



**VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS
CHEMIJOS INSTITUTAS
NEORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA**

Rūta Stankevičiūtė
Farmacinė chemija
Magistro baigiamasis darbas

ANTIBAKTERINIO MUILO SINTEZĖ IR APIBŪDINIMAS

Darbo vadovas
Prof. habil. dr. Aivaras Kareiva

Vilnius 2021



VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES
INSTITUTE OF CHEMISTRY
DEPARTMENT OF INORGANIC CHEMISTRY

Rūta Stankevičiūtė
Pharmaceutical Chemistry
Master thesis

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ANTIBACTERIAL
SOAP**

Scientific adviser
Prof, habil. dr. Aivaras Kareiva

Vilnius 2021

TURINYS

SANTRUMPOS	5
ĮVADAS	6
1. LITERATŪROS APŽVALGA	8
1.1 Antibakterinių muilų svarba	8
1.2 Antibakterinių muilų savybės	9
1.2.1 Antibakterinio muilo poveikis odai	9
1.2.2 Muilo sudėtis ir savybės	10
1.3 Triklozanas muile	15
1.4 Metalų antibakterinės savybės	16
2. MEDŽIAGOS IR METODAI	20
2.1 Medžiagos	20
2.2 Prietaisai	20
2.3 Beta-trikalčio fosfato sintezė bendrojo nusodinimo metodu	20
2.4 Hidroksiapatito sintezė zolių-gelių metodu	21
2.5 Vitlokito sintezė tirpinimo-nusodinimo metodu	22
2.6 Muilo sintezės metodika šaltuoju būdu	23
2.7 Rentgeno spindulių difrakcinė analizė	23
2.8 FT-IR spektroskopijos metodas	24
2.9 Raman spektroskopijos metodas	24
2.10 Skenuojančios elektroninės mikroskopijos metodas	24
2.11 Antibakterinio aktyvumo tyrimas	24
2.12 Statistinė duomenų analizė	25
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	27
3.1 Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais tyrimas Rentgeno spindulių difrakcijos metodu	27
3.1.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalčio fosfatu	27
3.1.2 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu	28
3.1.3 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu	32
3.2 Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais tyrimas FT-IR spektroskopijos metodu ..	34
3.2.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalčio fosfatu	35
3.2.2 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu	36
3.2.3 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu	37
3.3 Įvairių fosfatų tyrimas Ramano spektroskopijos metodu	38
3.3.1 Fe ir Zn legiruotas beta-trikalčio fosfatas	38
3.3.2 Fe ir Zn legiruotas kalcio hidroksiapatitas	39
3.3.3 Fe ir Zn legiruotas vitlokitas	40
3.4 Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais tyrimas SEM metodu	41
3.4.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalčio fosfatu	41
3.4.2 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu	43

3.4.3 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu	45
3.5 Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais antibakterinio aktyvumo tyrimas	49
3.5.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalčio fosfatu	49
3.5.2 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu.....	52
3.5.3 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu	55
3.5.4 Antibakterinio aktyvumo rezultatų apibendrinimas	57
IŠVADOS.....	59
LITERATŪROS SĄRAŠAS	60
SANTRAUKA	68
SUMMARY	69
PRIEDAI	70

Santrumpos

Ca-P – kalcio fosfatai

CHA – kalcio hidroksiapatitas

COVID-19 – koronavirusinė infekcija

FDA – maisto ir vaistų administracija (angl. *Food and Drug administration*)

FT-IR – Furjė transformacinės infraraudonųjų spindulių spektroskopas

ICDD – tarptautinis difrakcijos duomenų centras (angl. *International centre of diffraction data*)

MIC – minimalios inhibicijos koncentracija (angl. *Minimum inhibition concentration*)

PAM – paviršiaus aktyvios medžiagos

PEG - polietilenglikolis

PSO – pasaulinė sveikatos organizacija

rpm – apsisukimai per minutę

SARS-CoV-2 - sunkaus ūminio respiracinio sindromo koronavirusas 2

SEM – skenuojantis elektroninis mikroskopas

TCP – beta-trikalčio fosfatas

WT – vitlokitas

XRD – rentgeno spindulių difraktometras

ĮVADAS

Rankų higiena muilu ir vandeniu nuo senų laikų vyravo tiek religinėse, tiek kultūrinėse tradicijose ir tik prieš pastaruosius 200 metų atrastas ryšys tarp muilų naudojimo ir infekcijų plitimo [1]. Šiais laikais jau yra daugybė pagrįstų įrodymų, jog rankų higiena antibakteriniais muilais arba alkoholiniais dezinfekantais yra efektyvi priemonė išvengiant mikrobinių ligų transmisijos [2]. Muilas kaip paviršiaus aktyvi medžiaga (PAM) suardo lipofilinę viruso membraną, virusinius glikoproteinus (peplomerus), arba virusai įstringa muilo micelėse ir yra nuplaunamos nuo odos paviršiaus [3]. Pastarųjų metų pasaulinės pandemijos dėl koronavirusinės infekcijos (COVID-19) kontekste Pasaulinė sveikatos organizacija (PSO) bei CDC (Ligų kontrolės ir prevencijos centras) sunkaus ūminio respiracinio sindromo koronaviruso 2 (SARS-CoV-2) plitimo stabdymui rekomenduoja rankų plovimą muilu arba dezinfekantu po kosėjimo/čiaudėjimo, lankantis viešose vietose, liečiant bet kokius viešus paviršius, prieš ir po valgymo bei slaugant ligonius [2]. PSO patvirtintose rekomendacijose apie rankų higienos svarbą sveikatos priežiūros įstaigose pateikiama detali apžvalga apie rankų higienos naudą bei būtinąsias specifines rekomendacijas norint sumažinti patogeninių mikroorganizmų plitimą ir sumažinti infekcijų riziką [4]. Lietuvoje PSO mokslo įrodymais pagrįstos rekomendacijos apie rankų higienos svarbą yra reglamentuotos teisės aktuose, pavyzdžiui Lietuvos higienos normoje HN 47-1:2012 „Sveikatos priežiūros įstaigos. Infekcijų kontrolės reikalavimai“ yra pateikiami pagrindiniai rankų higienos reikalavimai ASI (Asmens sveikatos priežiūros įstaigos). Dokumente apibrėžiama rankų higienos sąvoka, kokios priemonės yra tinkamos ir naudojamos infekcijų kontrolei bei rankų plovimo ir antiseptikos taisyklės [5].

Tyrimai rodo, jog gripo viruso A potipio H1N1 pandemijos metu rankų higiena yra efektyvesnė priemonė negu medicininių kaukių dėvėjimas. Tinkama rankų higiena su muilu ir vandeniu pasaulyje vis dar yra neišspręsta problema – mažų pajamų šalys vis dar neturi pakankamai švaraus vandens ir muilo, todėl tokios šalys turi daug aukštesnę riziką tiek COVID-19, tiek ir kitų infekcinių ligų plitimui. Duomenys rodo, jog per pirmąją pasaulinę SARS-CoV-2 viruso bangą mažų pajamų šalyse, kur nėra užtikrinama pakankama rankų higiena, sergamumo rodiklis išliko aukštas, kai tuo tarpu aukštų ir vidutinių pajamų šalyse ligos atvejų skaičius sparčiai mažėjo. Todėl rankų higienos strategija turi didelę reikšmę kontroliuojant infekcijų plitimą ir yra būtina pasaulyje didinti švaraus vandens bei muilo prieinamumą mokyklose, darbovietėse, sveikatos priežiūros įstaigose, parduotuvėse ir kitose viešose vietose [6].

Šiuo metu rinkoje antibakterinių muilų įvairovė yra labai plati, jų sudėtyje randama didelis kiekis skirtingų aktyviųjų ingredientų. Ilgą laiką nuo pat 1960 metų populiariausiu antimikrobinu junginiu muile buvo naudojamas triklozanas, tačiau dėl per didelio taršos poveikio aplinkai ir žmogui FDA (Maisto ir vaistų administracija) 2016 metais uždraudė pramoninę jo gamybą muilų produktuose [7]. Kitos antimikrobinės medžiagos, esančios muilų sudėtyje, taip pat gali turėti šalutinių poveikių, tokių kaip atsparumas bakterijoms, toksiškumas, endokrininės sistemos sutrikdymas bei tarša aplinkai [8]. Nepaisant to, norint efektyviai mažinti įvairių infekcijų plitimą, vis dar yra reikalinga kurti naujus antibakterinius muilus, didinti fundamentinių žinių apie jų svarbą ir praktinę naudą bei plėsti jų pramoninę produkciją.

Šiame magistriniame darbe kaip aktyvieji antibakterinio muilo ingredientai buvo pasirinkti kalcio fosfatai (Ca-P). Yra atlikti tyrimai su triušiais, kurie rodo, jog Ca-P yra netoksiški junginiai, nesukelia

jokių nepageidaujamų odos reakcijų, tokių kaip eritema, edema arba nekrozė, taip pat nekyla jokios odos alerginės reakcijos [9].

Yra pastebėta, tam tikrų metalų jonai (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+) pasižymi antibakterinėmis savybėmis. Zn^+ jonai kristalinėje formoje suformuoja stiprius ryšius su mikroorganizmų membranų baltymų tioliu, imidazolu, amino ir karboksilo grupėmis, kas lemia struktūrinius pokyčius, sutrikdo normalų medžiagų/baltymų transportą per membranas ir ląstelės žūsta.

Kristalinės formos Ca-P paprastai nepasižymi jokių antibakteriniu aktyvumu, o šių junginių joninis pakeitimas keičia ir jų tirpumą, stabilumą bei kristališkumą, todėl tokie fosfatai jau pasižymi antiuždegiminiu bei antibakteriniu aktyvumu [10].

Labai svarbu yra gerinti antibakterinių muilų efektyvumą, šiam tikslui reikalinga kurti saugesnius ir efektyvesnius antiseptinius aktyviuosius ingredientus, mažinti mikroorganizmų atsparumą šioms medžiagoms.

Šio darbo tikslas yra susintetinti metalų jonais (Fe ir Zn) legiruotų Ca-P antibakterinius muilus, apibūdinti juos pagrindiniais tyrimo metodais (XRD, FT-IR, Raman spektroskopijos, SEM) bei ištirti jų antibakterinį aktyvumą. Darbo tikslui pasiekti buvo išsikeltos šios užduotys:

- 1) Nustatyti su Fe ir Zn legiruotų Ca-P ir jų muilų kompozitų struktūrą ir fazinį grynumą naudojant rentgeno spindulių difrakcinę analizę.
- 2) Identifikuoti gautų junginių funkcines grupes FT-IR bei Raman spektroskopijos analizėmis.
- 3) Nustatyti kietojo muilo mišinio sudėtį po muilinimo reakcijos.
- 4) Palyginti susintetintų Ca-P ir jų muilų paviršiaus morfologiją skenuojančios elektroninės mikroskopijos metodu bei įvertinti morfologijos priklausomybę nuo įvedamo Ca-P kiekio.
- 5) Ištirti pagamintų Ca-P muilų kompozitų antibakterinį aktyvumą, įvertinti antibakterinio aktyvumo priklausomybę nuo įvedamo Ca-P kiekio, muilo koncentracijos ir bakterijų kultūros rūšies bei atrinkti efektyviausią antimikrobinį junginį diskų difuzijos metodu.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Antibakterinių muilų svarba

Muilai ir kitos valymo priemonės yra paplitusios gana ilgą laiką. Archeologiniai duomenys skelbia, jog muilo sudedamosios dalys naudotos jau Babilono laikais, o 1500 metais prieš Kristų egiptiečiai įvairius gyvūlinės ir augalinės kilmės aliejus maišė su šarminėmis druskomis ir gautas medžiagas naudojo plovimui bei odos ligoms gydyti [11].

Šiuo metu visuomenės higiena yra užtikrinama naudojant muilą su karštu vandeniu, alkoholiu, chloro balikliu ar vandenilio peroksidu. Bendrieji valikliai, tokie kaip alkoholis, vėliau išgaruodamas, gali suardyti ląsteles. Muilas veikia išskeldamas nešvarumus, riebalus bei mikroorganizmus iš paviršių, kad jie galėtų būti lengvai nuplaunami vandeniu [12]. Būtent antibakterinių muilų sukūrimo pagrindinis poreikis buvo stabdyti įvairių bakterijų dauginimąsi, mažinti jų kiekį, esantį ant odos, tam, kad būtų mažesnė infekcijų ir susijusių ligų rizika. Tokios bakterijos dažniausiai būna *Staphylococcus* arba *Streptococcus* genčių – natūraliai kolonizuojančios žmogaus odą, tačiau tam tikromis sąlygomis galinčios tapti patogeninėmis [13]. Šių bakterijų gausu masiniuose prisilietimo paviršiuose, tokiuose kaip viešieji turėklai ar durų rankenos. Nuo čia jos pernešamos ant kitų paviršių, gyvūnų, maisto produktų. Pavyzdžiui, vaikams *Shigella sonnei* bakterijos sukelia dizenteriją, o šeimos nariams infekcijos tikimybė padidėja net 50 %. Manoma, kad per maistą plintančias infekcijas daugiausia sukelia maistas, ruoštas namuose [14].

Klinikiniais duomenimis yra įrodyta, jog rankų plovimas antibakteriniu muilu yra svarbus užtikrinant visuomenės sveikatą nuo infekcinių susirgimų [15]. Tokie muilai nuo žmogaus odos gali pašalinti nuo 65 iki 85 % bakterijų [16]. Kaip yra patvirtinta ir FDA, dažniausias antibakterinių muilų aktyvusis ingredientas triklozanas turi antibakterinių, antiseptinių, germicidinių, antivirusinių ir priešgrybelinių savybių, specifiskai bakteriostatiskai veikiantis mažomis koncentracijomis bei nespecifiskai bakteriocidiskai - didelėmis, inhibuodamas Gram-teigiamų ir Gram-neigiamų bakterijų augimą [17]. 2005 metais NDAC (Food and Drug Administration Nonprescription Drug Advisory Committee) savo apžvalgoje paskelbė, jog antiseptiniai rankų plovimo produktai geba mažinti bakterines infekcijas lyginant su ne antibakteriniais. Nuo to laiko yra atlikta daug tyrimų, patvirtinančių paskelbtus duomenis. Norint efektyviai išanalizuoti šį poveikį, yra reikalingi šimtai tūkstančių tiriamų subjektų, reprezentuojančių bendrą populiaciją [18]. Pavyzdžiui, buvo tiriami salmoneliozės rodikliai, kurie tarp 1993 ir 1995 metų buvo apie 0,01 % bendroje populiacijoje.

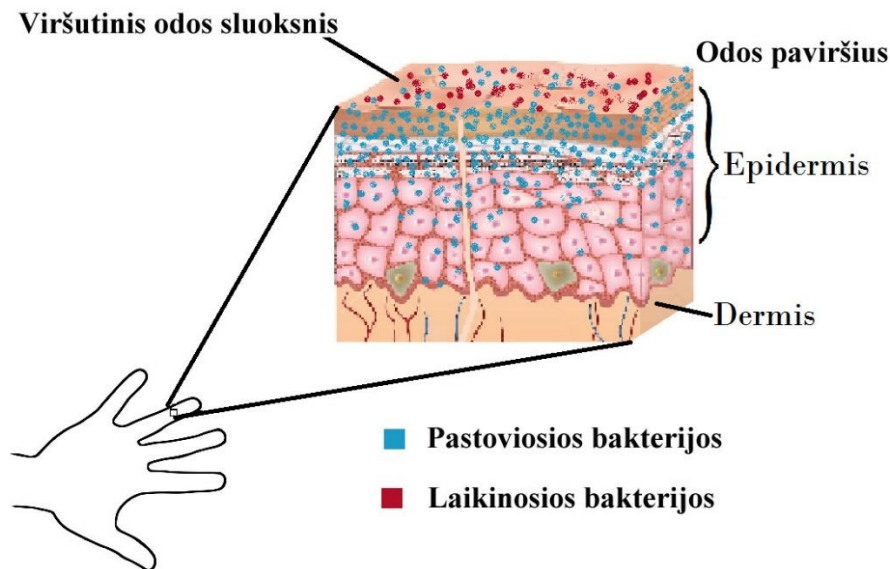
Laboratoriniai tyrimų rezultatai rodo, jog, pavyzdžiui, sergant virškinamojo trakto ligomis rankų higiena antibakteriniu muilu padeda sumažinti 31 % susirgimų, bei 21 % kvėpavimo takų negalavimų [19]. Antibakterinių muilų svarba ypatingai pasireiškia ir ligoninėse, kur dėl prastos rankų higienos padidėja užsikrėtimas infekcijomis operacijos metu, kai ligoninės personalo bakterijos pernešamos pacientams [20]. Taipogi, moksliniai tyrimai parodė, jog antibakteriniai muilai gali veikti ne tik prieš bakterijas. Nustatyta, jog jie gali pasireikšti insekticidiniu poveikiu – triklozanas geba veikti prieš uodų lervas, tačiau ne veikdamas paskirai, bet kartu su kitais muilo aktyviaisiais ingredientais [21]. Skystas antibakterinis muilas, lyginant su etanoliu, mažina genomio kDNR HuNoV viruso kiekius, kas padeda kontroliuoti šio viruso pernešimą [22].

Vis atsiranda naujų tyrimų, teigiančių, jog antibakterinio muilo poveikis nėra vienareikšmiškas. Išlieka neatsakytas klausimas, ar iš tiesų bakterijų populiacijos mažinimas odos mikrofloroje užkerta kelią infekcijoms [23]. Todėl norint surasti optimaliausius būdus bakterijų pernašos mažinimui, vis dar yra reikalinga kurti, apibūdinti bei plačiai išnagrinėti skirtingus naujus antibakterinius muilus.

1.2. Antibakterinių muilų savybės

1.2.1. Antibakterinio muilo poveikis odai

Pagal 1938 m. aprašytą apžvalgą kiekybiškai bei kokybiškai yra identifikuotos dvi normalios odos floros bakterijų populiacijos (1 pav.): (A) laikinosios, plintančios kontakto metu, kintančio skaičiaus ir rūšių, gausios ant pažeidžiamos odos, po nagais, ir palyginti negausios ant švarios, nepažeistos odos, tokios bakterijos lengvai pašalinamos ir žūstančios bei dažnai patogeninės; (B) pastoviosios bakterijos, kurios yra specifinės kiekvienam žmogui, sunkiai pašalinamos bei labiau atsparios detergentams ar germicidams, mažiau patogeninės. Spėjama, jog plaunant rankas antibakteriniu muilu, bakterijų populiaciją galima sumažinti nuo $4,58 \cdot 10^6$ iki 10^6 kolonijas sudarančių vienetų. Laikinas bakterijų populiacijas galima sumažinti netgi 50 % po 6 minučių valymo muilu [23]. Cheminiai mikrobiniai inhibitoriai muile yra daug efektyvesni, jei jie sąveikauja su oda. Tačiau ypač efektyvūs inhibitoriai yra toksiški ir gali dirginti odą [24].



1 pav. Laikinosios ir pastoviosios bakterijos odoje [25].

In vitro analizė leidžia ištirti antibakterinio muilo bei PAM poveikį odos mikroflorai. Mažiausiai odos dirginimą sukelia natūralūs skysti ne antibakteriniai muilai, o daugiausiai odą sudirgina tokios medžiagos kaip natrio laurato sulfatas, natrio sulfatas, lauramidas DEA, citrinų rūgštis, FD&C raudonasis, FD&C geltonasis, natrio C14-16 olefino sulfonatas bei kiti [26]. 2017 metais FDA paskelbė, jog antibakteriniai muilai, kurių sudėtyje yra triklozanas ir triklokarbano medžiagos, yra nesaugūs.

Tuomet pradėta naudoti benzalkonio chloridą, benzetonio chloridą, chloroksilenolį, chlorheksidiną bei kitus junginius, kurie gali sukelti odos alergiją [27].

Naujagimių odos pH yra šiek tiek mažesnis nei 7, todėl smarkiai šarminis muilas, kuris veikia antibakteriškai, gali pažeisti odą, sutrikdant epidermio ląstelių darbą, kas leidžia patekti galimiems dirgikliams ir alergenams. Muilo kontakto su vandeniu metu vyksta hidrolizės reakcija, po kurios šarminiai produktai odos pH pakelia iki 10-11. Tokie pH pokyčiai naudojant skirtingus muilus gali sumažinti naujagimio įgimtą imunitetą. Tinkamiausi muilai jiems turi būti švelnūs, kurių pH yra apie 5,5-6,5. O antibakterinių muilų pH dažniausiai yra kur kas aukštesnis, todėl norint juos naudoti naujagimiams, muilus reikia gaminti labiau rūgštinius [28]. Kai kurie muilų kūdikiams pavyzdžiai yra pateikti 2 pav.



2 pav. Muilai kūdikiams [29].

1.2.2. Muilo sudėtis ir savybės

Muilas yra PAM, su vandeniu naudojama plovimui ir valymui. Jis gali būti gaunamas reakcijų su šarmais metu iš aliejų, tokių kaip palmių, alyvuogių, kokosų. Pagal šarmo tipą muilai skirstomi į dvi kategorijas: (a) kietos konsistencijos muilai, kai naudojamas natrio šarmas, bei (b) skysti muilai, kai naudojamas kalio šarmas. Skirtingų konsistencijų muilai yra vaizduojami 3 pav.

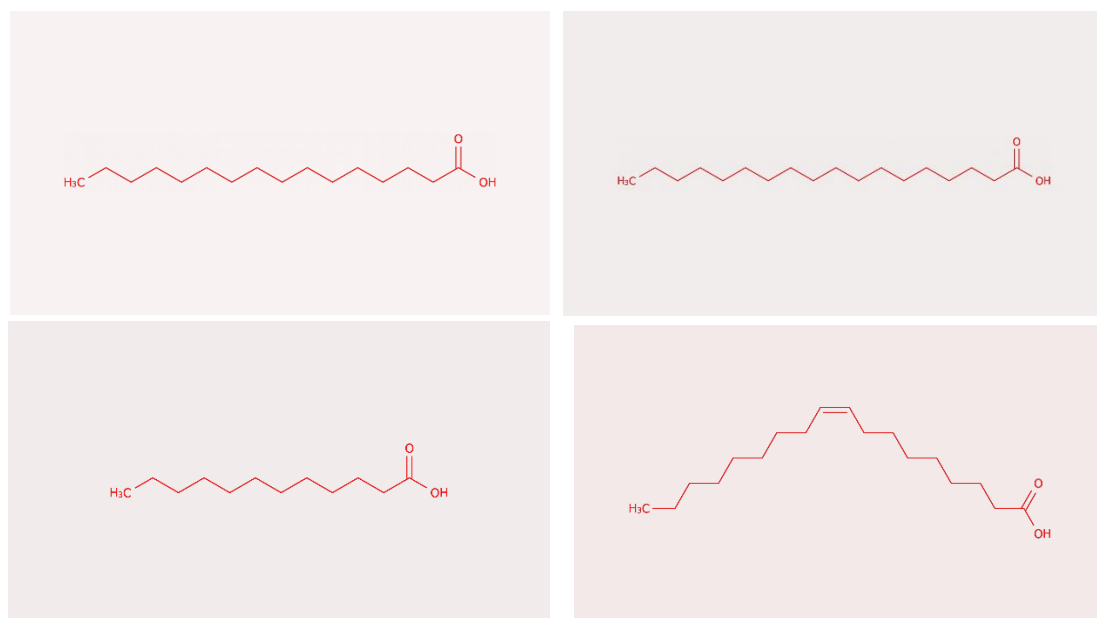
Nors skysti muilai paprastai yra brangesni, tačiau jie yra saugesni ir lengviau naudojami, todėl gana plačiai naudojami kasdienai. Į muilo sudėtį įeina ne tik detergentai, bet ir medžiagos, pagerinančios produkto kokybę, tokios kaip drėkinančios odą bei antibakterinės [30]. Dažniausiai naudojamos antimikrobinės medžiagos muile yra alkoholis, chlorheksidinas, gliukonatas, chloro dariniai, jodas, parachlormetaksilenolis, chlorksilienolis, amoniako junginiai, triklozanas bei triklokarbanas. Pakartotinai naudojant chlorheksidiną ir triklozaną, jie gali absorbuotis viršutiniuose odos sluoksniuose ir lemti mikrobinę rekolonizaciją. Iš biologinės ir praktinės perspektyvos tikėtina, jog antimikrobinės medžiagos turi svarbią reikšmę sveikatai [31].



3 pav. Skirtingų konsistencijų muilai [32,33].

Muilo sudėtis dažniausiai yra tokia: vanduo, kintamos medžiagos 13,47-14,81 %, riebalų rūgštys 77,615-83,71 %, netirpus alkoholis 0,565-0,765 %, laisvas šarmas NaOH 0,02-0,04 5 % [34]. Į antibakterinio muilo sudėtį įeina įvairios katijoninės, anijoninės ir nejoninės PAM [35]. Nors metalų jonai padidina muilo antibakterines savybes, tačiau muilai, turintys didelius jų kiekius, nėra labai tinkami. Todėl naudojami chemiškai stabilūs ir netoksiški mineralai, pasižymintys jonų pakeitimo gebėjimu [36]. Viena iš populiariausių antibakterinio muilo medžiagų yra triklokarbanas (3,4,4'-trichlorokarbanilidas, TCC) - antiseptinis ingredientas, turintis platų antibakterinio efekto spektrą. Dažniausiai jis dedamas į komercinius kietus muilus, JAV ši medžiaga įeina į 84 % antibakterinių kietų muilų sudėtį [8]. Triklokarbanas slopina bakterijų riebalų rūgščių sintezę ir sienelės formavimąsi. Jo kiekis muiluose siekia nuo 0,5 iki 5 %, 1998 metais pramonėje šio priedo JAV buvo pagaminta 454,000 kg [37]. Kita iš dažniausiai naudojamų antibakterinių medžiagų yra triklozanas - iki 2016 rugsėjo, kuomet JAV uždraudė naudoti triklozaną higienos produktuose, 5-chloro-2-(2,4-dichlorofenoksi)fenolis buvo populiariausia medžiaga antibakteriniuose muiluose, kurios kiekis kinta nuo 0,1 iki 0,5 %, arba 1000-5000 mg/l [35]. Triklozanas yra biocidas, didelėmis koncentracijomis ardantis bakterijų ląstelių sienelės, stabdantis baltymų ir lipidų sintezę, mažomis koncentracijomis inhibuoja enoil-ACP reduktazių veikimą [38]. Natrio laurilsulfatas taip pat yra tarp dažniausiai naudojamų PAM'ų skystuose muiluose. Kiek mažiau yra naudojami propileno glikolis, lanolinas, kokamido dietanolaminas [35].

Natūralūs riebalai ir dietiniai aliejai yra pagrindinis riebalų rūgščių šaltinis, kurios pasižymi antimikrobinu aktyvumu prieš įvairius mikroorganizmus. Yra žinoma, jog palmitino, stearino, beheno, lauro, tridekano, miristo, margarine, oleino, palmitoleno ir linoleno rūgštys turi potencialiai antibakterinių bei antigrybinių savybių. Kai kurių rūgščių cheminės formulės yra pateiktos 4 pav.



4 pav. Rūgštys, pasižyminčios antimikrobiniu aktyvumu [39].

FAME (riebalų rūgščių metilo esteriai) yra ilgų karboksilinių rūgščių, detergentų, alternatyvaus kuro bei maisto, kosmetikos, vaistų priedų šaltinis [40]. Gaminant antibakterinį muilą iš tokių natūralių nimbamedžio (*Azadirachta indica*) (5 pav.) bei Karanja augalo (*Pongamia pinnata*) (6 pav.) aliejų, kurie yra ekologiški, netoksiški, visiškai biologiškai skaidomi, pasižymintys antivirusinėmis, antigrybelinėmis ir antibakterinėmis savybėmis, gaunamas tamsiai žalias muilas, kuris taip pat pasižymi antigrybelinėmis savybėmis bei gali būti naudojamas ir augalų priežiūrai nuo kenkėjų [41].



5 pav. Nimbamedis ir jo muilas [42].



