

Određivanje optimalnog vremena za postizanje prihvatljive koncentracije koloidnog srebra pomoću generatora niskog napona

Plavčić, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:874954>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**ODREĐIVANJE OPTIMALNOG VREMENA ZA POSTIZANJE PRIHVATLJIVE
KONCENTRACIJE KOLOIDNOG SREBRA POMOĆU GENERATORA NISKOG
NAPONA**

ZAVRŠNI RAD

Marija Plavčić

Matični broj: 797

Split, prosinac 2017.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
SMJER: KEMIJSKO INŽENJERSTVO

**ODREĐIVANJE OPTIMALNOG VREMENA ZA POSTIZANJE PRIHVATLJIVE
KONCENTRACIJE KOLOIDNOG SREBRA POMOĆU GENERATORA NISKOG
NAPONA**

ZAVRŠNI RAD

Marija Plavčić

Matični broj: 797

Split, prosinac 2017.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
STUDY ORIENTATION: CHEMICAL ENGINEERING

**ASSESSMENT OF OPTIMAL TIME NEEDED FOR ACHIEVING SUFFICIENT
CONCENTRATION OF COLLOIDAL SILVER USING LOW VOLTAGE
GENERATOR**

BACHELOR THESIS

Marija Plavčić

Parent number: 797

Split, December 2017

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemijske tehnologije

Znanstveno područje: Tehničke znanosti

Znanstveno polje: Kemijsko inženjerstvo

Tema rada je prihvaćena na 21. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta održanoj 30. studenog 2016.

Mentor: prof. dr. sc. Pero Dabić

Pomoć pri izradi:

ODREĐIVANJE OPTIMALNOG VREMENA ZA POSTIZANJE PRIHVATLJIVE KONCENTRACIJE KOLOIDNOG SREBRA POMOĆU GENERATORA NISKOG NAPONA

Marija Plavčić, broj indeksa 797

Sažetak: U radu su određivani optimalni parametri elektrolitičke sinteze koloidnog srebra prihvatljive koncentracije uz različito vrijeme trajanja procesa, pomoću generatora niskog napona istosmjerne struje, (eng. Low Voltage Direct Current, LVDC). Generator koloidnog srebra ima mogućnost održavanja konstantne jakosti struje te je potrebno odrediti najpovoljniju jakost struje za korištene srebrne elektrode, a da se zadovolji potrebna gustoća struje pri kojoj se može dobiti koloidno srebro koncentracije 20-30 ppm-a u vremenu do dva sata.

Pri provođenju sinteze svakih 5 minuta bilježene su vrijednosti TDS-a, specifične električne provodnosti i temperature pomoću digitalnog umjerenog uređaja HANA-EDGE. Propuštanjem laserske zrake kroz čeliju pratila se pojava Tyndallovog efekta, bilježeno je vrijeme pojave te intenzitet Tyndallovog efekta.

Pri upotrebi ultračiste vode nisu dobivene potrebne koncentracije koloidnog srebra za zadano vrijeme, a dodatkom nekoliko ppm-a NaCl tražene koncentracije koloidnog srebra postignute su nakon 45 minuta provedbe procesa.

Ključne riječi: sinteza koloidnog srebra, generator niskog istosmjernog napona, Tyndallov efekt, TDS

Rad sadrži: 40 stranica, 13 slika, 4 tablice, 14 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Ladislav Vrsalović - predsjednik

2. Doc. dr. sc. Damir Barbir - član

3. Prof. dr. sc. Pero Dabić - član-mentor

Datum obrane: 14. prosinca 2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate Study of Chemical Technology

Scientific area: Technical Science
Scientific field: Chemical Engineering

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21, date 30th November 2016.

Mentor: Pero Dabić, PhD, full prof.

Technical assistance:

ASSESSMENT OF OPTIMAL TIME NEEDED FOR ACHIEVING SUFFICIENT CONCENTRATION OF COLLOIDAL SILVER USING LOW VOLTAGE GENERATOR

Marija Plavčić, Parent Number 797

Abstract: Aim of this thesis was to determine optimal parameters for electrolytical synthesis of colloidal silver with sufficient concentration by varying duration of process, using low voltage direct current (LVDC) generator. Colloidal silver generator has ability of maintaining constant power of the electric current, and it is necessary to determine optimal value of power of the electric current for used silver electrodes, in order to meet the required electric current density at which it is possible to produce colloidal silver of 20-30 ppm concentration within two hours.

While conducting the synthesis values of TDS, specific electrical conductivity and temperature are recorded every 5 minutes using calibrated digital device HANA-EDGE. Appearance of Tyndall's effect was being tracked by directing laser beam through electrolytic cell, and time of appearance and intensity are being recorded.

With use of ultra pure water required concentrations were not gained in the default time, and by adding a few ppm of NaCl required concentrations were accomplished within 45 minutes of process.

Keywords: synthesis of colloidal silver, low voltage direct current generator, Tyndall's effect, TDS

Thesis contains: 40 pages, 13 figures, 4 tables, 14 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- 1. Ladislav Vrsalović, PhD, associate prof. - chair person**
- 2. Damir Barbir, PhD, assistant prof. - member**
- 3. Pero Dabić, PhD, full prof. - supervisor**

Defence date: December 14th 2017.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Pere Dabića, u razdoblju od travnja do lipnja 2016. godine.

Posebno sam zahvalna mentoru prof. dr. sc. Peri Dabiću na svojoj pomoći, stručnim i znanstvenim savjetima prilikom mjerenja, obrade podataka te izrade ovog završnog rada.

Zahvalna sam svim djelatnicima Kemijsko-tehnološkog fakulteta koji su mi prenijeli vrijedno znanje o kemiji i inženjerstvu.

Zahvaljujem i dragim kolegicama i kolegama uz koje je bilo veliko zadovoljstvo studirati.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA:

- Provesti sintezu koloidnog srebra pomoću generatora niskog napona do pojave Tyndallovog efekta uz različito vrijeme trajanja procesa. Tijekom provođenja procesa kontinuirano bilježiti TDS vrijednosti te vrijeme potrebno za postizanje Tyndallovog efekta.
- Za kontrolu TDS vrijednosti umjeriti digitalni uređaj HANNA EDGE pomoću standarda te programirati uređaj da svakih 5 minuta bilježi vrijednosti TDS-a, specifične električne provodnosti i temperature. Također za ta vremena upisati podatak o postojanju i intenzitetu Tyndallovog efekta.
- Rezultate prikazati tabelarno i grafički te provesti potrebnu matematičku obradu i izvesti potrebne zaključke.

SAŽETAK

U radu su određivani optimalni parametri elektrolitičke sinteze koloidnog srebra prihvatljive koncentracije uz različito vrijeme trajanja procesa, pomoću generatora niskog napona istosmjerne struje, (eng. Low Voltage Direct Current, LVDC). Generator koloidnog srebra ima mogućnost održavanja konstantne jakosti struje te je potrebno odrediti najpovoljniju jakost struje za korištene srebrne elektrode, a da se zadovolji potrebna gustoća struje pri kojoj se može dobiti koloidno srebro koncentracije 20-30 ppm-a u vremenu do dva sata.

Pri provođenju sinteze svakih 5 minuta bilježene su vrijednosti TDS-a, specifične električne provodnosti i temperature pomoću digitalnog umjerenog uređaja HANA-EDGE. Propuštanjem laserske zrake kroz ćeliju pratila se pojava Tyndallovog efekta, bilježeno je vrijeme pojave te intenzitet Tyndallovog efekta.

Pri upotrebi ultračiste vode nisu dobivene potrebne koncentracije koloidnog srebra za zadano vrijeme, a dodatkom nekoliko ppm-a NaCl tražene koncentracije koloidnog srebra postignute su nakon 45 minuta provedbe procesa.

Ključne riječi: sinteza koloidnog srebra, generator niskog istosmjernog napona, Tyndallov efekt, TDS

SUMMARY

Aim of this thesis was to determine optimal parameters for electrolytical synthesis of colloidal silver with sufficient concentration by varying duration of process, using low voltage direct current (LVDC) generator. Colloidal silver generator has ability of maintaining constant power of the electric current, and it is necessary to determine optimal value of power of the electric current for used silver electrodes, in order to meet the required electric current density at which it is possible to produce colloidal silver of 20-30 ppm concentration within two hours.

While conducting the synthesis values of TDS, specific electrical conductivity and temperature are recorded every 5 minutes using calibrated digital device HANA-EDGE. Appearance of Tyndall's effect was being tracked by directing laser beam through electrolytic cell, and time of appearance and intensity are being recorded.

With use of ultra pure water required concentrations were not gained in the default time, and by adding a few ppm of NaCl required concentrations were accomplished within 45 minutes of process.

Keywords: synthesis of colloidal silver, low voltage direct current generator, Tyndall's effect, TDS

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. KOLOIDNO DISPERZNI SUSTAVI.....	2
1.1.1. Podjela i priprema koloida.....	2
1.1.2. Površina, struktura i stabilnost.....	4
1.2. METALNO SREBRO.....	6
1.2.1. Dobivanje srebra.....	7
1.2.2. Svojstva i primjena srebra.....	7
1.2.3. Spojevi srebra.....	7
1.3. KOLOIDNO SREBRO.....	8
1.3.1. Stabilnost koloidnih čestica srebra, zeta-potencijal i stabilizatori.....	9
1.3.2. Koloidno srebro kao proizvod.....	11
1.4. METODE DOBIVANJA KOLOIDNOG SREBRA.....	12
1.4.1. Elektrokemijske metode.....	13
1.4.2. Metode kemijske redukcije.....	13
1.5. IDENTIFIKACIJA I KONCENTRACIJA KOLOIDNOG SREBRA.....	14
1.5.1. Kvalitativni testovi.....	16
1.5.2. Kvantitativna analiza.....	17
1.6. PRIMJENA KOLOIDNOG SREBRA.....	20
1.6.1. Primjeri upotrebe koloidnog srebra, nanočestica srebra i iona srebra.....	21
1.6.2. Bakterije.....	22
1.6.3. Mehanizam baktericidnog učinka iona srebra i nanočestica srebra.....	22
1.6.4. Mjere opreza.....	24
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	25

2.1.	PRIMIJEJENE KEMIKALIJE I MATERIJALI.....	25
2.2.	APARATURA ZA DOBIVANJE KOLOIDNOG SREBRA	25
2.2.1.	Generator niskog napona za dobivanje koloidnog srebra.....	26
2.2.2.	Digitalni konduktometar HANA-EDGE	26
2.3.	PROVEDBA EKSPERIMENTA.....	28
2.4.	PROCJENA KONCENTRACIJE KOLOIDNOG SREBRA NA OSNOVI INTENZITETA TYNDALLOVOG EFEKTA	30
3.	REZULTATI I RASPRAVA	31
4.	ZAKLJUČCI	39
5.	LITERATURA	40

UVOD

Rastuća prijetnja bakterija otpornih na antibiotike dovoljno je dobar razlog da se posebna pažnja posveti srebru, odnosno koloidnom srebru. Otkrićem antibiotika upotreba srebra u antibiotske svrhe drastično je opala, iako je do tada bio često korišten. Neke bakterije pokazuju sve veću otpornost na antibiotike:

- *Staphylococcus aureus* ima sve veću otpornost na antibiotik meticilin, od 2 do 29% od 1975. do 1991. godine.¹
- *Enterococcus faecium* pokazuje povećanu otpornost na antibiotik vankomicin, koji se smatra zadnjom crtom obrane. Otpornost je u jednoj godini narasla s 11 na 13% na odjelima intenzivne njege.
- *Tuberculosis*, nekoć lako lječiv antibioticima, danas ima razvijen soj MDR-TB (*multi drug resistant Tuberculosis*) koji godišnje oduzme živote 190.000 ljudi.²
- Otpornost bakterije *Streptococcus pneumoniae* na penicilin porasla je s 4 na 24% od 1987. do 1995. godine.

Američko društvo za mikrobiologiju 2016. godine izvijestilo je o alarmantno brzom širenju bakterija s genomom *mcr-1*, otkrivene samo godinu i pola ranije, danas prisutne po cijelom svijetu. Ovaj genom otporan je na antibiotik kolistin, smatran antibiotikom zadnje crte obrane. Kolistin je otkriven 1950.-ih i tada nije bio u ljudskoj uporabi zbog svojih nuspojava, već samo u veterini, a danas se iz nužde vraća u humanu medicinu.²

Ravnatelj Zavoda za zaraze i imunitet pri UK Medical Research Council-u Jonathan Pearce tvrdi "rutinske operacije, zamjena kukova, carski rez, kao i kemoterapija ovisni su o učinkovitosti antibiotika te će predstavljati rizik. Obične infekcije mogle bi ponovno postati smrtonosne".²

Koloidno srebro uništava široki raspon bakterija, a čini to na sasvim drugačiji mehanizam od antibiotika, na koji bakterije ne mogu steći otpornost.

U ovom radu pobliže će se opisati koloidno srebro; svojstva, dobivanje, primjena, ali i mjere opreza pri primjeni. Glavna tema eksperimentalnog dijela ovog rada je određivanje optimalnog vremena potrebnog za postizanje prihvatljive koncentracije koloidnog srebra pomoću generatora niskog napona.

1. OPĆI DIO

1.1. KOLOIDNO DISPERZNI SUSTAVI

Koloid predstavlja disperziju jako malih čestica jedne ili više tvari u drugoj. Raspon veličina tih čestica je otprilike u razini s valnim duljinama vidljivog svjetla.³ Ove čestice mogu se nazvati i nanočesticama, jer su njihove veličine nano dimenzija.

Disperzni sustavi općenito se mogu podijeliti ovisno o veličini disperzne faze na grubo disperzne (čestice veličine >100 nm), koloidno disperzne (čestice veličine 1-100 nm) te molekulsko disperzne (čestice veličine <1 nm).⁴

Koloidne čestice su nakupine velikog broja atoma i molekula, ali su premale da bi bile uočljive optičkim mikroskopom, ne talože se te prolaze kroz filter papir, a mogu se uočiti pomoću raspršivanja svjetlosne zrake (Faraday-Tyndallov efekt, ili kraće samo Tyndallov efekt) i osmoze. Tyndallov efekt pojavljuje se prilikom propuštanja zrake svjetlosti kroz koloidnu otopinu, uslijed čega dolazi do rasipanja svjetlosti u svim smjerovima zbog sudaranja zrake svjetlosti s disperznom fazom, što se očituje kao difuzna svjetlost kroz otopinu.

