

Branka Kaluđerović^{1*}, Vesna Mandušić², Djuro Čokeša³,
Vladimir Dodevski¹, Sanja Krstić¹, Jelena Hranisavljević²,
Srdjan Milanović¹

¹Univerzitet u Beogradu, INN "Vinča" Lab. za materijale, Beograd, Srbija, ²Univerzitet u Beogradu, INN "Vinča" Lab. za radiobiologiju i molekularnu biologiju, Beograd, Srbija, ³Univerzitet u Beogradu, INN "Vinča" Lab. za hemijsku dinamiku i permanentno obrazovanje, Beograd, Srbija

Naučni rad

ISSN 0351-9465, E-ISSN 2466-2585

UDC:677.027.625.3

doi: 10.5937/ZasMat1703313K



Zastita Materijala 58 (3)
313 - 316 (2017)

Antimikrobno dejstvo aktivnog ugljeničnog materijala dobijenog hidrotermalnom karbonizacijom fruktoze

IZVOD

Aktivni ugljenik ima jedinstvena hemijska i fizička svojstva, što je veliki potencijal za antimikrobnu aktivnost ovih materijala. Aktivni ugljenični materijal je dobijen na temperaturi od 260 °C, hidrotermalnom karbonizacijom fruktoze u prisustvu fosforne kiseline. Rezultujući ugljenični materijal karakterisan je pomoću: merenja izoterme adsorpcije/desorpcije tečnog azota, skanirajućom elektronskom mikroskopijom i Fourier-ovom transformacijskom infracrvenom spektroskopijom. Dobijeni materijal se ispitivao kao antimikrobni agens primenom LB agar testa na mikrobe kože. Dobijeni aktivni ugljenični materijal ima specifičnu površinu od 932 m²/g. Posедуje kiseonične funkcionalne grupe na površini materijala i pokazao se kao jako dobar antimikrobni agens. Koncentracija aktivnog ugljeničnog materijala značajno utiče na antimikrobne efekte.

Ključne reči: hidrotermalna karbonizacija, fruktoza, aktivni ugljen, antimikrobni efekat.

1. UVOD

Proces hidrotermalne karbonizacije (HTK) predstavlja tehniku dobijanja čvrstog, materijala, bogatog ugljenikom iz vodenog rastvora ili vodene disperzije ugljenih hidrata. Proces se odvija na relativno umerenoj temperaturi i pod pritiskom, koji je posledica razvoja gasovitih produkata tokom reakcija u zatvorenom sudu [1-4]. Uobičajena proizvodnja ugljeničnih materijala zahteva vrlo visoku temperaturu i inertnu atmosferu, odnosno vrlo visok energetski unos. Takvi procesi se mogu odvijati na više različitih načina: pirolizom organskih jedinjenja u prisustvu ili bez katalizatora, hemijskim taloženjem ugljenika iz parne faze, tehnikom elektrolučnog pražnjenja itd. [1, 5-7].

Za proizvodnju aktiviranog ugljeničnog materijala potrebna je fizička ili hemijska aktivacija. Aktivirani ugljenični materijali imaju mogućnost širokog spektra primene: u oblasti zaštite životne sredine, kao adsorbens za uklanjanje zagađivača iz tečne ili gasne faze; kao nosač katalizatora, u elektrohemiji, kao elektrodni materijal, u medicini [8, 9] itd.

Hidrotermalna karbonizacija se sve više koristi za dobijanje karbonskih nanostrukturnih materijala, sa ili bez mreže mikro-i mezopora u strukturi. Obično se kao sirovina koriste različite forme šećera: glukoza, saharoza, škrob, fruktoze i dr [1-4]. Primenom metode hidrotermalne karbonizacije fruktoze, pri temperaturi od 140°C i vremenu zadržavanja od 3 sata u rastvoru azotne kiseline (pH=1) mogu se dobiti karbonizovane mikrosfere prečnika od 1-6 μm [10]. Oblik i veličina mikrosfera u mnogome zavise od koncentracije fruktoze. Primenom uobičajenih aktivirajućih agenasa, hidroksida (KOH) i fosforne kiseline, ispitivana je mogućnost dobijanja aktivnog ugljeničnog materijala pri znatno nižoj temperaturi od uobičajenih, na 260°C [9,11]. Fosforna kiselina se pokazala kao odličan izbor za dobijanje aktivnog ugljeničnog materijala, metodom HTK, pri tako niskoj temperature, ali da pH mora biti ≤ 1 [9,11].