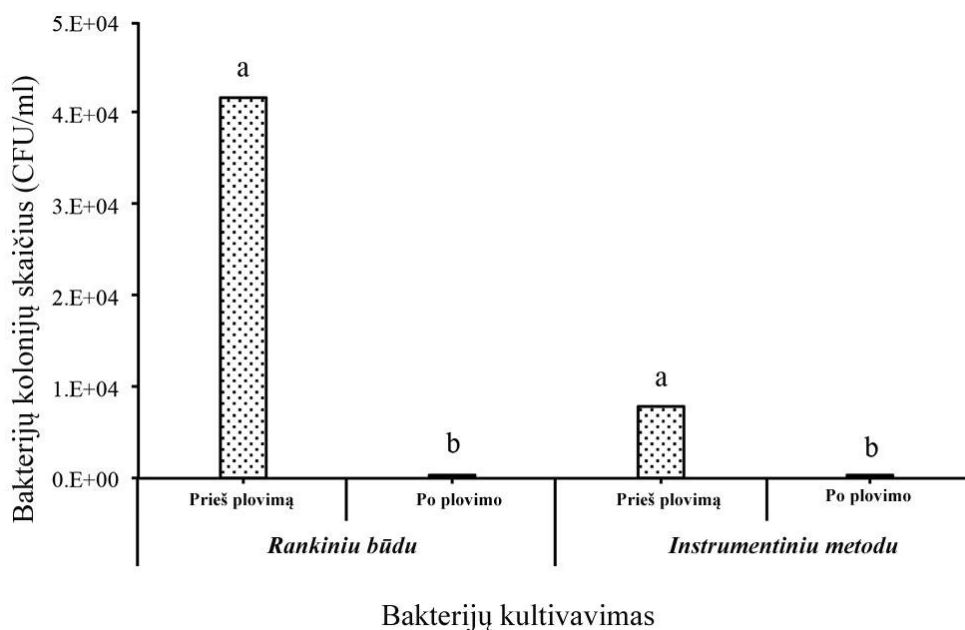
6 pav. Karanja augalas ir jo muilas [43].

Pavyzdžiui, palmitoleino rūgštis, išskiriama iš augalų aliejų, taip pat pasižymi antibakteriniu aktyvumu prieš tokias patogenines bakterijas kaip *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Fusobacterium nucleatum*, *Neisseria gonorrhoea* bei *Helicobacter pylori*, tačiau nežudo tokių nepatogeninių bakterijų kaip *Staphylococcus epidermidis*, kurios natūraliai kolonizuoja žmogaus odą, nekeldamos žalos. Tokios palmitoleino rūgšties savybės padeda palaikyti natūralią žmogaus imuninę sistemą. Į antibakterinio muilo sudėtį įeina šios rūgšties kalcio druska [44].

Į antibakterinio muilo sudėtį gali įeiti ne tik susintetintos medžiagos, bet kaip potenciali alternatyva odos dirginimų išvengimui gali būti naudojamas pienas, kadangi jame nėra herbicidų ar cheminių trąšų. Karvės piene yra daug vitaminų, mineralų, antioksidantų, baltymų, fermentų ir lipidų, kurie saugo epidermį ir palaiko regeneraciją. Pieno sudėtinės dalys turi stiprią absorbcijos ir vandens išlaikymo savybių, saugančių odą nuo dehidratacijos ir epidermio ląstelių degradacijos. Taip pat turi keletą specifinių ir nespecifinių antimikrobinų faktorių, veikiančių bakteriostatiškai bei bakteriocidiškai prieš įvairias infekcijas. Pavyzdžiui piene esančio lizocimo bakteriolitinio baltymo ir nespecifinio imunoprotekcinio faktoriaus antibakterinis pajėgumas pasireiškia gebėjimu hidrolizuoti β 1-4 glikozidinius ryšius tarp N-acetilgliukozamino bakterijų ląstelių polisacharidinėje sienelėje. Baltymas kazeinas muile naudojamas kaip PAM, baltymo hidrolizatai taip pat saugo odos dehidrataciją. Taip pat piene esanti ksantino oksidazė atlieka svarbią fiziologinę ir antimikrobinę funkciją – esant reikiamam substratui, inhibuoja bakterijų augimą. Dėl tokių naudingų savybių karvės pienu galima papildyti skystuosius antibakterinius muilus [45]. Bakterijų sumažėjimo po plovimo muilu, turinčiu karvės pieno, rezultatai yra pateikti 7 pav.

Pagrindinė antibakterinio muilo savybė yra žudyti bakterijas arba slopinti jų augimą. Tai viena iš perspektyvų atsirandančiai atsparumo antibiotikams problemai spręsti. Pavyzdžiui, *Staphylococcus*

aureus bakterijos, kurių turi tik apie 5 % sveikų žmonių, gamindamos superantigenus, sukelia atopinį dermatitą. Gausiausia jų būna žaizdose, tačiau gali būti ir ant nepažeistos odos. Tokių bakterijų aukštą kolonizacijos skaičių lemia tvirtas sukibimas su uždegimo apimta oda, silpna odos kaip barjero funkcija bei kitos priežastys. Pastebėta, jog šios bakterijos jau yra atsparios meticilinui, kas yra didžiulė problema. Jai spręsti yra pasitelkiami antibakteriniai muilai, kaip paprasta ir efektyvi priemonė bakterinių infekcijų kontrolei be neigiamų poveikių žmogui [46].



7 pav. Bakterijų sumažėjimas po plovimo muilu, turinčiu karvės pieno [45].

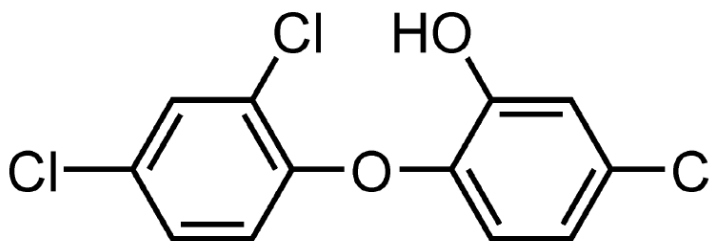
Rankų dezinfekcijai paprastai yra naudojami arba antibakteriniai muilai, arba alkoholiniai tirpalai. Alkoholiniai tirpalai pradeda veikti greičiau ir yra geriau toleruojami odos, tačiau jie nepašalina riebalų ir purvo, kaip antibakteriniai muilai [47]. Antibakteriniai muilai yra naudojami ne tik žmonių švaros ir sveikatos užtikrinimui. Antimikrobinės medžiagos yra svarbios tiek pramonėje, fermose auginamiems gyvuliams, tiek veterinarinėje medicinoje naminiams gyvūnams. Gyvūnams dažniausiai yra duodami antibiotikai, tačiau šiuo metu žinant, jog kai kurios bakterijos ir grybai jau yra atsparūs šiems vaistams, atsiranda didelė svarba kurti naujus antibakterinius produktus. Šiam tikslui taip pat pasitelkiami antibakteriniai muilai [48].

Antiseptinių ingredientų antibakterinis aktyvumas paprastai testuojamas minimalios inhibicijos koncentracijos (MIC) nustatymu, tačiau FDA yra nustačiusi, jog MIC nėra tinkamas, kai vartotojai su medžiagom kontaktuoja labai trumpą laiką. MIC testams reikia mažiausiai vienos dienos bei koncentracijos turi atitikti realias sąlygas. Taip pat MIC yra reikalinga naudoti 20 etaloninių rūšių bakterijų arba reprezentatyvių klinikinių izoliatų. Be to, tos 20 turi būti 10 Gram-teigiamos bakterijos bei 10 Gram-neigiamos. Todėl muilo antibakterinio aktyvumo nustatymui yra naudojamos įvairios metodo modifikacijos [8].

1.3. Triklozanas muile

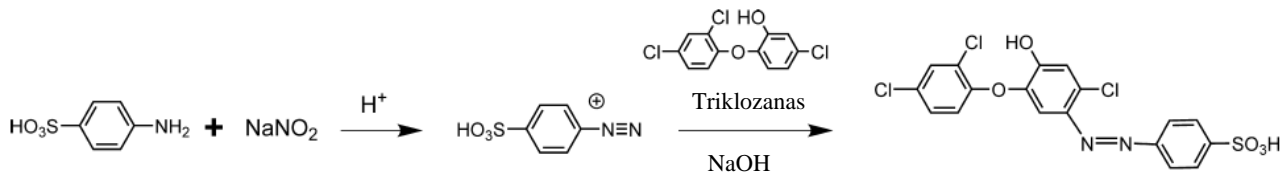
FDA, vertinanti antibakterinių produktų naudą bei pavojus vartotojų sveikatai bei aplinkai, yra paskelbusi, jog kuomet norima visuomenę apsaugoti nuo infekcijų protrūkio nauda yra akivaizdi, tačiau antiseptikų poveikis nėra vienareikšmiškas. Dėl šios priežasties federalinė agentūra žmonių bei gyvūnų antiseptikų vartojimui yra nustačiusi tam tikras taisykles. Nepaisant to, nuo 2000 metų rinkoje yra pasirodę apie 1500 naujų antibakterinių produktų. Kaip patys veikliausi antiseptiniai ingredientai, arba biocidai, dažniausiai yra naudojami šeši, tačiau pats populiariausias yra triklozanas [49]. Triklozanas buvo atrastas Šveicarijoje kaip pesticidas ir 1960 metais pirmą kartą JAV panaudotas dezodorantiniame muile. Tarp 1970 ir 1980 metų buvo pirmiausiai naudojamas kaip antiseptinė medžiaga chirurgijoje, paskui paplito muiluose, pietų dėžutėse, burnos skalavimo skysčiuose, dušo želė, skutimosi geliuose, žaisluose, pjaustymo lentose, namų ūkio detergentuose, virtuvės induose, dantų pastose, maisto laikymo dėžėse, gyvūnų pašaruose ir net gi drabužiuose. Viena iš triklozano tokio plataus masto paplitimo priežasčių – virimo temperatūra siekia 280-290 °C. Nuo 2014 m. triklozano plėtra sumažėjo, kadangi buvo norima išvengti bakterijų atsparumo šiam junginiui, tačiau tokių prognozių tyrimai kol kas nepatvirtino, bet atsirado aplinkos tarša, todėl pramonėje šio junginio sumažėjo [7].

Triklozanas yra 5-chloro-2-[2,4-dichlorofenoksil]-fenolis, mažomis koncentracijomis pasižymintis bakteriostatinu poveikiu – inhibuoja riebalų rūgščių biosintezę per FabI reduktazės fermento inhibiciją, suformuojant nekovalentinį kompleksą su NAD⁺ FabI aktyviajame centre. FabI yra būtinas normaliam ląstelės dalijimuisi, todėl inhibicija stabdo daugelį Gram-teigiamų ir Gram-neigiamų bakterijų augimą. Didelėmis koncentracijomis triklozanas skatina K⁺ jonų pašalinimą, kas lemia membranos destabilizaciją bei bakterijų žūtį. Struktūriškai triklozanas yra chloruotas bifenilo etilas, sandara panašus į polichloruotus bifenilus, bifenolį A, dioksinus bei tiroidinius hormonus (8 pav.) [50]. Junginio lipofiliškumas (logK_{ow} = 4,8; pagal oktanolio - vandens pasiskirstymo koeficientą) lemia riebalų rūgščių akumuliaciją, kas pasižymi toksiškumu [51].



8 pav. 5-chloro-2-[2,4-dichlorofenoksil]-fenolio cheminė struktūra [52].

Triklozano koncentracija antibakteriniame muile yra nustatoma skysčių chromatografijos metodu. Be to, triklozanas stipriai sugeria šviesą UV srityje ($\lambda_{\max} = 282$ nm). Bet šioje srityje absorbcija būdinga daugeliui junginių. Triklozano nustatymui gerai tinka kalorimetrinė analizė, kuomet mėginys reaguodamas su kita medžiaga, sudaro naują spalvotą junginį, kuris naudojamas tyrimui. Yra naudojamos reakcijos (9 pav.), kuomet natrio nitritas su 4-sulfanilo rūgštimi sudaro diazonio kompleksą, kuris, reaguodamas su triklozanu, sudaro geltonai-rudą kompleksą, kurio maksimali absorbcija yra ties 475 nm bangos. Taip dažnai yra nustatoma triklozano koncentracija [52].



9 pav. Triklozano reakcija su diazonio kompleksu [52].

Taip pat labai svarbi triklozano savybė yra lakumas – medžiagos geba virti mažesnėje nei 250 °C temperatūroje esant normaliam atmosferos slėgiui. Triklozanas yra nelakus esant $5,3 \cdot 10^{-4}$ Pa slėgiui 20 °C temperatūroje, tirpus vandenyje bei lengvai hidrolizuojamas. Vandenyje, kuomet pH < 7,9, triklozanas yra neutralios fotostabilios formos, o kai pH padidėja iki 8,1, pereina į fenoliato joną, kuris yra fotodegradibilus ir jautrus metalų ir kitiems jonams [53].

Nors triklozanas veikia kaip efektyvi antibakterinė medžiaga, tai sukelia ir tam tikrų aplinkosaugos ir žmonių sveikatos problemų. Pagal 2007 metų duomenis, dėl didžiulio triklozano pramonės masto jo kiekiai rinkoje siekė apie 1500 tonų per metus. Iš jų net 110 tonų patekdavo į nuotekas. 2014 metais buvo iširta, jog triklozanas pateko ir į geriamąjį vandenį, jo koncentracija siekia apie 0,21 nM valytame vamzdynų vandenyje bei 0,36 nM šaltinio vandenyje. Į žmogaus organizmą medžiaga gali patekti arba iš vandens per virškinamąjį traktą, arba per odą, arba per burnos ertmės gleivinių membranas. Per odos epidermį triklozano absorbcija yra greita, tačiau kur kas mažesniais kiekiais nei patenka su geriamuoju vandeniu. Iš virškinamojo trakto 70% viso triklozano kiekio pašalinama su šlapimu, tačiau likę 30%, kas sudaro 0,03-0,08 μM, sukelia fiziologinius atsakus. Triklozanas žmogaus kepenyse gali inhibuoti konjuguotus fermentus, gliukoroniltransferazes ir sulfotransferazes, ir tai sukelia ląstelių toksiškumą. Taip pat, kadangi triklozanas chemiškai yra panašus į hormonus, gali veikti kaip svarbių hormonų agonistas ir konkuruoti su receptoriais endokrininėje sistemoje. Pavyzdžiui, jeigu konkuruoja su ypač svarbiu estrogenu, tokie pokyčiai gali sukelti nekontroliuojamus fiziologinius atsakus, kaip hipostadija, kriptochidizmas arba vėžys. Nepaisant to, triklozanas labiausiai pavojingas aplinkai, ypač sukelia vandens dumblių žūtį. Problemai spręsti reiktų pasitelkti efektyvias aplinkos valymo priemones [51].

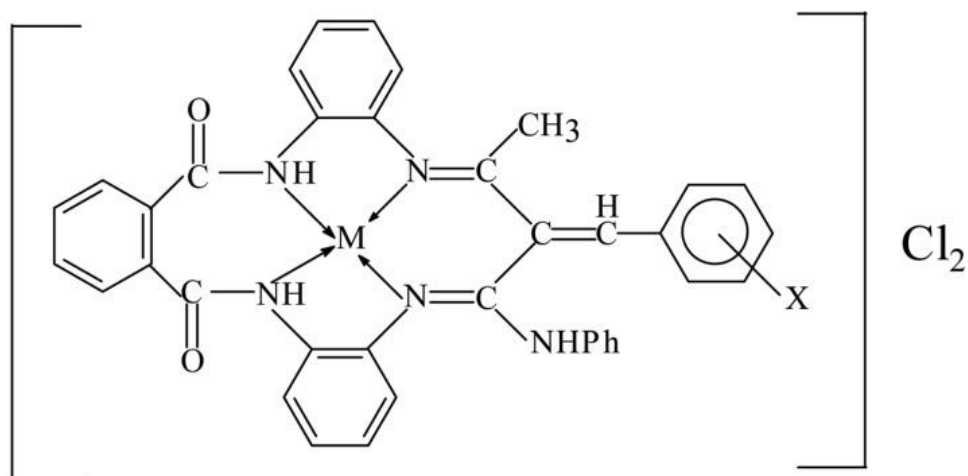
1.4. Metalų antibakterinės savybės

Sunkiųjų metalų jonais susidomėta jau labai seniai dėl itin naudingų savybių žmonių bei gyvūnų reikmėms. Jie naudojami žaizdų gydymui, kraujavimo, uždegimų, odos sudirginimų, skrandžio ir žarnyno ligų mažinimui [54] bei gyvulių pašaruose maistingų medžiagų įsisavinimo ir virškinimo sekrecijos fermentų aktyvumo užtikrinimui [57]. Pasiekus tam tikrą koncentracijos ribą, šie elementai tampa toksiški. Nustatyta, jog Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺ jonai pasižymi antibakterinėmis savybėmis. Katijonai yra teigiamai įkrauti, o bakterijų membranos - neigiamai, todėl ląstelė nužudoma neleidžiant jai replikuotis [55,56]. Gram-teigiamos ir Gram-neigiamos bakterijos turi skirtingą toleranciją metalų jonams. Gram-teigiamos bakterijos turi storą peptidoglikano sluoksnį (50-60 μm storio) virš plazminės membranos, kuris padeda išlikti atsparioms fiziniam stresui ir mažinti toksinių metalų jonų skverbimąsi. Gram-neigiamos bakterijos turi plonesnį peptidoglikano sluoksnį žemiau ląstelės viršutinės membranos, tačiau

tokia membrana turi porinus, kurie veikia kaip mažos molekulos masės medžiagų, tokių kaip metalų jonai, kanalai. Tačiau metalų imlumas priklauso individualiai nuo kiekvieno kamieno [57].

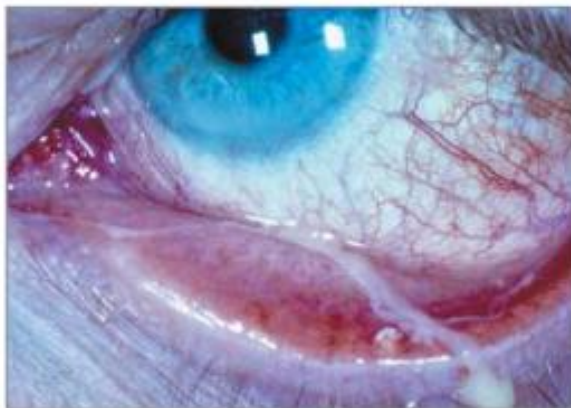
Metalo antibakterinis stiprumas priklauso nuo jo fizikocheminių savybių. Taip pat priklauso ir nuo jo tirpumo. Pavyzdžiui, alavas yra mažai tirpus ir neturi antibakterinio aktyvumo, o cinkas, pasižymintis labai geru tirpumu, pasižymi ir stipriu antibakteriniu aktyvumu. Tirpalų pH vertė taip pat veikia metalų antibakterinį aktyvumą. Terpės šarmingumas padidėja, kai oksidacijos-redukcijos reakcijų metu susidaro hidroksido jonų perteklius, toksiškas bakterijoms [56].

Yra žinoma, jog įvairūs organiniai ligandai turi stiprių antibakterinių, herbicidinių, insekticidinių ir antigrybinių savybių. Metalų aktyvumas pasireiškia per chelatų su šiais skirtingais bioligandais susidarymą, kadangi biologinėse sistemose metalai veikia ne kaip laisvi jonai, bet koordinuoti kartu su ligandais, formuojantis papildomoms interkaliacijoms, vandenilinių ryšių, elektrostatinėms, van der Valso sąveikoms su aminorūgštimis, peptidais ir nukleorūgštimis. Tokie susidarę junginiai yra biologiškai aktyvūs dėl katalitinių metalų funkcijų įvairiuose bioprocusuose. Norint laboratoriskai patikrinti šių ligandų veikimą, norint suvokti procesus gyvoje sistemoje yra sintetinami panašūs ligandai, ir tiriamas jų veikimas. Vienas iš tokių pavyzdžių yra makrociklinis ligandas, sintetinamas iš Šifo bazės, sudarantis patvarų kompleksą su Cu(II). Kompleksinio junginio struktūra vaizduojama 10 paveiksle. Tyrimais yra įrodyta, jog šio komplekso susidarymas padidina biologinį aktyvumą. Dedant Cu kompleksus į antibakterinį muilą, padidėja jo efektyvumas prieš tokias bakterijas kaip *Pseudomonas aeruginosa* ir *Lactobacillus acidophilus* bei grybus *Fusarium semitectum* ir *Trichophyton rubrum*. Taip pat ir kituose tyrimuose yra gauti įrodymai, jog Co(II), Ni(II) ir Zn(II) metalų chelatiniai junginiai pasižymi antibakteriniu aktyvumu prieš *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* bei *Pseudomonas aeruginosa* bakterijas. Spėjama, jog chelatinuose kompleksuose teigiami metalo jonai dalinai dalinasi šį krūvį su donoriniais atomais bei yra π elektronų delokaluota sistema aplink visą chelatinį žiedą, kas padidina lipofiliškumą, ir junginiai gali lengviau pereiti per lipidines bakterijų membranas. Molekulių antibakterinių savybių pasireiškimui labai svarbu yra ne tik tirpumas, dipolio momentas, bet ir ląstelės pralaidumo mechanizmai [58-60].



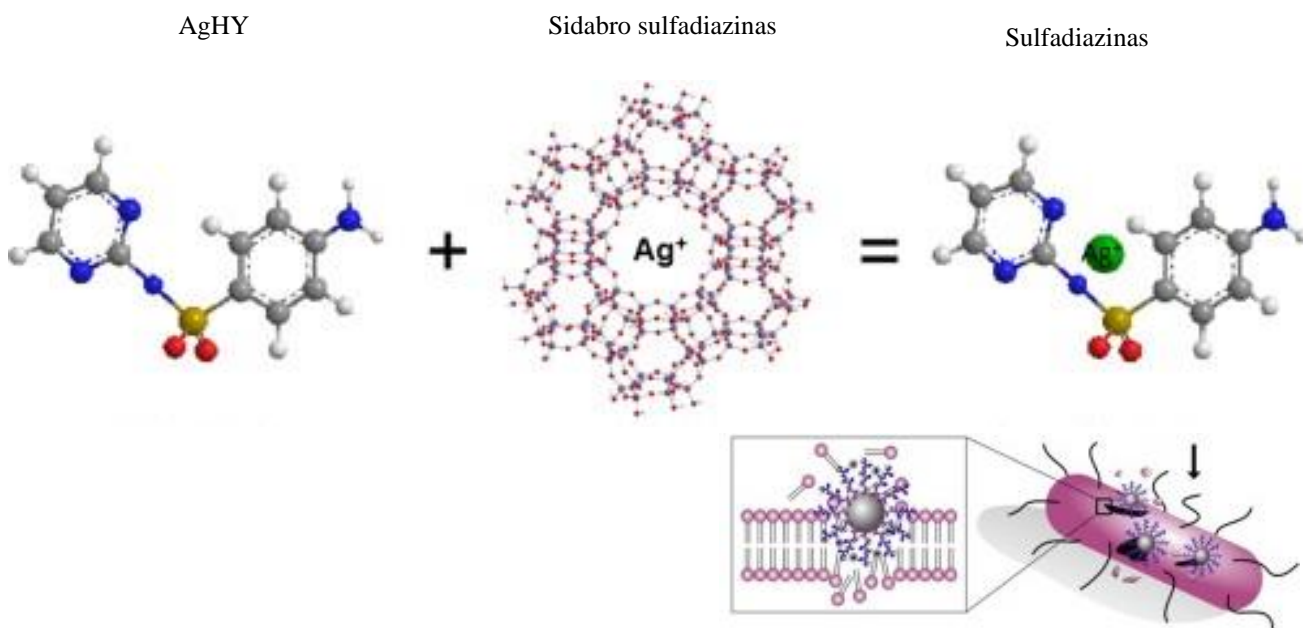
10 pav. Makrociklinio ligando ir metalo chelatinio komplekso struktūra [58].

Kitas pavyzdys yra sidabro druskos bei nanodalelės, kurios išlaisvina Ag^+ jonus, ir gali pakeisti sintetinius antibiotikus gydant infekcijas. Sidabro ir jo junginių priešmikrobinis veikimas jau žinomas labai seniai. Pavyzdžiui, 1 % AgNO_3 tirpalas buvo naudojamas tik gimusio kūdikio akims dezinfekuoti, ar konjuktyvitui (11 pav.) gydyti.



11 pav. Konjuktyvitas [61].

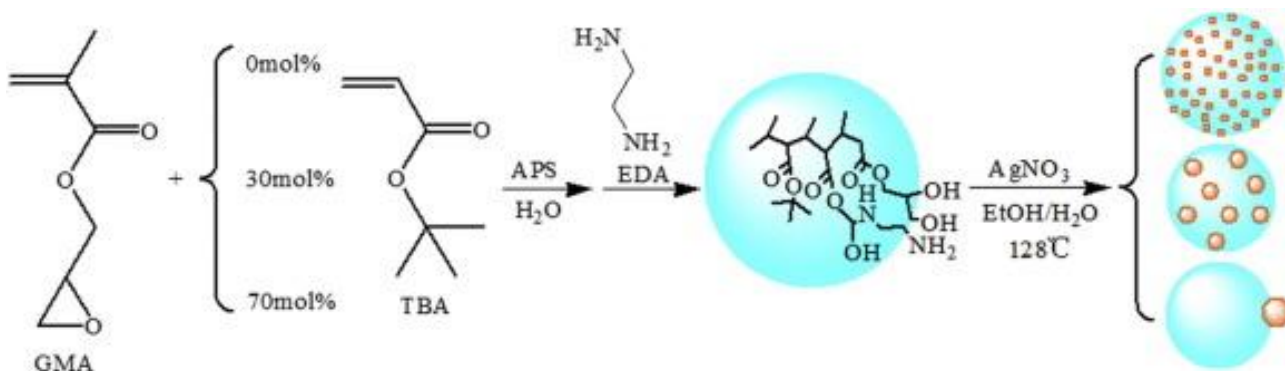
Sidabro sulfadiazinas yra priešmikrobinis, priešgrybelinis reagentas (12 pav.)



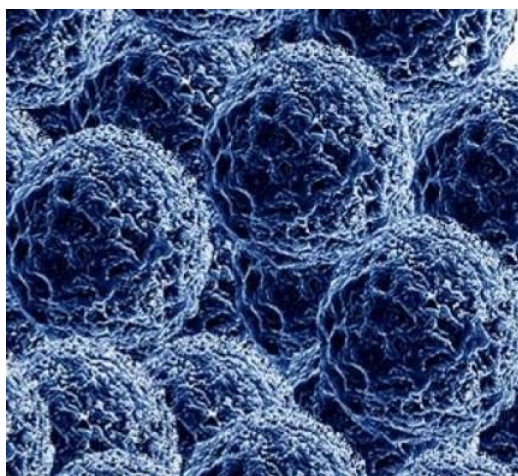
12 pav. Sidabro sulfadiazinas yra priešmikrobinis, priešgrybelinis reagentas [62,63].

Ag^+ jonai žudo bakterijas per membranos baltymo sulfidrido grupės sąveiką, blokuoja elektronų perdavimą, kas lemia membranos suirimą, tuomet ląstelėje reaguoja su nukleorūgštimis, kliudo DNR replikacijai ir produkuoja ROS (aktyvias deguonies formas). Kaip Ag nanodalelių matrica yra naudojamos įvairios formos medžiagos – lateksas, mikrosferos, nanopluoštas, micelės ir pūslelės. Ant jų yra padengiami įvairūs metalo polimerai, oksidai, nanoanglis, porėti silikatai ir fosfatai. Monodispersinės mikrosferos iš PGMA (poliglicidimetakrilato) ir P(GMA/TBA) (glicidimetakrilato/tert-butilakrilato

kopolimero) buvo ruošiamos muilo emulsijų polimerizacijos proceso metu, tuomet emulsijos paruoštos naudojant AgNO_3 . Šio proceso schema yra vaizduojama 13 paveiksle. Taip struktūruotos Ag nanodalelės (14 pav.) pasireiškia tiek antibakteriniu aktyvumu, tiek kitais privalumais – nesudėtingas paruošimo metodas, medžiagos biodegradabilumas, žemas toksiškumas bei kt [64].



