

# Przeciwbakteryjna aktywność tlenku i zredukowanego tlenku grafenu

Trafny E. A.<sup>1</sup>, Lewandowski R.<sup>1</sup>, Sępińska M.<sup>1</sup>, Dobrzyńska M.<sup>1</sup>, Lipińska L.<sup>2</sup>, Woluntarski M.<sup>2</sup>, Łapiński M.<sup>1</sup>

Centrum Inżynierii Biomedycznej, Instytut Optoelektroniki WAT<sup>1</sup>; Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych<sup>2</sup>

e-mail: elzbieta.trafny@wat.edu.pl

## Wstęp

Grafen w postaci płatkowej może przejawiać aktywność przeciwbakteryjną. Dotychczas opublikowane wyniki badań naukowych w tej dziedzinie nie są jednak zgodne. Część badaczy wyklucza możliwość stosowania grafenu jako efektywnego środka przeciwbakteryjnego. Inne ośrodki badawcze nie tylko potwierdzają aktywność przeciwbakteryjną dwuwymiarowych płaskich form węgla, lecz poszukują też aktywnie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw tego zjawiska. Ma to na celu ewentualne zwiększenie aktywności bakteriobójczej grafenu poprzez jego funkcjonalizację.

Różnice w opublikowanych rezultatach badań mogą wynikać z braku ich standaryzacji metodycznej oraz, a właściwie przede wszystkim, z różnorodności stosowanych w badaniach preparatów grafenu i jego pochodnych, często niedostatecznie scharakteryzowanych pod względem ich właściwości fizykochemicznych.

Celem poniżej przedstawionych badań było określenie aktywności przeciwbakteryjnej trzech preparatów grafenu płatkowego, wyprodukowanych w Instytucie Technologii Materiałów Elektronicznych (ITME) w Warszawie. Aktywność tę określano wobec planktonowych (wolno-plywających), jak i osiadłych (rosnących w postaci biofilmów) referencyjnych szczepów bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

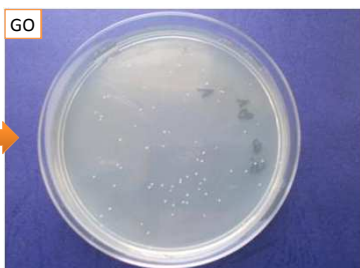
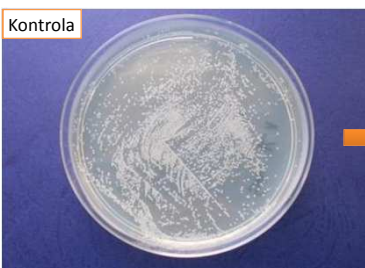
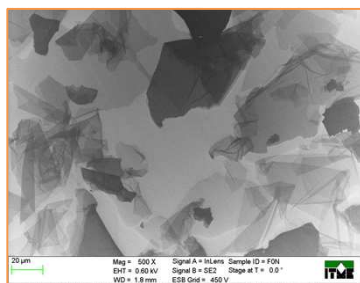
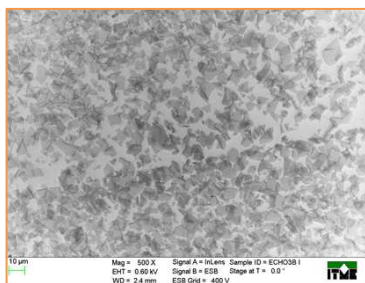
## Materiały i metody

Przedmiot badań stanowiły referencyjne szczepy dwóch gatunków bakterii Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* oraz dwóch gatunków bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*. Hodowle drobnoustrojów prowadzono w bulionie LB w warunkach tlenowych w temperaturze 37°C.

Do badań używano trzech preparatów grafenu płatkowego: dwóch – tlenku grafenu, oznaczonych akronimami ECHO i FOXTROT oraz jednego preparatu zredukowanego tlenku grafenu rGO. Preparaty te dla celów porównawczych stosowano w stężeniu 1,25 mg/ml w jałowej wodzie destylowanej lub też odpowiednio rozcieńczano jałową wodą destylowaną do zadanych warunków eksperymentu.

Badane preparaty grafenu były jałowe, co potwierdzono w hodowlach płynnych i stałych w ciągu 7 dni inkubacji w warunkach standardowych.