Koloidne, odnosno nanočestice, imaju vrlo velik odnos površine prema volumenu, odnosno specifičnu površinu, i to je čimbenik koji ima najveći utjecaj na njihova fizikalna svojstva. Ako se zamisli kocka stranice 1 cm. Njena površina iznosi 6 cm^2 . Ako se ta ista kocka podijeli na manje kocke stranice 1 nm, ukupna površina bi im bila $6 \cdot 10^6 \text{ cm}^2$. Površinska energija definirana je kao umnožak napetosti površine i ukupne površine. Prema tome, površinska energija sustava s mnogo malih kocki je veća od površinske energije sustava s jednom velikom kockom za red veličine 10^6 , odnosno površinska energija je u tom sustavu važna (možda i najvažnija) komponenta, dok je u makroskopskom sustavu gotovo zanemariva.

1.1.1. Podjela i priprema koloida

1) Podjela po fazama disperzne tvari i disperzivnog sredstva:

- sol; disperzija krute tvari u tekućoj ili krutini
- aerosol; disperzija krute ili tekuće tvari u plinovitoj
- emulzija; disperzija tekuće tvari u tekućoj

2) Podjela po odnosu disperzne tvari i disperzivnog sredstva:

- liofilne; disperzna tvar ima težnju za vezanjem ili upijanjem otapala
- liofobne; disperzna tvar odbija otapalo

Ukoliko je otapalo voda, onda se može reći da je tvar hidrofilna ili hidrofobna. Primjer liofobne tvari su metalni solovi. Liofilne tvari uglavnom imaju neku kemijsku sličnost s otapalom, kao na primjer –OH skupinu koja može tvoriti vodikovu vezu s vodom kao otapalom.

Uz navedene koloide postoji i oblik gela, koji predstavlja polukrutu masu liofilnog sola u kojem je čitavo disperzivno sredstvo proželo čestice sola. Koloid može prelaziti iz oblika gela u oblik sola dodavanjem otapala te taj postupak se naziva peptizacija. Obrnuti postupak, oduzimanje otapala iz sola čime se dobiva gel, naziva se koagulacija.⁴

Koloidi se mogu pripremati na razne načine, a odabir ovisi i o radnim uvjetima, odnosno dobiva li se koloid laboratorijski ili industrijski u komercijalne svrhe. Mogu se dobiti elektrolitički, pomoću propuštanja jake električne struje kroz članak što uzrokuje raspadanje elektrode u koloidne čestice. Zatim pomoću kemijske precipitacije, odnosno taloženja koje rezultira koloidnom otopinom. Veličina nastalih čestica ovisi o mnogim faktorima kao što su topljivost temperatura otopine, koncentracija reaktanata i brzina miješanja. Čestice se formiraju nukleacijom i rastom nukleusa, a što je veće prezasićenje otopine to su čestice manje. Ako u otopini postoji veliki broj čestica (prezasićenje je veliko), raste i brzina nukleacije, tj. nastaje veći broj nukleusa koji sporo i malo rastu, odnosno rezultat je veliki broj sitnih čestica, što je upravo poželjno kod koloida. Brownovo gibanje koloidnih čestica priječi njihovo taloženje uslijed djelovanja gravitacije.⁵ Nadalje, emulzije se pripremaju snažnim miješanjem dviju komponenti, primjerice kao kod homogenizacije mlijeka, a često se dodaju i emulzijski agensi, emulgatori, za stabilizaciju koloida, kao na primjer sapuni, surfaktanti ili liofilni sol koji stvara zaštitni sloj oko disperzne faze.

Ovi načini pripreme mogu se svrstati u tzv. "top-down" načine pripreme koloidnih ili nanočestica, odnosno krupni materijal se različitim postupcima modificira u željenu nanostrukturu. S druge strane, "bottom-up" ili samoslaganje je pristup stvaranju nanočestica u kojem se struktura stvara atom po atom, molekula po molekula. Ovaj način daje manje defekata i homogeniju kompoziciju. Posebno je važan u situacijama

kad je oblik nanočestica bitan za njihovu primjenu, jer se prilagođavanjem uvjeta sinteze mogu postići čak i različiti oblici nanočestica, kao npr. nanokuglice, nanoštapići, nanočašice i ostali oblici.⁶

1.1.2. Površina, struktura i stabilnost

Ako se za primjer uzme kocka željeza stranice 1 cm, tada površinski atomi čine 10⁻⁵% svih atoma. Kod kocke željeza stranice 10 nm, površinski atomi čine 10% svih atoma, a kod kocke željeza stranice 1 nm, praktički svi atomi su površinski. Nanočestice, ili nanokristali, imaju vrlo visok udio površinskih atoma u odnosu na makroskopske kristale te imaju ogromnu površinsku energiju u usporedbi s ukupnom energijom kristala. Ta površinska energija čini nanokristale termodinamički nestabilnima, jer više nije zanemariva u odnosu na ukupnu energiju kao kod makroskopskih struktura. Ekstra energija uzrokovana nepopunjenim rubnim vezama površinskih atoma obično se zove površinska energija, slobodna energija površine ili površinska napetost. Ova energija definira se kao energija potrebna da se stvori jedinična površina "nove" plohe. Za ilustraciju, običan blok podijeljen je na pola te je na novostvorenoj površini svaki površinski atom postavljen u asimetričnu okolinu zbog prekinutih veza, a svi novonastali površinski atomi izloženi su sili prema unutar bloka, ispod razine površine. Ova sila prema unutra preraspoređit će atome novonastale površine kako bi nastala idealna površina. Energija potrebna da se površinski atome vrate u svoj početni položaj definirana je kao površinska energija:

$$\gamma = \frac{1}{2} \cdot N_b \cdot \epsilon \cdot P_a \quad (1)$$

gdje γ predstavlja površinsku napetost, N_b broj prekinutih veza po atomu, ϵ jakost veze te P_a broj atoma po jedinici površine. Ovaj izraz daje tek grubu procjenu stvarne površinske energije, dok je za pravi proračun potrebno uzeti u obzir interakcije površinskih atoma sa susjednim atomima koji su u višem stupnju reda, kao i učinke entropije te tlaka i volumena.⁶

Dakle, obzirom na njihovu veliku specifičnu površinu, koloidi su termodinamički nestabilni:

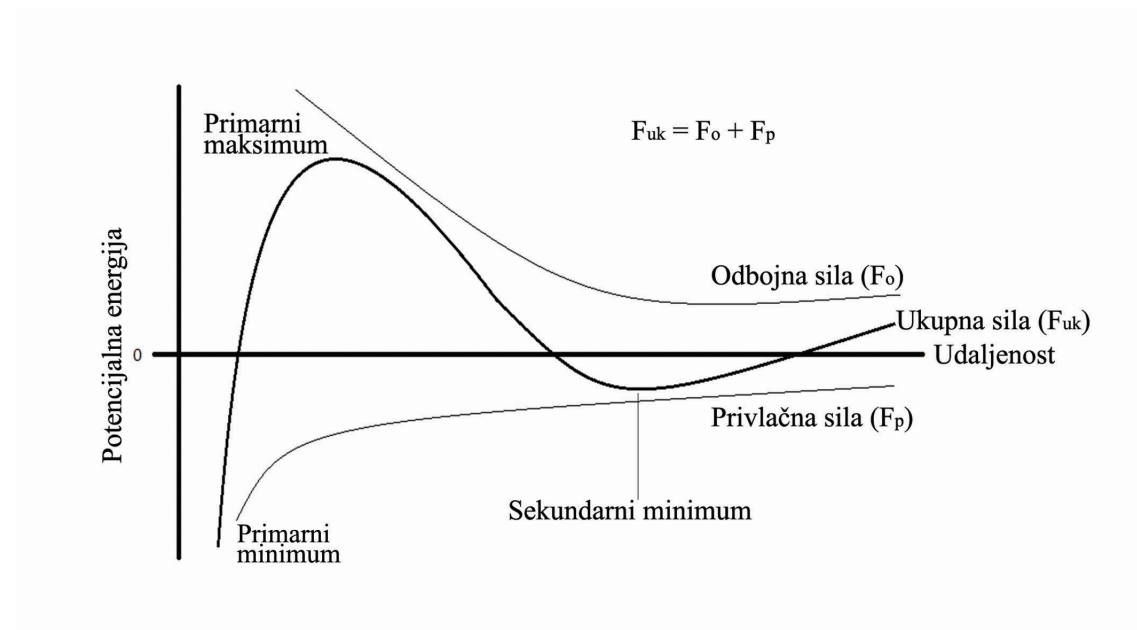
$$dG = \gamma \cdot d\sigma \quad (2)$$

gdje dG predstavlja promjenu Gibbsove energije, a $d\sigma$ promjenu površine. Iz toga proizlazi da je za negativnu promjenu površine $dG < 0$, odnosno sustav teži smanjenju ukupne površine. Termodinamički su nestabilni, tj. imaju termodinamičku sklonost ka smanjenju površine, kao primjerice i tekućine.⁷ Prema tome, koloidi su termodinamički nestabilni, ali kinetički su ne-labilni. Ovakvo stanje stvari slikovito se može usporediti sa smjesom vodika i kisika pri sobnoj temperaturi.³

Koloidi bi na prvi pogled trebali biti i kinetički nestabilni, jer među česticama koloida vladaju privlačne sile koje bi ih trebale kondenzirati u veće nakupine, no to se ne događa iz više razloga, ovisno o samom koloidu. Primjerice, na površini koloida može postojati zaštitni sloj koji stabilizira dodirnu površinu i onemogućava kontakt dviju čestica. Takav se primjer vidi kod emulzije ulja u vodi pomoću emulgatora u obliku amfipatičnih tvari (npr. sapun) koje se sastoje od hidrofilnih i hidrofobnih dijelova. Sapun se sastoji od hidrofobnog ugljikovodičnog lanca koji se probija u kapljicu ulja te karboksilne glave koja je hidrofilna i okreće se ka vodi, štiteći tako kapljicu ulja od dodira s vodom i ostalim kapljicama ulja. Ipak, najčešći i najveći izvor kinetičke stabilnosti koloida je postojanje električnog naboja na površinama čestica, odnosno pojava električnog dvosloja oko koloidne čestice.

Prvi, unutarnji sloj električnog dvosloja je sloj razmjerno nepomičnih iona koji su priljubljeni uz površinu koloidne čestice te može sadržavati molekule otapala odnosno vode. Promjer sfere koja obuhvaća unutarnji sloj je najvažniji faktor koji određuje pokretljivost koloidne čestice, pa se zato i električni potencijal na granici unutarnjeg sloja zove zeta-potencijal, ili elektrokinetički potencijal. Vanjski sloj električnog dvosloja sastoji se od atmosfere pokretljivih iona naboja suprotnog od iona unutarnjeg sloja. DLVO teorija (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek teorija) pretpostavlja da se uspostavlja ravnoteža između odbojnih sila istih naboja vanjskog sloja električnog dvosloja i privlačnih van der Waalsovih sila među česticama. Ukupna sila ovisno o udaljenosti među česticama ima više područja pada i rasta. Područje primarnog minimuma je područje u kojem čestice koaguliraju u veće nakupine, i ta promjena je ireverzibilna. Područje primarnog maksimuma predstavlja energetska barijeru koju je potrebno prijeći kako bi došlo do aglomeracije čestica. Područje sekundarnog minimuma je područje flokulacije čestica, a za razliku od koagulacije ovo je područje reverzibilnosti. Ovisnost potencijalne energije o udaljenosti među česticama prikazana

je na slici 1. Ukupna sila zbroj je odbojne i privlačne sile, i pokazuje primarni minimum, primarni maksimum te sekundarni minimum.



Slika 1. Ovisnost potencijalne energije ovisno o udaljenosti među česticama.³

1.2. METALNO SREBRO

Srebro pripada u 11. skupinu periodnog sustava elemenata, koju čine bakar, srebro i zlato.⁸ Elementi ove skupine su dekorativni, vrlo otporni na koroziju. Latinski naziv srebra *argentum* dolazi od grčkog ἀργός ("argos") što znači sjajan, bijel. Atomski broj srebra je 47. Elektronska konfiguracija srebra je $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^{10} 5s^1$.

Talište srebra razmjerno je visoko, jer u metalnoj vezi osim $5s^1$ elektrona sudjeluju i $4d^{10}$ elektroni. U suprotnom bi talište bilo neobično nisko, kao kod alkalijskih metala. Fizikalna svojstva srebra prikazana su u tablici 1.

Tablica 1. Fizikalna svojstva srebra

Simbol	Redni broj	Metalni radijus (nm)	Ionski radijus (nm)		Kristalna struktura	Talište (°C)	Vrelište (°C)	Gustoća (g cm ⁻³)
			Ag ⁺	Ag ²⁺				
Ag	47	0,144	0,113	0,089	plošno centrirana kocka	962	2212	10,5

Energija ionizacije (I) srebra iznosi 7,58 eV, a energija druge ionizacije (II) je 21,49 eV, odnosno ukupno 29,07 eV, pa se puno češće pojavljuje ionski oblik Ag^+ . Standardni redoks potencijal srebra Ag^+/Ag je +0,80 V, pa srebro teško pravi spojeve, a spojevi srebra su više ili manje jaka oksidacijska sredstva.

1.2.1. Dobivanje srebra

Srebro se u prirodi nalazi u vrlo malim količinama, maseni udio mu je oko $10^{-8}\%$. Uglavnom se nalazi kao pratitelj olovnih i bakrenih ruda, a rjeđe u elementarnom obliku ili u obliku argentita Ag_2S .

Kod olovnih ruda, preko taline olova i srebra se provodi zrak pri čemu olovo prvo oksidira te se s površine taline stalno uklanja sloj PbO . Kod bakrenih ruda, nakon rafinacije bakra zaostaje anodni mulj bogat srebrom. Nakon oba ova postupka srebro se dalje pročišćava elektrorafinacijom uz elektrolit AgNO_3 .

Ukoliko je ruda metalno srebro, često je uprskano u različite stijene iz kojih se čisto srebro dobiva cijanidnim postupkom. Suspenzija rudnog mulja miješa se sa zrakom u razrijeđenoj vodenoj otopini NaCN te nastaje stabilni cijanidni kompleks $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$. Za dobivanje $\text{Ag}_{(s)}$ koriste se jaka redukcijska sredstva (Zn , Al) u lužnatom mediju.

1.2.2. Svojstva i primjena srebra

Elementarno srebro je bijel, sjajni metal, kovak i rastezljiv. Ima manji električni otpor i veću toplinsku vodljivost od ostalih metala. Pri običnoj temperaturi ne oksidira, ali potamni zbog nastajanja sloja teško topljivog Ag_2S od tragova H_2S u zraku. Otapa se samo u jakim oksidacijskim sredstvima, kao što su dušična kiselina ili vruća koncentrirana sumporna kiselina.

Primjenjuje se za posrebrivanje manje plemenitih metala, izradu ogledala te legura sa zlatom i bakrom. Posebno je zanimljivo baktericidno djelovanje iona Ag^+ koje će biti zasebna tema ovog rada. Za sterilizaciju vode može poslužiti sol AgCl .