13 pav. Ag nanodalelių paruošimo schema [64].



14 pav. Ag nanodalelės – nanokamuoliukai [65].

Apibendrinant literatūros šaltinių analizę, esant poreikiui užkirsti kelią infekcijų plitimui, yra būtina kurti, apibūdinti bei nustatyti įvairių antibakterinių poveikį aplinkai ir žmogui. Šiam tikslui metalų jonų antibakterinio aktyvumo savybės leidžia juos efektyviai naudoti antibakterinio muilo sintezei.

2. MEDŽIAGOS IR METODAI

2.1 Medžiagos

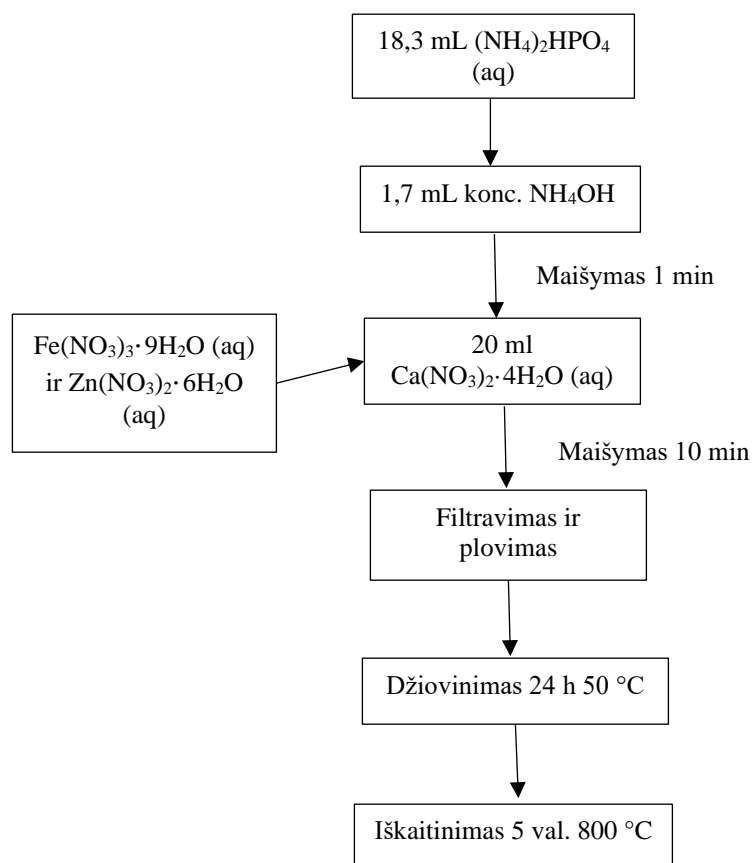
- Agaras (95 %, Sigma-Aldrich, M = 336,33 g/mol)
- $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (99 %, Roth, M = 176,18 g/mol)
- $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (99,1 %, Molar chemicals KFT, M = 172 g/mol)
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (99 %, Chempur, M = 236,15 g/mol)
- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (99,8 %, Honeywell, M = 46 g/mol)
- $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (98,0-101,0 % ACS, Alfa Aesar, M = 403,99 g/mol)
- H_3PO_4 (85 %, Eurochemicals, M = 98 g/mol)
- Mielių ekstraktas (94 %, Sigma-Aldrich, M = 319,19 g/mol)
- PEG (95 %, Roth, M = 1400-1600 g/mol)
- Rapsų aliejus (~70 %, Bionaturallis, M ~ 1426 g/mol)
- NaCl (99 %, Roth, M = 58,44 g/mol)
- $\text{NH}_3(\text{aq})$ (25 %, Chempur, M = 35,04 g/mol)
- $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (99 %, Roth, M = 115,3 g/mol)
- NaOH (99 %, Roth, M = 40 g/mol)
- Triptonas (90 %, Millipore, M = 227,3 g/mol)
- $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (99,5 %, Roth, M = 219,49 g/mol)
- $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98 %, Chempur, M = 297,46 g/mol)

2.2 Prietaisai

- Rentgeno spindulių difraktometras Rigaku MiniFlex II
- Furjė transformacinės infraraudonųjų spindulių spektrometras Bruker Vertex 70
- Raman spektrometras Perkin Elmer Raman Station 400F
- Skenuojantis elektroninis mikroskopas Hitachi SU-70

2.3 Beta-trikalcio fosfato sintezė bendrojo nusodinimo metodu

Kaip pradinės medžiagos buvo naudotos $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ir $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, kurios buvo maišomos taip, jog Ca^{2+} , Zn^{2+} ir Fe^{2+} jonų molių santykis būtų 2,85:0,0075:0,0075. Maišant 18,3 mL $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (aq) įpilama 1,7 mL konc. NH_4OH ir maišoma (200 rpm) 1 min. Iš karto greitai supilamas 20 ml tūrio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ir $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (aq) tirpalas, maišoma 10 min (400 rpm). Susidaro baltos nuosėdos, kurios iš karto filtruojamos, plaunamos 100 mL dis. H_2O [66]. Sintezės produktas džiovinamas džiovinimo spintoje 24 h 50 °C temperatūroje, tuomet medžiaga sutrinama grūstuvėje ir kaitinama 5 val. 800 °C temperatūroje (temperatūros kėlimo žingsnis – 5 °C/min) (15 pav.).

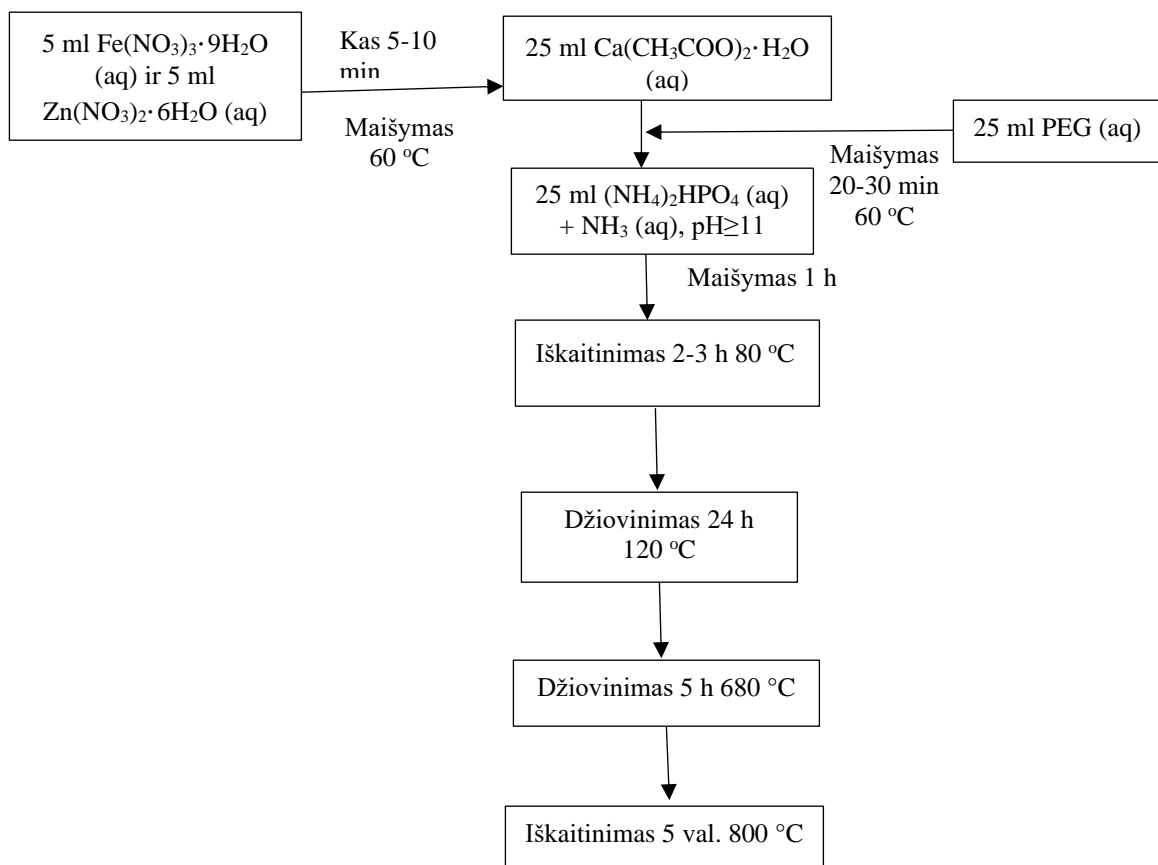


15 pav. $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ sintezės schema.

2.4 Hidroksiapatito sintezė zolių-gelių metodu

Pagal kitų autorių atliktus tyrimus, legiruojant Cu(II) ir Zn(II) metalais hidroksiapatitą drėgnuojančiu cheminiu metodu, mėginiai nepasižymi antibakteriniu aktyvumu, todėl buvo pasirinktas zolių-gelių metodas, kuomet nitratų druskos kaip pradinės medžiagos lemia NO_3^- jonų integraciją į hidroksiapatitą ir keičia struktūrą, kas lemia tokiu būdu gauto hidroksiapatito antibakterinį aktyvumą [67].

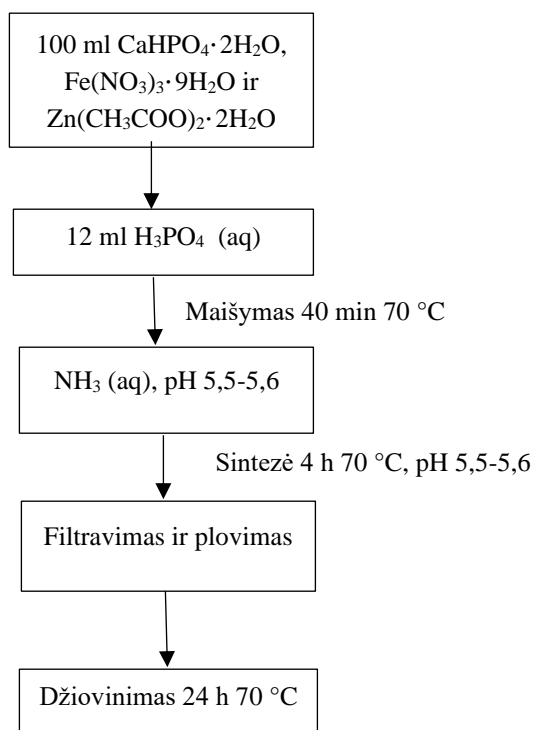
Kaip pradinės medžiagos buvo naudotos $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ir $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, kurios buvo maišomos taip, jog Ca^{2+} , Zn^{2+} ir Fe^{2+} jonų molių santykis būtų 9,5:0,25:0,25. 25 ml $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (aq), 5 ml $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (aq) ir 5 ml $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (aq) tirpalai buvo pilami paeiliui kas 5-10 min ir maišomi magnetine maišykle 60 °C temperatūroje, galiausiai pilamas 25 ml PEG (aq) tirpalas. Po 20-30min pilami 25 ml $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (aq) bei NH_3 (aq) tirpalai taip, jog pH nebūtų mažesnis už 11 [68]. Sintezė vykdoma 1 h, tuomet tirpalas iškaitinamas 2-3 valandas 80 °C temperatūroje, nuosėdos tiglyje džiovinamos džiovyklėje 120 °C temperatūroje 24 h, milteliai iškaitinami 5h 680 °C temperatūroje (temperatūros kėlimo žingsnis 60 °C/h), galiausiai 5 h 800 °C temperatūroje (žingsnis 60 °C/h) (16 pav.).



16 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ sintezės schema.

2.5 Vitlokito sintezė tirpinimo-nusodinimo metodu

Kaip pradinės medžiagos buvo naudotos $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ir $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kurios buvo maišomos taip, jog Ca^{2+} , Zn^{2+} ir Fe^{2+} jonų molių santykis būtų 9,5:0,25:0,25. Į 100 ml 8,8 mM $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,23 mM $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ bei tokio paties kiekio $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tirpalą įpilta 12 ml H_3PO_4 (aq), maišyta magnetine maišykle 300 rpm greičiu 70 °C temperatūroje 40 min, tuomet įpilta NH_3 (aq) tirpalo tiek, jog pH siektų 5,5-5,6 [69]. Vitlokito sintezė vykdyta 4 h, palaikant pastovų 5,5-5,6 pH ir 70 °C temperatūrą. Susidariusios nuosėdos nufiltruojamos, praplaunamos 300 ml H_2O , išdžiovinamos 24 h 70 °C temperatūroje bei milteliai sugrūdami grūstuvėje iki vientisos masės (17 pav.).



17 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ sintezės schema.

2.6 Muilo sintezės metodika šaltuoju būdu

Mažame tūryje dis. H_2O ištirpinta 0,1 M NaOH, nuolat maišant magnetine maišykle įpilta 10 ml aliejaus ir 10 ml etanolio bei maišyta iki vientisos masės. Antibakterinio muilo gamybai tuo metu į masę pridėta atitinkamai 0,07 mM (0,1 %), 0,33 mM (0,5 %), 0,66 mM (1 %) arba 3,28 mM (5 %) beta-trikalčio fosfato, 0,02 mM (0,1 %), 0,10 mM (0,5 %), 0,20 mM (1 %) arba 0,99 mM (5 %) kalcio hidroksiapatito arba 0,02 mM (0,1 %), 0,09 mM (0,5 %), 0,19 mM (1 %) arba 0,93 mM (5%) vitlokito, muilai pašildyti iki 40-45 °C temperatūros, supilti į formas, brandinti 1 mėnesį ir sutrinti grūstuvėje [70].

2.7 Rentgeno spindulių difrakcinė analizė

Rentgeno spindulių difrakcijos duomenys buvo gauti $10 \leq 2\Theta \leq 60^\circ$ intervale naudojant Ni filtrą, Cu K_α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) spinduliuotę Rigaku MiniFlex II difraktometru. Detektoriaus judėjimo žingsnis – 5 °C/min, matavimo žingsnio dydis – 0,02°. Difraktometras remiasi Bragg-Brentano ($\Theta/2\Theta$) konfigūracija. Naudota apie 10 mg medžiagos. Fazės grynumas buvo vertinamas Match bei OriginPro 2021 programine įranga.

2.8 Furjė transformacinės infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodas

FT-IR analizė buvo atlikta Bruker Vertex 70 spektrometru, tirta infraraudonojo spektro pagrindiniame diapazone nuo 4000 iki 400 cm^{-1} , naudotos optiškai švarios KBr granulės. Tiriamos medžiagos masė apie 1 mg medžiagos. Duomenys buvo apdorojami OriginPro 2021 programa.

2.9 Raman spektroskopijos metodas

Visi mėginių spektrai gauti Perkin Elmer Raman Station 400F Raman spektrometru, sužadinti naudojant 785 nm lazerinę spinduliuotę, 500 mW galią ir 8 cm^{-1} arba 4 cm^{-1} skyrą.

2.10 Skenuojančios elektroninės mikroskopijos metodas

SEM analizė atlikta naudojant Hitachi SU-70 SEM mikroskopą, kurio parametrai : didinimas 5000-50 000 kartų, greitinanti įtampa – 10 kV, darbinis atstumas tarp bandinio ir paskutinės elektrooptinės lizės briaunos – 5,6-6,0 mm, detektorius – SE. Mėginiai buvo uždėti ant dvipusės anglinės juostelės, kuri buvo užlipinta ant aliuminio padėklo. Paviršiaus nuotraukos leidžia įvertinti medžiagų dydį, formą, išsidėstymą ir aglomeracijos laipsnį.

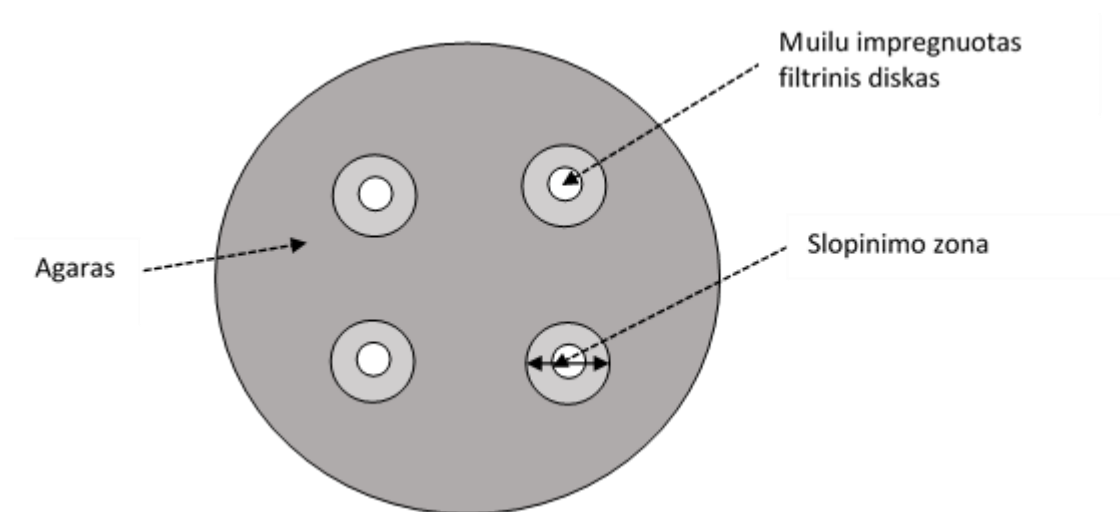
2.11 Antibakterinio aktyvumo tyrimas

Antibakterinio aktyvumo nustatymui buvo naudojamas diskų difuzijos metodas [71]. Pasirinktos dvi skirtingos bakterijų kultūros: viena Gram-teigiama *Staphylococcus saprophyticus* WDCM 00159 (Sigma Aldrich); kita kultūra Gram-neigiama *Escherichia coli* DH5 α (Sigma Aldrich), bakterijų kamienai gauti iš Vokietijos. Mikroorganizmų kultivavimui buvo paruošta lizogeninė mitybinė terpė LB Broth [72], kurios sudėtis nurodoma 1 lentelėje, pH sureguliuota iki 7,0 ir autoklavuota 20 min +121 °C esant 1 atm slėgiui. Po 15 ml agarizuotos terpės buvo supilta į Petri lėkšteles ir leista sustingti. Iš bakterijų suspensijų 0,9 % NaCl tirpale į kiekvieną lėkštelę steriliomis sąlygomis užsėta 0,1 ml kiekvienos kultūros, 15 min leista išdžiūti. Tuomet į lėkšteles sudėti 50, 100 arba 150 mg/ml kiekvienu tiriamu muilu impregnuoti sterilizuoti 6 mm filtrinio popieriaus diskai, muilų tirpalai prieš tai kaitinti 100 °C vandens vonelėje 1 h. Paruoštos lėkštelės inkubuotos 37 °C temperatūroje 24 h. Muilo mėginių antibakterinis aktyvumas įvertintas matuojant slopinimo zonas (mm) (18 pav.). Jei slopinimo zonos spindulys buvo nuo 0 iki 6 mm, buvo vertinama, jog nėra jokio slopinimo, nuo 6 iki 10 mm – yra vidutinis slopinimas, nuo 10 iki 14 mm – stiprus slopinimas, bei daugiau nei 14 mm – labai stiprus slopinimas [73].

1 lentelė. LB Broth terpės sudėtis [72].

Medžiaga	Masė (1 l terpės), g
Triptonas	10 g
Mielų ekstraktas	5 g
NaCl	10 g

Agaras	15 g
--------	------



18 pav. Slopinimo zonos įvertinimo diskų difuzijos metodu schema.

2.12 Statistinė duomenų analizė

Kiekvienas diskų difuzijos metodo eksperimentas kartotas 3 kartus. Gautos reikšmės buvo analizuojamos naudojant MS Excel bei R programines įrangas.

Rezultatų reikšmingumas buvo vertinamas taikant vienmačio pasiskirstymo Shapiro-Wilk kriterijų pagal formulę:

$$W = \frac{(\sum_{i=1}^n a_i X_{(i)})^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (1)$$

čia n – imties dydis;

a_i – koeficientas;

$X_{(i)}$ – mažiausia imties reikšmė;

\bar{X} – imties vidurkis.

Rezultatai yra statistiškai patikimi, kai $P \leq 0,05$ [74].

Tarpgrupinių rezultatų statistinis patikimumas buvo vertinamas taikant faktorinės analizės ANOVA modulį. F (Fišerio) kriterijaus formulė:

$$F = \frac{\text{parametro dispersija tarp imčių}}{\text{parametro dispersija imties viduje}} \quad (2)$$

$$F = \frac{\frac{\sum_{i=1}^k n_i (\bar{Y}_i - \bar{Y})^2}{k-1}}{\frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2}{N-k}} \quad (3)$$

čia n_i – i-tosios imties dydis;

\bar{Y}_i – i-tosios imties parametro vidurkis;

\bar{Y} – bendras parametro vidurkis;

k – faktorių (grupių) skaičius;

N – bendras imties dydis, $N = \sum_{i=1}^k n_i$;

laisvės laipsnių skaičius $df_1 = k - 1$ ir $df_2 = N - k$ [75].

F faktoriaus statistika laikoma reikšminga, kai F (faktinis) $>$ F (df1, df2) (teorinis), pasirinkus $\alpha = 0,05$ reikšmingumo lygmenį. Jei $P \leq 0,05$, tuomet atmetame nulinę hipotezę, kad regresija yra statistiškai nereikšminga, ir priimame alternatyvą, jog bent vienas nepriklausomas kintamasis daro statistiškai reikšmingą įtaką priklausomam kintamajam [76].

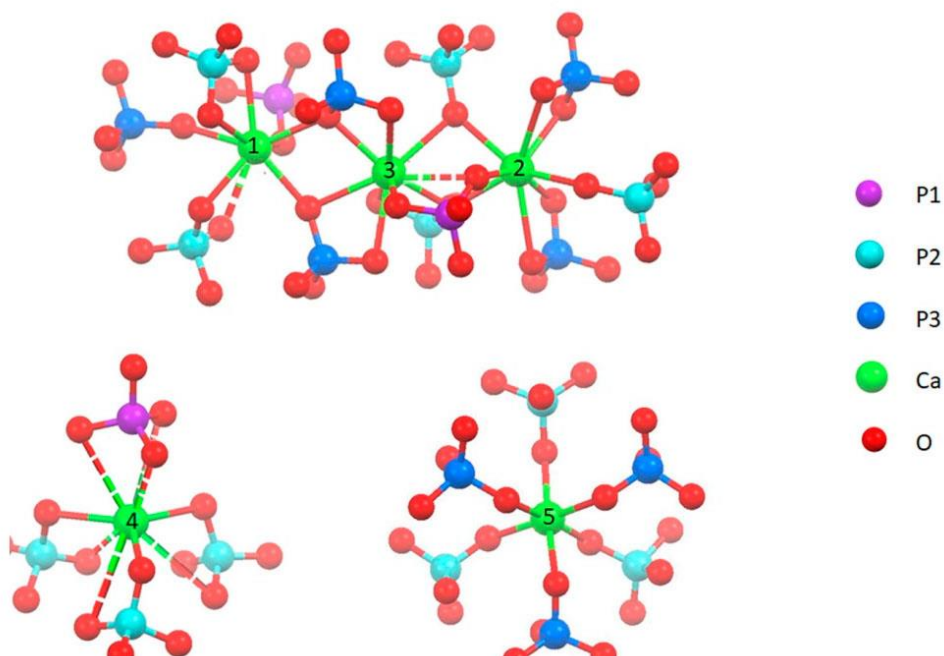
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais tyrimas Rentgeno spindulių difrakcijos metodu

Šiame diplominiame darbe buvo susintetinti trijų rūšių kompozitai su paprastuoju muilu. Aktyviaisiais muilo komponentais buvo naudoti beta-trikalčio fosfatas (Ca_3PO_4 ; TCP), kalcio hidroksiapatitas ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; CHA) ir vitlokitas ($\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$; WT), kuriuose dalis kalcio buvo pakeista geležimi ir cinku.

3.1.1. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalčio fosfatu

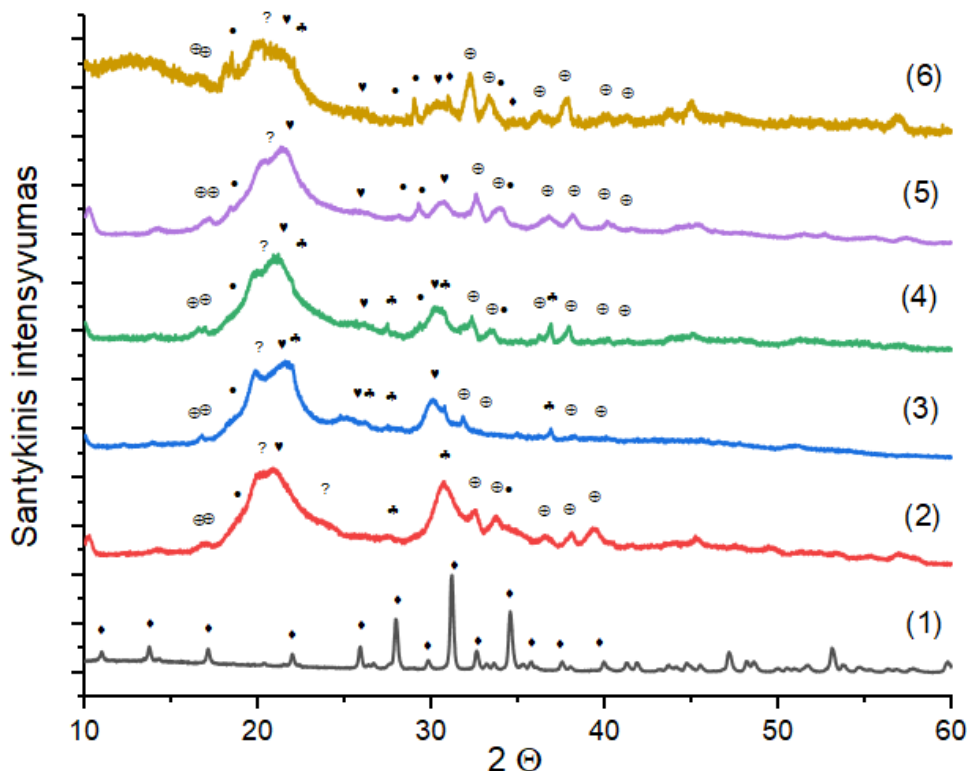
Kristalinis beta-trikalčio fosfatas $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ gali būti gaunamas kaitinant amorfinio fosfato nuosėdas, o kaitinant $\beta\text{-TCP}$ dar aukštesnėje temperatūroje susidaro kita fosfato modifikacija $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ kristalinė struktūra yra pavaizduota 19 pav. [77].



19 pav. $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ kristalinė struktūra, parodanti skirtingas 5 katijonines padėtis joje [77,78].

$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$) buvo susintetintas bendrojo nusodinimo metodu. Gauto fosfato, muilo ir muilo su skirtingais fosfato kiekiais kompozitų rentgeno spindulių difraktogramos (XRD) yra pateiktos 20 pav. Kaip matyti, bendrojo nusodinimo metodu pavyko susintetinti vienfazį $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (ICDD 00-076-0694). Visi difrakciniai atspindžiai, esantys 2θ intervale nuo 10 iki 40° priklauso tik kalcio fosfato fazei. Susintetinto natrio muilo XRD difraktogramoje stebime smailes, charakteringas natrio oleatui ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa}$) (ICDD 00-033-1879), natrio karbonatui hidratui ($\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$) (ICDD 01-070-0845), natrio karbonatui heptahidratui ($\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (ICDD 00-025-0816),

natriovandeniliokarbonatui-natrio karbonatui dihidratui ($\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (ICDD 00-076-0739) ir nežinomai fazei.