Aktivni ugljenični materijal se koristi u medicini još od davnina [8]. Do ove primene aktivnog ugljeničnog materijala došlo je prvenstveno zbog izuzetno velikog adsorpcionog kapaciteta ovog materijala, koji je bez premca pri poređenju sa bilo kojim drugim materijalom [8]. Stoga se koristi za uklanjanje nepoželjnih i štetnih materija iz ljudskog organizma. Bakterije, virusi, protozoe i gljive proizvode tzv. biološke toksine, koji mogu biti jako štetni za ljude. Većina pomenutih mikroorganizama gotovo u

*Autor za korespondenciju: Branka Kaluđerović

E-mail: branka@vin.bg.ac.rs

Rad primljen: 29. 05. 2017.

Rad prihvaćen: 30. 06. 2017.

Rad je dostupan na sajtu: www.idk.org.rs/casopis

potpunosti mogu biti zadržane pomoću aktivnog ugljeničnog materijala. Dakle, priroda interakcije između površine aktivnog ugljeničnog materijala i bakterija ne može se pripisati samo fizičkoj adsorpciji. Za manje mikroorganizme, kao što su virusi (10-100 nm) i molekuli endotoksina, doprinos adsorpcije u mezoporama može biti jako značajan [8].

2. EKSPERIMENTALNI DIO

U ovom radu ispitivana je mogućnost dobijanja ugljenične mikrosfere na još nižim temperaturama uz dodatak neorganskog prekursora i antimikrobni potencijal dobijenih ugljeničnih mikrosfera.

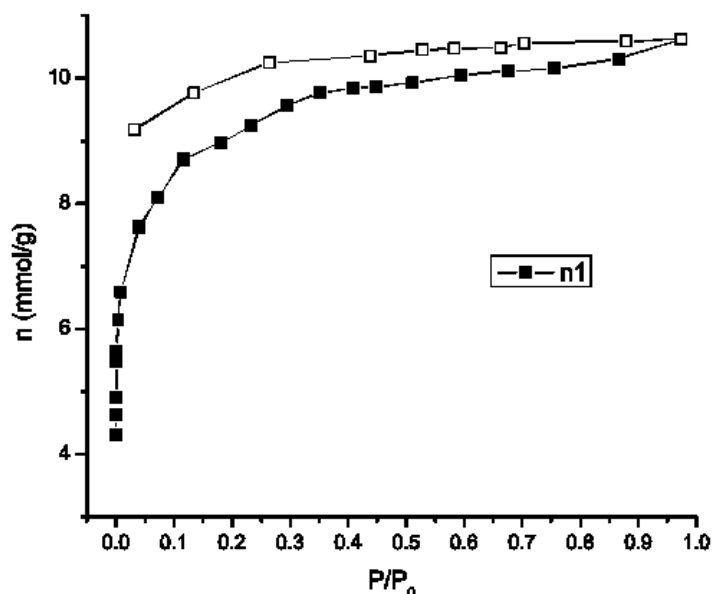
Uzorak aktiviranog ugljeničnog materijala dobijen je polazeći od fruktoze metodom hidrotermalne karbonizacije [9, 11]. Rastvorom fruktoze od 2M/dm^3 u rastvoru fosforne kiseline, čiji je $\text{pH}=0.65$, napunjen je stakleni autoklav, koji je stavljen u sušnicu na temperaturi od 260°C , u trajanju od 20 sati. Dobijen je crni prah koji je nakon ispiranja stavljen u sušnicu, da se suši nekoliko sati. Dobijeni uzorak aktiviranog ugljeničnog materijala (AUM) je analiziran pomoću Infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FTIR), a adsorpcione karakteristike su određene iz adsorpciono/desorpcione izoterme. Izoterme su dobijene adsorpcijom i desorpcijom tečnog azota na temperaturi od -196°C .