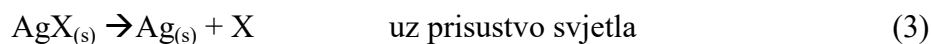
1.2.3. Spojevi srebra

Spojevi stupnja oksidacije +1; spojevi Ag^+ :

Za posrebrivanje metala i izradu ogledala su važni kompleksi $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$, $\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$ i $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$ jer se iz njihovih otopina disocijacijom kompleksa izlučuje Ag^+ ion u tako

malenoj koncentraciji da nastaje kompaktna i glatka prevlaka, za razliku od elektrolitskog izlučivanja gdje je Ag^+ ion prisutan u velikim količinama te se izlučuje u obliku grozdastih nakupina.

Netopljivi halogenidi, posebno AgBr , se upotrebljavaju u fotografskom procesu:



Najčešće se koristi koloid AgBr u želatini. Svjetlost pada na film, tj. na sloj AgBr , izlučuje se $\text{Ag}_{(s)}$ razmjerno količini svjetlosti koja pada na površinu, a Br_2 se oslobađa te se ovako dobije latentna slika na kojoj se izlučila tek mala količina Ag . Razvijanjem pomoću organskih redukcijskih sredstava i uklanjanjem suvišnog AgBr dobiva se negativ. Pozitiv se dobije propuštanjem svjetla na fotografski papir kroz negativ.

Najvažnija sol srebra je AgNO_3 , bezbojni kristal koji se lako otapa u vodi i koristi se uvijek kada je u vodenim otopinama potreban ion Ag^+ .

Spojevi stupnja oksidacije +2; spojevi Ag^{2+} :

Ion Ag^{2+} u vodenim otopinama postoji isključivo u kompleksnim spojevima s anionima koji se ne mogu oksidirati.

Spojevi stupnja oksidacije +3; spojevi Ag^{3+} :

Poznati su samo kompleksni spojevi srebra(III), npr. KAgF_4 .

1.3. KOLOIDNO SREBRO

Koloidno srebro predstavlja vrstu koloida koji se sastoji od vrlo malih (1-1000 nm) krutih čestica srebra suspendiranih u vodi. Zbog njihove veličine može ih se zvati i nanočesticama srebra. Koloidne čestice srebra sastoje se od većeg broja atoma srebra, pa tako primjerice koloidna čestica srebra promjera 1 nm sadrži 31 atom srebra, a koloidna čestica srebra promjera 20 nm sadrži oko 250.000 atoma srebra. Otopina iona srebra ne pokazuje Tyndallov efekt, a koloid srebra ga pokazuje već pri koncentracijama od 0,1 ppm (parts per million).⁹

Konstanta produkta topljivosti za AgOH iznosi $1,52 \cdot 10^{-8}$, što bi značilo da u neutralnoj otopini može biti otopljeno $9,2 \cdot 10^{22}$ atoma srebra po decimetru kubnom bez nastajanja taloga. Čestice srebra otopljene u vodi adsorbiraju na sebe negativne OH^- ione te stoga

imaju negativan naboj koji se zove zeta-potencijal. U smjesi iona i koloida zeta-potencijal je oko -35 do -45 mV, a što je manje iona Ag^+ prisutno potencijal je to negativniji. Skupina OH^- prilazi čestici srebra, a prva interakcija je s elektronom iz $5s^1$ orbitale te se stoga H, pozitivniji dio, okreće ka atomu srebra iz čestice, a negativniji dio okreće se prema otopini. Međusobno odbijanje čestica istog naboja stabilizira koloid i sprječava aglomeraciju koloidnih čestica.⁹

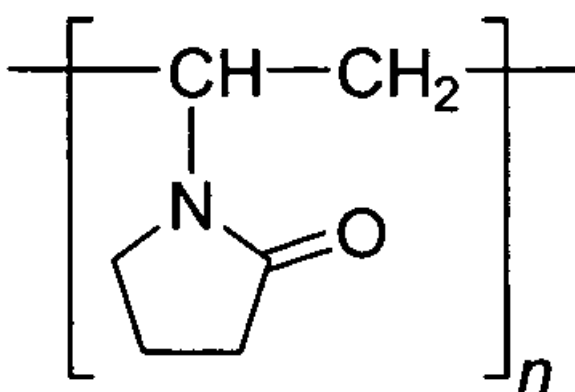
1.3.1. Stabilnost koloidnih čestica srebra, zeta-potencijal i stabilizatori

Mjerenje naboja čestice, odnosno zeta-potencijala vrši se tako da se na otopinu primijeni određeno električno polje i zatim se promatra kretanje čestica ka elektrodama, a brzina kretanja čestica određena je količinom naboja na njima. Brzina kretanja čestica dobiva se iz mjerenja Dopplerovog pomaka raspršene zrake svjetlosti. Zeta-potencijal proračunava se iz brzine kretanja čestica te je obično u rasponu -70 do +70 mV. Ako je zeta-potencijal negativniji od -30 mV smatra se da je koloid stabilan jer čestice imaju dovoljno jaku odbojnu silu koja će spriječiti dodirivanje i aglomeraciju čestica. Pri zeta-potencijalu od -15 mV otopina je na pragu aglomeracije. Koagulacija se odvija najbrže pri zeta-potencijalu od -3 do +3 mV.

Koloidne čestice srebra se u otopini osim elektrostatski mogu stabilizirati i sterički, što se postiže adsorpcijom stabilizatora, najčešće polimera i/ili surfaktanata na površine koloidnih čestica, čime tvore zaštitnu ljusku oko nastale čestice.^{6, 10} Testirale su se mješavine raznih tenzida; poli(N-vinilpirolidon) ili PVP, Na-naftalen sulfonat, Na-lauril sulfat, Na-dodecil sulfonat, za postizanje stabilne koloidne otopine. U istom istraživanju promatrao se i utjecaj ovih tenzida na koncentraciju srebra i UV/Vis spektar srebrnih nanočestica spektrofotometrijskim tehnikama. Pokazalo se da je PVP, polimer nastao iz monomera N-vinil pirolidona, najpogodniji tenzid: daje odlično kvašenje, olakšava formiranje nanočestica, sprječava aglomeraciju nanočestica, osigurava steričku stabilnost i povećava koncentraciju čestica srebra u otopini. Preporučena je upotreba PVP-a do 6 g dm^{-3} , jer iznad te koncentracije pogoršava kvalitetu koloidne otopine.¹⁰

Stabilizator se zakači na česticu jednim krajem polimernog lanca, pa polimeri izgledaju kao resice oko čestice. Učinkovitost pojedinog stabilizatora povezana je sa svojstvima otapala, odnosno ako otapalo omogućava stabilizatoru da se ispruži od čestice koju okružuje otapalo je pogodno, a ako otapalo uzrokuje da se stabilizator nakupi oko čestice koju okružuje otapalo nije pogodno, tj. loše je. Važno svojstvo otapala koje treba

razmotriti je polarnost. Polimeri koji se koriste kao stabilizatori su nepolarni, pa su stoga hidrofobni. Ako se čestice prekrivene takvim polimerima urone u polarno otapalo kao što je voda polimeri će se nakupljati na površini kako bi smanjili dodirnu površinu s vodom. U sintezi nanočestica srebra dobrim se stoga pokazao polarni stabilizator PVP, čija strukturna formula je prikazana na slici 2. Upotreba pogodnog otapala i učinkovitog stabilizatora sprječava aglomeraciju nanočestica srebra, ali i štiti čestice od otopine što zaustavlja daljnji rast nanočestica iz iona Ag^+ u otopini. Ovo svojstvo može biti nepoželjno ukoliko se želi postići nešto veće nanočestice, a rješenje problema može biti zagrijavanje otopine.



Slika 2. Strukturna formula PVP-a, poli(vinilpirolidona).

Svrha zagrijavanja otopine je povećanje kinetičke energije iona srebra kako bi imali dovoljno energije da savladaju polimernu ljusku stabilizatora oko nanočestice srebra. Zagrijavanje u mikrovalnoj pećnici preporuča se ispred drugih uobičajenih metoda zagrijavanja jer se na ovaj način dobiva jednaki prijenos topline u otopini. Visok temperaturni gradijent kroz otopinu mogao bi dovesti do nastanka širokog raspona veličina nastalih nanočestica, što je nepoželjno, jer je upravo promjer dobivenih nanočestica ključan za njihov baktericidni učinak, kao što će se pokazati u jednom od kasnijih poglavlja ovog rada. Općenito, samo čestice veličine <10 nm pokazuju željeni baktericidni učinak.⁶

1.3.2. Koloidno srebro kao proizvod

Komercijalno dostupni proizvodi pod nazivom "koloidno srebro" u realnosti su četiri kemijski različita proizvoda:

1 – elektro-koloidno srebro, odnosno klasična, originalna vrsta. Proizvedeno pomoću električnog luka u deioniziranoj vodi ili pomoću elektrolize visokog napona u destiliranoj vodi. Koncentracija je obično oko 3-5 ppm do maksimalno 100 ppm. Sastoji se od mikroskopskih čestica čistog elementarnog srebra suspendiranog u vodi bez prisustva drugih elemenata.

2 – "blagi protein srebra"; čestice srebra kemijski vezane na molekule proteina.

3 – soli srebra; oblik spoja srebra koji se otapa u vodi. Koncentracija je obično 50-500 ppm, a u otopini sadrži i druge elemente osim samog srebra.

4 – prah srebra; Čista srebrna žica se jako brzo razlaže pomoću izboja visokog napona, slično kao kod staromodnih fotografskih "flash" žarulja. Mikroskopska prašina srebra se zatim skuplja i otapa u vodi ili dodaje kremama i mastima za vanjsku primjenu. Koncentracija im je 100-500 ppm.¹¹

Do neke mjere svi ovi proizvodi funkcioniraju kao germicid širokog spektra djelovanja jer svi sadrže mikroskopske čestice srebra, no nisu svi navedeni proizvodi zaista koloidne suspenzije srebra, ne ponašaju se jednako u organizmu ili laboratorijskim testiranjima, efikasnost i doziranje ovise od proizvoda do proizvoda, kvaliteta ovisi od proizvoda do proizvoda (kao i od šarže do šarže) te nisu svi jednako sigurni i neotrovni.

Kritični faktori koji čine dobar proizvod koloidnog srebra su veličina čestica, čistoća, koncentracija i cijena. Veličina čestica određuje se eksperimentalno primjerice pomoću fotografije elektronskog mikroskopa, čistoća pomoću masene spektroskopije ili analize otklona x-zraka, a koncentracija pomoću kemijske analize. Za bolju kvalitetu preporuča se toplija voda jer reakcija teče brže, a nastale čestice su manje. Dobivenu otopinu dobro je držati u tamnom, smeđem ili plavom staklu jer UV zrake i plastika mogu ukloniti naboj s koloidnih čestica srebra i prouzročiti aglomeraciju.

Za postizanje proizvoda visoke čistoće mnogo je važnije obratiti pozornost na čistoću vode koja se koristi, nego na čistoću srebra. Ukupne nečistoće u 99,9% srebru čine 0,1% odnosno 1 od 1000, ili 1000 ppm. Te nečistoće su: bakar do 800 ppm, olovo do 250 ppm, željezo do 200 ppm, bizmut do 10 ppm. U otopini koloidnog srebra

koncentracije 5 ppm ove nečistoće iznosile bi do 4 ppb (parts per billion) bakra, 1,25 ppb olova, 1 ppb željeza i 0,05 ppb bizmuta.

Velika je važnost veličine čestica srebra u otopini, jer o tome ovisi hoće li biti učinkovit baktericid (do 10 nm), ili će djelovati toksično kao teški metal (što je čestica veća toksično djelovanje je izraženije). Ipak, najgora reakcija otrovnog djelovanja srebra je stanje nazvano argirija, koje je prvenstveno kozmetičko stanje okarakterizirano plavičastim tonom kože, bez drugih kontraindikacija. Moguće je upravo da pojam "plava krv" za plemstvo potječe od blage argirije jer su bogate plemićke obitelji koristile skupo srebrno posuđe i pribor za jelo unoseći tako svakodnevno male količine srebra u organizam. Također, nikad nije zabilježen slučaj argirije od konzumiranja elektro-koloidnog srebra, već obično od pojačanog unosa soli srebra kao AgNO_3 , Ag_2SO_4 i AgCl .

Od navedenih vrsta proizvoda, elektro-koloidno srebro se pokazalo kao daleko najučinkovitije u suzbijanju bakterija, i to pri mnogo nižim koncentracijama, a učinkovitost mu direktno ovisi o broju i veličini čestica, na način da smanjenje veličine čestica povećava ukupnu površinu srebra koja reagira s okolinom.

Srebro se pokazalo kao učinkovit germicid koji suzbija gram negativne, gram pozitivne bakterije, kvasce i plijesni u laboratorijskim uvjetima, no još uvijek su potrebna brojna i skupa testiranja da bi se dokazala učinkovitost u organizmu. No, takva testiranja se rijetko provode, jer su za farmaceutske tvrtke neisplativa. Naime, nije poželjno trošiti ogromne količine novca na testiranja proizvoda kojeg nije moguće patentirati i monopolizirati kako to već jest slučaj kod srebra, odnosno koloida srebra.¹¹

1.4. METODE DOBIVANJA KOLOIDNOG SREBRA

Koloidno srebro moguće je pripremiti na više načina: elektrokemijski, putem kemijske redukcije te kondenziranjem metalne pare.

Kod dobivanja nanočestica putem kondenziranja pare srebra, srebro se ugrije do vrelišta u inernom plinu, zatim se hladi u inertoj atmosferi, uslijed čega dolazi do nukleacije i rasta nanočestica.¹²

1.4.1. Elektrokemijske metode

Elektrokemijsko dobivanje koloidnog srebra dijeli se na dvije metode: metoda niskog napona istosmjerne struje i metoda visokog napona izmjenične struje.¹³

Metoda visokog napona izmjenične struje (eng. High Voltage Alternate Current, HVAC) koristi se za dobivanje većih količina koloidnog srebra u industriji.

Metoda niskog napona istosmjerne struje (eng. Low Voltage Direct Current, LVDC) primjerenija je za upotrebu u laboratorijske svrhe dobivanja koloidnog srebra.

Kod LVDC metode koristi se istosmjerni napon otprilike od 20 do 30 V. Elektrode su dvije srebrne žice, promjera 2-3 mm, čistoće srebra 99,99%. Elektroliza se provodi u staklenoj čaši, u destiliranoj vodi. Na elektrodama se javlja napon koji svojim potencijalom izbija iz metalne rešetke srebra čestice i ione srebra. Elektroliza se provodi do pojave žute maglice, pa još desetak minuta nakon toga, nakon čega se otopina sprema na tamno mjesto. Cilj je postići koncentraciju od 3 do 5 ppm srebra, okruženog samo česticama vode. Tijekom elektrolize mjeri se napon i jakost struje na elektrodama pomoću digitalnog multimetra. Najvažnija veličina na koju treba paziti je gustoća struje; kod prevelike gustoće struje može nastati dovoljno velika sila da izbacij komadiće elektrode u otopinu, a potrebno je da u otopinu odlaze što sitnije čestice. Jakost Tyndallovog efekta provjerava se laserom. Tijekom eksperimenta, ukupna količina otopljenih krutina najlakše se prati pomoću mjernog uređaja TDS-a (Total Dissolved Solids).