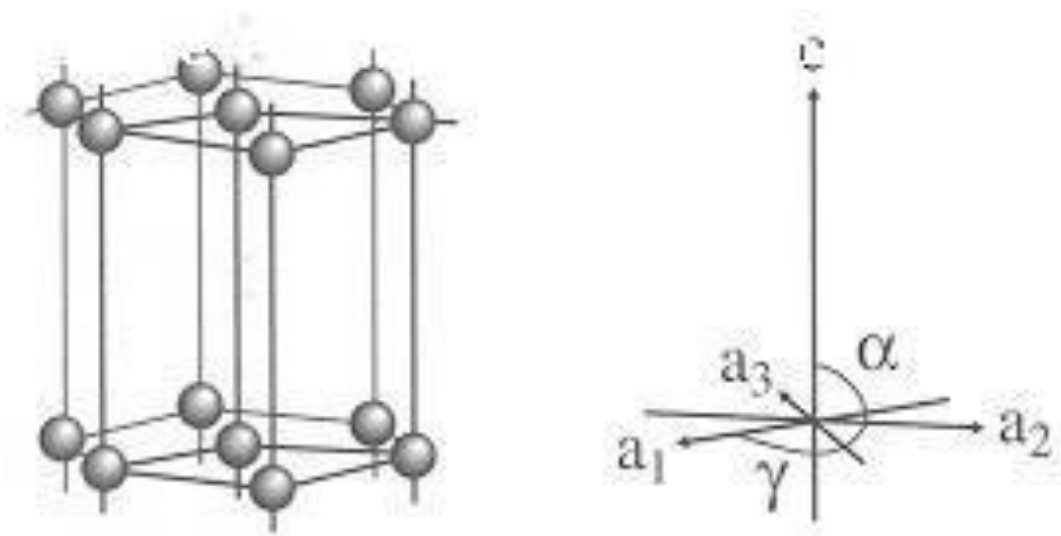


20 pav. $\beta\text{-Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ (1), muilo (2) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (3), 0,5 % (4), 1 % (5) ir 5 % (6) $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$, XRD difraktogramos. Nustatytos šios kristalinės fazės: \blacklozenge - $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, \oplus - $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, \clubsuit - $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, \bullet - $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, \heartsuit - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa}$, ? – nežinoma.

Natūralu, kad susintetintame muile nėra TCP nei pėdsakų. Didinat $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ kiekį muile iki 5 %, XRD difraktogramose vyrauja tos pačios difrakcinės smailės, kurios buvo identifikuotos gryno muilo difraktogramoje. Ir tik kompozite muilas – 5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ jau stebimi ir TCP charakteringi difrakciniai atspindžiai. Kai fosfatinio komponento kompozite yra mažesni kiekiai, muilo sudedamųjų dalių smailės užgožia kristalinio TCP smailes.

3.1.2. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu

Apatitai – junginių klasė, pasižyminti heksagonine erdvine struktūra $P6_3/m$ $a_1 = a_2 = a_3 \neq c$, $\alpha = \alpha = 90^\circ$; $\gamma = 60^\circ$ (21 pav.) ir turinti bendrą cheminę sudėtį $\text{Me}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$ [79]. Kai kurios apatitų sudėtys ir jų Ca/P moliniai santykiai pateikti 2 lentelėje.

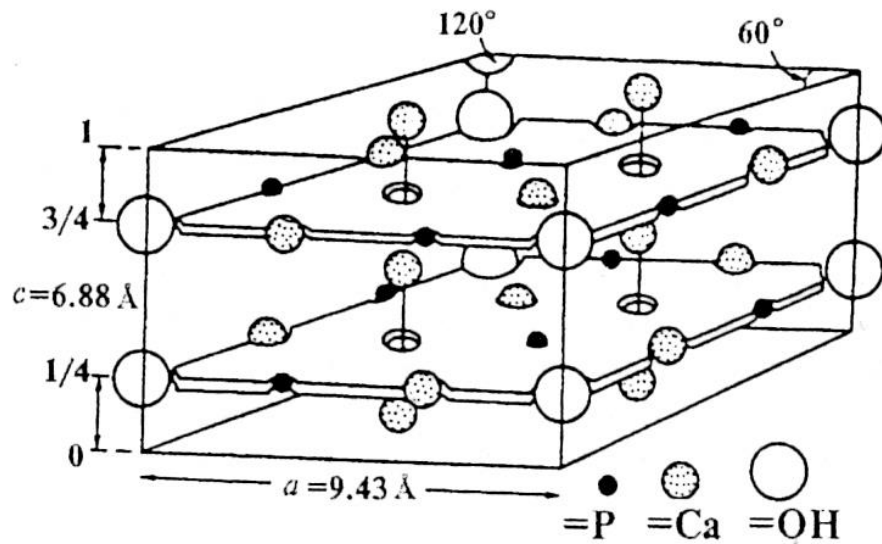


21 pav. Heksagoninė erdvinė struktūra [79].

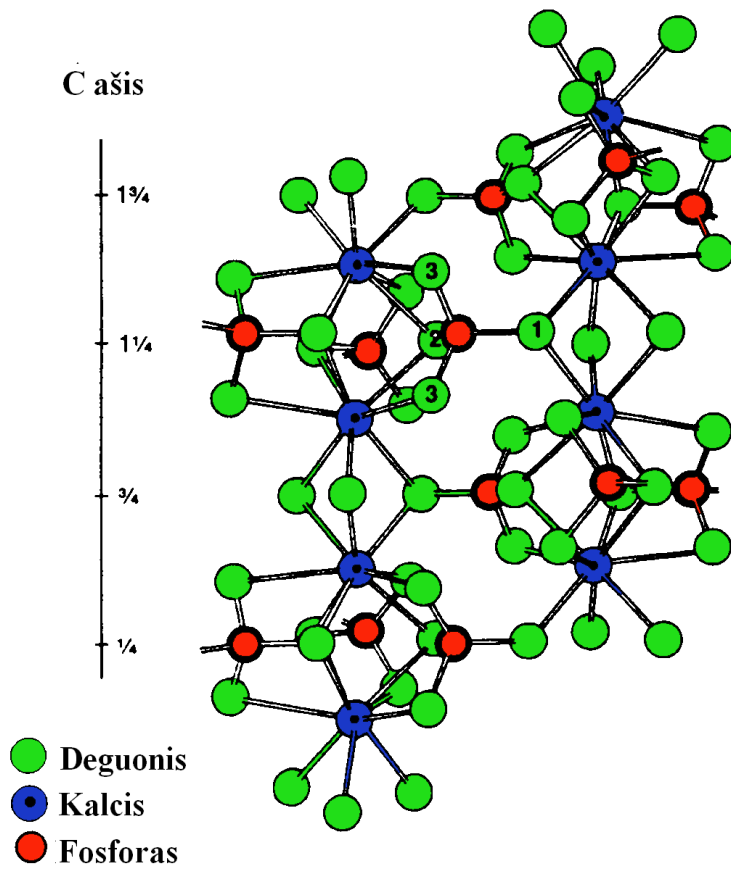
2 lentelė. Kai kurios apatitų sudėtys [80].

Ca/P molinis santykis	Mineralo pavadinimas	Formulė
1,5-1,67	Deficitinis kalcio hidroksiapatitas (Ca-def HAp)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}(0 < x < 1)$
1,67	Hidroksiapatitas (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
1,67	Galutinis, A- tipo karbonatinis apatitas	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$
$\geq 1,67$	Galutinis, B- tipo karbonatinis hidroksiapatitas	$\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{CO}_3)_{2x}](\text{OH})_2(0 < x < 1)$
$\geq 1,67$	A- ir B- tipo karbonatinis apatitas	$\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{CO}_3)_{2x}]\text{CO}_3(0 < x < 1)$
1,67	Fluorapatitas (FAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$
1,67	Oksiapatitas (OAp), mineralinis voelkeritas	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$

Pagrindinis, labiausiai paplitęs, apatitų šeimos atstovas yra kalcio hidroksiapatitas $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Atomų išsidėstymas elementarioje CHA gardelėje yra pavaizduotas 22 ir 23 pav. [79].

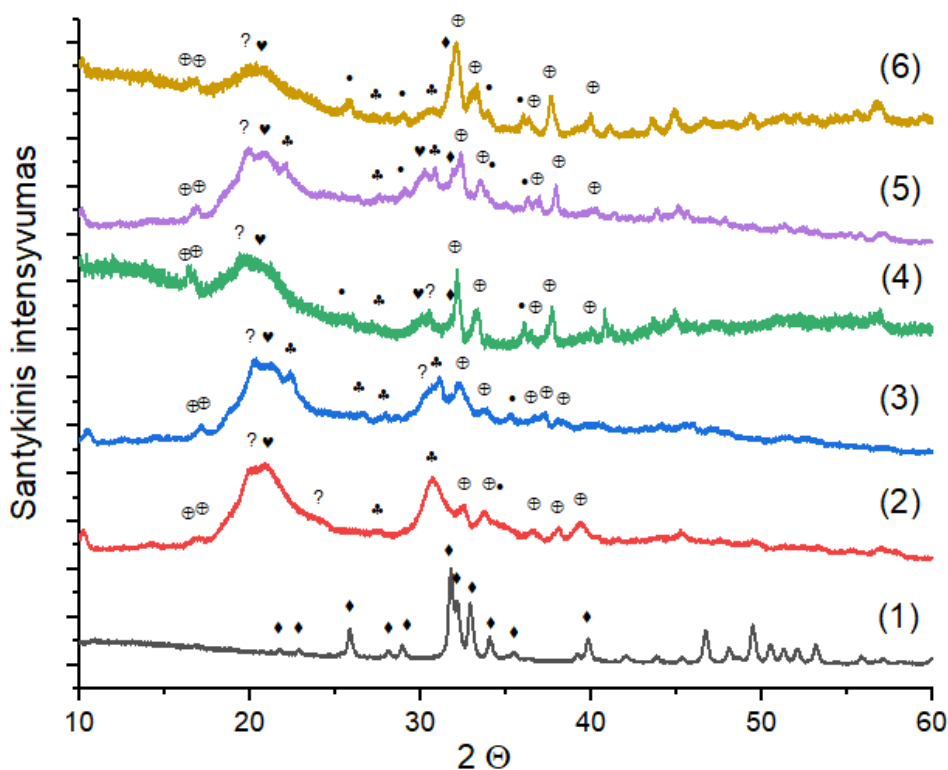


22 pav. Atomų išsidėstymas kalcio hidroksiapatito elementariojoje gardelėje [79].



23 pav. Kalcio hidroksiapatito kristalinė struktūra [79].

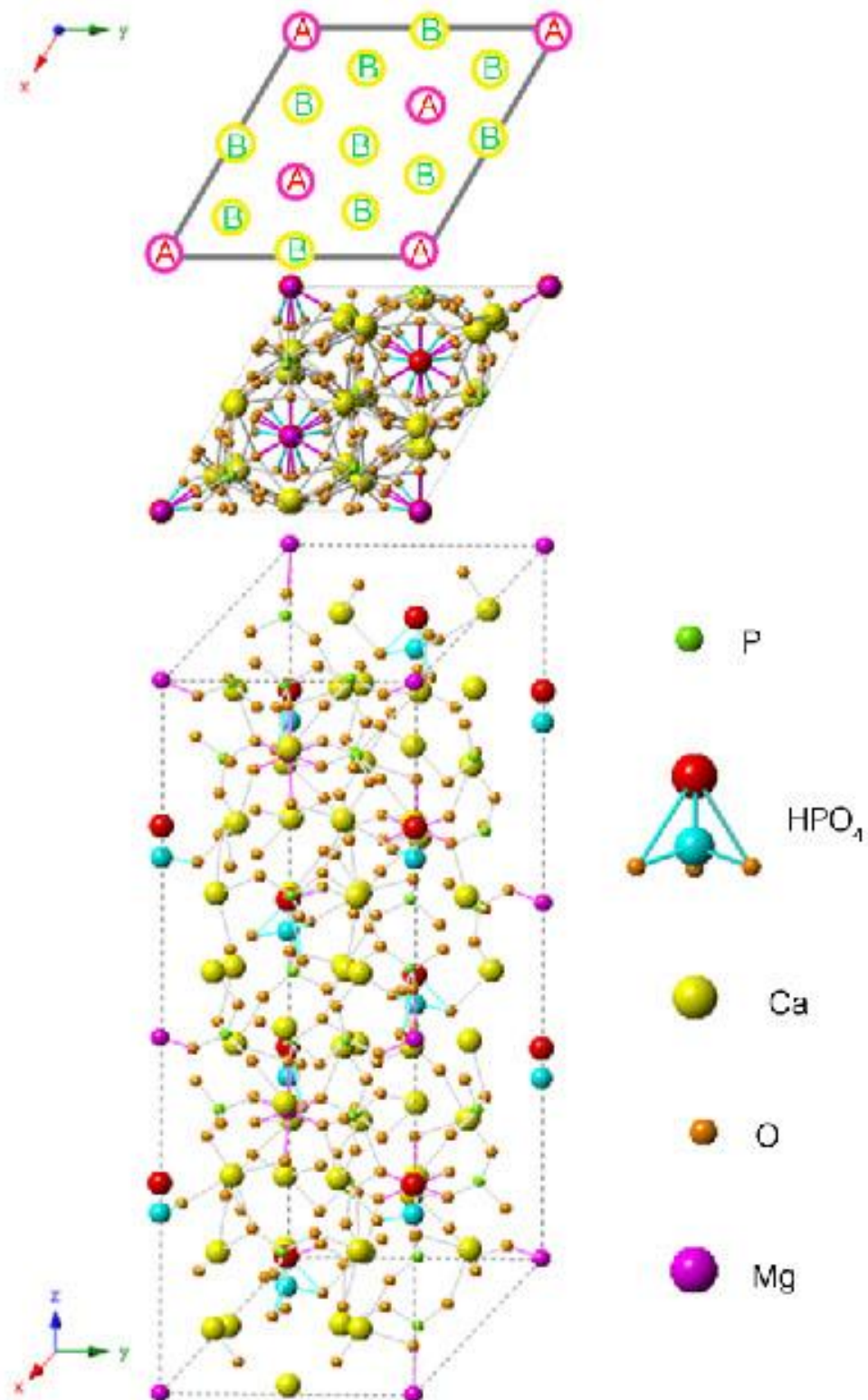
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) buvo susintetintas zolių-gelių metodu. Gauto $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ hidroksiapatito, muilo ir muilo su skirtingais hidroksiapatito kiekiais kompozitų rentgeno spindulių difraktogramos (XRD) yra pateiktos 24 pav. Kaip matyti, zolių-gelių metodu susintetintas $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ junginys yra vienfazis kalcio hidroksiapatitas (ICDD 96-900-2215). Visi difrakciniai atspindžiai, esantys 2θ intervale nuo 10 iki 40° priklauso tik $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ kristalinei fazei. Susintetinto natrio muilo XRD difraktogramoje stebime tas pačias smailes, kaip ir 16 pav. Natūralu, kad susintetintame muile nėra CHA būdingų difrakcinių smailių. Didinant $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ kiekį muile iki $0,5\%$, XRD difraktogramoje jau stebima CHA intensyviausia smailė bei mažėja susintetinto junginio amorfiškumas, jau galima identifikuoti ir kitus muilo priemaišų kristalinius atspindžius. Visose kompozitų difraktogramose vyrauja tos pačios difrakcinės smailės, kurios buvo identifikuotos gryno muilo difraktogramoje. Net kompozite muilas – 5% $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ kalcio hidroksiapatitui charakteringi difrakciniai atspindžiai yra labai nežymūs.



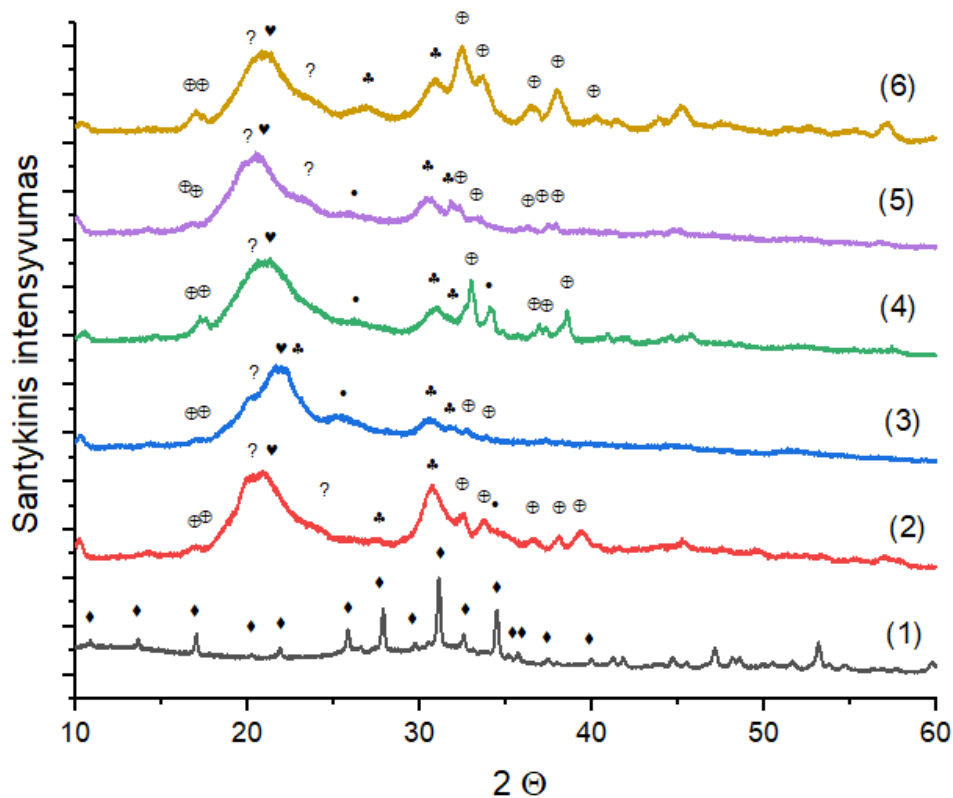
24 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (1), muilo (2) ir muilo kompozitų, kuriuose yra $0,1\%$ (3), $0,5\%$ (4), 1% (5) ir 5% (6) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, XRD difraktogramos. Nustatytos šios kristalinės fazės: ◆ - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ⊕ - $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, ♣ - $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ● - $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ♥ - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa}$, ? – nežinoma.

3.1.3. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu

Vitlokitas ($\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{12}$ arba $\text{Ca}_9\text{Mg}_1(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$) yra antrasis pagal paplitimą fosfatinis mineralas žmogaus kauliniame audinyje [81]. Jo kristalinė sandara yra pavaizduota 25 pav. $\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{12}$, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$) buvo susintetintas tirpinimo-nusodinimo sintezės metodu. Gauto $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ vitlokito, muilo ir muilo su skirtingais vitlokito kiekiais kompozitų rentgeno spindulių difraktogramos (XRD) yra pateiktos 26 pav. Kaip matyti, tirpinimo-nusodinimo metodu susintetintas $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ junginys yra vienfazis vitlokitas (ICDD 00-070-2064). Visi difrakciniai atspindžiai, esantys 2θ intervale nuo 10° iki 40° priklauso tik $\text{Ca}_9\text{Mg}_1(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ kristalinei fazei. Susintetinto natrio muilo XRD difraktogramoje stebime tas pačias smailes, kaip ir 20 bei 24 pav. Susintetintame muile nėra vitlokito būdingų difrakcinių smaيليų.



25 pav. Vitlokito kristalinė struktūra [81].



26 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ (1), muilo (2), ir muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (3), 0,5 % (4), 1 % (5) ir 5 % (6) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, XRD difraktogramos. Nustatytos šios kristalinės fazės: \blacklozenge - $\text{Ca}_9\text{Mg}_1(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, \oplus - $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, \clubsuit - $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, \bullet - $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, \heartsuit - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa}$, ? – nežinoma.

Įdomu pastebėti, kad $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ fazei charakteringų smailių nėra net kompozito muilas – 5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ difraktogramoje.

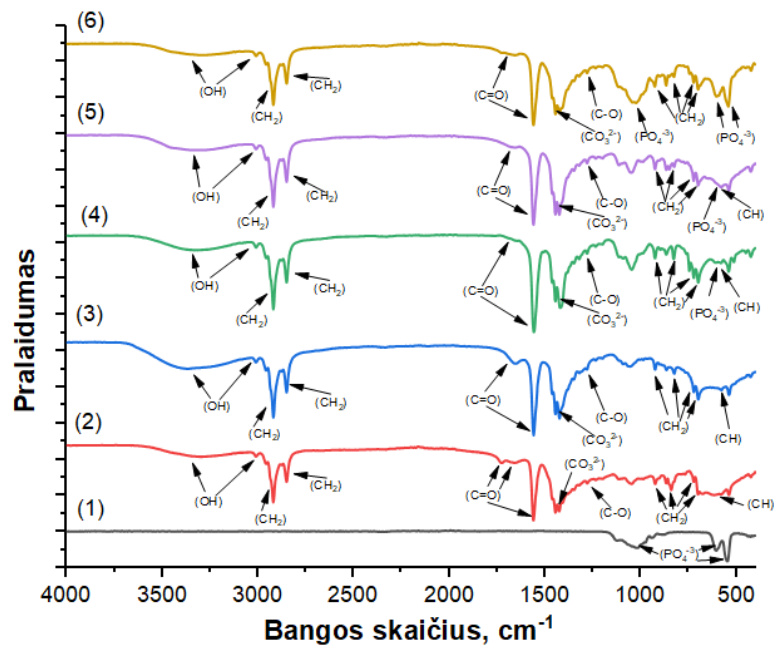
Beveik visų XRD analize tirtų muilų kompozitų mėginiuose (20, 24, 26 pav.) galima pastebėti, jog pagrindinė natrio oleato smailė muiluose su fosfatais turi, nors ir labai nežymų, poslinkį ties 21° kampu į didesnių 2θ verčių pusę – tas parodo, jog dedant į kietąjį natrio muilą bet kokią Ca-P koncentraciją, keičiasi muilo kristalinė gardelė, kadangi micelės struktūroje esantys mažesni Na^+ jonai palyginti su Ca^{2+} labiau kondensuojasi, didėja atomų masė, sankibos energija bei joninis sferiškumas, tokiu būdu trumpėja ryšiai tarp atomų [82,83].

3.2. Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais tyrimas FT-IR spektroskopijos metodu

Siekiant identifikuoti tiek susintetintose fosfatuose (TCP, CHA ir WT), tiek pagamintuose muilų kompozituose su įvairiais fosfatais esančias funkcines grupes buvo atlikta Furjė transformacinės infraraudonųjų spindulių spektroskopijos (FT-IR) analizė.

3.2.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalcio fosfatu

Gauto $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$), muilo ir muilo su skirtingais fosfato kiekiais kompozitų FT-IR spektrai yra pateikti 27 pav. Kaip matyti, yra stebimos $\beta\text{-TCP}$ fazės būdingos PO_4^{3-} grupių absorbcijos juostos, t. y. TCP FT-IR spektras atitinka būdingą struktūrą, pateikiamą literatūroje [84-86]. Šie PO_4^{3-} jonų virpesių dažniai yra žymimi ν_1 , ν_2 , ν_3 ir ν_4 . Gautose spektruose yra visos keturios charakteringosios fosfato jono virpesių juostos: intensyviausios ν_4 ties 555 cm^{-1} ir 602 cm^{-1} , ir ν_3 ties 1026 cm^{-1} bei mažesnio intensyvumo, tačiau vis tiek šiame spektre matomos ν_2 ties 439 cm^{-1} ir ν_1 ties 930 cm^{-1} bangos skaičiaus vertėmis. Virpesių juostos ties 930 cm^{-1} atitinka simetrinius P-O ryšių virpesius, ties $1020\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ asimetrinius fosfatinių grupių P-O ryšių virpesius bei ties $400\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ O-P-O fosfatinių ryšių virpesius. Tai, jog ties 727 cm^{-1} ir 1200 cm^{-1} bangos skaičiais nėra jokių virpesių juostų, įrodo, jog mėginyje nėra $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ medžiagos, kuri gali susidaryti sintezės proceso metu, vykstant amorfinio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ transformacijai į $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ fazę. Taigi, FT-IR rezultatai liudija, kad susidaręs TCP yra grynas junginys [87]. Susintetintame natrio muilo, kuris charakterizuojamas pagal struktūrinės alkil grandinės ir karboksilato funkcines grupes, FT-IR spektre stebime jam charakteringus virpesius: vos pastebimi O-H ryšio riebalų rūgšties COOH grupės virpesiai $3300\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ intervale įrodo, jog yra įvykusi neutralizacijos reakcija ir rūgštis yra likę tik maži pėdsakai; ties 2920 , 2850 , 1412 , 920 , 830 , 740 , 720 ir 700 cm^{-1} simetriniai ir asimetriniai CH_2 virpesiai, ties 1280 cm^{-1} C-O ryšio, ties 1660 ir 1560 cm^{-1} asimetriniai C=O ryšių virpesiai bei ties 575 cm^{-1} CH virpesiai pagal literatūros duomenis atitinka R-COONa, natrio oleato, struktūrą [88]. Taip pat šiame FTIR spektre yra aptiktos joniniam karbonatui, kuris taip pat įeina į muilo mišinio sudėtį, absorbcijos juostos. Matoma viena pagrindinė 1440 cm^{-1} CO_3^{2-} jonų ν_3 asimetrinių virpesių juosta [89]. Tai, jog ties 1699 cm^{-1} bangos skaičiumi nėra jokių virpesių juostų, įrodo, jog mėginyje nėra NaOH pėdsakų, kuris pilnai sureagavęs, ir muilas yra pakankamai grynas.

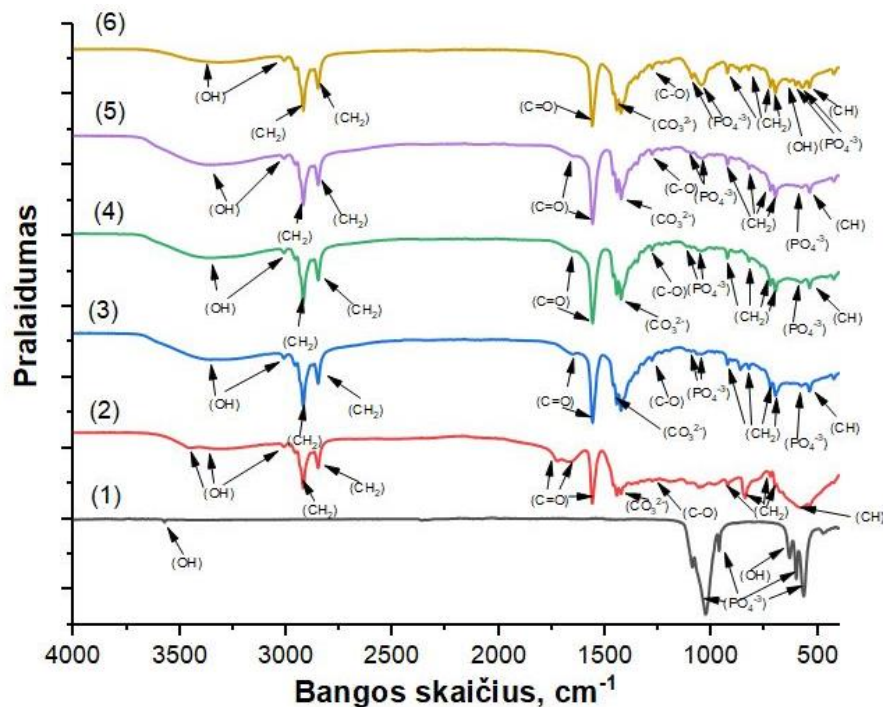


27 pav. $\beta\text{-Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ (1), muilo (2) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (3), 0,5 % (4), 1 % (5) ir 5 % (6) $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$, FT-IR spektrai.

Kaip ir XRD analizės metu, susintetintame muile be fosfatų nėra aptikta TCP pėdsakų. Esant mažai $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ koncentracijai muile (0,1 %) FT-IR spektre vis dar nėra jokių TCP būdingų absorbcijos juostų. Galimai TCP absorbcijos juostas užgožia natrio oleato ir natrio karbonato junginių smailės, o jau 0,5 % kompozito FT-IR spektre ties 602 cm^{-1} bangos skaičiumi pastebimos charakteringosios ν_4 PO_4^{3-} jonų virpesių juostos. 5 % fosfatinio kompozito FT-IR spektre jau galima identifikuoti visas β -TCP fazės PO_4^{3-} grupių absorbcijos juostas.