Prikupljeni uzorci brisa kože, su radi preduzgoja, stavljene u 6 ml sterilnog LB medija i energič-

no izmešani, kako pre tako i posle preduzgoja, na 37°C u trajanju od dva sata. $100\mu\text{L}$ uzorka zasejano je u Petri posudu prečnika 8 cm u triplikatu, na LB agar podlozi. Nakon inkubacije na 37°C u trajanju od 36h u mikrobiološkom inkubatoru, određen je broj vijabilnih CFU („colony forming units”). Radi tačnije evidencije, urađeno je i fotografisanje uzorka nakon 48 sati. Dobijena vrednost (n), pomnožena faktorom razređenja ($n \times 10^6$). Konačna vrednost predstavlja broj mikroorganizama (uglavnom saprofitne flore kože) po 1cm^2 površine kože, a rezultati su izraženi kao postotak održivih CFU na ploči LB-agara, uz dodatak tri različite koncentracije AUM: 1, 3 i 10 mg/ml .

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Izoterme adsorpcije i desorpcije tečnog azota, na dobijenom uzorku, na -196°C prikazane su na slici 1. Po izgledu izoterme adsorpcije može se reći da poseduje mikropore, a prisustvo histerezisa izoterme desorpcije, ukazuje na prisustvo mezopora. Odsustvo preklapanja izoterme adsorpcije i desorpcije za relativne pritiske manje od 0.4, može se pripisati zaostajanju azota u porama [12]. Primenom Brunauer-Emmet-Teller-ove (BET) teorije na dobijene rezultate adsorpcije, izračunata je specifična površina materijala S_{BET} i ona iznosi $932\text{ m}^2/\text{g}$. Ovi rezultati potvrđuju da je materijal dobijen hidrotermalnom karbonizacijom aktiviran, i da ima razvijenu površinu. To ovaj materijal čini pogodnim za ispitivanje kao anti - mikrobnog agensa [8,9].

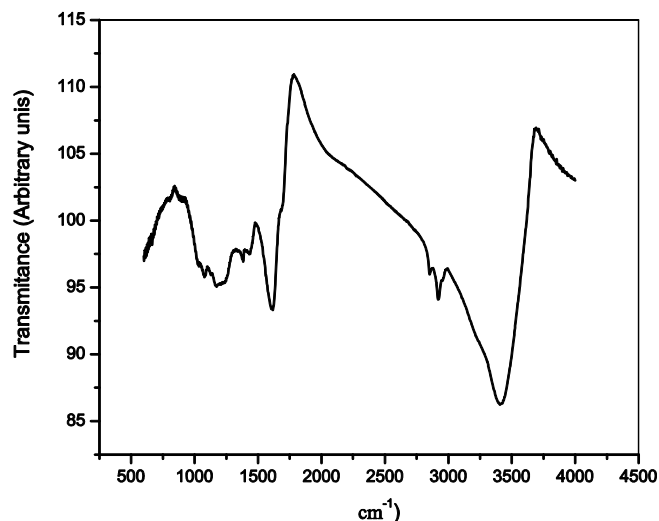


Slika 1. Izoterme adsorpcije N_2 , pri -196°C (puni kvadrati) na AUM i desorpcije (prazni kvadrati)

Figure 1. Nitrogen isotherms at -196°C for AUM sample—solid sign for adsorption and open sign for desorption