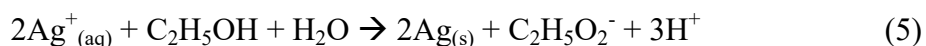
1.4.2. Metode kemijske redukcije

Koloidno srebro može se dobiti i sintezom, odnosno redukcijom iona Ag^+ iz njegovih soli, najčešće iz AgNO_3 jer je to najlakše topljiva sol srebra. Dakle, polazna točka je priprema otopine AgNO_3 . Nakon što se zametne klica $\text{Ag}_{(s)}$ ona počinje rasti i nastavlja s rastom dok se ne postigne ravnoteža između dobivenih nanočestica i iona Ag^+ u otopini:⁶

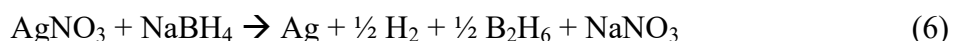


Male čestice se mogu dobiti upotrebom reducensa koji brzo reagira, odnosno brzo reducirajućeg agensa, što rezultira formiranjem velikog broja srebrnih klica na početku sinteze. Veliki broj srebrnih klica skratit će vrijeme u kojem klice mogu rasti i spriječiti

stvaranje krupnijih nanočestica. Ako je otopina homogena, dobivene čestice bit će unutar uskog raspona veličina, tj. bit će sličnih dimenzija:



Npr. pri sintezi koloidnog srebra iz otopine AgNO_3 uz dodatak redukcijskog sredstva u suvišku, natrijborohidrida NaBH_4 , dobivaju se nanočestice srebra promjera oko 10-14 nm:¹³



1.5. IDENTIFIKACIJA I KONCENTRACIJA KOLOIDNOG SREBRA

Najvažnije svojstvo koloidnog srebra je koncentracija srebra u otopini, što se označava kao ukupno srebro te posebno koncentracija koloidnih čestica srebra i posebno koncentracija iona srebra. Koncentracija se najčešće izražava u ppm (parts per million), što numerički približno odgovara koncentraciji izraženoj kao mg srebra u dm^3 .¹⁴

Vrlo je važno znati koliki dio ukupnog srebra se sastoji od čestica srebra, a koliki od iona srebra, jer čestice srebra su te koje određuju koloid. U tablici 2 dan je kratki usporedni pregled nekih svojstava čestica i iona srebra. U većini procesa za dobivanje koloidnog srebra čestice srebra čine tek manji dio ukupnog srebra, a obično je oko 75 do čak 99% ukupnog srebra prisutno u obliku iona. Poželjna svojstva koloidnog srebra potječu od čestica srebra, a ne iona srebra. Naime, prilikom konzumacije ionskog srebra ono dolazi u kontakt s klorovodičnom kiselinom u želucu, gdje Ag^+ ion reagira s Cl^- ionom dajući AgCl . HCl ne razgrađuje koloidne čestice srebra, pa one nepromijenjene izlaze iz želuca te su dovoljno male da napuste probavni trakt kroz crijevne membrane i apsorbiraju se u krv. AgCl koji je nastao u želucu tamo precipitira u krupni talog, ne napušta gastrointestinalni trakt, već se iz tijela izlučuje kao otpad. Koloidno srebro može direktno ući u krvotok na dva načina: udisanjem fino raspršenih čestica koloidnog srebra u kojem slučaju koloidno srebro prelazi u krvotok iz pluća, ili apsorpcijom ispod jezika gdje se nalaze tanke membrane koje propuštaju koloidno srebro direktno u krvotok. Prisutni ioni srebra vežu se s ionom klora iz KCl koji je u krvi prisutan u dostatnim količinama, a precipitat se čisti iz krvi bubrezima i izlučuje kao otpad. Stoga idealna otopina koloidnog srebra sadrži što veći udio ukupnog srebra u obliku koloidnih čestica, a što manji udio u obliku iona srebra.¹⁴

Tablica 2. Usporedni pregled nekih svojstava čestica i iona srebra.⁹

Svojstvo	Čestica	Ion
raste vodljivost otopine	ne	da
Tyndallov efekt	da	ne
moguće izdvojiti centrifugiranjem	da	ne
reagira s anionima	ne	da
mjerljivo pomoću ion selektivne elektrone	ne	da

Ostala važna svojstva koloidnog srebra su električna vodljivost, pH koloidne otopine, Tyndallov efekt, zeta-potencijal, raspodjela veličina čestica te prisustvo onečišćenja.

Jednostavan, ali i ne dovoljno pouzdan način za određivanje koncentracije koloidnog srebra je pomoću Faradayevog zakona, u slučaju da se koloidno srebro dobilo elektrolitičkim putem. Mjeri se količina naboja koja je prošla kroz otopinu za vrijeme elektrolize i korelira se s količinom srebra, odnosno iona srebra, koju je ta količina naboja otpustila u otopinu:

$$m(\text{Ag}) \cdot z(\text{Ag}) \cdot F = I \cdot t \cdot A_r(\text{Ag}) \quad (7)$$

F je 96500 C, $z(\text{Ag})$ je 1, $A_r(\text{Ag})$ je 107,87 g mol⁻¹, I je jakost struje, a t vrijeme. Dobivenu masu potrebno je izraziti kao mg dm⁻³, jer u tom obliku numerički odgovara jedinicama ppm. Elektrolizu treba nastaviti do bar 7 ppm jer se po ovom proračunu pretpostavlja da se samo ioni otpuštaju u otopinu, što nije točno; otpuštaju se i cijeli komadići srebra i koloidne čestice srebra. Ova metoda daje samo procjenu koja može biti zgodan alat prilikom same elektrolize za bolju procjenu potrebnog vremena, a stvarna koncentracija ovisi o kvaliteti procesa te se određuje drugim metodama.¹³

Kod identifikacije koloidnog srebra prvi korak je utvrđivanje jesu li uopće nastale čestice srebra, a zatim slijedi karakterizacija nastalih nanočestica kako bi se odredila veličina, oblik i količina, što se postiže različitim tehnikama.⁶

1.5.1. Kvalitativni testovi

Najjednostavniji kvalitativni test za identifikaciju koloida je proba laserom, odnosno uočavanje Tyndallovog efekta. LVDC metodom nastaje oko 85% ionskog srebra i 15% koloidnog srebra, pa se Tyndallov efekt može smatrati indikacijom pojave i ionskog srebra u otopini. Ovaj efekt može ukazati i na količinu većih čestica koje zaiskre obasjane laserskom zrakom. Idealno bi bilo da otopina bude prozirna, a Tyndallov efekt slab, ali vidljiv.¹³

Mjerenje turbiditeta ili mutnoće otopine, odnosno količine raspršenog svjetla ukazuje na koncentraciju čestica, veličinu čestica i stupanj koagulacije čestica, no ne govori ništa o sastavu, koncentraciji pojedinih vrsta, ni o raspodjeli veličina čestica. Mjerenje se provodi turbidimetrom.¹

PWT (eng. Pure Water Tester; tester čiste vode) služi za mjerenje otopljenih minerala u vodi, a daje zadovoljavajuće rezultate i kod mjerenja količine srebra. Ipak, ovo nije posve točna analiza, no obzirom da je točna analiza skupa i dugotrajna, PWT se pokazao kao praktičan alat za okvirnu procjenu.¹³

TDS (ukupno otopljene krutine) aproksimira koncentraciju krutina i za malu cijenu daje najtočnije i najlakše dostupne podatke, a mnogi proizvođači koloidnog srebra danas uz oznaku koncentracije srebra u jedinicama ppm u zagradi dodaju i oznaku TDS kako bi ukazali na način kojim su dobili rezultat. TDS koncentraciju mjeri u ppm tvari koje su otopljene u vodi na način da mjeri vodljivost otopine u μScm^{-1} te tu vodljivost preračunava u TDS jedinice pomoću faktora pretvorbe kako bi došao do rezultata, odnosno ppm ukupno otopljene krute tvari. Određuje se tako da se izvrši mjerenje prije i nakon elektrolize, a razlika se množi s empirijskim faktorom. Empirijski faktor je obično 0,5 za organske tvari, 0,7 za anorganske tvari, a u slučaju srebra je 0,5. Problem je što mjerenje vodljivosti odgovara prisutnim količinama ionskog srebra, ali ne i ukupnog srebra. Također, obzirom da mjeri vodljivost, na ispravnost mjerenja utječu i temperatura i pH otopine.^{13, 14}

Ipak, mjerenje električne vodljivosti može dati zadovoljavajuće rezultate za koncentraciju iona srebra u određenim uvjetima. Empirijski odnos između vodljivosti i koncentracije iona srebra baziran je na kontroli triju faktora: pH temperature i onečišćenja u obliku drugih iona. pH mora biti 7 temperatura 25 °C te ne smije biti

prisutnih drugih iona kako bi mjerenje bilo ispravno. Tada vrijedi da je koncentracija iona srebra izražena u ppm jednaka umnošku vodljivosti (izraženo u μScm^{-1}) i faktoru pretvorbe koji iznosi od 1,05 do 1,15. Mnogi moderni konduktometri imaju ugrađen ispravljač koji korigira izmjerenu vrijednost vodljivosti prema temperaturi uzorka. Ova metoda određivanja koncentracije također je neprecizna, pa služi samo kao potvrda mjerenja drugih metoda ili kao pomoćno mjerenje tijekom samog eksperimenta.¹⁴

1.5.2. Kvantitativna analiza

1.5.2.1. Instrumentne metode analize

Neki instrumenti mogu mjeriti jedino sadržaj srebra koji se nalazi u ionskom obliku (npr. ion specifične elektrode). U slučaju kad se koriste ti instrumenti potrebno je prije mjerenja prevesti koloidno srebro u ionski oblik pomoću dušične kiseline, ili na neki drugi način.¹⁴

AAS (eng. Atomic Absorption Spectroscopy; atomska apsorpcijska spektroskopija) koristi se za određivanje optičkih svojstava otopine. Svjetlo se usmjeri kroz otopinu i mjeri se količina apsorbiranog svjetla. Mijenja se valna duljina, a apsorpcija se očitava pri svakoj valnoj duljini iz čega se dobije graf valne duljine i apsorpcije. Apsorpcija se može koristiti za određivanje koncentracije otopine na temelju Beer Lambertovog zakona o apsorpciji:

$$A = \log (P_0/P) = \epsilon b c \quad (11)$$

gdje A predstavlja apsorpciju na danoj valnoj duljini svjetla, P i P_0 označavaju snagu snopa svjetlosti, ϵ je molarni apsorpcijski koeficijent [$\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1}$], b duljina puta kroz otopinu [cm], a c koncentracija tvari u otopini [mol dm^{-3}]. No, kod proučavanja čestica nano veličina optička svojstva su često mnogo složenija i zahtijevaju dodatno razvijenu teoriju, pa ovako dobiveni rezultati mogu služiti samo kao aproksimacija.⁶

DLS (eng. Dynamic Light Scattering; dinamičko raspršivanje svjetlosne zrake) je metoda koja koristi svjetlo kako bi se odredila veličina čestica u otopini. Svjetlo određene frekvencije propušta se kroz otopinu pomoću lasera. Svjetlosna zraka udara u gibajuće čestice u otopini te se otklanja, raspršuje od čestice pri čemu se mijenja frekvencija svjetla. Ova promjena frekvencije svjetla u direktnoj je vezi s veličinom čestica u otopini; što je čestica manja to je pomak u frekvenciji veći pomoću čega se

određuje veličina čestica u otopini. Ovom metodom moguće je mjeriti čestice raspona veličina od nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara te je stoga pogodna za određivanje veličina nanočestica srebra.⁶

SEM (eng. Scanning Electron Microscope; pretražni elektronski mikroskop) koristi se za dobivanje slika površine uzorka visoke rezolucije. Princip rada isti je kao kod optičkog mikroskopa, ali umjesto fotona mjeri, odnosno skenira, elektrone raspršene od površine uzorka. Ima sposobnost povećanja slike 200.000 puta.⁶

TEM (eng. Transmission Electron Microscope; transmisijski elektronski mikroskop) također se koristi za dobivanje slika uzorka još veće rezolucije nego je moguće dobiti pomoću SEM-a. Osim analize same površine omogućuje i uvid u kristalografsku strukturu nanočestica, mjeri disperziju čestica. Uzorak se uzima ili kao jako tanak odsječak ili kao suspenzija na mrežici. Ipak, rezultati nisu sasvim pouzdani kod analize koloida srebra jer je broj čestica jako malen, pa se ne mogu statistički procijeniti na disperziju čestica. Za točnije rezultate potreban je veći broj čestica.¹³

AFM (eng. Atomic Force Microscope; mikroskop atomske sile) mjeri topografiju uzorka. Igljica nano veličine zakačena na konzolu prelazi preko uzorka, uz pomoć čega se na računaru generira 3D slika uzorka. Na ovaj način mogu se određivati veličina i oblik nanočestica u sve tri dimenzije.⁶

1.5.2.2. Mikrobiološka analiza

Mikrobiološka analiza daje odgovor na najvažnije pitanje – je li otopina koloidnog srebra učinkovita u suzbijanju bakterija te u kojoj mjeri? U tu svrhu primjenjuje se klasični mikrobiološki eksperiment: kolonije bakterija u petrijevim zdjelicama u koje se dodaju razne koncentracije otopina koloidnog srebra uključujući i slijepu probu (vodu) te se prati stanje i brojnost bakterija, a zadovoljavajući rezultat je opustošena kolonija bakterija.¹³

Profesor Ronald J. Gibbs je u članku "Silver Colloids; Do they work?" testirao učinkovitost pet različitih komercijalno dostupnih otopina koloidnog srebra na gram negativnoj bakteriji *Pseudomonas aeruginosa*, koja je odabrana jer je uobičajena bakterija koja uzrokuje infekcije i ima srednje jaku otpornost na antibiotike.¹

Određena količina koloida srebra pomiješana je sa standardnom koncentracijom bakterija te se bilježila količina preostalih živih bakterija kroz vrijeme. Cilj je bio odrediti koliko brzo će pojedino koloidno srebro ubiti bakterije, hoće li bakterije biti u potpunosti uništene te hoće li se bakterije oporaviti. Neki uzorci pokazali su slabu učinkovitost, otprilike jednako onoj kao kod obične vodovodne vode u kojoj zaostali klor djeluje jednako baktericidno kao i koloid koji je ocijenjen ocjenom 0. Ocjene 1 i 2 dobili su koloidi kod kojih je započelo odumiranje bakterija, no zatim su se ipak oporavile, vjerojatno jer se potrošilo svo prisutno koloidno srebro. Ocjene 3 i 4 dobili su koloidi srebra koji su uspjeli u potpunosti uništiti bakterije, i to za 25, 11,5 i 2,8 sati. Idealna otopina bi to postigla za otprilike 1,5 sat.