3.2.2. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu

Gauto hidroksiapatito $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), muilo ir muilo su skirtingais fosfato kiekiais kompozitų FT-IR spektrai yra pateikti 28 pav. Kaip matyti, $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ junginio charakteringosios PO_4^{3-} grupių absorbcijos juostos FT-IR spektre atitinka literatūrinius duomenis [90-92]. Tie patys PO_4^{3-} grupei O-P-O ryšio būdingi ν_4 virpesiai ties 565 ir 599 cm^{-1} , simetriniai P-O ryšio ν_1 ties 968 cm^{-1} bei asimetriniai P-O ryšio ν_3 virpesiai ties 1026 ir 1090 cm^{-1} stebimi kaip ir TCP FT-IR spektre (27 pav.), tik skiriasi juostų intensyvumas ir atsiranda būdinga OH grupės virpesių juosta ties 3570 cm^{-1} bei ties 632 cm^{-1} bangos skaičiais. Susintetinto natrio muilo FT-IR spektre stebime tas pačias smailes, kaip ir 27 pav.

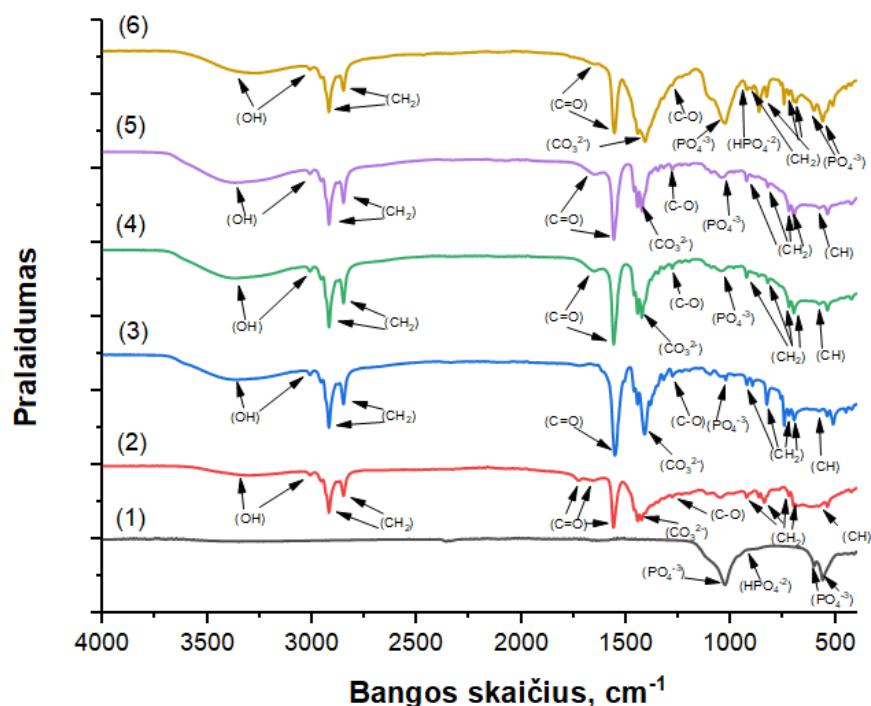


28 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (1), muilo (2) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (3), 0,5 % (4), 1 % (5) ir 5 % (6) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, FT-IR spektrai.

Susintetintame muile be fosfatų nėra aptikta CHA pėdsakų, o jau net pačios mažiausios 0,1 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ koncentracijos muilo FT-IR spektre ties 599 cm^{-1} bangos skaičiumi atsiranda ν_4 O-P-O ryšio bei patys intensyviausi ties 1026 ir 1090 cm^{-1} ν_3 P-O ryšio virpesiai. Šios virpesių juostos aptinkamos taip ir 0,5 % bei 1 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ muilo pavyzdžių FT-IR spektruose. Didinant $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ koncentraciją muile iki 5 % jau stebime visas intensyvesnes PO_4^{3-} ir OH grupių virpesių juostas.

3.2.3. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu

Gauto vitlokito $\text{Ca}_9\text{Mg}_1(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$), muilo ir muilo su skirtingais fosfato kiekiais kompozitų FT-IR spektrai yra pateikti 29 pav. Charakteringosios $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ junginio PO_4^{3-} grupių FT-IR spektre absorbcijos juostos atitinka literatūrinius duomenis [93]. Stebimi tie patys kaip ir TCP bei CHA FT-IR spektruose (27 ir 28 pav.) PO_4^{3-} grupei būdingi virpesiai, o taip pat WT junginiui būdinga HPO_4^{2-} grupės P-O(H) ryšio absorbcijos juosta ties 872 cm^{-1} . Susintetinto natrio muilo FT-IR spektre stebime tas pačias smailes, kaip ir ankstesniais atvejais.



29 pav. Muilo (1), $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ (2) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (3), 0,5 % (4), 1 % (5) ir 5 % (6) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, FT-IR spektrai.

Susintetintame gryname muile nėra aptikta WT pėdsakų, o didinant fosfato koncentraciją nuo 0,1 iki 1 %, muile stebime charakteringą pačią intensyviausią ν_3 PO_4^{3-} funkcinės grupės sugerties juostą. Visas kitas virpesių juostas uždengia natrio oleato, natrio karbonato hidrato, natrio karbonato heptahidrato, ir natriovandeniliokarbonato-natrio karbonato dihidrato funkcinė grupių sugerties juostos.

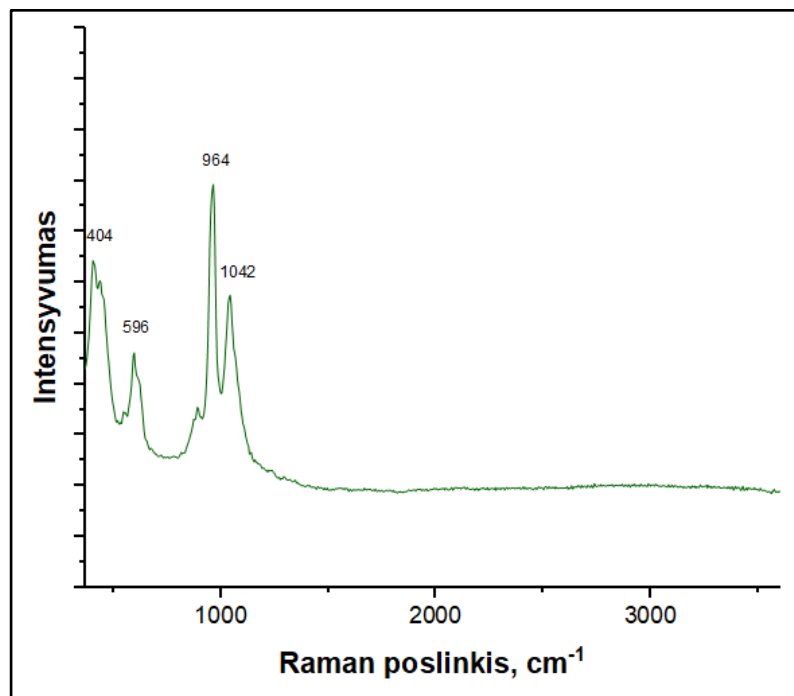
Didžiausios 5 % koncentracijos muile jau galima identifikuoti visų WT funkcinių grupių sugerties juostas.

3.3. Įvairių fosfatų tyrimas Raman spektroskopijos metodu

Tiek FT-IR, tiek Raman spektroskopija yra tikslūs metodai molekuliniams ryšiams identifikuoti. Raman spektroskopija paremta junginio molekulinės poliarizacijos pokyčiais, o FT-IR molekulinio dipolio momento pokyčiais virpesių metu [94]. Iš to galima daryti prielaidą, jog FT-IR technika yra jautresnė junginiams, turintiems molekulės sandaroje labiau polines funkcines grupes bei ilgesnius ryšius, koks yra ir natrio oleato muilas. Todėl FT-IR spektruose jo funkcinės grupės esant mažoms TCP, CHA ir WT koncentracijoms užstoja šių fosfatų funkcines grupes (27, 28, 29 pav.). Be to, Raman spektroskopijos skyra (0,6-1 μm) yra pranašesnė už FT-IR skyrą (5-10 μm) bei Raman signalo užregistravimo laikas kelis kartus greitesnis už FT-IR dėl mažo išsklaidytos šviesos kiekio [95]. Dėl to norint patvirtinti FT-IR tyrimo metu gautus TCP, CHA ir WT legiruotų Fe ir Zn susintetintų fosfatų rezultatus buvo atlikta Raman spektroskopijos analizė.

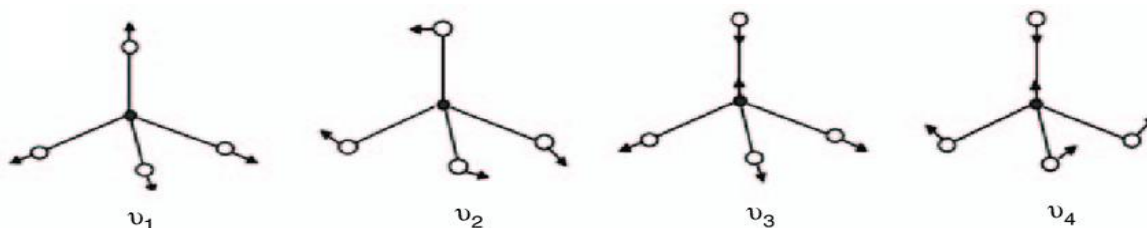
3.3.1 Fe ir Zn legiruotas beta-trikalčio fosfatas

Šio eksperimento metu užregistruotas beta-trikalčio fosfato, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\beta\text{-Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$), Raman spektras (30 pav.) gana gerai sutampa su duomenimis, pateikiamais literatūroje [96,97].



30 pav. $\beta\text{-Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ junginio Raman spektras.

PO_4^{3-} jonui yra būdingi keturi aktyvūs virpesiai ν_1 , ν_2 , ν_3 ir ν_4 , kurių kryptys pavaizduotos 31 pav.

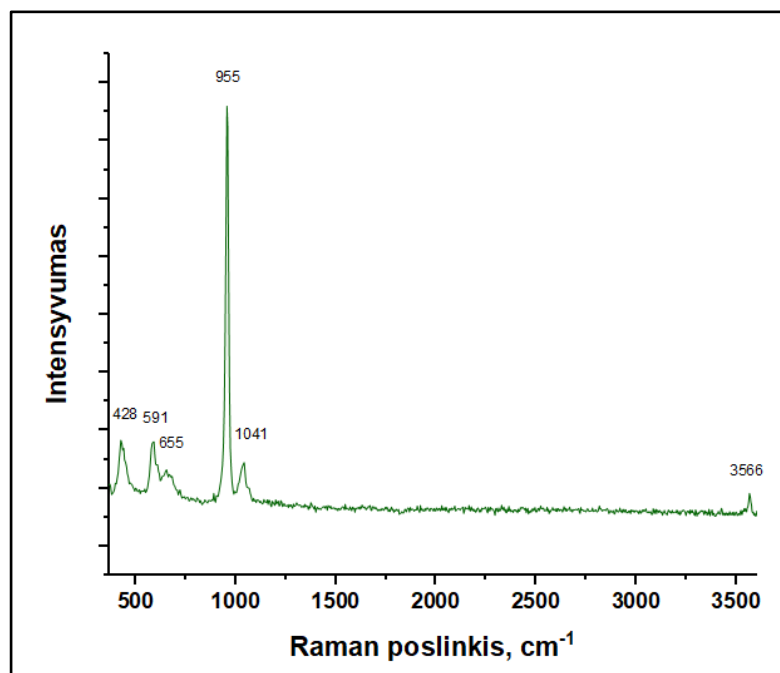


31 pav. Fosfato jono (PO_4^{3-}) vibracijos modos. ○ - deguonies (O) atomas, ● - fosforo (P) atomas [98].

Tik šie virpesiai yra matomi spektre. Gautame Raman spektre stebimos visos keturios charakteringosios fosfato jonų virpesių juostos: intensyviausia tetraedrinės PO_4 grupės P-O ryšio simetrinių virpesių ν_1 smailė ties 964 cm^{-1} bangos skaičiaus verte, ν_2 $370\text{-}500 \text{ cm}^{-1}$ bangos skaičiaus intervale, P-O antisimetrinių virpesių ν_3 smailė ties 1042 cm^{-1} bei ν_4 $530\text{-}645 \text{ cm}^{-1}$ bangos vertės intervale. Gauti Raman rezultatai patvirtina, kad susidaręs TCP yra grynas junginys.

3.3.2 Fe ir Zn legiruotas kalcio hidroksiapatitas

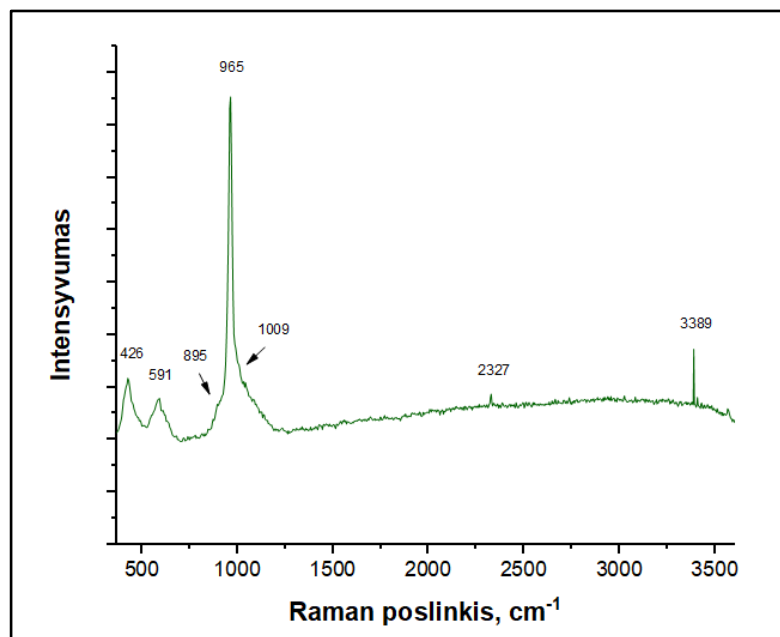
Kalcio hidroksiapatito, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), Raman spektras (32 pav.) gana gerai sutampa su duomenimis, pateikiamais literatūroje [99-101]. Žinant, jog TCP tetraedrinėje sandaroje yra 42 PO_4^{3-} grupės, o CHA – tik 6 grupės, galima tikėtis, jog CHA turi mažesnę Raman poslinkį [97]. Tai patvirtina PO_4^{3-} jonų charakteringieji virpesiai: ν_2 ties 428 cm^{-1} , ν_1 ties 955 cm^{-1} , ν_3 1041 cm^{-1} , ν_4 ties 591 ir 655 cm^{-1} . Nepaisant to, kad CHA kristališkumas yra žemas ir todėl sudėtinga aptikti fosfato struktūroje esančią OH- grupę, šiame spektre galime aptikti žemo intensyvumo ν_{OH} smailę ties 3566 cm^{-1} , kas įrodo CHA junginio grynumą.



32 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ junginio Raman spektras.

3.3.3 Fe ir Zn legiruotas vitlokitas

Vitlokito, kuriame dalis kalcio pakeista geležimi ir cinku ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$), spektras (33 pav.) gana gerai sutampa su duomenimis, pateikiamais literatūroje [102,69].



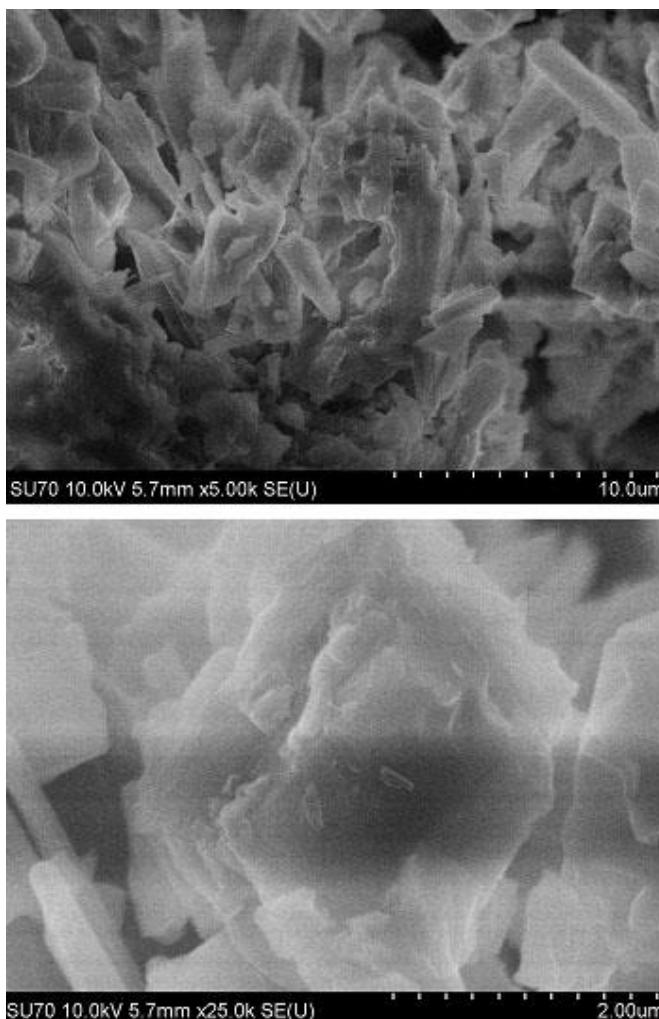
33 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ junginio Raman spektras.

PO_4^{3-} jonų virpesiai ν_2 ties 426 cm^{-1} , ν_4 ties 591 cm^{-1} , ν_1 ties 965 cm^{-1} sutampa su TCP ir CHA spektrų fosfato jonų juostomis, tik WT spektre nėra matomi ν_3 virpesiai. Spektre matome gana ryškia ir intensyvia vitlokito struktūroje esančios vandenilio fosfato (HPO_4^{2-}) grupės νOH virpesių juostą ties 3389 cm^{-1} , ties 2327 cm^{-1} bangos verte atsiranda vos matoma, tačiau identifikuojama tų pačių silpnai rūgštinės HPO_4^{2-} hidroksilo grupės virpesių juosta, o jau ties 895 ir 1009 cm^{-1} bangos vertėmis simetrinius šios grupės virpesius užgožia ryški ν_1 fosfato grupės virpesių juosta [103, 104]. HPO_4^{2-} jonų buvimas įrodo susintetintą gryną vitlokito fazę.

3.4. Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais tyrimas SEM metodu

3.4.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalcio fosfatu

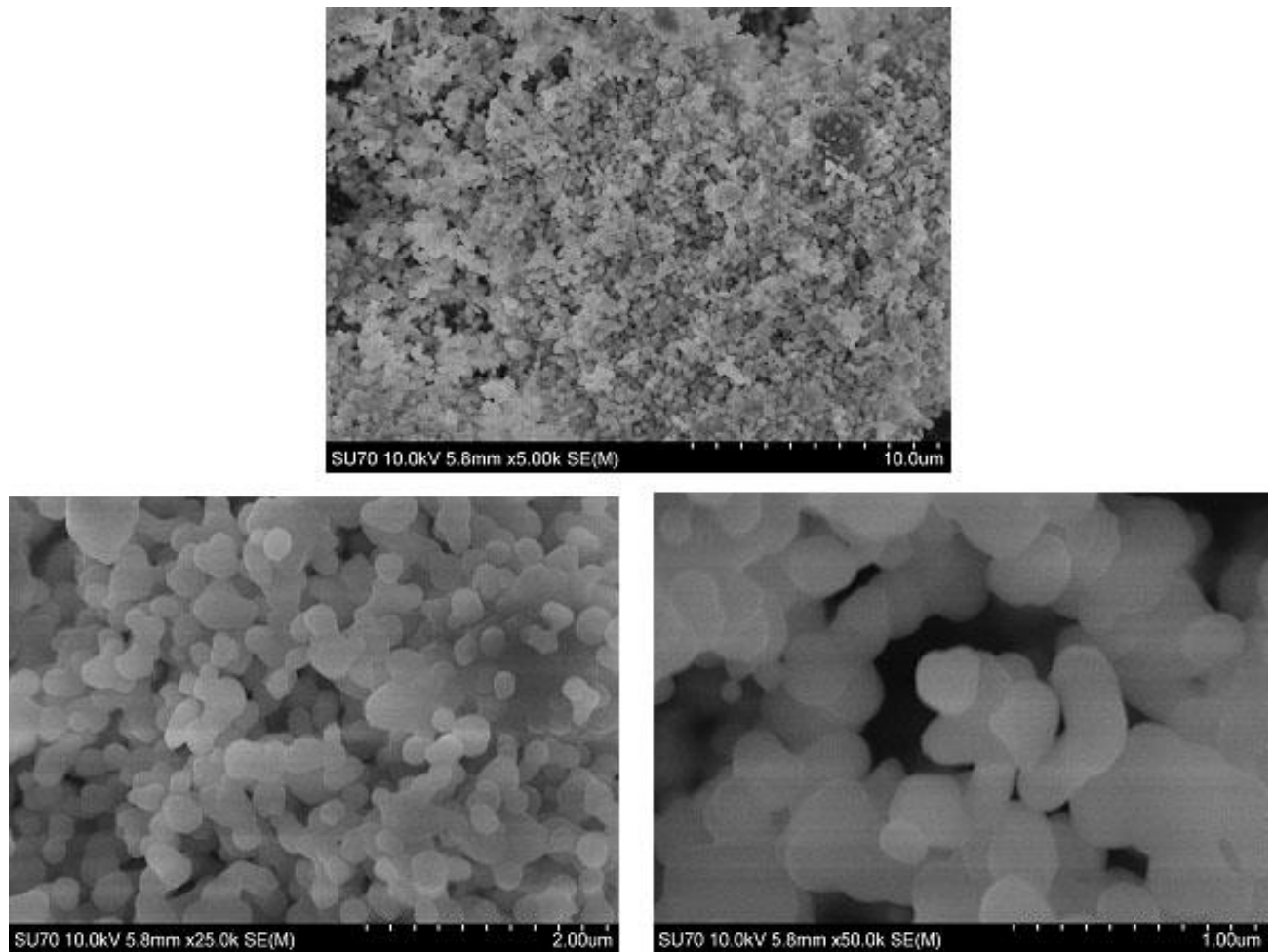
Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais paviršiaus morfologija buvo tirta skenuojančiu elektroniniu mikroskopu (SEM). Gryno muilo skirtingo didinimo SEM nuotraukos yra pavaizduotos 34 pav.



34 pav. Muilo skirtingo didinimo SEM nuotraukos.

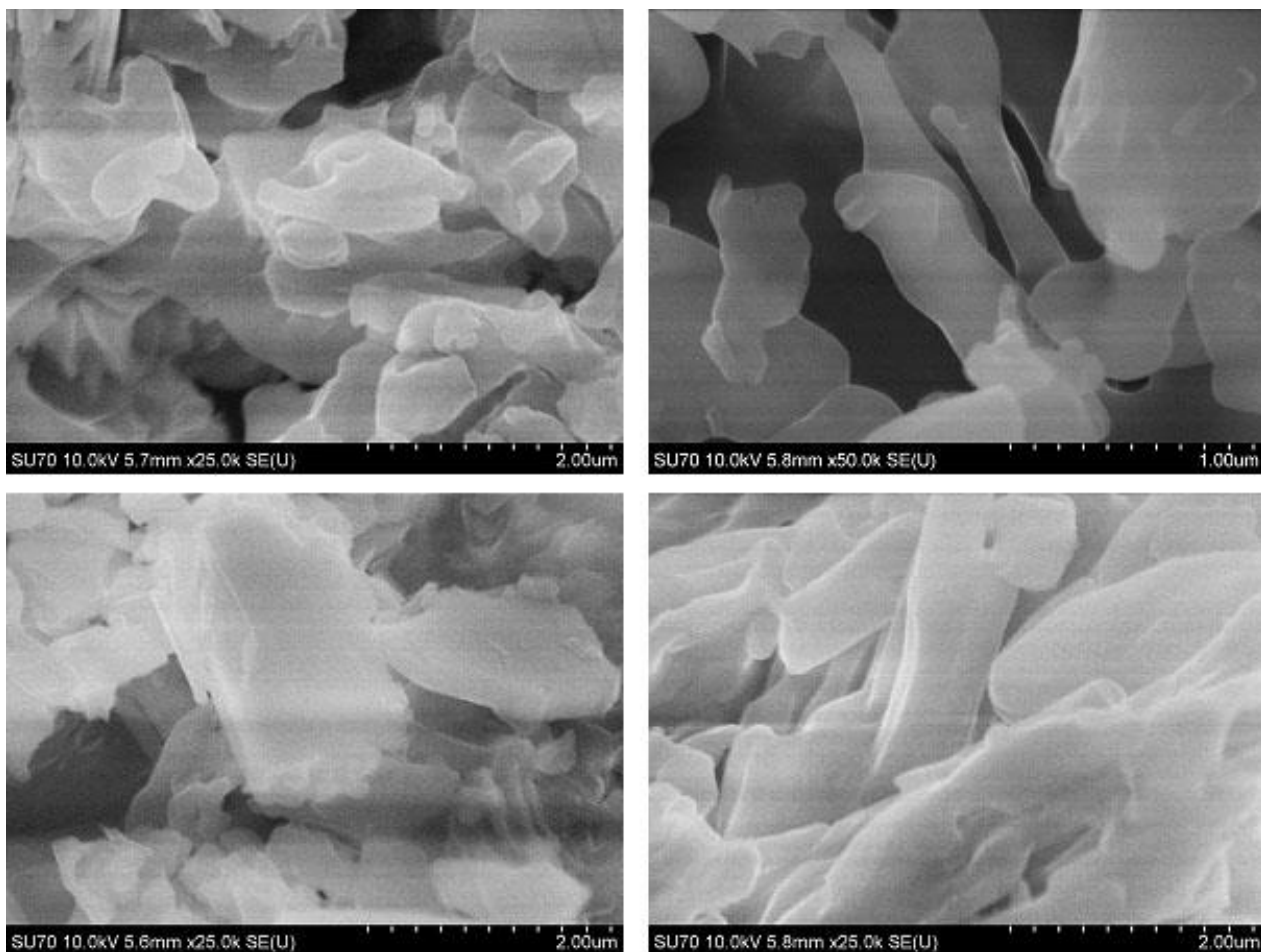
Kaip matyti, muilo paviršius yra sudarytas iš pailgų strypelių bei plokštuminių kristalų, kurių ilgis svyruoja iki 4 μm , o plotis - apie 1 μm . Visos muilo dalelės yra chaotiškai išsidėsčiusios skirtingomis kryptimis.

Legiruoto trikalcio fosfato ($\beta\text{-Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$) skirtingo didinimo SEM nuotraukos pateiktos 35 pav. Matome, kad TCP paviršiaus morfologija labai skiriasi nuo muilo, ir yra sudarytas iš sferinių nanodalelių (100-150 nm), kurios kartais yra suaugusios tarpusavyje.



35 pav. $\beta\text{-Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ skirtingo didinimo SEM nuotraukos.

36 pav. matome muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1-5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$, SEM nuotraukas. Kompozitų paviršiaus SEM nuotraukos yra akivaizdžiai panašesnės į muilo SEM nuotraukas, tačiau paviršius nėra identiškas. Kompozitų paviršius yra sudarytas irgi iš pailgų strypelių bei plokštuminių kristalų, bet jie yra mažesni ir labiau individualūs, nesukibę tarpusavyje. Dalelių ilgis yra ne didesnis nei 1 μm , o plotis svyruoja nuo 200 iki 400 nm. Be to, kompozitų paviršiaus morfologija beveik nepriklauso nuo įvedamo TCP kiekio.