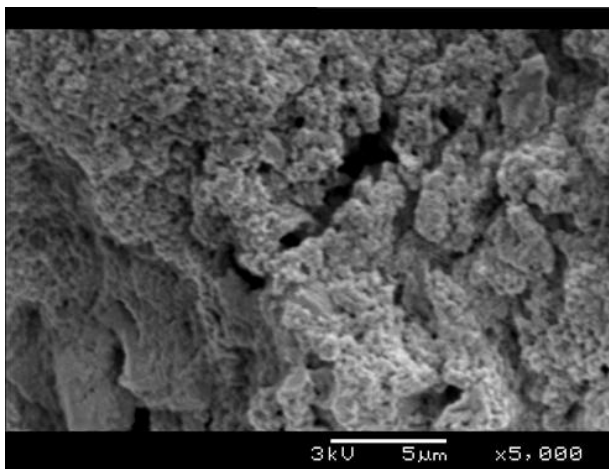
FTIR analiza je pokazala da postoje sledeće grupe: široki vrh u rasponu $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ pripisuje se O-H grupi i C = O traka istezanja na 1700 cm^{-1} . Alifatički ugljikovodonik (C-H) je uočen na oko 2900 cm^{-1} i traka na 1620 cm^{-1} se može

pripisati C = C istezanju aromatičnih i furanik prstena. Vibracije istezanja zabeležene su u rasponu $1300-1000\text{ cm}^{-1}$, što je karakteristika grupe C-O (hidroksilna, ester, ili eter) prisutna je traka na 790 cm^{-1} što odgovara aromatičnoj C-H v.



Slika 2. Rezultati FTIR analize uzorka AUM

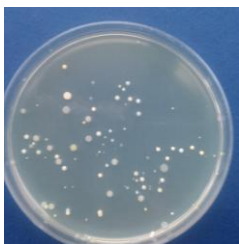
Figure 2. FTIR spectra of AUM sample



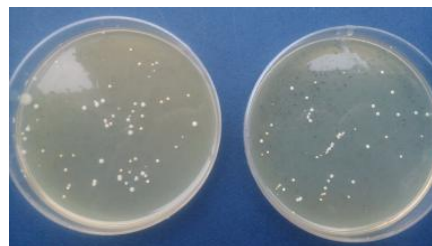
Slika 3 SEM mikrofografija uzorka AUM

Figure 3. SEM micrographs of the AUM sample

Na Slici 4a možemo videti kako izgleda kontrolna Petri posuda sa LB agarom, bez dodatog AUM. Povećanjem koncentracije AUM se smanjuje broj vijabilnih kolonija mikroorganizama.

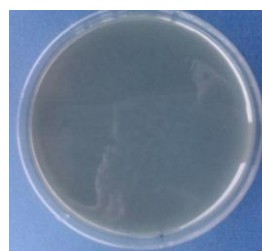


Slika 4a



b)

c)



(d)

Slika 4. Uticaj koncentracije AUM na smanjenje CFU: (a) polazni uzorak bez dodatog AUM; (b) uzorak sa 1 mg/ml AUM; (c) uzorak sa 3 mg/ml AUM i (d) uzorak sa 10 mg/ml AUM.

Figure 4. The influence of the AUM concentration on the reduction in CFU: (a) LB agar without AUM; concentration of AUM is: (b) 1 mg/ml ; (c) 3 mg/ml (d) 10 mg/ml .

Sa povećanjem koncentracije AUM dolazi do smanjenja CFU i ono iznosi za uzorak sa koncentracijom AUM od 1 mg/ml je $47,8\%$, a za uzorak sa

koncentracijom AUM od 3mg/ml je 39,1%, dok za uzorak sa koncentracijom AUM od 10mg/ml, uočavamo da nema CFU.

3. ZAKLJUČCI

Hidrotermalna karbonizacija fruktoze se može primeniti za dobijanje aktiviranog ugljeničnog materijala. Dobijeni materijal se može koristiti kao komponenta u različitim formulacijama za dermalnu primenu, gde je potrebno usporiti i ograničiti razvijanje mikroba prisutnih na površini kože. Nisu potrebni nikakvi dodaci, dovoljan je samo aktivirani ugljenični materijal. Vrlo je bitna primenjena koncentracija materijala, jer antimikrobno dejstvo pokazuje zavisnost od doze AUM.