Na ove rezultate utjecala je činjenica da se dodavanjem koloida u otopinu s bakterijama smanjila koncentracija samog koloida, a time i učinkovitost. Ovo ne bi predstavljalo problem u situacijama kad se koloid ne razrjeđuje, primjerice pri vanjskoj primjeni na rane, opekotine i porezotine. Također, pri višestrukom dodavanju koloida u otopinu s bakterijama u određenim intervalima povećala se učinkovitost koloida; broj živih bakterija pao je na nulu u manje od sat vremena.

Provedeno je testiranje učinkovitosti srebra na antibiotski otporne (ampicilin) i neotporne sojeve gram negativne bakterije *Escherichia coli*, zatim neotporne gram pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus* te gram negativne bakterije otporne na više antibiotika (kloramfenikol, amoksisilin, trimetoprim) *Salmonella typhus*. Učinkovitost nanočestica srebra u suzbijanju bakterija bila je mnogo izražajnije kod gram negativnih bakterija, bez obzira na to jesu li ili nisu otporne na antibiotike, nego kod gram pozitivnih bakterija.¹² Uzrok ovakvom ponašanju razjasnit će se u idućem poglavlju.

Zanimljivo je vidjeti i testiranje koje kombinira mikrobiološku analizu i instrumentne metode, u ovom slučaju SEM. Četiri različite gram negativne bakterije; *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhus*, *Escherichia coli*, tretirane su nanočesticama srebra različitih veličina i oblika. Proučavanje uzoraka pomoću SEM-a pokazalo je u ovom eksperimentu da otopina nanočestica srebra sadrži širok raspon veličina čestica, najčešće oko 20 nm te da su reagirale s površinom kao i s unutrašnjošću bakterija.⁶

Zaključak je da je baktericidni učinak prisutan te je posebno jak kod gram negativnih bakterija, no ovisi od proizvoda do proizvoda, od šarže do šarže. Sustavno ispitivanje bi bilo korisno, no svejedno bi bilo potrebno testirati svaku šaržu posebno.

1.6. PRIMJENA KOLOIDNOG SREBRA

Nanočestice plemenitih metala pokazuju razne zanimljive karakteristike u odnosu na svoju makroskopsku fazu. Imaju mogućnost primjene u raznim područjima: medicini, biotehnologiji, optici, mikroelektronici, katalizi, pohrani podataka, energetske učinkovitosti. Otopine koloidnog srebra posebno su zanimljive jer pokazuju antimikrobna svojstva, s mogućom primjenom u farmaciji, medicini, veterini, industriji hrane, pročišćavanju voda.¹⁰

Medicinska upotreba srebra dokumentirana je još 1000 godina pr. Kr. Srebro je tradicionalni aditiv u kineskoj i indijskoj ajurvedskoj medicini.¹⁰ Rani istraživači proučavali su desetke metala u koloidnim suspenzijama i otkrili su da su dva metala, srebro i živa, vrlo učinkoviti u suzbijanju bakterija. Godinama su se koristili u pripremi raznih napitaka, no suspenzija žive, iako učinkovita u borbi protiv bakterija, uzrokovala je brojne probleme pacijentima koji su je uzimali. Živin koloid ubijao je bakterije *Balantidium coli* u 2 minute izlaganja, a koloid srebra u 6 minuta, no tada korišten koloid srebra bio je mnogo više koncentracije nego se danas smatra sigurnom za korištenje (Henry Crookes, 1910.). Simpson i Hewlett utvrdili su 1914. da koloid srebra koncentracije 500 ppm ubija bacil tifusa u 15 minuta, odnosno pri koncentraciji od 2 ppm u 2 sata što je ukazalo na to da i vrlo niske koncentracije koloida srebra mogu biti učinkovite. Brentano i ostali proučavali su 1966. korištenje koloida srebra i ionskog srebra u tretiranju opekotina te zaključili da daje najpovoljniji tretman takvih ozljeda. Beeker 1985. zaključuje da je samo ponovno otkrivena činjenica koja je bila poznata već stoljećima; srebro ubija bakterije.¹

Znanost se danas okreće ka nanočesticama, posebno nanočesticama srebra koje pokazuju antibakterijski učinak, kad sve veći broj bakterija pokazuje otpornost prema antibioticima. Neke nanočestice su dokazano dobri katalizatori, a raspon veličina im često odgovara veličini ljudskih proteina, što možda i jest u samoj srži efikasnosti srebra u borbi protiv bakterija.⁶

1.6.1. Primjeri upotrebe koloidnog srebra, nanočestica srebra i iona srebra

Srebro i ion srebra spadaju u biocide dugog vijeka trajanja, vrlo su stabilni pri visokim temperaturama i slabo isparljivi.¹⁰ Srebro je neselektivni biocid, uništava oko 650 različitih mikroorganizama, pa kao takav nalazi široku primjenu. Antimikrobni biocidi bazirani na srebru koriste se u preradi drva. U obradi voda, dezinficijensi bazirani na srebru i bakru koriste se u bolnicama i hotelima za kontrolu infektivnih agensa (primjerice *Legionella*). Srebro se koristi za sterilizaciju reciklirane vode na svemirskoj stanici MIR i na NASA-inim svemirskim *shuttle*-ovima, a posebna prednost pred korištenjem joda u tu istu svrhu je ta da srebro nije potrebno odfiltrirati prije konzumacije vode. Tretmani kože bazirani na srebru koriste se za tretiranje infekcija uzrokovane opeklinama, otvorene rane i kronične čireve. Kod njege rana dijabetičara srebro je posebno korisno jer pomaže kod sekundarnih infekcija.¹²

Srebro se koristi za posrebrivanje ortopedskih metala. Koloid srebra mogao bi biti od velike pomoći u borbi protiv bakterijskog soja MRSA-e (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) koji izaziva velike probleme u bolnicama; predlaže se uvođenje upotrebe sapuna s koloidnim srebrom, dodavanje srebra u bolničke kvake i rukohvate. Neki proizvođači nude čarape tretirane koloidnim srebrom za koje tvrde da uništavaju gljivice na nogama. Tvrtka Samsung koristi na svojim kućanskim uređajima zaštitni sloj sa srebrom kako bi spriječili rast bakterija na površinama uređaja.

Jain i Pradeep su 2004. u članku "Potencijal poliuretanske spužve natopljene nanočesticama srebra kao antibakterijski filter za vodu" istražili mogućnosti proizvodnje jeftinog i efikasnog filtra za vodu, od velike nužnosti za čišćenje zaražene vode u nerazvijenim zemljama, uz pomoć srebra obzirom da ono kontrolira i potiskuje rast bakterija. Pokazalo se da ovakvi filtri imaju baktericidni učinak na bakteriju *Escherichia coli* te su provedena tri različita testa kako bi potvrdili rezultat, a sva tri testa su pokazala da bakterije nisu prisutne nakon filtriranja - voda je odgovarala zahtjevima za pitku vodu po standardu Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 1996.). Prednost ovog filtra je što su korišteni materijali i kemikalije razmjerno jeftini, a postupak izrade spužvastog filtra je jednostavan.⁶

Za pripremu što učinkovitijeg proizvoda koloidnog srebra, odnosno nanočestica srebra, nužno je poznavati mehanizam njihovog baktericidnog učinka.

1.6.2. Bakterije

Bakterije su jednostanični organizmi mikroskopske veličine. Svi elementi stanice, uključujući DNA nalaze se unutar jednog odjeljenja. Glavna podjela bakterija u ovisnosti o debljini stanične stijenke je na dvije grupe: gram pozitivne i gram negativne. Gram pozitivne bakterije nemaju vanjsku membranu, ali imaju debelu mrežastu staničnu stijenku koja se sastoji od peptidoglikana (oko 30 nm) koji štiti unutarnju jednostruku membranu. Gram negativne bakterije imaju samo tanki sloj peptidoglikana (otprilike 2 do 3 nm) između membrane citoplazme i vanjske membrane.^{12, 6}

Kako bi bakterije međudjelovale s okolinom, u membranu imaju ugrađene proteine od kojih svaki ima specifičnu namjenu. Neki od njih su tzv. ionski kanali koji omogućavaju prijenos iona u ili iz stanice difuzijom, drugi proteini prenose molekule konzumirajući energiju u obliku ATP-a, zatim tzv. uniporteri pojačavaju termodinamički već povoljnu reakciju prijenosa molekula kroz membranu iz područja veće u područje niže koncentracije te tzv. kotransporter koji koriste energiju termodinamički povoljne migracije neke tvari da kataliziraju transport druge tvari suprotno gradijentu koncentracije.⁶

1.6.3. Mehanizam baktericidnog učinka iona srebra i nanočestica srebra

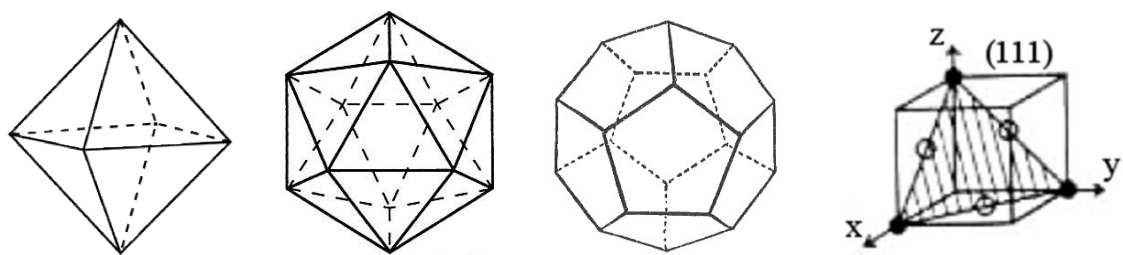
Većina tekućina u ljudskom tijelu su koloidne otopine, suspenzije ultrafinih čestica. Krv primjerice prenosi nutrijente i kisik do stanica. Koloidi srebra najvjerojatnije onemogućuju enzime koje bakterije trebaju za metabolizam kisika, efektivno ih gušeći.¹²

Baktericidni učinak srebra može se podijeliti u dvije grupe, ovisno o tome je li reaktivna komponenta ion srebra ili nanočestica srebra. Baktericidni učinak iona srebra dobro je poznat i korišten, no nije u potpunosti razjašnjen. Eksperimenti pokazuju da ioni srebra mogu učiniti strukturne promjene na staničnoj membrani. Stanična membrana bakterija sadrži veliku količinu vitalnih enzima koji sadrže sumpor te je jedno od mogućih objašnjenja da ioni srebra reagiraju s tim sumpornim i tiolnim grupama te tako mijenjaju morfologiju membrane deaktivirajući enzime. Na površini stanične membrane čine nakupine srebra i sumpora čime ometaju funkcije membrane kao permeabilnost i respiracija.¹² Ta deaktivacija čini membranu ranjivom i olakšava prolaz iona srebra unutar stanice, gdje nastavljaju uništavati različite dijelove stanice. Ioni srebra također

moгу reagirati s fosforним grupama molekula te je eksperimentalno dokazano da to može imati ozbiljan učinak. Primjerice, međudjelovanje iona srebra i DNA, zbog čega bakterija gubi svojstvo repliciranja ili prenošenja mRNA na nove proteine. Ove promjene usporavaju rast bakterija i u konačnici ih ubijaju.⁶

Ipak, sami baktericidni mehanizam nanočestica srebra je gotovo nepoznat, no pretpostavlja se da je taj učinak rezultat sličnog mehanizma kakav je prisutan kod iona srebra.

Snimak interakcije nanočestica srebra i bakterija pokazuje da nanočestice reagiraju s površinom, kao i s unutrašnjošću bakterija, što podsjeća na djelovanje iona srebra na bakterije te bi stoga moglo neposredno ukazati na to da nanočestice srebra reagiraju s istim kemijskim grupama kao i ioni srebra te da uzrokuju istu štetu. Te nanočestice bile su u rasponu veličina 1-10 nm. Manje čestice lakše reagiraju sa staničnom membranom, lakše prodiru kroz staničnu membranu te imaju mnogo veći omjer površine prema volumenu. Male metalne čestice, veličine oko 5 nm, pokazuju posebne elektronske efekte u obliku promjena u lokalnoj elektronskoj strukturi površine, što im pospješuje reaktivnost površine. Proučavala se i morfologija aktivnih nanočestica srebra te se pokazalo da su uglavnom bile oktaedri, ikosaedri te dodekaedri. Zajedničko im je da imaju veliki broj visoko reaktivnih $\{111\}$ ploha. Na slici 3 prikazani su ovi oblici i ploha. Također, pretpostavlja se da nanočestice srebra luče i manju količinu iona srebra koji djeluju dodatno baktericidno.⁶



Slika 3. Oktaedar, ikosaedar, dodekaedar, ploha $\{111\}$

1.6.4. Mjere opreza

Nano zagađenje je otpad nastao iz nano uređaja, tijekom izrade nano materijala, ili nakon uporabe nano materijala. Može biti opasan zbog svoje veličine; može lebdjeti zrakom, može lako ući unutar biljnih i životinjskih stanica te uzrokovati još nepoznate i nedovoljno istražene nuspojave.¹² Stoga je važno proučiti možebitni učinak nanočestica srebra na ljudsko zdravlje.

Članak autora Braydich-Stolle i ostali, iz 2005. godine, naslova "*In vitro* citotoksičnost nanočestica na embrionalne matične stanice sisavaca" opisuje učinak nanočestica srebra na rasplodne stanice. Ukoliko je učinak na embrionalne stanice negativan, može doći do mutacije ili druge genetske promjene što bi moglo imati negativan učinak na potomstvo. Testirane su različite nanočestice (srebro, molibden, aluminij) i njihov utjecaj na staničnu morfologiju, funkciju mitohondrija i protjecanje membrane. Testiranje je pokazalo da nanočestice srebra drastično mijenjaju morfologiju te da ta promjena uzrokuje apoptozu, tj. staničnu smrt kod nekih stanica. Nanočestice srebra drastično smanjuju funkciju mitohondrija i sposobnost preživljavanja čak pri malim koncentracijama (5-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Nanočestice srebra tek malo uzrokuju pojačano protjecanje membrane, što ukazuje da nanočestice srebra jače djeluju na stanični metabolizam nego na staničnu membranu i plazmu. Sumirano, rezultati pokazuju da nanočestice srebra zaista djeluju na embrionalne matične stanice te da su najtoksičnije od svih proučavanih nanočestica u tom eksperimentu.⁶

Na Odense Universitets Hospital provedeno je još jedno istraživanje u kojem se promatralo taloženje srebra u tijelu. Prema njihovom istraživanju, srebro se taloži u tijelu no nisu pronađeni nikakvi dokazi da je to toksično ili bilo kakve druge nuspojave prouzročene tim taloženjem. Nadalje, pokazalo se da bi se nanočestice srebra s vremenom trebale izlučiti iz tijela. Neke tvrtke, poput Samsunga, podupiru ovu izjavu tvrdeći da su i sami došli do istih rezultata testirajući zdravstvenu ispravnost svojih proizvoda prevučениh zaštitnim slojem koji sadrži nanočestice srebra.⁶

Nanočestice mogu uzrokovati nepoželjne učinke zbog svoje veličine i svojstava. Njihova veličina im omogućuje vrlo veliku pokretljivost kako u okolišu tako i unutar ljudskog tijela, mogu prodrijeti u tkivo kroz pluća, kožu i probavu. Nužno je provesti daljnja znanstvena istraživanja prije nego bi bilo etički opravdano puštanje u uporabu proizvoda s nanočesticama.