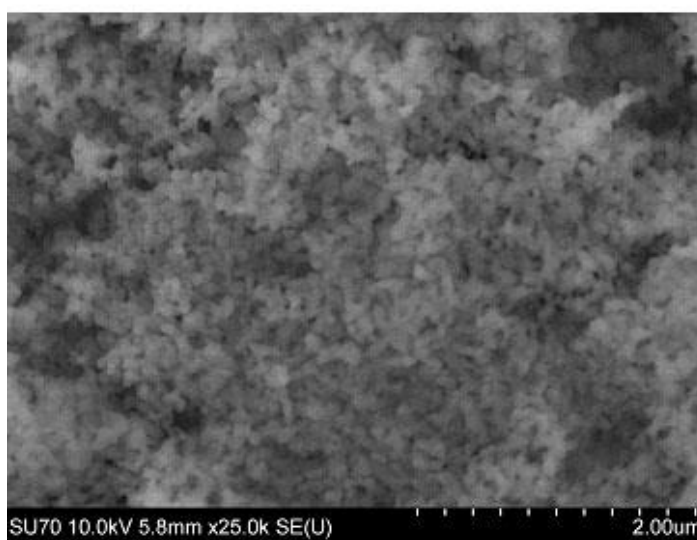
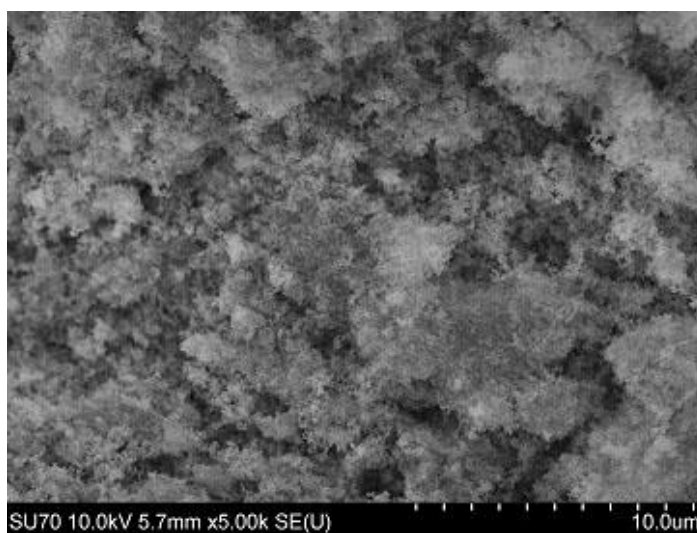


36 pav. Muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (viršus, kairė), 0,5 % (viršus, dešinė), 1 % (apačia, kairė) ir 5 % (apačia, dešinė) $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$, SEM nuotraukos.

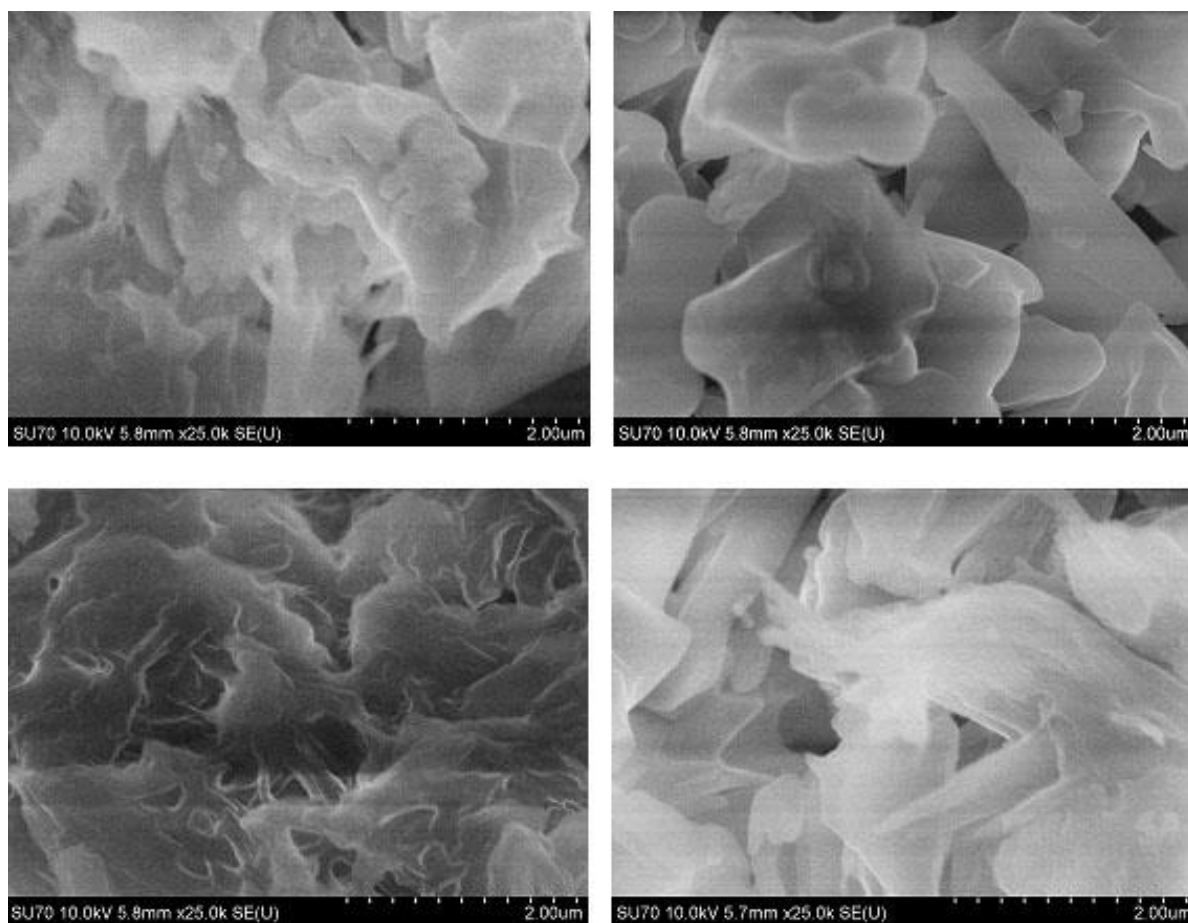
3.4.2. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu kalcio hidroksiapatitu

Legiruoto kalcio hidroksiapatito ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) skirtingo didinimo SEM nuotraukos pateiktos 37 pav. Matome, kad CHA paviršiaus morfologija labai skiriasi ir nuo muilo, ir nuo TCP. Kalcio hidroksiapatitas yra sudarytas iš beveik vienodo dydžio sferinių nanodalelių (20-30 nm), kurios sudaro aglomeruotų nanodalelių tinklą. Taigi, zolių-gelių metodu susintetintos CHA dalelės yra apie 3-5 kartus mažesnės nei bendrojo nusodinimo metodu gautos TCP dalelės.

Muilo su skirtingais hidroksiapatito kiekiais kompozitų SEM nuotraukos yra pateiktos 38 pav. Kompozitų paviršiaus morfologija taip pat beveik nepriklauso nuo įvedamo CHA kiekio. Tačiau SEM nuotraukos skiriasi nuo gryno muilo SEM nuotraukų, ir šiek tiek skiriasi nuo muilo kompozitų su TCP SEM nuotraukų. Paviršiuje dominuoja skirtingos formos plokštuminės dalelės, o pailgų susidarė labai mažai. Susidarė didesnės muilo-CHA kompozitų dalelės (1-1,5 μm), nors paties CHA dalelės yra mažesnės nei TCP.



37 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ skirtingo didinimo SEM nuotraukos.

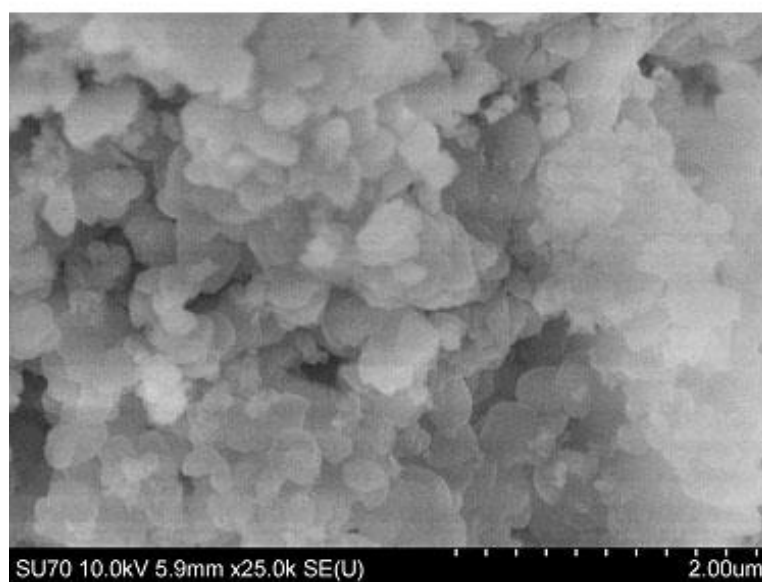
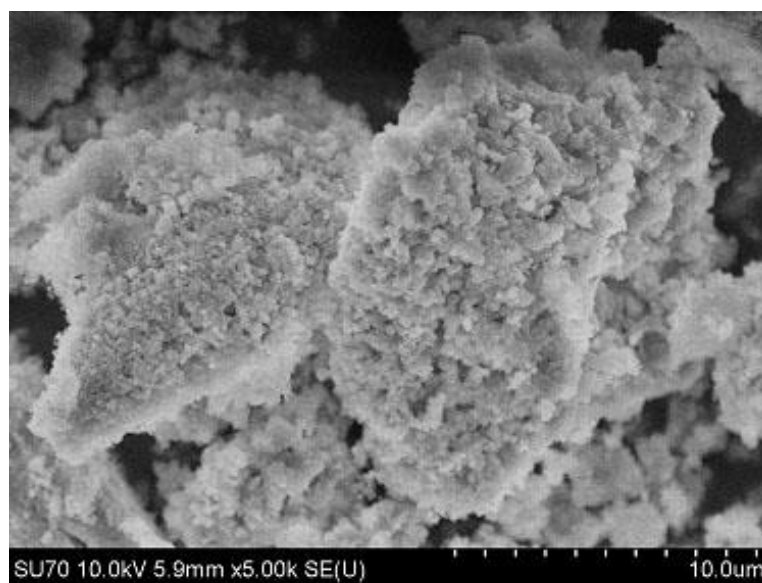


38 pav. Muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (viršus, kairė), 0,5 % (viršus, dešinė), 1 % (apačia, kairė) ir 5 % (apačia, dešinė) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, SEM nuotraukos.

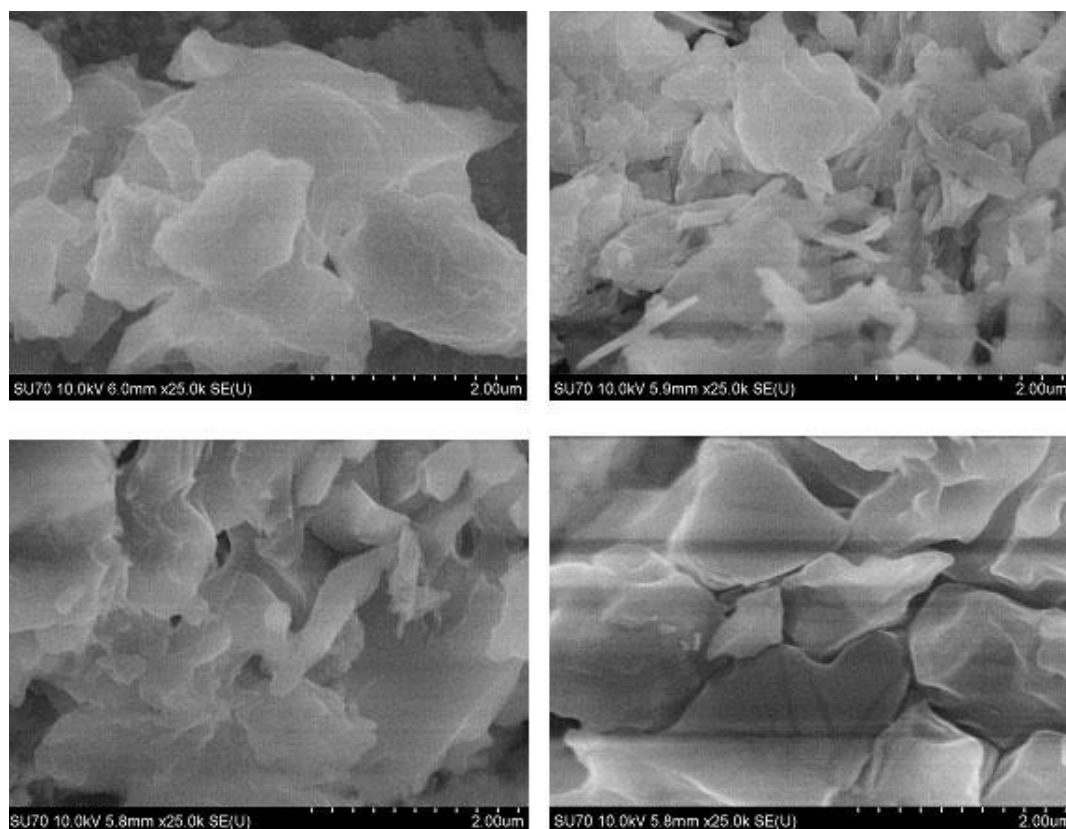
3.4.3. Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu

39 pav. yra pateiktos legiruoto vitlokito ($\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$) skirtingo didinimo SEM nuotraukos. Akivaizdu, jog WT paviršiaus morfologija taip pat pasižymi savitumu. Vitlokitas yra sudarytas iš beveik vienodo dydžio sferinių, didesnių nei CHA nanodalelių (150-200 nm). Šios dalelės sulipusios lyg raudonieji ikrai. Taigi, susintetinto tirpinimo-nusodinimo sintezės metodu susintetintos vitlokito dalelės yra didesnės nei CHA, bet mažesnės už TCP daleles.

Muilo su skirtingais vitlokito kiekiais kompozitų SEM nuotraukos yra pateiktos 40 pav. Kompozitų paviršiaus morfologija nežymiai priklauso nuo įvedamo WT kiekio. SEM nuotraukose su 0,5 % ir 1 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ kai kur matosi vitlokitiui charakteringos sferinės dalelės. Be to, SEM nuotraukos skiriasi nuo gryno muilo ir kitų fosfatinių kompozitų SEM nuotraukų. Paviršiuje vyrauja skirtingos formos ir skirtingo dydžio (0,5-2 μm) plokštuminės dalelės.

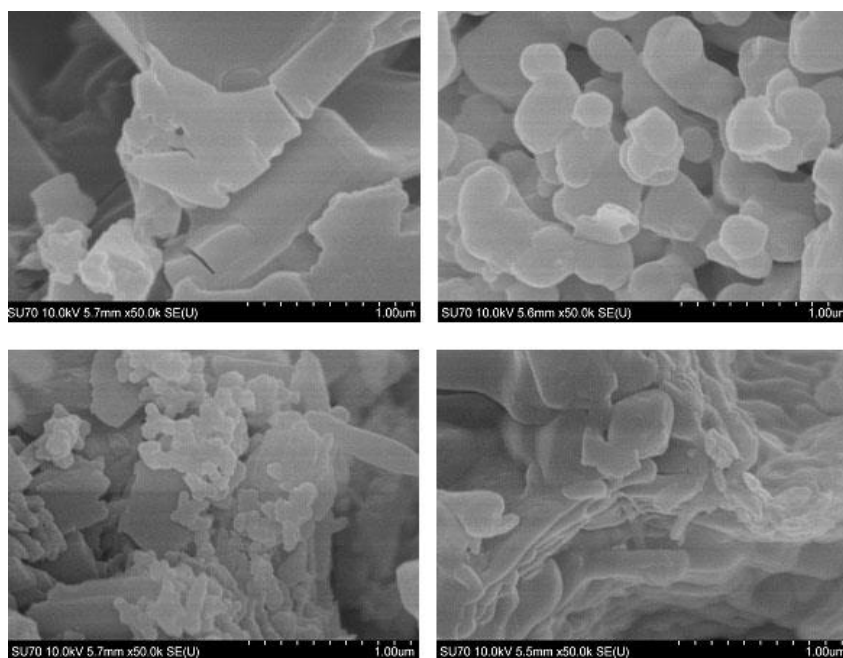


39 pav. $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ skirtingo didinimo SEM nuotraukos.

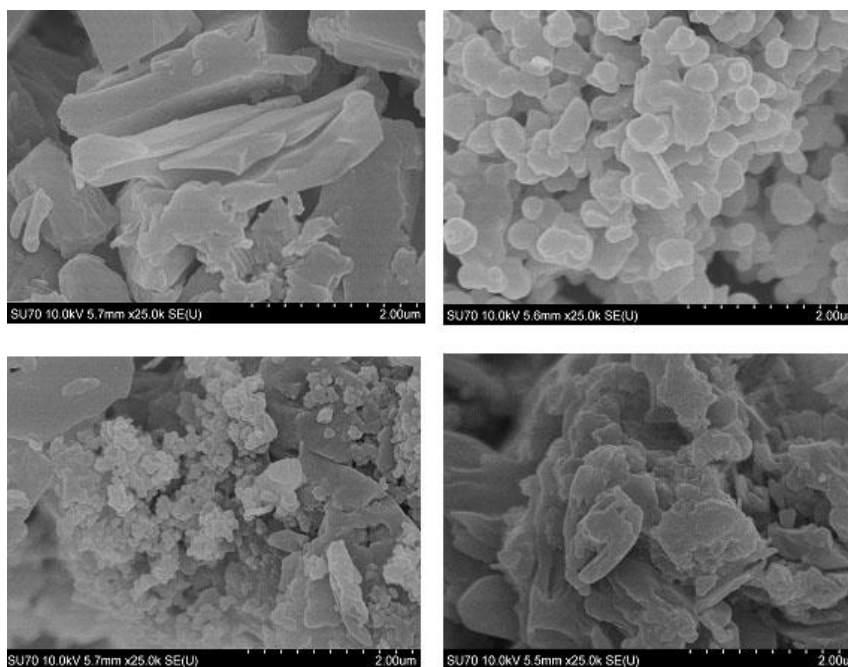


40 pav. Muilo kompozitų, kuriuose yra 0,1 % (viršus, kairė), 0,5 % (viršus, dešinė), 1 % (apačia, kairė) ir 5 % (apačia, dešinė) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, SEM nuotraukos.

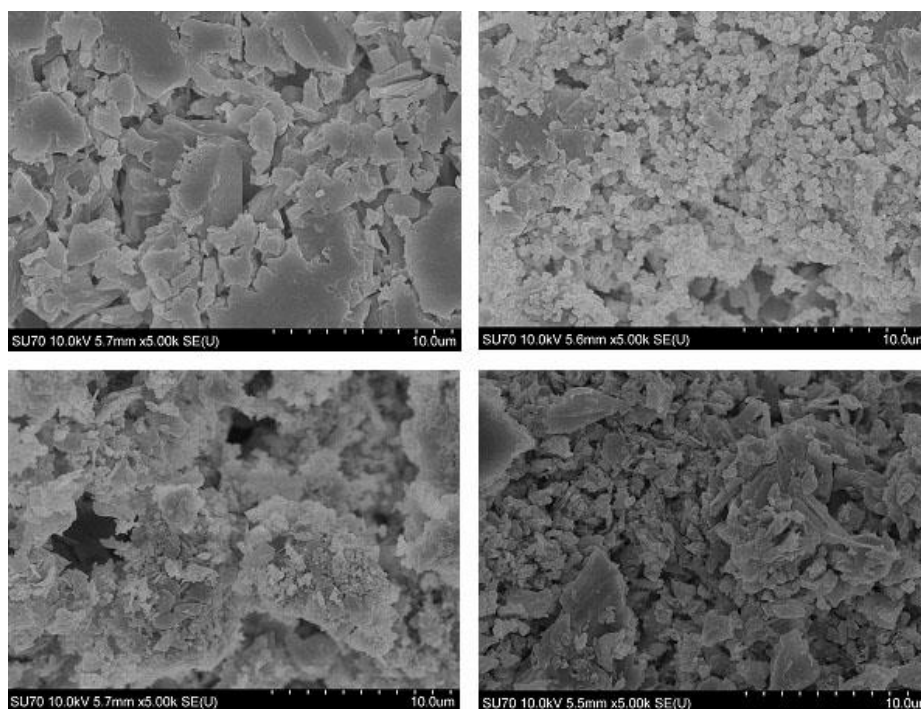
Reikia pažymėti, kad gautos SEM nuotraukos nėra labai kokybiškos. Dėl specifinės elektronų srauto sąveikos su muilu, kuris yra nelaidus, paviršiuje buvo stebimos krūvio iškrovos, kas galėjo turėti įtakos SEM analizės kokybei [105-107]. Todėl analogiškus SEM tyrimus atlikome su pavyzdžiais, kurių paviršius prieš SEM analizę buvo padengtas laidžiu sidabro sluoksniu. Muilo ir muilo kompozitų, kuriuose yra 5 % Ca-P priedo, SEM nuotraukos, gautos esant skirtingam didinimui, parodytos 41-43 pav. Padengus prieš tyrimą pavyzdžius plonu sidabro sluoksniu, SEM nuotraukų kokybė yra daug geresnė. Taip pat akivaizdžiai matyti, kad gautų muilo kompozitų morfologija skiriasi nuo muilo morfologijos. Ypatingai tą galima pastebėti muilo - $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ ir muilo - $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ kompozitų atvejais, kai kompozituose susidaro individualios skirtingo dydžio sferinės dalelės. Norint gauti dar geresnės kokybės SEM tyrimų rezultatus, matomai, reikėtų naudoti programinį modelį, leidžiantį konstruoti 3D vaizdus iš bet kurių SEM nuotraukų [108-111].



41 pav. Muilo (viršus, kairė) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 5 % TCP (viršus, dešinė), 5 % CHA (apačia, kairė) ir 5 % WT (apačia, dešinė) SEM nuotraukos, kai pavyzdys buvo padengtas Ag sluoksniu. Didžiausias didinimas.



42 pav. Muilo (viršus, kairė) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 5 % TCP (viršus, dešinė), 5 % CHA (apačia, kairė) ir 5 % WT (apačia, dešinė) SEM nuotraukos, kai pavyzdys buvo padengtas Ag sluoksniu. Vidurinis didinimas.



43 pav. Muilo (viršus, kairė) ir muilo kompozitų, kuriuose yra 5 % TCP (viršus, dešinė), 5 % CHA (apačia, kairė) ir 5 % WT (apačia, dešinė) SEM nuotraukos, kai pavyzdys buvo padengtas Ag sluoksniu. Mažiausias didinimas.

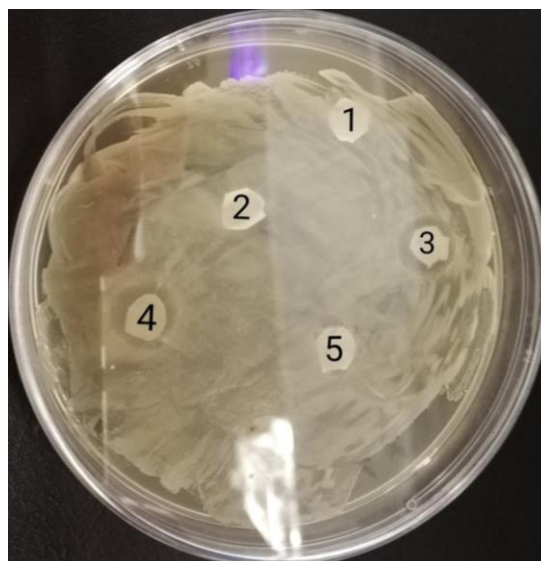
3.5 Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais antibakterinio aktyvumo tyrimas

3.5.1 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu beta-trikalcio fosfatu

Muilų kompozitų su įvairiais fosfatais antibakterinis aktyvumas buvo tirtas diskų difuzijos metodu. Gryno muilo su 100 ir 150 mg/ml koncentracijomis slopinimo zonos pavaizduotos 44 pav, o su 150 mg/ml koncentracijos muilų kompozitais, kuriuose yra 0,1-5 % Fe ir Zn legiruoto beta-trikalcio fosfato, slopinimo zonos pavaizduotos 45 pav. Visų $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ legiruotų muilų su skirtingomis koncentracijomis bei abejomis bakterijų kultūromis slopinimo zonų rezultatai (mm) pateikti 3 lentelėje, o jų grafinis atvaizdavimas stulpelinėmis diagramomis yra pateiktas 46 pav.



44 pav. Popieriniai diskai su 100 mg/ml (1) ir 150 mg/ml (2) koncentracijos grynu natrio muilu *S. saprophyticus* agaro lėkštelėje.



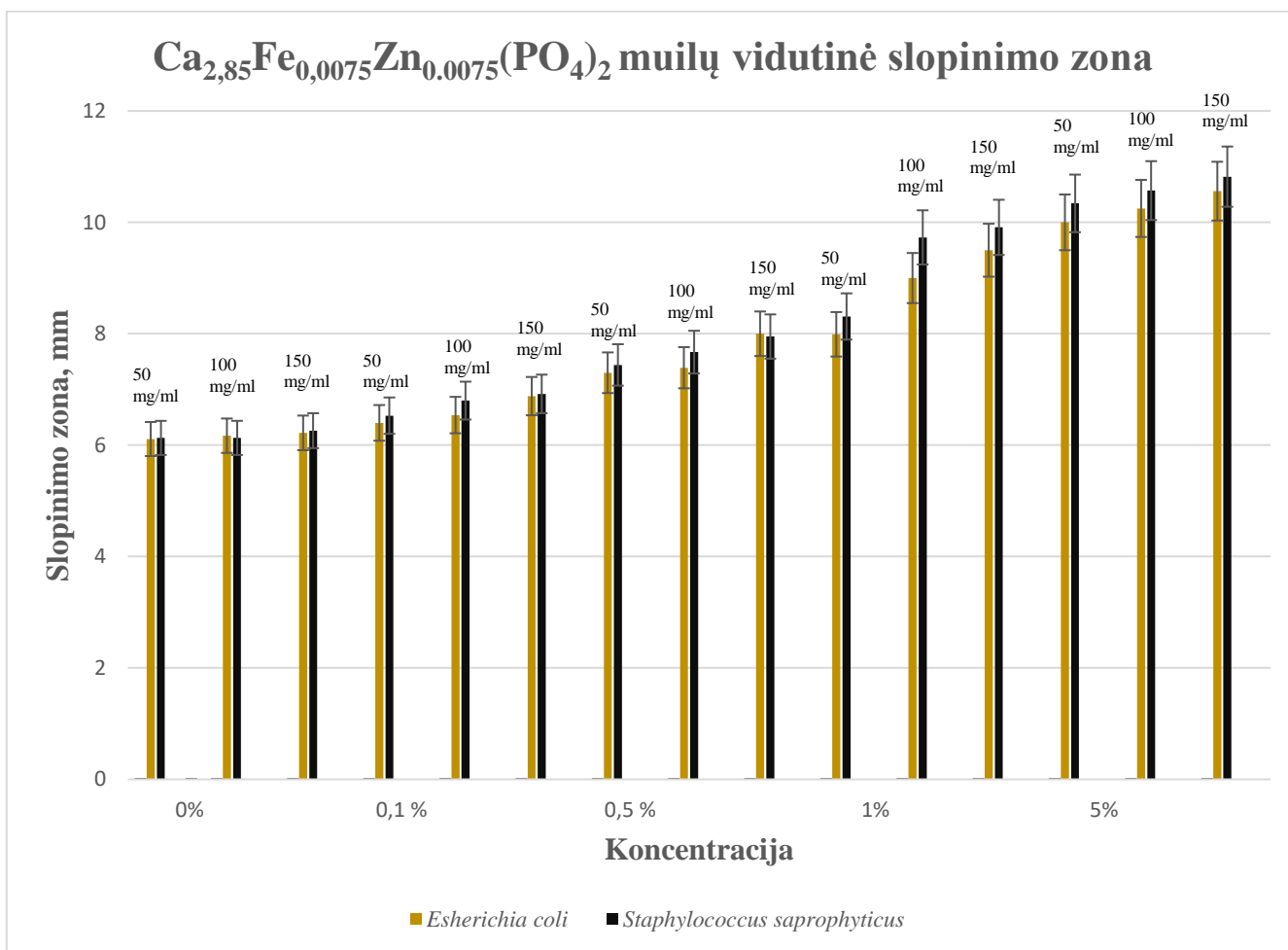
45 pav. Popieriniai diskai su 150 mg/ml koncentracijos muilų kompozitais, kuriuose yra 0,1 % (1), 0,5 % (2), 1 % (3) ir 5 % (4) $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$, *S. saprophyticus* agaro lėkštelėje. 5 – kontrolė.

