., Matsubayashi R., Iwakuro H., Isoda S., Komatsu T. 2008. Silver nanosintering: a lead-free alternative to soldering. *Appl. Phys. A.*, 93: 467-470.
 48. Massarsky A., Dupuis L., Taylor J., Eisa-Beygi S., Strek L., Trudeau V.L., Moon T.W. 2013. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development. *Chemosphere*, 92, 1: 59-66.
 49. McHugh S.L., Moellering R.C., Hopkins C.C., Swartz M.N. 1975. *Salmonella typhimurium* resistant to silver nitrate, chloramphenicol, and ampicillin. *Lancet*, 1: 235-240.
 50. Naidu K.S.B., Govender P., Adam J.K. 2015. Biomedical Applications and Toxicity of Nanosilver: A Review. *Medical Technology SA*, 29, 2: 13-19.
 51. Naik R.R., Stringer S.J., Agarwal G., Jones S. E., Stone M.O. 2002. Biomimetic synthesis and patterning of silver nanoparticles. *Nat. Mat.*, 1: 169-172.
 52. Nel A., Xia T., Mädler L., Li N. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311, 5761: 622-627.
 53. Pappelbaum K., Kasprzak J., Czaczyk K. 2015. Występowanie werotoksycznych *Escherichia coli* w żywności, ze szczególnym uwzględnieniem serotypu O104:H4. *Żywność. Nauka, Technologia, Jakość*, 5, 102: 33-48.
 54. Park M.V., Neigh A.M., Vermeulen J.P., de la Fonteyne L.J., Verharen H.W., Briedé J.J., van Loveren H., de Jong W.H. 2011. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *Biomaterials*, 32, 36: 9810-9817.
 55. Pokrowiecki R., Mielczarek A. 2012. Wybrane przykłady wykorzystania nano-cząsteczek srebra w procedurach medycznych. *Nowa Stomatologia*, 3: 117-121.
 56. Prauzner-Bechcicki J.K. 2017. Nanotechnologia, czyli co? *Foton*, 137: 9-16.
 57. Pulit J., Banach M., Kowalski Z. 2011. Właściwości nanocząstek miedzi, platyny, srebra, złota i palladu. *Chemia – Czasopismo Techniczne*, 108, 10: 198-209.

58. Raport. Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Interdyscyplinarny Zespół do Spraw Nanonauki i Nanotechnologii. 2006. Nanonauka i nanotechnologia – Narodowa Strategia dla Polski. Warszawa: 4-7.
59. Rodewald D. 2013. Ocena trwałości mikrobiologicznej preparatów kosmetycznych w opakowaniach polimerowych modyfikowanych nanosrebrem. Praca doktorska. UE w Poznaniu, Katedra Towaroznawstwa i Ekologii Produktów Przemysłowych.
60. Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Społecznej z dnia 6 czerwca 2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Dz.U. z 2014 r., poz. 817)
61. Römer I., White T.A., Baalousha M., Chipman K., Viant M.R., Lead J.R. 2011. Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests. *J. Chromatogr. A*, 1218, 27: 4226-4233.
62. Runowski M. 2014. Nanotechnologia – nanomateriały, nanocząstki i wielofunkcyjne nanostruktury typu rdzeń/powłoka. *CHEMIK*, 68, 9: 766-775.
63. Russel A.D. 2004. Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *J. Hosp. Infect.*, 57, 2: 97-104.
64. Sajewicz K. 2008. Nanostruktury. *Foton* 101: 5-12.
65. Shankar S.S., Ahmad A., Sastry M. 2003. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol. Prog.*, 19, 6: 1627-1631.
66. Siemienieć J., Kruk P. 2013. Synteza nanocząstek srebra oraz złota metodami zielonej chemii. *CHEMIK*, 67, 10: 842-847.
67. Sintubin L., Verstraete W., Boon N. 2012. Biologically produced nanosilver: current state and future perspectives. *Biotech. Bioeng.*, 109, 10: 2422-2436.
68. Słownik Języka Polskiego. Definicja „nanotechnologii”. Protokół dostępu: <https://sjp.pl/nanotechnologia> (30.11.2017)
69. Szlecht A., Schroeder G. 2011. Zastosowanie nanotechnologii w kosmetologii. [W:] *Nanotechnologia, kosmetyki, chemia supramolekularna*. Red. Schroeder G. Wydawnictwo Cursiva, 1: 7–33.
70. Szymański P., Markowicz M., Mikiciuk-Olasik E. 2012. Zastosowanie nanotechnologii w medycynie i farmacji. *LAB*, 17, 1: 51-56.
71. Świdwińska-Gajewska A.M. 2007. Nanocząstki (część 1) – produkt nowoczesnej technologii i nowe zagrożenie w środowisku pracy. *Medycyna Pracy*, 58, 3: 243–251.
72. Świdwińska-Gajewska A.M., Czerczak S. 2014. Nanosrebro – szkodliwe skutki działania biologicznego. *Medycyna Pracy*, 65, 6: 831-845.
73. Taniguchi N. 1974. On the Basic Concept of „Nano-Technology”. *Proceedings of the International Conference on Production Engineering. Part II*, Japan Society of Precision Engineering, 18-23.
74. Tolaymat T.M., El Badawy A.M., Genaidy A., Scheckel K.G., Luxton T.P., Suidan M. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Sci. Total Environ.*, 408, 5: 999–1006.
75. Vlachogianni T., Valavanidis A. 2014. Nanomaterials: Environmental pollution, ecolological risks and adverse health effects. *Nano Sci. Nano Technol. Indian J.*, 8: 208-226.
76. Wolska K.I., Markowska K., Wypij M., Golińska P., Dahm H. 2017. Nanocząstki srebra, synteza i biologiczna aktywność. *Kosmos*, 314, 66: 125-138.
77. Wzorek Z., Konopka M. 2007. Nanosrebro — nowy środek bakteriobójczy. *Chemia – Czasopismo Techniczne*, 104: 175-181.
78. Zhang W., Qiao X., Chen J. 2007. Synthesis of silver nanoparticles — Effects of concerned parameters in water/oil microemulsion. *Materials Science and Engineering: B*, 142, 1: 1-15.

79. Żelechowska K. 2014. Nanotechnologia w chemii i medycynie. Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej. Gdańsk.

80. Żwawiak J., Sowa-Kasprzak K. 2014. Nanocząstki w roli nośników substancji aktywnych. *Farmacja Współczesna*, 7: 1-8.

źródło: artykuł autorstwa *Krystiana Szuberta*