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. PRIMIJENJENE KEMIKALIJE I MATERIJALI

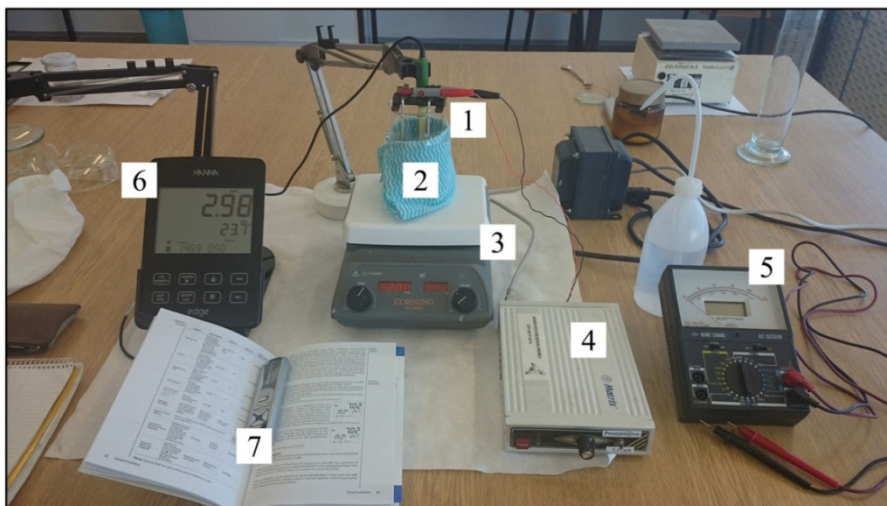
Korištene kemikalije su elementarno srebro (99,99%), ultračista voda i natrijev klorid.

- Elementarno srebro, čistoća 99,99%, u obliku žice promjera 3 mm
- ultračista voda pripravljena je na Zavodu za anorgansku tehnologiju, a provodnost joj pri 25,7 °C iznosi 1,51 μScm^{-1}
- Razrijeđena otopina natrijevog klorida (0,1 g NaCl / 100 mL H₂O), NaCl proizvođača Kemika, Zagreb

2.2. APARATURA ZA DOBIVANJE KOLOIDNOG SREBRA

Aparatura za sintezu koloidnog srebra pomoću LVDC metode prikazana je na slici 4, a sastoji se od:

- Generatora niskog napona za dobivanje koloidnog srebra, laboratorijske izvedbe
- Uređaja HANA-EDGE, koji ima funkciju konduktometra, pH metra i mjerenja DO (Dissolved Oxygen), odnosno otopljenog kisika
- Elektroda od srebrne žice promjera 3 mm
- Staklene čaše 400 cm³
- Magnetne miješalice Corning PC-420D
- Digitalnog voltmetra Hung Chang HC-550DB
- Izvora laserske zrake (laser pencil)



Slika 4. Aparatura za dobivanje koloidnog srebra sastoji se od srebrnih elektroda (1), staklene čaše (2), magnetne miješalice (3), generatora niskog napona (4), digitalnog voltmetra (5), konduktometra ili TDS-a (6) i izvora laserske zrake (7).

2.2.1. Generator niskog napona za dobivanje koloidnog srebra

Generator korišten u ovom eksperimentu je generator niskog napona za dobivanje koloidnog srebra, a sastavljen je na Zavodu za anorgansku tehnologiju. Ovaj generator koristi se u LVDC metodi, odnosno za dobivanje koloidnog srebra uz pomoć niskog napona istosmjerne struje. Tom metodom nastaje oko 85% ionskog srebra i oko 15% koloidnog srebra. Generator daje napon od oko 30V, ovisno o potrebi eksperimenta. Uređaj je moguće namjestiti na dva različita načina rada; ili da daje promjenjivu jakost istosmjerne struje raspona 0 do 2,5 mA, ili da daje struju konstantne jakosti 2,5 mA. U ovom eksperimentu korišten je promjenjiv način rada.

2.2.2. Digitalni konduktometar HANA-EDGE

Korišteni digitalni konduktometar HANA-EDGE ima više funkcija: konduktometar, pH metar, DO (eng. Dissolved Oxygen; otopljeni kisik), a može se umjeriti i da funkcionira kao TDS.

2.2.2.1. Umjeravanje konduktometra HANA-EDGE

1. Određivanje konstante ćelije

Ova opcija može se koristiti za izvođenje ručnog umjeravanja uz prilagođenu standardnu otopinu. Prvo je potrebno isprati sondu s alikvotom standarda i otresti višak otopine. Zatim se sondu postavi u standardnu otopinu tako da rupice omotača sonde budu prekrivene otopinom. Pritisne se SETUP i uz upotrebu strelica postavi se na C. F. (cm^{-1}) (C. F. = Cell Factor; hrv. faktor ćelije), zatim se pritisne MODIFY i koristi tipke \wedge ili \vee kako bi se promijenio iznos C. F. (cm^{-1}) sve dok čitač ne očita prilagođenu standardnu vrijednost. Zatim se pritisne tipka CFM, na što se pojavi poruka "Manual calibration clears previous calibrations" odnosno "ručno umjeravanje briše prijašnja umjeravanja" u trećoj liniji zaslona. Napisi CAL i CFM će treperiti. Za kraj je potrebno pritisnuti tipku CFM kako bi se potvrdilo ručno umjeravanje.

Napomena: GLP će pokazati naziv "Manual" za standardnu otopinu. Korištenje ove tehnike umjeravanja izbrisat će sva prethodna umjeravanja učinjena u CAL. Logirani podaci imat će napomenu "Manual" tj. ručno umjeravanje kao standard.

2. Opća uputa za umjeravanje EC/TDS

Uređaj je potrebno umjeravati učestalo, posebno ako se zahtjeva velika točnost. Instrument bi trebao biti pomno umjeravan kad god je EC sonda zamijenjena, nakon testiranja agresivnih kemikalija, ako se u trećoj liniji LCD zaslona pojavi natpis "CAL DUE", odnosno najmanje jednom tjedno.

Svaki put je za umjeravanje potrebno koristiti svježu standardnu otopinu i izvesti potrebno održavanje elektroda. Preporučljivo je da se koristi standard za umjeravanje koji je po svojstvima blizak uzorku.

Priprema: Mala količina standardne otopine ulije se u tikvicu. Po mogućnosti koristiti plastičnu tikvicu kako bi se izbjegla elektromagnetska interferencija. Za precizno umjeravanje te kako bi se smanjila mogućnost uzajamne kontaminacije, preporuča se koristiti dvije tikvice za standardnu otopinu; jednu za ispiranje sonde i jednu za umjeravanje.

Procedura: Potrebno je izabrati standard koji će se koristiti za umjeravanje. 0,00 μS (sonda u zraku) se može koristiti za offset umjeravanje te je to potrebno prvo učiniti. HANA standardi vodljivosti su dostupni pri vrijednostima od 84 μScm^{-1} , 1413 μScm^{-1} , 5,00 mScm^{-1} , 12,88 mScm^{-1} , 80,0 mScm^{-1} i 111,8 mScm^{-1} te se koriste za umjeravanje faktora ćelije (C. F.) tj. konstante elektrode. Zatim je potrebno isprati sondu s kalibracijskom otopinom ili deioniziranom vodom te otresti višak otopine, a zatim uroniti sondu u otopinu za umjeravanje tako da rupice na plaštu sonde budu potpuno uronjene. Ako je moguće, sondu treba centrirati u tikvici podalje od dna ili stijenki tikvice. Sondu treba podići i spustiti kako bi se napunila središnja šupljina, zatim lupkati kako bi se uklonili mjehurići zraka koji su možda ostali unutar plašta sonde. Kako bi se započelo s umjeravanjem potrebno je pritisnuti tipku CAL. Natpis "CAL" i prepoznata standardna vrijednost pojavit će se u trećoj liniji LCD zaslona. Ako je potrebno, pritiskanjem tipke strelica može se odabrati druga standardna vrijednost. Znak s pješčanim satom i natpisom "STIR" (miješaj) bit će iskazani na zaslonu, a natpis "WAIT" (čekaj) će treptati na LCD zaslonu sve dok očitavanje ne bude stabilno. Kad je očitavanje stabilno i približno odabranom standardu, natpis "CFM" će treptati te će biti prikazani natpis "SOL STD" i vrijednost. Nakon toga je potrebno pritisnuti tipku "CFM" kako bi potvrdili umjeravanje. Instrument pokazuje natpis "SAVING" (čuvam), prema vrijednosti umjeravanja i vraća se na način za mjerenje.

Za potrebe ovog eksperimenta korištena je standardna otopina 0,01 M KCl za umjeravanje, oznake proizvođača HI7031. U tablici 3 su dane vrijednosti vodljivosti ove standardne otopine pri različitim temperaturama.

Tablica 3. Vrijednosti vodljivosti ovisno o temperaturi za standardnu otopinu 0,01 M KCl korištenu za umjeravanje konduktometra HANA-EDGE

Temperatura (°C)	20	21	22	23	24	25	26	27
Specifična provodnost (μScm^{-1})	1278	1305	1332	1359	1386	1413	1440	1467

Za provođenje ovog eksperimenta uređaj je namješten da bilježi podatke o vodljivosti, TDS-u i temperaturi automatski svakih pet minuta.

2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA

Sva aparatura, elektrode i elektrokemijska ćelija koji dolaze u dodir s destiliranom vodom moraju se temeljito očistiti te isprati destiliranom vodom prije upotrebe.

Ukoliko je na anodi prisutno crnilo, sloj srebrnog sulfida, može se lagano izbrusiti i obrisati. Katodu nije potrebno čistiti, tj. iako će zaštitni sloj donekle usporiti reakciju, isto tako će i spriječiti otpadanje većih čestica srebra u otopinu. Na slici 5 vidljiv je tamni talog na elektrodama nastao nakon provedenog eksperimenta.



Slika 5. Elektrode nakon provedenog eksperimenta; vidljiv je tamni talog.

Voda se može zagrijati kako bi se povećala vodljivost za oko 2% za svaki °C te da se ovako ubrza početak reakcije. Obzirom da se prilikom ovog eksperimenta koristila ultračista voda, dodavalo se 5 mL 0,1%-tne otopine NaCl na 250 mL ultračiste vode, kako bi reakcija brže otpočela.

Elektrode se postavljaju na nosač tako da ne dodiruju posudu, paralelno jedna s drugom, na udaljenosti od oko 5 cm, kako bi se osigurali uvjeti za ravnomjeren raspored gustoće struje u otopini. Potrebna jakost struje ovisna je o površini elektroda, a preporučena gustoća struje je 0,1 do 0,15 mAcm⁻². Pri jakosti struje od 0,5 mA, i za površinu uronjenog dijela elektrode od 5,65 cm² gustoća struje iznosi 0,09 mAcm⁻². Održava se napon od 30V.

Proračun:

$$I = 0,5 \text{ mA}$$

$$r = 1,5 \text{ mm (srebrna žica promjera 3 mm)}$$

$$l = 6 \text{ cm (uronjeni dio elektrode)}$$

$$P = 2 r \pi l = 5,65 \text{ cm}^2$$

$$i = I / P = 0,09 \text{ mAcm}^{-2}$$

Elektrode se spoje na generator niskog napona istosmjerne struje. Vodljivost se automatski očitava u pravilnim vremenskim razmacima pomoću HANA-EDGE konduktometra. Napon se kontrolira pomoću digitalnog voltmetra. Otopina se miješa pomoću magnetne miješalice.

U početku reakcija je spora, s vremenom se ubrzava jer srebro odlazi u otopinu pa opada otpor, što znači da uz konstantan napon raste jakost i gustoća struje. Nakon nekog vremena ovo dovodi do toga da se ne može kontrolirati veličina čestica koje odlaze u otopinu. Stoga je bolja alternativa generator srebra sa sklopom za održavanje konstantne struje. Kad reakcija ubrza jače se izlučuje i vodik i javlja crni talog na anodi jer je tada jakost struje prešla prag potencijala potrebnog za oksidiranje srebra. Moguće je i da se razviju kristali srebrnog oksida na elektrodama koji će na kraju otpasti u otopinu te je dobro profilirati otopinu iako je ovaj spoj neškodljiv. Na katodi se odvija taloženje elementarnog srebra.¹³

Pojava žute maglice ukazuje na prisustvo većih čestica srebra koje u pravilu treba izbjegavati.¹³ Čestice srebra koje odbijaju žutu svjetlost veličine su od 0,2 do 1,2 μm , odnosno dosta su veće nego je to poželjno za koloid srebra. Također, žuta boja moguća je i zbog onečišćenja drugim tvarima koje daju žutu boju.¹

Elektroliza se provodi zadano vrijeme, a dobivena otopina pohrani se u tamnu staklenu bocu koja ne propušta UV zračenje.

2.4. PROCJENA KONCENTRACIJE KOLOIDNOG SREBRA NA OSNOVI INTENZITETA TYNDALLOVOG EFEKTA

Dobiveni uzorci najlakše se kvalitativno provjeravaju pomoću Tyndallovog efekta. Uzorak se osvijetli izvorom laserskog svjetla te ukoliko je dobiven koloid zraka bude vidljiva unutar otopine.

Prisustvo vidljive zrake laserskog svjetla ukazuje na prisutnost koloidnih čestica srebra, ali i ionskog srebra jer metodom LVDC nastaje otprilike 85% iona srebra i 15% koloidnih čestica srebra.

Ako su prisutne i veće čestice srebra laserska zraka zaiskri odbijajući se od te čestice. Uočavanjem ovog iskrenja može se kvalitativno odrediti veća ili manja prisutnost većih čestica srebra.