3 lentelė. 0,1-5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų muilų kompozitų su *E. coli* ir *S. saprophyticus* bakterijomis slopinimo zonos *(mm).

	0 %			0,1 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$			0,5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$			1 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$			5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$		
	50 mg/ ml	100 mg/ ml	150 mg/ ml	50 mg/ ml	100 mg/ ml	150 mg/ ml	50 mg/ ml	100 mg/ ml	150 mg/ ml	50 mg/ ml	100 mg/ ml	150 mg/ ml	50 mg/m l	100 mg/m l	150 mg/m l
Ko nce ntr															

aci ja															
<i>E. coli</i>	6,11	6,17	6,22	6,40	6,54	6,88	7,30	7,39	8,00	7,99	9,00	9,50	10,00	10,25	10,56
<i>S. saprophyticus</i>	6,13	6,13	6,26	6,53	6,80	6,92	7,44	7,67	7,95	8,31	9,73	9,91	10,34	10,57	10,82

* - pateikiami visų eksperimentų 3 pakartojimų vidurkiai



46 pav. 0,1-5 % Ca_{2,85}Fe_{0,0075}Zn_{0,0075}(PO₄)₂ 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų muilų kompozitų su *E. coli* ir *S. saprophyticus* bakterijomis vidutinės slopinimo zonos (mm).

Tyrimo rezultatų duomenys rodo, jog antibakterinių muilų efektyvumas priklauso tiek nuo Ca_{2,85}Fe_{0,0075}Zn_{0,0075}(PO₄)₂ koncentracijos muilo kompozite (0,1-5 %), tiek nuo muilo koncentracijos tiriamame tirpale (50-150 mg/ml), tiek nuo bakterijų rūšies.

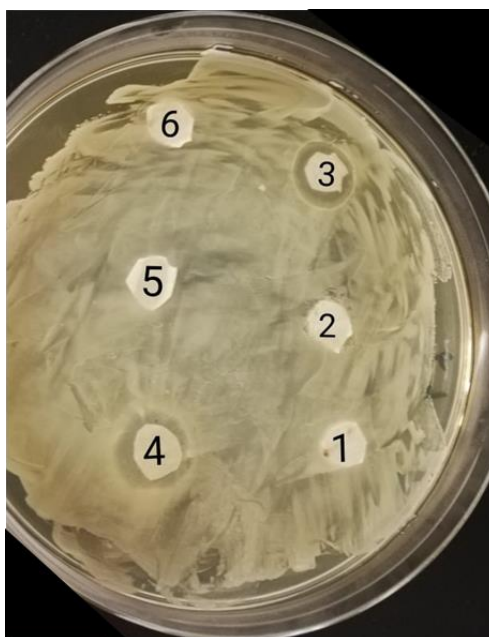
Norint įvertinti $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ efektyvumą, skirtingi muilų kompozitai buvo lyginami su paprastu natrio muilu. Kaip matome 44, 45, 46 pav. ir 3 lentelėje, paprastas natrio muilas turi vidutinį bakterijų slopinimą (6,17 mm), kontrolinis diskas su virintu vandeniu neturi jokio slopinimo (6 mm). Visi 0,1-1 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ muilų kompozitai turi vidutinį slopinimą (vidurkiai < 10 mm), o jau visi trijų koncentracijų 5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ kompozitai pasižymi stipriu antibakteriniu slopinimu (vidurkiai > 10 mm).

Šiuos rezultatus tarpusavyje palyginus Shapiro-Wilk statistiniu kriterijumi, nustatyta, kad *S. saprophyticus* atveju 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų slopinimo zonų atstumai (mm) tarpusavyje skiriasi statistiškai reikšmingai, p reikšmės atitinkamai 0,02; 0,04 bei 0,05. Visų koncentracijų skirtumas, lyginant su muilu be priedų, taip pat statistiškai reikšmingas ($p = 0,000055$). *E. coli* atveju tų pačių koncentracijų slopinimo atstumai (mm) vėl gi reikšmingai skiriasi, p lygūs 0,037; 0,025 bei 0,02, visų koncentracijų skirtumų p vertė yra 0,000034.

Norint įvertinti tarpgrupinį skirtumą tarp muilo be priedų ir $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ muilų kompozitų, buvo pasitelkta ANOVA analizė, kuri parodė, jog *S. saprophyticus* bakterijų lėkštelėje mažiausios 50 mg/ml koncentracijos 0,1-5 % slopinimo zonos buvo atitinkamai 6,50; 7,47; 9,53 bei 10,37, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 7,99 \times 10^7$), 100 mg/ml atitinkamai siekė 6,70; 7,67; 9,73 bei 10,57 mm, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 4,42 \times 10^8$), didžiausios 150 mg/ml koncentracijos slopinimo zonos buvo 6,90; 7,87; 8,91 bei 10,77, vėl gi statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedo ($p = 6,82 \times 10^7$). Bendrai, dedant bet kokią muilo koncentraciją ir skirtumą lyginant su muilu be priedų, statistinis reikšmingumas buvo dar didesnis, $p = 3,29 \times 10^{22}$. *E. coli* bakterijų lėkštelėje mažiausios 50 mg/ml koncentracijos 0,1-5 % slopinimo zonos buvo atitinkamai 6,40; 7,30; 7,99 bei 10,00, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 9,45 \times 10^{10}$), 100 mg/ml atitinkamai siekė 6,54; 7,39; 9,00 bei 10,25 mm, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 5,41 \times 10^8$), didžiausios 150 mg/ml koncentracijos slopinimo zonos buvo 6,88; 8,00; 9,5 bei 10,56, vėl gi statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedo ($p = 7,56 \times 10^7$). Bendrai, dedant bet kokią muilo koncentraciją ir skirtumą lyginant su muilu be priedų, statistinis reikšmingumas buvo dar didesnis, $p = 5,34 \times 10^{22}$.

3.5.2 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu hidroksiapatitu

Muilų kompozitų su 150 mg/ml koncentracijomis, kuriuose yra 0,1-5 % Fe ir Zn legiruoto hidroksiapatito, slopinimo zonos pavaizduotos 47 pav. Visų $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ legiruotų muilų su skirtingomis koncentracijomis bei abejomis bakterijų kultūromis slopinimo zonų rezultatai (mm) pateikti 4 lentelėje, o jų grafinis atvaizdavimas stulpelinėmis diagramomis pateiktas 48 pav.

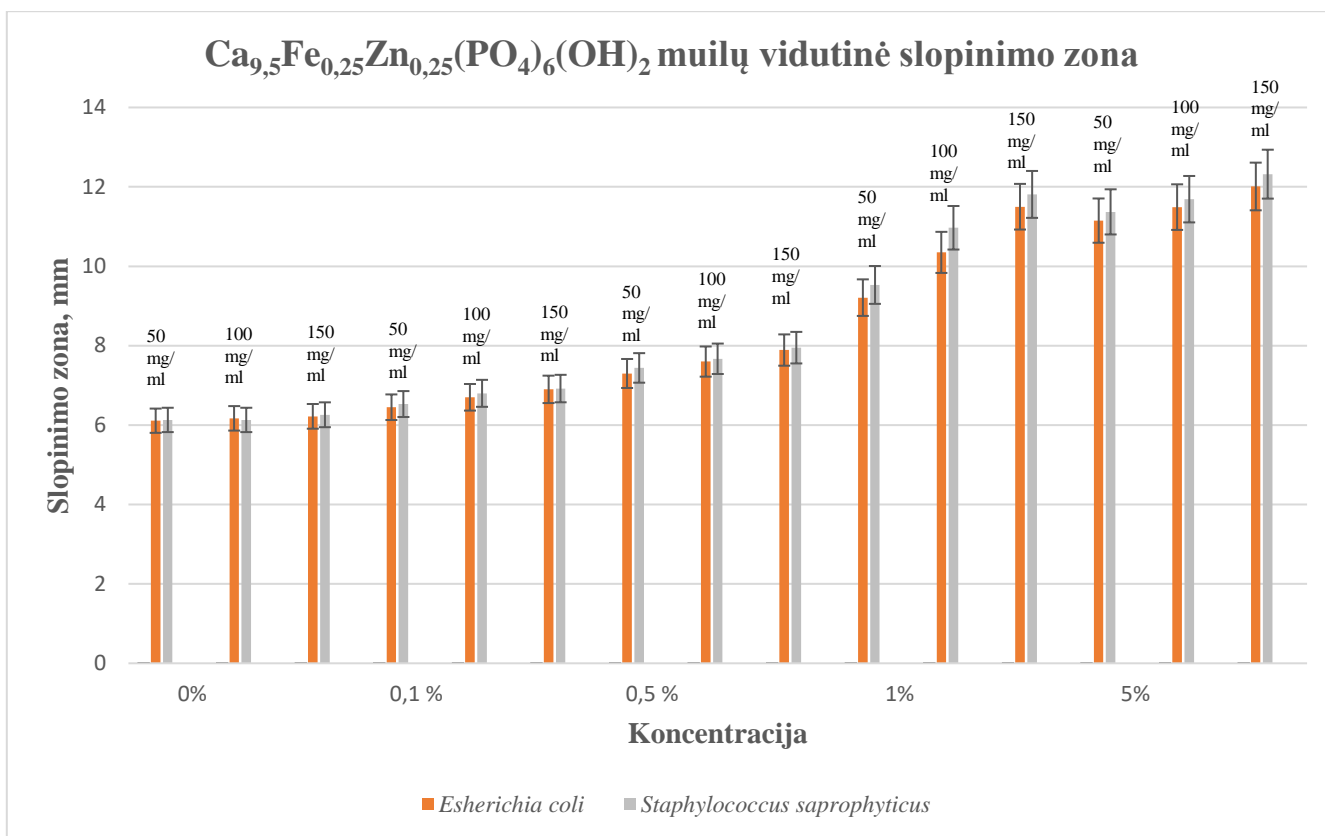


47 pav. Popieriniai diskai su 100 mg/ml koncentracijos 0,1 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (6) bei 150 mg/ml koncentracijos muilų kompozitais, kuriuose yra 0,1 % (1), 0,5 % (2), 1 % (3) ir 5 % (4) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, *S. saprophyticus* agaro lėkštelėje. 5 – kontrolė.

4 lentelė. 0,1-5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų muilų kompozitų su *E. coli* ir *S. saprophyticus* bakterijomis slopinimo zonos *(mm).

Koncentracija	0 %			0,1 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$			0,5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$			1 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$			5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$		
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml
<i>E. coli</i>	6,11	6,17	6,22	6,45	6,70	6,90	7,30	7,60	7,89	9,21	10,35	11,50	11,15	11,49	12,01
<i>S. saprophyticus</i>	6,13	6,13	6,26	6,53	6,80	6,92	7,44	7,67	7,95	9,53	10,97	11,81	11,37	11,69	12,32

* - pateikiami visų eksperimentų 3 pakartojimų vidurkiai



48 pav. 0,1-5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų muių kompozitų su *E. coli* ir *S. saprophyticus* bakterijomis slopinimo zonos (mm).

Tyrimo rezultatų duomenys rodo, kaip ir beta-trikalcio fosfato atveju, jog antibakterinių muių efektyvumas priklauso tiek nuo $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ koncentracijos muilo kompozite (0,1-5 %), tiek nuo muilo koncentracijos tiriamame tirpale (50-150 mg/ml), tiek nuo bakterijų rūšies.

Norint įvertinti $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ efektyvumą, skirtingi muių kompozitai buvo lyginami su paprastu natrio muilu. Kaip matome 47, 48 pav. ir 4 lentelėje, visi 0,1 % ir 0,5 % $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ muių kompozitai turi vidutinį slopinimą (vidurkiai < 10 mm), o jau 100 mg/ml bei 150 mg/ml 1 % bei visi trijų koncentracijų 5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ kompozitai pasižymi stipriu antibakteriniu slopinimu (vidurkiai > 10 mm).

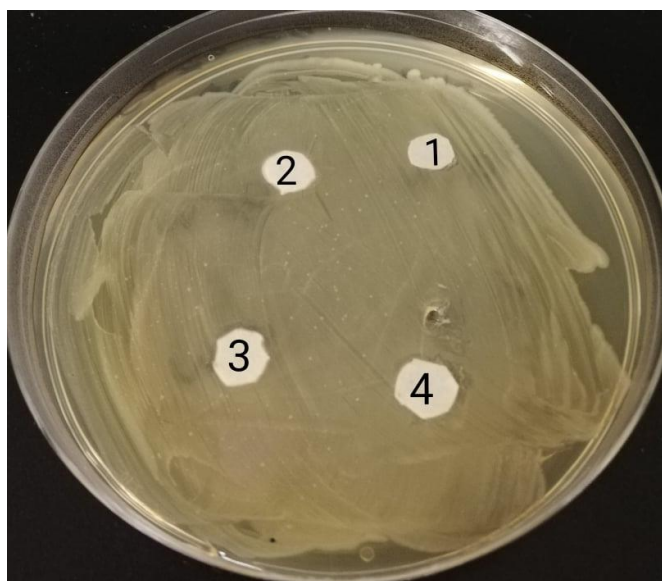
Šiuos rezultatus tarpusavyje palyginus Shapiro-Wilk statistiniu kriterijumi, nustatyta, kad *S. saprophyticus* atveju 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų slopinimo zonų atstumai (mm) tarpusavyje skiriasi statistiškai reikšmingai, p reikšmės atitinkamai 0,01; 0,01 bei 0,02. Visų koncentracijų skirtumas tarpusavyje taip pat statistiškai reikšmingas ($p = 0,0000059$). *E. coli* atveju tų pačių koncentracijų slopinimo atstumai (mm) vėl gi reikšmingai skiriasi, p lygūs 0,006; 0,011 bei 0,012, visų koncentracijų p vertė yra 0,0000046.

Norint įvertinti tarpgrupinį skirtumą tarp muilo be priedų ir $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ muių kompozitų, buvo pasitelkta ANOVA analizė, kuri parodė, jog *S. saprophyticus* bakterijų lėkštelėje mažiausios 50 mg/ml koncentracijos 0,1-5 % slopinimo zonos buvo atitinkamai 6,53; 7,44; 9,53 bei

11,57, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 2,89 \times 10^{11}$), 100 mg/ml atitinkamai siekė 6,80; 7,67; 10,97 bei 11,69 mm, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 1,86 \times 10^9$), didžiausios 150 mg/ml koncentracijos slopinimo zonos buvo 6,92; 7,95; 11,81 bei 12,32, vėl gi statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedo ($p = 3,37 \times 10^8$). Bendrai, dedant bet kokią muilo koncentraciją ir lyginant su muilu be priedų, statistinis reikšmingumas buvo dar didesnis, $p = 1,74 \times 10^{26}$. *E. coli* bakterijų lėkštelėje mažiausios 50 mg/ml koncentracijos 0,1-5 % slopinimo zonos buvo atitinkamai 6,45; 7,30; 9,21 bei 11,15, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 3,88 \times 10^{11}$), 100 mg/ml atitinkamai siekė 6,70; 7,60; 10,35 bei 11,49 mm, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 2,33 \times 10^9$), didžiausios 150 mg/ml koncentracijos slopinimo zonos buvo 6,90; 7,89; 11,50 bei 12,01, vėl gi statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedo ($p = 4,42 \times 10^8$). Bendrai, skirtumas tarp bet kokios dedamos koncentracijos į muilą ir muilo be priedo, yra statistiškai reikšmingas, $p = 4,06 \times 10^{26}$.

3.5.3 Muilų kompozitai su Fe ir Zn legiruotu vitlokitu

Muilų kompozitų su 150 mg/ml koncentracijomis, kuriuose yra 0,1-5 % Fe ir Zn legiruoto vitlokito, slopinimo zonos pavaizduotos 49 pav. Visų $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ legiruotų muilų su skirtingomis koncentracijomis bei abejomis bakterijų kultūromis slopinimo zonų rezultatai (mm) pateikti 5 lentelėje, o jų grafinis atvaizdavimas stulpelinėmis diagramomis pateiktas 50 pav.

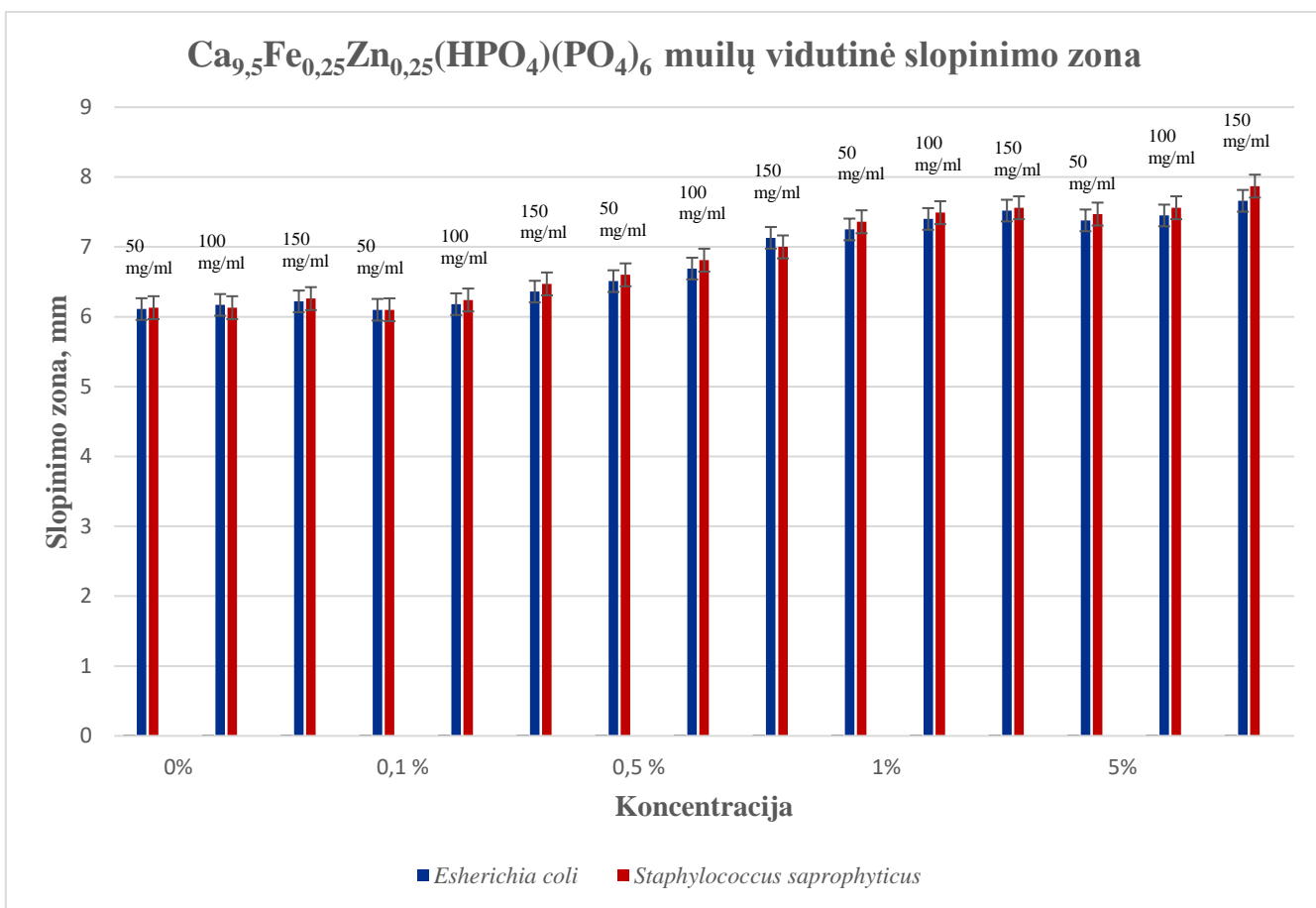


49 pav. Popieriniai diskai su 150 mg/ml koncentracijos muilų kompozitais, kuriuose yra 0,1 % (1), 0,5 % (2), 1 % (3) ir 5 % (4) $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, *S. saprophyticus* agaru lėkštelėje.

5 lentelė. 0,1-5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų muilų kompozitų su *E. coli* ir *S. saprophyticus* bakterijomis slopinimo zonos *(mm).

Koncentracija	0 %			0,1 % Ca _{9,5} Fe _{0,25} Zn _{0,25} (HPO ₄)(PO ₄) ₆			0,5 % Ca _{9,5} Fe _{0,25} Zn _{0,25} (HPO ₄)(PO ₄) ₆			1 % Ca _{9,5} Fe _{0,25} Zn _{0,25} (HPO ₄)(PO ₄) ₆			5 % Ca _{9,5} Fe _{0,25} Zn _{0,25} (HPO ₄)(PO ₄) ₆		
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml
<i>E. coli</i>	6,11	6,17	6,22	6,10	6,18	6,36	6,51	6,69	7,13	7,25	7,40	7,52	7,38	7,45	7,66
<i>S. saprophyticus</i>	6,13	6,13	6,26	6,10	6,24	6,47	6,60	6,81	7,00	7,36	7,49	7,56	7,47	7,56	7,87

* - pateikiami visų eksperimentų 3 pakartojimų vidurkiai



50 pav. 0,1-5 % Ca_{9,5}Fe_{0,25}Zn_{0,25}(HPO₄)(PO₄)₆ 50, 100 ir 150 mg/ml koncentracijų muilų kompozitų su *E. coli* ir *S. saprophyticus* bakterijomis slopinimo zonos (mm).

Tyrimo rezultatų duomenys rodo, kaip ir beta-trikalčio fosfato bei hidroksiapatito atveju, jog antibakterinių muilų efektyvumas priklauso tiek nuo Ca_{9,5}Fe_{0,25}Zn_{0,25}(HPO₄)(PO₄)₆ koncentracijos muilo kompozite (0,1-5 %), tiek nuo muilo koncentracijos tiriamame tirpale (50-150 mg/ml), tiek nuo bakterijų rūšies.

Norint įvertinti $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ efektyvumą, skirtingi muilų kompozitai buvo lyginami su paprastu natrio muilu. Kaip matome 49, 50 pav. ir 5 lentelėje, visi 0,1-5 % $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ muilų kompozitai pasižymi tik vidutiniu slopinimu (vidurkiai < 10 mm).

Šiuos rezultatus tarpusavyje palyginus Shapiro-Wilk statistiniu kriterijumi, nustatyta, kad *S. saprophyticus* atveju 50 mg/ml koncentracijos slopinimo zonų atstumai (mm) tarpusavyje skiriasi statistiškai reikšmingai, p reikšmė 0,04, o 100 bei 150 mg/ml jau nėra statistiškai reikšmingo skirtumo, p reikšmės atitinkamai 0,1 ir 0,19. Visų koncentracijų skirtumas tarpusavyje yra statistiškai reikšmingas ($p = 0,00069$). *E. coli* atveju vėl gi 50 mg/ml koncentracijos slopinimo zonų atstumai (mm) statistiškai reikšmingai skiriasi, p vertė 0,027, o 100 ir 150 mg/ml šie atstumai (mm) statistiškai reikšmingai nesiskiria, p lygūs 0,15 bei 0,25. Galiausiai, visų koncentracijų skirtumas tarpusavyje yra statistiškai reikšmingas, p vertė yra 0,00089.

Norint įvertinti tarpgrupinį skirtumą tarp muilo be priedų ir $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ muilų kompozitų, buvo pasitelkta ANOVA analizė, kuri parodė, jog *S. saprophyticus* bakterijų lėkštelėje mažiausios 50 mg/ml koncentracijos 0,1-5 % slopinimo zonos buvo atitinkamai 6,10; 6,51; 7,25 bei 7,38, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 0,00064$), 100 mg/ml atitinkamai siekė 6,18; 6,69; 7,40 bei 7,45 mm, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 0,0075$), didžiausios 150 mg/ml koncentracijos slopinimo zonos buvo 6,36; 7,13; 7,52 bei 7,66, vėl gi statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedo ($p = 0,031$). Bendrai, dedant bet kokią muilo koncentraciją ir lyginant su muilu be priedų, statistinis reikšmingumas buvo dar didesnis, $p = 2,09 \times 10^6$. *E. coli* bakterijų lėkštelėje mažiausios 50 mg/ml koncentracijos 0,1-5 % slopinimo zonos buvo atitinkamai 6,10; 6,60; 7,36 bei 7,47, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 0,0016$), 100 mg/ml atitinkamai siekė 6,24; 6,81; 7,49 bei 7,56 mm, kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedų ($p = 0,014$), didžiausios 150 mg/ml koncentracijos slopinimo zonos buvo 6,47; 7,00; 7,56 bei 7,87, vėl gi statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo muilo be priedo ($p = 0,05$). Bendrai, dedant bet kokią muilo koncentraciją ir lyginant su muilu be priedų, statistinis reikšmingumas buvo dar didesnis, $p = 1,39 \times 10^5$.

3.5.4 Antibakterinio aktyvumo rezultatų apibendrinimas

Pagal gautus rezultatus galima daryti išvadą, jog Fe ir Zn pakeistų beta-trikalcio fosfato, hidroksiapatito bei vitlokito atvejais, antibakterinių muilų efektyvumas priklauso tiek nuo dedamos Ca-P koncentracijos muilo kompozite (0,1-5 %), tiek nuo muilo koncentracijos tiriamame tirpale (50-150 mg/ml), tiek nuo bakterijų rūšies. Kiekvienos koncentracijos (0,1; 0,5; 1 ir 5 %) Ca-P muilų kompozitų slopinimo zonų atstumai (mm) proporcingai didėja, yra tiesinis sąryšis ($r^2 = 0,96$), visų vidurkiai atitinkamai lygūs 6,55; 7,35; 9,02 ir 9,89 mm. Vadinas, kuo didesnė metalų koncentracija muile, tuo stipresnis bakterijų augimo slopinimas. Didinant muilo koncentraciją tirpale (50-150 mg/ml) taip pat visų muilų kompozitų slopinimo zonų atstumai proporcingai didėja, tiesinis sąryšis labai stiprus, r^2 reikšmė lygi 0,99, o vidurkių dydžiai atitinkamai 7,84; 8,21 ir 8,56 mm. Galima daryti išvadą, jog kuo didesnė dedamo muilo koncentracija, tuo stipresnis antibakterinis aktyvumas. Pagal antibakterinių testų rezultatų duomenis, *S. saprophyticus* bakterijų kultūra yra mažiau atspari Ca-P junginiams negu *E. coli* (bendri vidurkiai yra 8,29 bei 8,11 mm). Pagal literatūros duomenis [112], viena iš skirtingo jautrumo priešasčių – Gram-teigiamų ir Gram-neigiamų bakterijų membranų skirtumai, Gram-teigiamos

bakterijos turi stipresnį antibakterinį efektą, be to, skirtinga tolerancija metalų jonams priklauso ir nuo individualių kiekvieno mikroorganizmo apsaugos mechanizmų.