Aktywność przeciwbakteryjną preparatów grafenu badano w hodowlach płynnych (wobec bakterii wolno-plywających) w ciągu 6 godzin inkubacji w warunkach statycznych. Oddziaływanie preparatów grafenu na biofilmy badano wytrząsając zawiesiny preparatów grafenu w ciągu 6 godzin. Liczbę bakterii przetrwałych oznaczano metodą rozcieńczeń i posiewu. Natomiast liczbę komórek bakteryjnych oraz wielkość macierzy pozakomórkowej biofilmów oznaczano spektrofotometrycznie po wybarwieniu fioletem krystalicznym. Hodowle biofilmów prowadzono w ciągu co najmniej 24 godzin w płytkach odwróconych w warunkach tlenowych.



Oznaczanie liczby przetrwałych komórek *S. aureus* po poddaniu zawiesiny bakterii działaniu tlenku grafenu metodą rozcieńczeń i posiewu.

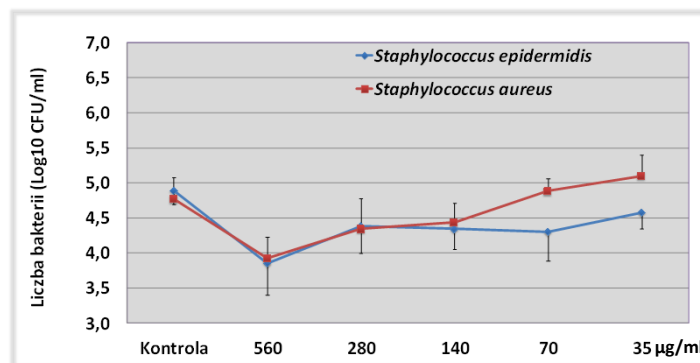
## Wyniki

Poniżej przedstawiono wyniki wstępnych badań preparatów płatkowego grafenu wobec referencyjnych szczepów wybranych gatunków bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

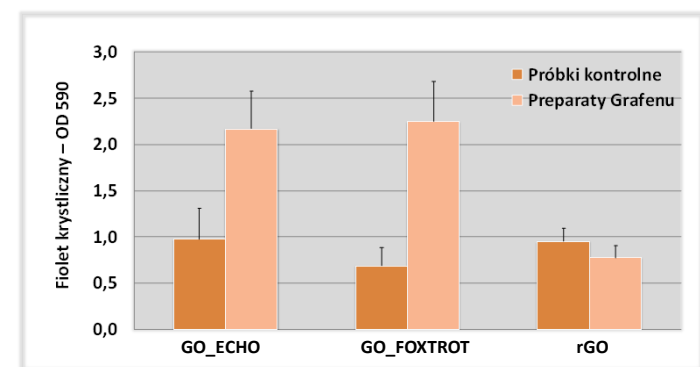
**TABELA 1.** Aktywność bakteriobójcza preparatów tlenku i zredukowanego tlenku grafenu. Średni odsetek zabitych bakterii obliczono w porównaniu z liczbą bakterii w próbkach kontrolnych, niepoddanych działaniu preparatów grafenu.

Preparat grafenu	Odsetek zabitych bakterii (%)			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Tlenek grafenu ECHO	39	24	79	90
Tlenek grafenu FOXTROT	6	60	97	94
Zredukowany tlenek grafenu rGO	-181	-89	65	72

**RYCINA 1.** Wpływ stężenia tlenku grafenu (preparat FOXTROT) na przeżywalność wybranych bakterii Gram-dodatnich w hodowlach płynnych.



**RYCINA 2.** Wpływ tlenku i zredukowanego tlenku grafenu na przeżywalność pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* rosnących w postaci biofilmu na płytkach odwróconych.



## Omówienie wyników

1. Aktywność bakteriobójcza badanych preparatów tlenku i zredukowanego tlenku grafenu jest różna wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Wszystkie badane preparaty grafenu przejawiają wyższą aktywność bójczą wobec wybranych gatunków bakterii Gram-dodatnich w porównaniu do wybranych gatunków bakterii Gram-ujemnych w hodowlach płynnych (wobec bakterii wolno-plywających).
2. Najniższą aktywność bójczą wobec bakterii Gram-ujemnych zaobserwowano dla zredukowanego tlenku grafenu.
3. Zredukowany tlenek grafenu przejawia natomiast najwyższą aktywność przeciwbakteryjną wobec osiadłych form bakterii – biofilmów, zarówno dla gronkowca złocistego (*S. aureus*) jak i pałeczki ropy błękitnej (*P. aeruginosa*).
4. Należy prowadzić dalsze badania w celu funkcjonalizacji grafenu płatkowego dla potencjalnego zwiększenia jego aktywności przeciwbakteryjnej.