Idealna otopina koloidnog srebra ima koncentraciju od 20 do 30 ppm, treba pokazivati slab, ali prisutan Tyndallov efekt, a nakon što odstoji preko noći trebala bi zadržati prozirnu boju ili tek djelomično požutjeti.¹³

3. REZULTATI I RASPRAVA

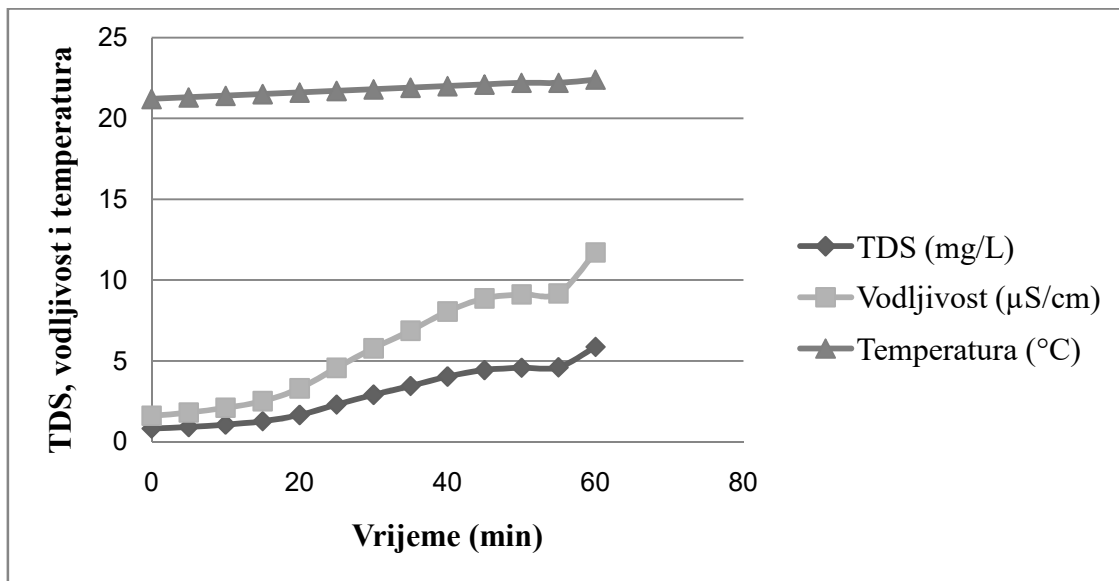
Eksperimenti su se provodili pri različitim uvjetima sinteze. Za prvu seriju eksperimenata koristila se ultračista voda provodnosti $1,51 \mu\text{Scm}^{-1}$ (pri $25,7 \text{ }^\circ\text{C}$), a za ostale eksperimente upotrijebilo se 250 mL ultračiste vode uz dodatak 5 mL razrijeđene otopine natrijevog klorida (0,1 g NaCl na 100 mL H_2O). U oba ova slučaja sinteza se provodila višekratno, svaki put uz različito vrijeme trajanja procesa. Prilikom provođenja sinteze automatski se svakih pet minuta bilježila vrijednost provodnosti, TDS i temperature te se kvalitativno provjeravao intenzitet Tyndallovog efekta pomoću laserske zrake.

Mjerenja u kojima se koristila samo ultračista voda provodila su se u intervalima od 60, 75 i 90 minuta. U tablici 4 prikazane su vrijednosti zabilježene pri mjerenju od 60 minuta, a na isti način vođena je evidencija i pri ostalim mjerenjima.

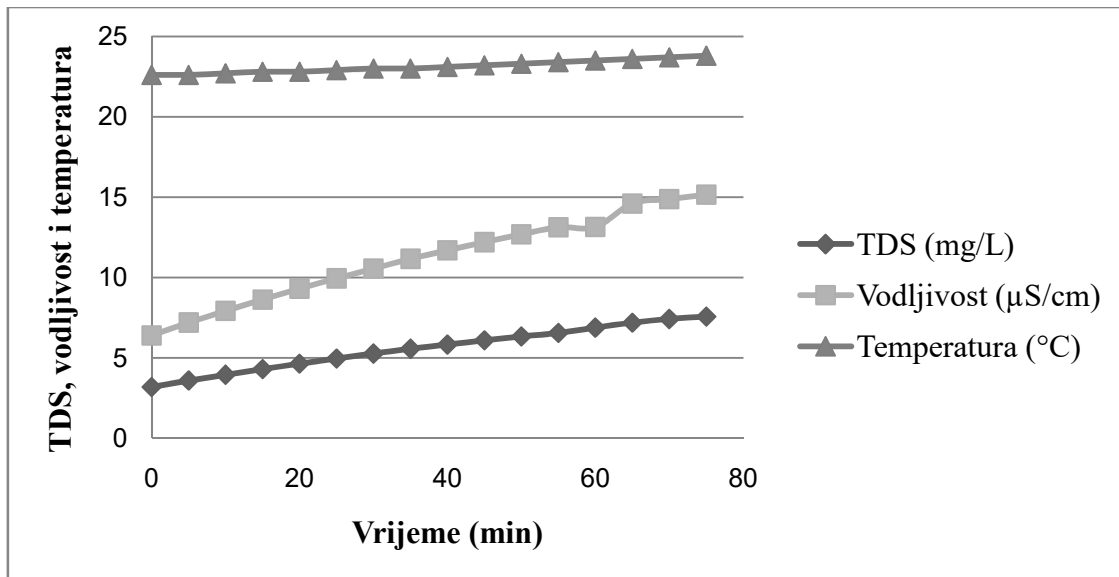
Tablica 4. Vrijednosti za TDS, vodljivost i temperaturu te procjena intenziteta Tyndallovog efekta za sintezu u ultračistoj vodi u trajanju od 60 minuta.

Vrijeme (minute)	TDS (mg dm^{-3})	Vodljivost (μScm^{-1})	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Tyndallov efekt (Intenzitet)
0	0,80	1,60	21,2	-
5	0,89	1,79	21,3	-
10	1,04	2,09	21,4	-
15	1,25	2,50	21,5	-
20	1,64	3,29	21,6	-
25	2,28	4,56	21,7	-
30	2,89	5,77	21,8	-
35	3,43	6,86	21,9	-
40	4,02	8,05	22,0	-
45	4,42	8,86	22,1	-
50	4,56	9,11	22,2	-
55	4,59	9,17	22,2	slabo uočljiv
60	5,85	11,7	22,4	slabo uočljiv

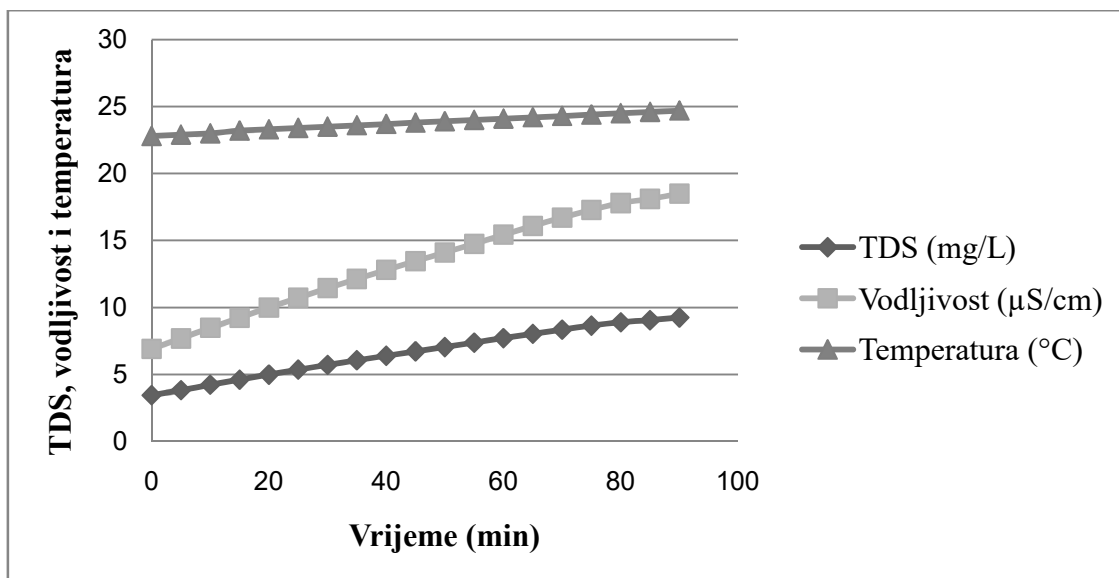
Na slikama 6, 7 i 8 prikazani su rezultati mjerenja za sinteze u ultračistoj vodi u trajanju od 60, 75 i 90 minuta, odnosno ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu.



Slika 6. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi u trajanju od 60 minuta.



Slika 7. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi u trajanju od 75 minuta.



Slika 8. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi u trajanju od 90 minuta.

Sinteze provedene u ultračistoj vodi pokazale su vrijednosti TDS-a od $5,85 \text{ mg dm}^{-3}$ nakon 60 minuta, što numerički odgovara vrijednosti TDS-a od $5,85 \text{ ppm}$. Za 75 minuta vrijednost TDS-a je $7,58 \text{ mg dm}^{-3}$, a nakon 90 minuta je $9,25 \text{ mg dm}^{-3}$. Na ovaj način nije moguće postići potrebnu koncentraciju od $20 - 30 \text{ ppm}$ u zadano vrijeme od 2 sata. Problem je u korištenju ultračiste vode jer joj je provodnost preniska zbog jako malog sadržaja iona, pa je sinteza jako spora.

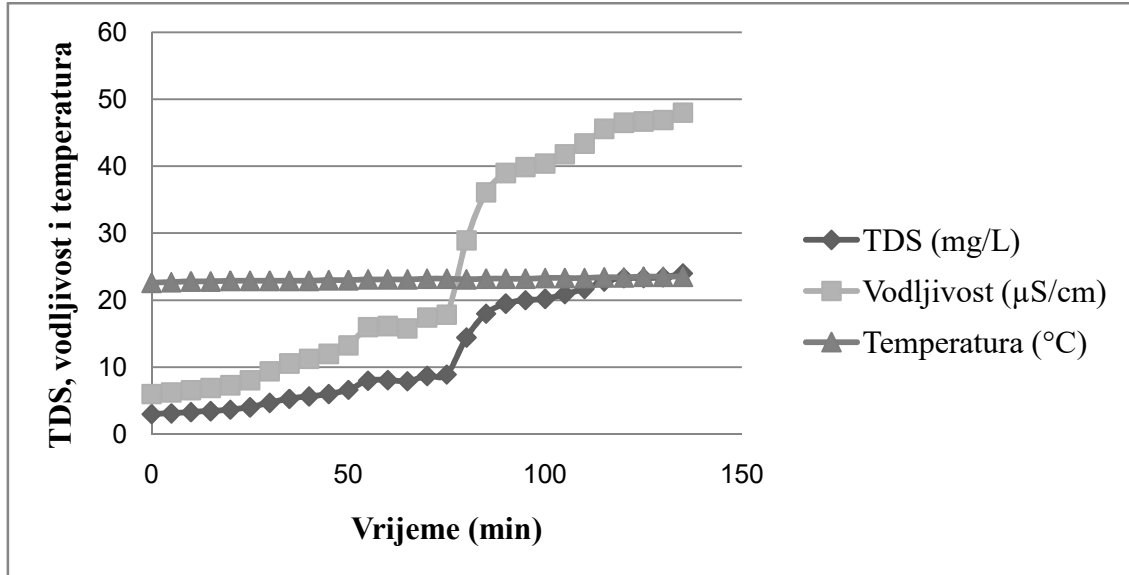
Sve tri otopine pokazale su Tyndallov efekt. U prvom mjerenju od 60 minuta, Tyndallov efekt je bio slabo uočljiv, a pojavio se nakon 55 minuta provedbe procesa, pri TDS-u od $4,59 \text{ mg dm}^{-3}$. U drugom mjerenju od 75 minuta, pojavio se nakon 30 minuta, također slabo uočljiv. U mjerenju od 90 minuta nakon 25 minuta pojavio se slabo uočljiv Tyndallov efekt, a na samom kraju provedbe procesa bio je dobro uočljiv.

U sva tri mjerenja vidljivo je da temperatura linearno raste, što je posljedica javljanja električne struje u otopini i sve većeg broja otopljenih čestica koje svojim gibanjem podižu temperaturu.

Vidljiv je i rast vodljivosti, odnosno TDS-a te ovaj porast nije strogo linearan, već pokazuje sve veći porast kako odmiče vrijeme sinteze. Naime, u početku je sinteza vrlo spora jer su nositelji naboja prisutni u gotovo zanemarivoj količini. No, kako količina iona u otopini raste tako je i rast vodljivosti i TDS-a sve izraženiji.

Nakon mjerenja u ultračistoj vodi izvedena je proba s običnom vodovodnom vodom kako bi se bolje proučio utjecaj korištene vode na brzinu sinteze koloidnog srebra. Mjerenje se provodilo kao i dosad, no nakon 75 minuta provedbe procesa dodano je 5 mL obične vodovodne vode. Iznos TDS-a u tom trenu se naglo poveća s 8,92 na 14,44 mg dm⁻³. Ovaj iznos TDS-a naravno ne potječe od iona i čestica srebra, već raznih iona prisutnih u vodovodnoj vodi. Daljnji rast TDS-a potječe od iona i čestica srebra koje se otpuštaju u otopinu s elektrode. Rezultati ovog eksperimenta grafički su prikazani na slici 9.

Prosječan rast TDS-a u sintezi s ultračistom vodom u 60 minuta provedbe procesa iznosi 0,42 mg dm⁻³ u svakom petominutnom intervalu. Za usporedbu, prosječan rast TDS-a u sintezi s ultračistom vodom nakon dodatka vodovodne vode iznosi 0,60 mg dm⁻³ u svakom petominutnom intervalu, od trenutka dodavanja vodovodne vode do kraja provedbe procesa. Dakle, porast TDS-a, kao i vodljivosti, pokazao se znatno bržim u slučaju dodatka vodovodne vode u usporedbi s ultračistom vodom. Ovaj brži porast rezultat je prisustva većeg broja iona koji pospješuju prijenos električne struje kroz otopinu, odnosno otapanje anode.