Zahvalnica

Ovaj rad je finansiran u okviru projekata III 45005 i ON173049, Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

4. LITERATURA

- [1] T.N.Hoheisel, S.Schrettl, R.Szilluweit, H.Frauenrath (2010) Nanostructured carbonaceous materials from molecular precursors, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49(37), 6496 – 6515.
- [2] C.Yao, Y.Shin, L-Q.Wang, C.F.Windisch Jr., W.D.Samuels, B.W.Arey, C.Wang, Risen Jr., W.M.Gregory, J.Exarhos (2007) Hydrothermal dehydration of aqueous fructose solutions in a closed system, *J. Phys. Chem. C*, 111(42), 15141-15145.
- [3] J.Ryu, Y.W.Suh, D.J.Suh, D.J.Ahn (2010) Hydrothermal preparation of carbon microspheres from mono-saccharides and phenolic compounds, *Carbon*, 48(7), 1990 – 1998.
- [4] M.Sevilla, A.B.Fuertes (2009) Production of carbon materials by hydrothermal carbonization of cellulose, *Carbon*, 47(9), 2281 – 2289.
- [5] J.Gonzalez-Aguilar, M.Moreno, L.Fulcheri (2007) Carbon nanostructures production by gas-phase plasma processes at atmospheric pressure, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 40(8), 2361–2374.
- [6] K.Kidena, S.Murata, M.Nomura (1996) Studies on the chemical structural change during carbonization process, *Energy Fuels*, 10(3), 672–678.
- [7] M.Kumar, Y.Ando (2010) Chemical vapor deposition of carbon nanotubes: a review on growth mechanism and mass production, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 10(6), 3739–3758.
- [8] S.V.Mikhailovsky, V.G.Nikolaev (2006) Activated Carbons as Medical Adsorbents. book *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation*. 1st ed., Editor T.J. Bandosz, Elsevier Ltd. Ny, USA, p. 529-561.
- [9] B.Kaluđerović, V.Mandušić, Dj.Čokeša, V.Dodevski, S.Krstić, J.Hranisavljević, S.Milanović (2017) V International Congress "Engineering, Environment and Materials in Processing Industry, "Jahorina, Bosnia and Herzegovina, Proceedings: p. 595-599.
- [10] S.Krstić, B.Kaluđerović, V.Dodevski, A.Bjelajac (2015) Structural properties of carbon microspheres obtained by hydrothermal treatment of fructose, *Zaštita materijala*, 56(2), 155-158.
- [11] S.S.Krstić Mušović, B.V.Kaluđerović, V.M.Dodevski (2012) PreCarb-12, Surface Chemistry and Performance of Carbon Materials, The Pre-Symposium of the 2012 World Carbon Conference, Budapest, Hungary, Book of Abstracts, p.53.
- [12] S.J.Gregg, K.S.W.Sing (1982) Adsorption, Surface area and Porosity, 2nd Ed. Academic Press, London.

ABSTRACT

ANTIMICROBIAL EFFECT OF ACTIVE CARBONACEOUS MATERIAL OBTAINED BY HYDROTHERMAL CARBONIZATION OF FRUCTOSE

Activated carbons due to their antimicrobial effect have been used in medicine for a long period of time. The active carbon material is obtained at a temperature of 260 ° C, by hydrothermal carbonization of fructose in the presence of phosphoric acid. The resulting carbonaceous materials were characterized by: nitrogen adsorption/desorption isotherms measurements, by scanning electron microscope and Fourier transform infrared spectroscopy. The resulting material was examined as an antimicrobial agent by using LB agar assay on skin microbes. The obtained active carbon material has a specific surface area of 932 m²/g. The presence of oxygen functional groups on the material surface was observed and material was proved to be a very good antimicrobial agent. The concentration of activated carbon strongly affects antimicrobial effects.

Keywords: hydrothermal carbonization, fructose, active carbon, antimicrobial effect.

Scientific paper

Paper received: 29. 05. 2017.

Paper accepted: 30. 06. 2017.

Paper is available on the website: www.idk.org.rs/journal