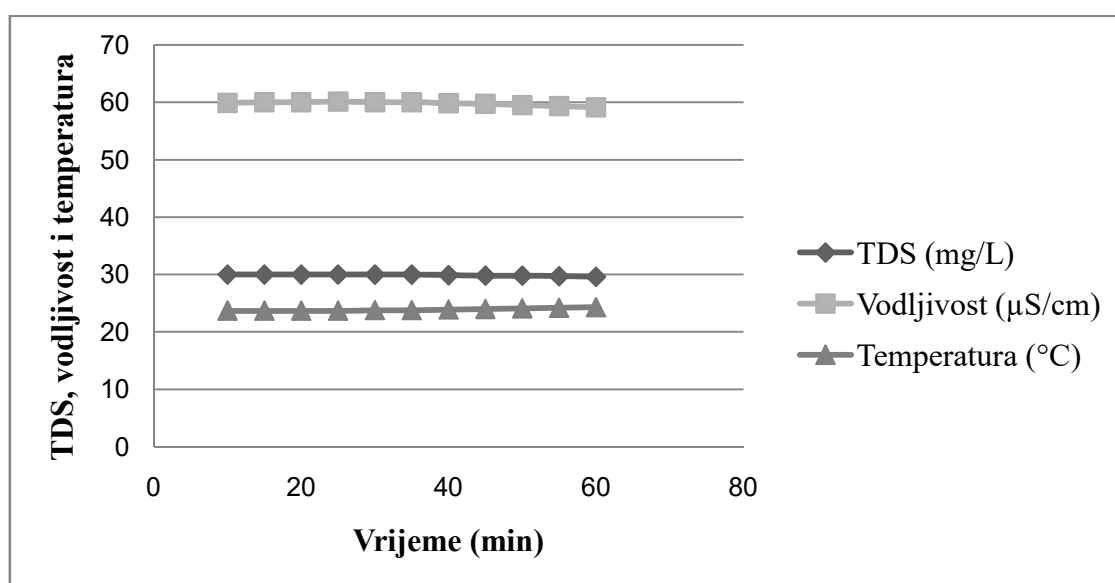


Slika 9. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi, uz dodatak vodovodne vode nakon 75 minuta sinteze, u trajanju od 135 minuta.

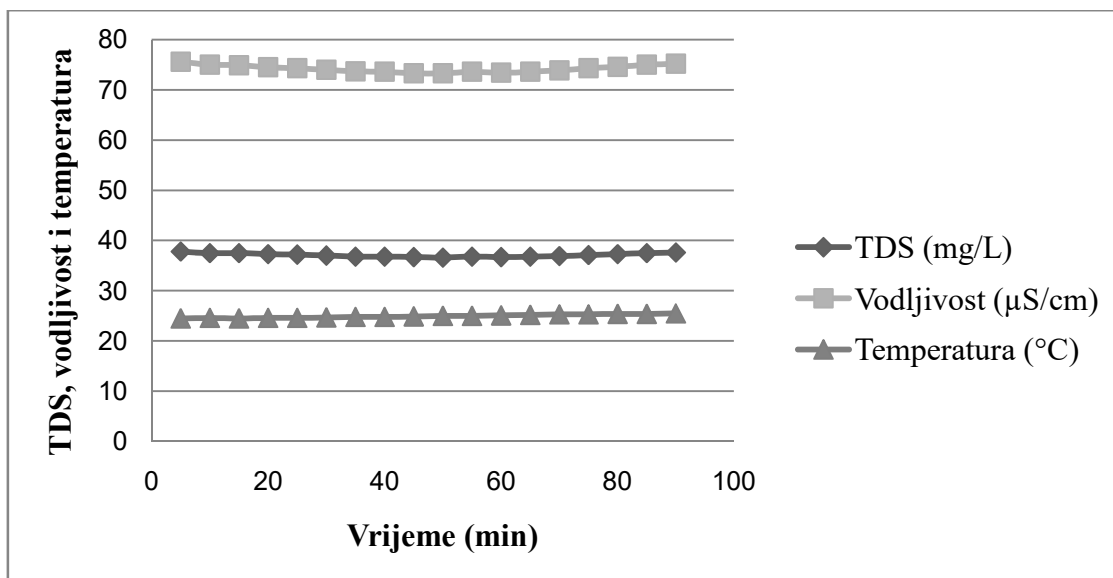
Radi mogućeg neujednačenog sastava vodovodne vode, za daljnju provedbu eksperimenata i početno ubrzanje procesa sinteze korištena je ultračista voda uz dodatak malih količina razrijeđene otopine NaCl-a.

Također, uz vodovodnu vodu i vremenu sinteze od dva sata nije uočen značajniji Tyndallov efekt, mada je TDS imao visoke vrijednosti. Ovo ukazuje da je većina srebra otpušteno s anode u ionskom obliku, a premali dio u obliku čestica te stoga nije dobiveno koloidno srebro dovoljne koncentracije čestica, odnosno dovoljno zadovoljavajuće kvalitete.

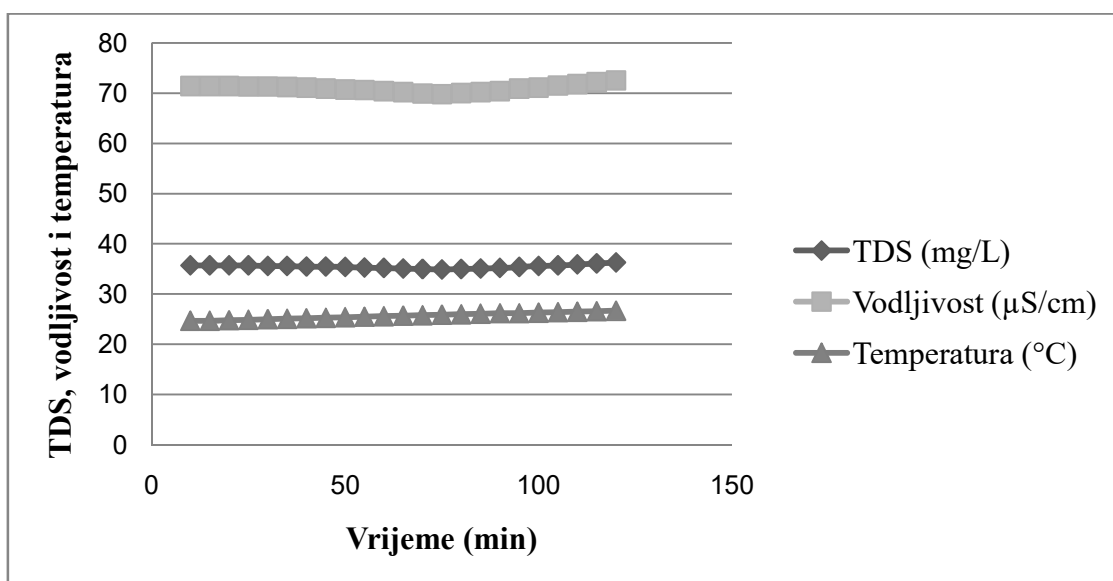
U idućim mjerenjima uz ultračistu vodu koristio se dodatak razrijeđene otopine NaCl. Na 250 mL ultračiste vode dodavano je 5 mL NaCl (0,1 g NaCl na 100 mL H₂O). Rezultati tih mjerenja grafički su prikazani na slikama 10, 11 i 12, a na slici 13 je posebno istaknuta ovisnost TDS-a o vremenu za sva tri mjerenja.



Slika 10. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi s dodatkom razrijeđene otopine NaCl u trajanju od 60 minuta.



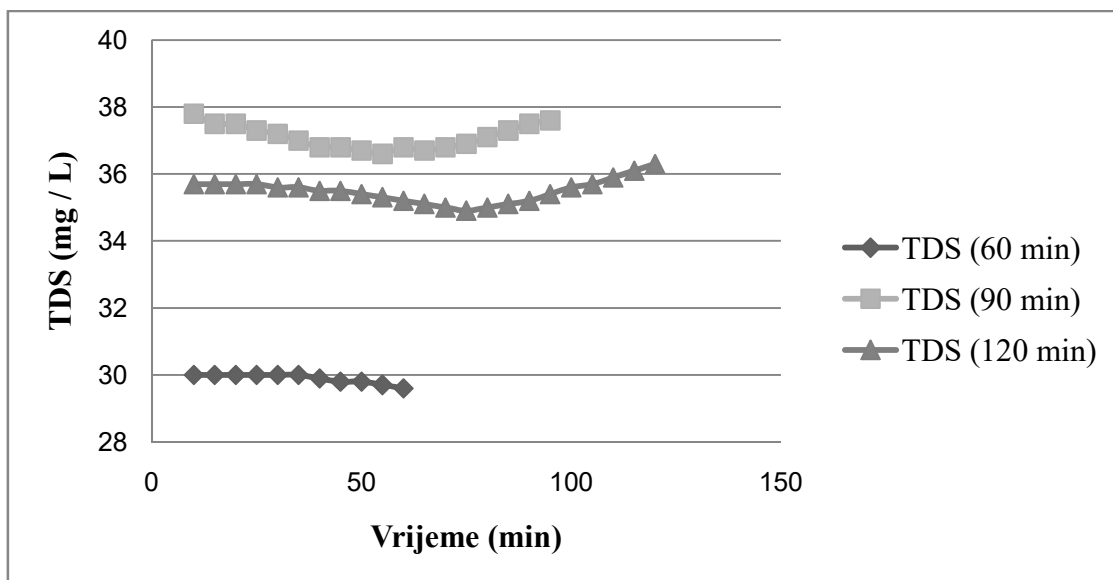
Slika 11. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi s dodatkom razrijeđene otopine NaCl u trajanju od 90 minuta.



Slika 12. Ovisnost TDS-a, vodljivosti i temperature o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi s dodatkom razrijeđene otopine NaCl u trajanju od 120 minuta.

Iz slika 10, 11 i 12 vidljivo je da su početna vodljivost i početni TDS u mnogo višim iznosima nego u slučaju korištenja samo ultračiste vode. Ovaj povišeni iznos vodljivosti potječe od prisustva iona Na^+ i Cl^- . Napredovanjem sinteze u početku dolazi čak do smanjivanja vodljivosti što je rezultat reagiranja aniona klora s novootpuštenim kationima srebra s elektrode. Nakon nekog vremena postiže se ravnoteža, reakcija ne

napreduje i daljnjim otpuštanjem iona srebra povećava se njihova koncentracija u otopini. Ovo povećanje koncentracije iona srebra uočljivo je daljnjim povećanjem vodljivosti otopine. Za bolju ilustraciju, na idućoj slici prikazana je ovisnost TDS-a o vremenu za ove otopine.



Slika 13. Ovisnost TDS-a o vremenu za sintezu u ultračistoj vodi s dodatkom razrijeđene otopine NaCl u trajanju od 60, 90 i 120 minuta.

U sintezi od 60 minuta tek je došlo do početka potrošnje prisutnih iona i smanjenja TDS-a, no sinteza nije dovoljno dugo trajala da dođe i do porasta TDS-a. Kod sinteze od 90 minuta vidljivo je da je došlo do potrošnje prisutnih ionskih vrsta i porasta TDS-a uslijed otpuštanja iona srebra, no nije prošlo dovoljno vremena da dođe do značajnijeg otpuštanja iona srebra i čestica srebra u otopinu. Tek kod treće sinteze u trajanju od 120 minuta vidljivo je trošenje iona u obliku smanjenja TDS-a, zatim porast TDS-a zbog otpuštanja iona srebra, ali i sve veći porast TDS-a kako sinteza odmiče. Ovaj veći porast posljedica je povećanja količine iona koji pospješuju prijenos električne struje i otapanja anode.

U svim mjerenjima uočen je Tyndallov efekt. Slab Tyndallov efekt uočen je nakon 40 minuta u prvom mjerenju, nakon 25 minuta u drugom mjerenju te nakon 30 minuta u trećem mjerenju. Pojava Tyndallovog efekta tijekom smanjenja TDS-a je posljedica otapanja čestica srebra koje ne pridonose vodljivosti, pa tako ni vrijednosti TDS-a.

Tijekom ovih mjerenja temperatura u ćeliji prati intenzitet procesa sinteze. U početku procesa javlja se blagi pad temperature jer dolazi do smanjenja ionskih vrsta u ćeliji i opadanja specifične električne vodljivosti. Kasnije proces postaje intenzivniji, dolazi do porasta specifične električne vodljivosti te i vrijednosti temperature blago rastu.

U svim mjerenjima korištena je jakost struje od 0,5 mA, što uz površinu elektroda od 5,65 cm² daje gustoću struje od 0,09 mAcm⁻². Teoretski preporučena gustoća struje je od 0,1 do 0,12 mAcm⁻², pa je proces bio nešto sporiji i zbog korištenja nešto niže gustoće struje od preporučene.

4. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenih mjerenja, kao i analize tih mjerenja, doneseni su ovi zaključci:

- Pri upotrebi ultračiste vode za sintezu koloidnog srebra LVDC metodom za sva mjerenja uočava se Tyndallov efekt u vremenu od 25 do 55 minuta.
- Za predviđeno trajanje procesa do dva sata vrijednosti koncentracije koloidnog srebra ne postižu zadane granice od 20 do 30 ppm. Nakon 60 minuta postiže se koncentracija koloidnog srebra od 5,85 ppm, nakon 75 minuta 7,58 ppm i nakon 90 minuta 9,25 ppm.
- Pri upotrebi ultračiste vode uz dodatak razrijeđene otopine NaCl-a, moguće je u vremenu od dva sata dobiti koncentracije koloidnog srebra preko 30 ppm. Tyndallov efekt se uočava već nakon 25 minuta, no pravo povećanje koncentracije koloidnog srebra nastaje nakon 80 minuta.

5. LITERATURA

1. R. J. Gibbs, Silver Colloids, Do they work?, Silver Colloids, 1999. (mrežno izdanje)
2. URL: <https://www.theguardian.com/society/2017/oct/08/world-faces-antibiotic-apocalypse-says-chief-medical-officer> (2.11.2017.)
3. P. W. Atkins, Physical Chemistry, Oxford University Press, Oxford, 1995.
4. I. Filipović, S. Lipanović, Opća i anorganska kemija, I dio – Opća kemija, Školska knjiga, Zagreb, 1995.
5. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, Analytical Chemistry, Thomson Brooks Cole, Belmont, 2004.
6. N. L. Kildeby, O. Z. Andersen, R. E. Roge, T. Larsen, R. Petersen, J. F. Riis, Silver Nanoparticles, Aalborg university, Faculty of Physics and Nanotechnology, Aalborg, 2005.
7. P. W. Atkins, The Elements of Physical Chemistry, Oxford University Press, Oxford, 2001.
8. I. Filipović, S. Lipanović, Opća i anorganska kemija, II dio - Kemijski elementi i njihovi spojevi, Školska knjiga, Zagreb, 1995.
9. F. S. Key, G. Maass, Ions, Atoms and Charged Particles, Silver Colloids, 2011. (mrežno izdanje)
10. A. Petica, S. Gavrilu, M. Lungu, N. Buruntea, C. Panzaru, Colloidal silver solutions with antimicrobial properties, Materials science and engineering B, 152 (2008) 22-27.
11. P. A. Lindemann, Colloidal Silver; A Closer Look, Borderlands, 2 (1997) 21-25.
12. M. Singh, S. Singh, S. Prasad, I. S. Gambhir, Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 3 (2008) 115-122.
13. P. Dabić, D. Barbir, Novi anorganski materijali, Laboratorijske vježbe, Kemijsko tehnološki fakultet, Split, 2010.
14. F. S. Key, G. Maass, Determining the properties of Colloidal Silver, Colloidal Silver, 2001. (mrežno izdanje)