Atsižvelgiant į gautus tyrimo rezultatus, visi Fe ir Zn legiruoti Ca-P muilai pasižymi antibakteriniu aktyvumu prieš abejas bakterijų kultūras, tačiau $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ turi stipriausią efektą, todėl šį junginį naudoti antibakteriniuose muiluose yra efektyviausia. $\text{Ca}_{2,85}\text{Fe}_{0,0075}\text{Zn}_{0,0075}(\text{PO}_4)_2$ turi ne tokį stiprų poveikį mikroorganizmams, o mažiausią antibakterinį efektą turi $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$, tačiau norint detaliau išanalizuoti tokius muilus, reiktų didinti $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,25}\text{Zn}_{0,25}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ junginio koncentraciją muile. Tyrimų duomenys atskleidžia, jog visi susintetinti muilų kompozitai pasižymi antimikrobinu poveikiu ir yra tinkami rankų higienai, savo sudėtyje neturi antibiotikų ir kitų bakterijoms atsparių ingredientų, todėl nesivysto atsparumas mikroorganizmams.

IŠVADOS

1. XRD analizės rezultatai leido teigti, kad buvo gauti vienfaziai Fe ir Zn pakeisti Ca-P junginiai: bendrojo nusodinimo metodu β -Ca₃(PO₄)₂, zolių-gelių metodu Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, tirpinimo-nusodinimo metodu Ca₁₀(HPO₄)(PO₄)₆. Mažesnių koncentracijų (0,1-0,5 %) Ca-P antibakterinių muilų difraktogramose stebimi maži fosfatų pėdsakai arba jų išvis nėra, o didesnių koncentracijų (1-5 %) – jau yra intensyvesnės atspindžio smailės, priskirtinos Ca-P junginiams.

2. FT-IR bei Ramano spektroskopijos tyrimų metu visuose vienfazių Ca-P junginių spektruose identifiкуotos charakteristinės PO₄³⁻ funkcinės grupės. Taip pat nustatyta, jog be muilo sudedamųjų dalių funkcinų grupių beveik visuose muilų kompozituose randamos ir fosfatų funkcinės grupės, kas patvirtina šių priedų buvimą susintetintuose muiluose.

3. Remiantis XRD ir FT-IR duomenimis nustatyta, jog po muilinimo reakcijos kietojo muilo mišinio sudėtyje yra (CH₃(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₇COONa), (Na₂CO₃·H₂O), (Na₂CO₃·7H₂O) ir (NaHCO₃·Na₂CO₃·2H₂O) junginiai.

4. SEM analizė atskleidė, jog 0,1-5 % Ca_{2,85}Fe_{0,0075}Zn_{0,0075}(PO₄)₂ bei Ca_{9,5}Fe_{0,25}Zn_{0,25}(PO₄)₆(OH)₂ kompozitų paviršiaus morfologijos skiriasi nuo paprasto kietojo muilo, tačiau jų paviršiaus morfologija beveik nepriklauso nuo įvedamo TCP ir CHA kiekio, tuo tarpu 0,1-5 % Ca_{9,5}Fe_{0,25}Zn_{0,25}(HPO₄)(PO₄)₆ kompozitų paviršiaus morfologija nežymiai priklauso nuo įvedamo WT kiekio. 0,5% ir 1% Ca_{9,5}Fe_{0,25}Zn_{0,25}(HPO₄)(PO₄)₆ susintetintuose junginiuose randama vitlokitui charakteringos sferinės dalelės, kurių dydis 0,5-2 μm.

5. Diskų difuzijos metodu nustatyta, jog visi Fe ir Zn legiruoti Ca-P muilai pasižymi antibakteriniu aktyvumu prieš *S. saprophyticus* ir *E. coli* bakterijų kultūras. Antibakterinių muilų efektyvumas priklauso tiek nuo dedamos Ca-P koncentracijos muilo kompozite, mažiausias efektyvumas nustatytas 0,1 % muilo esant 6,55 mm slopinimo zonai, didžiausias 5 % Ca-P muilo kompozitų, kurių slopinimo zonos atstumas siekė 9,89 mm; tiek nuo muilo koncentracijos tiriamame tirpale, mažiausiai jautrus mikroorganizmams 50 mg/ml muilas (slopinimo zona 7,84 mm), daugiausiai jautrus 150 mg/ml koncentracijos Ca-P muilas (slopinimo zona 8,56 mm); tiek nuo bakterijų rūšies, *S. saprophyticus* bakterijų kultūra yra mažiau atspari Ca-P junginiams negu *E. coli* (slopinimo zonos atitinkamai 8,29 bei 8,11 mm). Ca_{9,5}Fe_{0,25}Zn_{0,25}(PO₄)₆(OH)₂ junginys yra efektyviausias antibakterinio muilo ingredientas.

LITERATŪROS ŠARŠAS

- [1] P.A. Jumaa, Hand hygiene: simple and complex, *Int J Infect Dis.* 9(1) (2005) 3-14. doi: 10.1016/j.ijid.2004.05.005.
- [2] M.K. Gupta, S.R. Lipner, Hand hygiene in preventing COVID-19 transmission, *Cutis.* 105(5) (2020) 233-234.
- [3] K. Pramod, S. Kotta, U.S. Jijith, Surfactant-based prophylaxis and therapy against COVID-19: A possibility, *Med Hypotheses.* 143 (2020) 1-6. doi:10.1016/j.mehy.2020.110081.
- [4] World Health Organization, WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, (2009). apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44102/9789241597906_eng.pdf?sequence=1 (žiūrėta 2021 m. gegužės 29 d.).
- [5] Lietuvos higienos norma HN 47-1:2012 „Sveikatos priežiūros įstaigos. Infekcijų kontrolės reikalavimai“ (2012).
- [6] M. Brauer, J.T. Zhao, F.B. Bennitt, J.D. Stanaway, Global Access to Handwashing: Implications for COVID-19 Control in Low-Income Countries, *Environ Health Perspect.* 128(6) (2020). doi:10.1289/EHP7200.
- [7] C.A. Giuliano, M.J. Rybak, Efficacy of triclosan as an antimicrobial hand soap and its potential impact on antimicrobial resistance: A focused review, *Pharmacotherapy.* 35(3) (2015) 328–336. doi:<https://doi.org/10.1002/phar.1553>.
- [8] S.A. Kim, M.S. Rhee, Microbicidal effects of plain soap vs triclocarban-based antibacterial soap, *Journal of Hospital Infection.* 94(3) (2016) 276–280. doi:10.1016/j.jhin.2016.07.010.
- [9] Z. Kojic, D. Stojanovic, S. Popadic, M. Jokanovic, D. Janackovic, The irritative property of alpha-tricalcium phosphate to the rabbit skin, *Gen Physiol Biophys.* 28 (2009) 168-173.
- [10] Z. Nazemi, M. Mehdikhani, M. haghbin nazarpak, H. Staji, The Antibacterial Activity Evaluation of Sol–Gel Prepared Zn-Doped Biphasic Calcium Phosphate Nanopowders, *Advanced Science, Engineering and Medicine.* 7 (2015) 995-1002. doi:10.1166/ asem.2015.1772.
- [11] K.D. Mwambete, F. Lyombe, Antimicrobial Activity of Medicated Soaps Commonly Used By Dar es Salaam Residents in Tanzania, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 73(1) (2011) 92–98. doi:<https://doi.org/10.4103/0250-474X.89765>.
- [12] C. Ballantyne, Do Antibacterial Soaps Do More Harm Than Good? Fact or Fiction, *Scientific American.* 298(2) (2008) 96–96. doi:<https://doi.org/10.1038/scientificamerican0208-96>.
- [13] J.J. Yu, M.B. Manus, O. Mueller, S.C. Windsor, J.E. Horvath, C.L. Nunn, Antibacterial soap use impacts skin microbial communities in rural Madagascar, *PloS One.* 13(8) (2018) 1-14. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199899>.
- [14] G.E. Fischler, J.L. Fuls, E.W. Dail, M.H. Duran, N.D. Rodgers, A.L. Waggoner, Effect of Hand Wash Agents on Controlling the Transmission of Pathogenic Bacteria from Hands to Food, *Journal of Food Protection.* 70(12) (2007) 2873–2877. doi:<https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.12.2873>.
- [15] L.L. Gibson, J. B. Rose, C.N. Haas, C.P. Gerba, P.A. Rusin, Quantitative assessment of risk reduction from hand washing with antibacterial soaps, *Journal of Applied Microbiology.* 92(s1) (2002) 136S-143S. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.s1.17.x>.

- [16] S. Riaz, A. Ahmad, S. Hasnain, Antibacterial activity of soaps against daily encountered bacteria, *African Journal of Biotechnology*. 8 (2009) 1431-1436.
- [17] A.E. Aiello, E.L. Larson, S.B. Levy, Consumer Antibacterial Soaps: Effective or Just Risky? *Clinical Infectious Diseases*. 45(Supplement_2) (2007) S137–S147. doi:<https://doi.org/10.1086/519255> .
- [18] J.M. Boyce, H.L. DuPont, J. Massaro, D. Sack, D.W. Schaffner, An expert panel report of a proposed scientific model demonstrating the effectiveness of antibacterial handwash products, *American Journal of Infection Control*. 40(8) (2012) 742–749. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.09.016>.
- [19] A.E. Aiello, R.M. Coulborn, V. Perez, E.L. Larson, Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: A meta-analysis, *American Journal of Public Health*. 98(8) (2008) 1372–1381. doi:<https://doi.org/10.2105/AJPH.2007.124610>.
- [20] R. Santacatalina Mas, M.T. Peix Sagues, J. Miranda Salmerón, M. Claramunt Jofre, A. López López, E. Salas Marco, Surgical hand washing: Handscrubbing or handrubbing, *Revista De Enfermeria*. 39(2) (2016) 8–16.
- [21] R.D. Xue, W.A. Qualls, Larvicidal Activity of Synthetic Disinfectants and Antibacterial Soaps Against Mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), *Journal of Medical Entomology*. 50(1) (2013) 137–139. doi:<https://doi.org/10.1603/ME12092>.
- [22] P. Liu, Y. Yuen, H.M. Hsiao, L.A. Jaykus, C. Moe, Effectiveness of liquid soap and hand sanitizer against Norwalk virus on contaminated hands, *Applied and Environmental Microbiology*. 76(2) (2010) 394–399. doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.01729-09>.
- [23] J.B. Rose, C.N. Haas, A risk assessment framework for the evaluation of skin infections and the potential impact of antibacterial soap washing, *American Journal of Infection Control*. 27(6) (1999) S26–S33. doi:[https://doi.org/10.1016/S0196-6553\(99\)70039-8](https://doi.org/10.1016/S0196-6553(99)70039-8).
- [24] N.K. Pandey, C.V. Natraj, G.P. Kalle, M.E.N. Nambudiry, Antibacterial properties of soap containing some fatty acid esters, *International Journal of Cosmetic Science*. 7(1) (1985) 9–14. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1985.tb00390.x>.
- [25] D. Paulson, Why Do Companies Use the Health care Personnel Handwash Study to Evaluate their Products? (2016). biosciencelabs.com/blog/why-do-companies-use-the-health-care-personnel-handwash-study-to-evaluate-their-products (žiūrėta 2021 m. gegužės 29 d.).
- [26] B. Morrison, M. Paye, A comparison of three in vitro screening tests with an in vivo clinical test to evaluate the irritation potential of antibacterial liquid soaps, *J. Soc. Cosmet. Chem*. 46 (1995) 291-299.
- [27] C.W. Rundle, S. Hu, C.L. Presley, C.A. Dunnick, Triclosen and Its Alternatives in Antibacterial Soaps, *Dermatitis*. 30(6) (2019) 352–357. doi:<https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000519>.
- [28] B.R. Mendes, D.M. Shimabukuro, M. Uber, K.T. Abagge, Critical assessment of the pH of children's soap, *Jornal de Pediatria*. 92(3) (2016) 290–295. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2015.08.009>.
- [29] G. Shubham, 10 Best Baby Soaps in India 2021, (2020). www.shubz.in/best-baby-soaps-in-india/ (žiūrėta 2021 m. gegužės 29 d.).

- [30] S. Kongtun, W. Suracherdkaiti, Herbal Antibacterial Liquid Soap Development against Bacterial Skin Diseases, *Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. (2009) 497–500. doi:https://doi.org/10.1142/9789812837554_0103.
- [31] J. De Witt Huberts, K. Greenland, W.P. Schmidt, V. Curtis, Exploring the potential of antimicrobial hand hygiene products in reducing the infectious burden in low-income countries: An integrative review, *American Journal of Infection Control*. 44(7) (2016) 764–771. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2016.01.045>.
- [32] A. Studman, Hand hygiene, soap and sanitizer gel: what you need to know, (2020). www.which.co.uk/news/2020/04/hand-hygiene-soap-and-sanitiser-gel-what-you-need-to-know/ (žiūrėta 2021 m. gegužės 30 d.).
- [33] Marie, How to Make Liquid Soap (The Easy Way), (2014). www.humblebeeandme.com/how-to-make-liquid-soap-easy-way/ (žiūrėta 2021 m. gegužės 30 d.).
- [34] S. Handayani, S. Kristianingrum, A. Rakhmawati, Standard Quality and Antibacterial Activity Tests of Clove Oil in Solid Soap Production Against *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis* and *Escherichia Coli*, *Oriental Journal of Chemistry*. 34(5) (2018) 2410–2417. doi:<https://doi.org/10.13005/ojc/340524>.
- [35] D.A. Koehler, K.A. Strevett, C. Papelis, T.C.G. Kibbey, The impact of antibacterial handsoap constituents on the dynamics of triclosan dissolution from dry sand, *Chemosphere*. 186 (2017) 251–256. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.142>.
- [36] S. Yapar, M. Ateş, G. Özdemir, Preparation and characterization of sodium lauroyl sarcosinate adsorbed on cetylpyridinium-montmorillonite as a possible antibacterial agent, *Applied Clay Science*. 150 (2017) 16–22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.08.025>.
- [37] H. Yun, B. Liang, D. Kong, X. Li, A. Wang, Fate, risk and removal of triclocarban: A critical review, *Journal of Hazardous Materials*. 387 (2019) 121944. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121944>.
- [38] R. Vosátka, M. Krátký, J. Vinšová, Triclosan and its derivatives as antimycobacterial active agents, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 114 (2018) 318–331. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.12.013>.
- [39] M. Chandrasekaran, K. Kannathasan, V. Venkatesalu, Antimicrobial Activity of Fatty Acid Methyl Esters of Some Members of Chenopodiaceae, *Zeitschrift Für Naturforschung C*. 63(5-6) (2008) 331–336. doi:10.1515/znc-2008-5-604.
- [40] A. Sati, S.C. Sati, N. Sati, O.P. Sati, Chemical composition and antimicrobial activity of fatty acid methyl ester of *Quercus leucotrichophora* fruits, *Natural Product Research*. 31(6) (2017) 713–717. doi:<https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1217202>.
- [41] R. Sharma, S. Khan, Synthesis, Characterization and Antifungal Activities of Copper(II) Soaps and their Complexes Derived from *Azadirachta Indica* (Neem) and *Pongamia Pinnata* (Karanj) Oil, *Tenside Surfactants Detergents*. 46(3) (2009) 145–151. doi:<https://doi.org/10.3139/113.110017>.
- [42] P. Bornare, T. Deokar, A. Shinde, D. Musmade, Formulation and evaluation of herbal neem soap, *International Journal of Medicine Research*. 6(1) (2021) 09-12.
- [43] H. Wangensteen, L. Klarpås, M. Alamgir, A.B. Samuelsen, K.E. Malterud, Can scientific evidence support using Bangladeshi traditional medicinal plants in the treatment of diarrhoea? A review on seven plants, *Nutrients*. 5(5) (2013) 1757-1800. doi:10.3390/nu5051757.

- [44] Y. Yamamoto, Y. Kawamura, Y. Yamazaki, T. Kijima, T. Morikawa, Y. Nonomura, Palmitoleic acid calcium salt: A lubricant and bactericidal powder from natural lipids, *Journal of Oleo Science*. 64(3) (2015) 283–288. doi:<https://doi.org/10.5650/jos.ess14176>.
- [45] C. Cosentino, H.S. Elshafie, C. Labella, C. D'Adamo, G. Pecora, M. Musto, R. Paolino, I. Camele, P. Freschi, Study on the protective effect of an innovative cow milk-based product against some human skin-bacterial pathogens, *Journal of Biological Research - Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*. 91(1) (2018) 35-39. doi:<https://doi.org/10.4081/jbr.2018.7426>.
- [46] H. Jang, Y. Makita, K. Jung, S. Ishizaka, K. Karasawa, K. Oida, M. Takai, H. Matsuda, A. Tanaka, Linoleic acid salt with ultrapure soft water as an antibacterial combination against dermatopathogenic *Staphylococcus* spp., *Journal of Applied Microbiology*. 120(2) (2016) 280–288. doi:<https://doi.org/10.1111/jam.13012>.
- [47] M. Zandiyeh, G. Roshanaei, Effectiveness of three surgical alcohol-based hand rubs on skin flora, *Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research*. 20(2) (2015) 221–225.
- [48] S.D. Bansod, M.S. Bawaskar, A.K. Gade, M.K. Rai, Development of shampoo, soap and ointment formulated by green synthesised silver nanoparticles functionalised with antimicrobial plants oils in veterinary dermatology: Treatment and prevention strategies, *IET Nanobiotechnology*. 9(4) (2015) 165–171. doi:<https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2014.0042>.
- [49] B. Hileman, Antiseptic Soaps Under Scrutiny: FDA to assess whether household use leads to bacterial resistance, *Chemical & Engineering News Archive*. 83(43) (2005) 14. doi:<https://doi.org/10.1021/cen-v083n043.p014a>.
- [50] M.F. Yueh, R.H. Tukey, Triclosan: A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 56 (2016) 251–272. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103417>.
- [51] L.W.B. Olaniyan, N. Mkwetshana, A.I. Okoh, Triclosan in water, implications for human and environmental health, *SpringerPlus*. 5(1) (2016) 1639. doi:<https://doi.org/10.1186/s40064-016-3287-x>.
- [52] G.R.A. Wyllie, Spectroscopic Determination of Triclosan Concentration in a Series of Antibacterial Soaps: A First-Year Undergraduate Laboratory Experiment, *Journal of Chemical Education*. 92(1) (2015) 153–156. doi:<https://doi.org/10.1021/ed5004146>.
- [53] G. Dhillon, S. Kaur, R. Pulicharla, S. Brar, M. Cledón, M. Verma, R. Surampalli, Triclosan: Current Status, Occurrence, Environmental Risks and Bioaccumulation Potential, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 12(5) (2015) 5657–5684. doi:<https://doi.org/10.3390/ijerph120505657>.
- [54] M.I. Carretero, C.S.F. Gomes, F. Tateo, Clays and Human Health, *Developments in Clay Science*. 1 (2006) 717–741. doi:[https://doi.org/10.1016/S1572-4352\(05\)01024-X](https://doi.org/10.1016/S1572-4352(05)01024-X).
- [55] G. Özdemir, M.H. Limoncu, S. Yapar, The antibacterial effect of heavy metal and cetylpridinium-exchanged montmorillonites, *Applied Clay Science*. 48(3) (2010) 319–323. doi:<https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.01.001>.
- [56] M. Yasuyuki, K. Kunihiro, S. Kurissery, N. Kanavillil, Y. Sato, Y. Kikuchi, Antibacterial properties of nine pure metals: A laboratory study using *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Biofouling*. 26(7) (2010) 851–858. doi:<https://doi.org/10.1080/08927014.2010.527000>.

- [57] M.T. Madigan, J.M. Martinko, T.D. Brock, Brock biology of microorganisms, Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall, 2006. www.worldcat.org/title/brock-biology-of-microorganisms/oclc/57001814.
- [58] N. Raman, J. Joseph, A.S.K. Velan, C. Pothiraj, Antifungal Activities of Biorelevant Complexes of Copper(II) with Biosensitive Macrocyclic Ligands, *Mycobiology*. 34(4) (2006) 214–218. doi:<https://doi.org/10.4489/MYCO.2006.34.4.214>.
- [59] N. Mathur, S. Bargotyia, A facile synthesis and biological evaluation of some macrocyclic copper complexes, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(6) (2015) 2538–2545. doi:[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(6\).2538-45](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(6).2538-45).
- [60] Z.H. Chohan, A. Munawar, C.T. Supuran, Transition Metal Ion Complexes of Schiff-bases. Synthesis, Characterization and Antibacterial Properties, *Metal-Based Drugs*. 8(3) (2001) 137–143. doi:<https://doi.org/10.1155/MBD.2001.137>.
- [61] A.A. Azari, N.P. Barney, Conjunctivitis: A Systematic Review of Diagnosis and Treatment, *JAMA*. 310(16) (2013) 1721-1729. doi:10.1001/jama.2013.280318.
- [62] V. Mavrodinova, M. Popova, K. Yoncheva, J. Mihály, A. Szegedi, Solid-state encapsulation of Ag and sulfadiazine on zeolite Y carrier, *Journal of Colloid and Interface Science*. 458 (2015) 32–38. doi:10.1016/j.jcis.2015.07.026.
- [63] J. Gao, H. Na, R. Zhong, M. Yuan, J. Guo, L. Zhao, F. Zhang, One step synthesis of antimicrobial peptide protected silver nanoparticles: the core-shell mutual enhancement of antibacterial activity, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 186 (2019) 1-8. doi:10.1016/j.colsurfb.2019.110704.
- [64] Y. Deng, J. Li, Y. Pu, Y. Chen, J. Zhao, J. Tang, Ultra-fine silver nanoparticles dispersed in mono-dispersed amino functionalized poly glycidyl methacrylate based microspheres as an effective anti-bacterial agent, *Reactive and Functional Polymers*. 103 (2016) 92–98. doi:<https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.04.007>.
- [65] K. Midha, G. Singh, M. Nagpal, S. Arora, Potential Application of Silver Nanoparticles in Medicine, *Nanoscience & Nanotechnology-Asia*. 6 (2016) 82-91. doi:<https://doi.org/10.2174/2210681205666150818230319>.
- [66] H. Chair, H. Labjar, O. Britel, Synthesis of β -tricalcium phosphate, *Morphologie*. 101(334) (2017) 120–124. doi:10.1016/j.morpho.2017.06.002.
- [67] V. Stanić, S. Dimitrijević, J. Antić-Stanković, M. Mitrić, B. Jokić, I.B. Plećaš, S. Raičević, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders, *Applied Surface Science*. 256(20) (2010) 6083–6089. doi:10.1016/j.apsusc.2010.03.124.
- [68] E. Garskaite, L. Alinauskas, M. Drienovsky, J. Krajcovic, R. Cicka, M. Palcut, A. Kareiva, Fabrication of a composite of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite (cHAP) with polylactic acid (PLA) and its surface topographical structuring with direct laser writing (DLW), *RSC Advances*. 6(76) (2016) 72733–72743. doi:10.1039/c6ra11679e.
- [69] S. Batool, U. Liaqat, Z. Hussain, M. Sohail, Synthesis, Characterization and Process Optimization of Bone Whitlockite, *Nanomaterials*. 10(9) (2020) 1-14. doi:<https://doi.org/10.3390/nano10091856>.
- [70] N.P. Prieto, A.O. Adeseun, T.H. Pham, The Effects of Cold Saponification on the Unsaponified Fatty Acid Composition and Sensory Perception of Commercial Natural Herbal Soaps, *Molecules*. 23(9) (2018) 1-20. doi:10.3390/molecules23092356.

- [71] K. Rambabu, A.A. Edathil, G.S. Nirmala, S.W. Hasan, A.F. Yousef, P.L. Show, F. Banat, Date-fruit syrup waste extract as a natural additive for soap production with enhanced antioxidant and antibacterial activity, *Environmental Technology & Innovation*. 20 (2020) 1-13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101153>.
- [72] LB Broth (Miller's LB Broth), For *E.coli* in molecular genetics studies. Products Description, Uptima. (2015). www.interchim.fr/ft/N/N1398A.pdf (žiūrėta 2021 m. gegužės 30 d.).
- [73] D.W. Wanja, P.G. Mbuthia, R.M. Waruiru, L.C. Bebora, H.A. Ngowi, P.N. Nyaga, Antibiotic and Disinfectant Susceptibility Patterns of Bacteria Isolated from Farmed Fish in Kirinyaga County, Kenya, *International Journal of Microbiology*. 2020 (2020) 1-8. doi:<https://doi.org/10.1155/2020/8897338>.
- [74] Z. Hanusz, J. Tarasinska, W. Zielinski, Shapiro-Wilk Test With Known Mean, *Revstat*., 14(1) 2016 89–100.
- [75] R. Sližytė, Pirimidino darinių sintezė ir antibakterinio aktyvumo tyrimas, Magistro baigiamasis darbas, Vytauto Didžiojo universitetas, Kaunas, 2018.
- [76] V. Karpuškienė, A. Davidovič, O. Davidovič, K. Majeuskaja, J. Mečkovski, S. Meškelytė, L. Mociūnaitė, G. Rupeika, N. Šikšniūtė, Ekonometrijos Virtuvė, ekonometrijos mokomoji medžiaga studentai – studentams, 2017. web.vu.lt/ef/v.karpuskiene/files/2017/02/EKONVIRT_V1.pdf.
- [77] E. Boanini, M. Gazzano, C. Nervi, M.R. Chierotti, K. Rubini, R. Gobetto, A. Bigi, Strontium and Zinc Substitution in beta-Tricalcium Phosphate: An X-ray Diffraction, Solid State NMR and ATR-FTIR Study, *J. Funct. Biomater.* 10 (2019) 1-15. doi:10.3390/jfb10020020.
- [78] M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa, Crystal structure analysis of beta-tricalcium phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ by neutron powder diffraction, *J. Solid State Chem.* 175 (2003) 272–277.
- [79] I. Bogdanovičienė, Biomedicininių keraminių medžiagų sintezė ir tyrimas, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva, 2008, 117 p.
- [80] L. Pastero, M. Bruno, D. Aquilano, About the Genetic Mechanisms of Apatites: A Survey on the Methodological Approaches, *Minerals*. 7 (2017) 1-21. doi:10.3390/min7080139.
- [81] H. L. Jang, K. Jin, J. Lee, Y. Kim, S. H. Nahm, K. S. Hong, K. T. Nam, Revisiting Whitlockite, the Second Most Abundant Biomineral in Bone: Nanocrystal Synthesis in Physiologically Relevant Conditions and Biocompatibility Evaluation, *ACS Nano*. 8 (2014) 634–641.
- [82] X. Xin, L. Wang, J. Shen, G. Xu, Y. Li, Rheological properties of hydrolyzed polyacrylamide/sodium oleate mixed system in the presence of different inorganic salts, *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 114 (2014) 15–21. doi:10.1016/j.petrol.2013.12.009.
- [83] S.A. Kim, K.J. Jeong, A. Yethiraj, M.K. Mahanthappa, Low-symmetry sphere packings of simple surfactant micelles induced by ionic sphericity, *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114(16) (2017) 4072–4077. doi:10.1073/pnas.1701608114.
- [84] C. Ruiz-Aguilar, U. Olivares-Pinto, E.A. Aguilar-Reyes, R. López-Juárez, I. Alfonso, Characterization of β -tricalcium phosphate powders synthesized by sol–gel and mechanosynthesis, *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. 57(5) (2018) 213-220. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2018.04.004>.

- [85] M. Tonković, M. Sikirić, V. Babić-Ivančić, Controversy about β -tricalcium phosphate, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 170(2–3) (2000) 107-112. doi:[https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(00\)00476-3](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00476-3).
- [86] D. dos Santos Tavares, L. de Oliveira Castro, G.D. de Almeida Soares, G.G. Alves, J.M. Granjeiro, Synthesis and cytotoxicity evaluation of granular magnesium substituted β -tricalcium phosphate, *Journal of applied oral science*. 21 (2013) 37-42. doi:10.1590/1678-7757201302138.
- [87] L. Berzina-Cimdina, N. Borodajenko, Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*. (2012) 123-150. doi:10.5772/36942.
- [88] N.S. Labidi, A. Idduo, Adsorption of oleic acid on quartz/water interface, *Journal of Saudi Chemical Society*. 11(2) (2007) 221-234.
- [89] J.D. Rodriguez-Blanco, S. Shaw, L.G. Benning, The Kinetics and Mechanisms of Amorphous Calcium Carbonate (ACC) Crystallization to Calcite, Via Vaterite, *Nanoscale*. 3 (2010) 265-71. doi:10.1039/c0nr00589d.
- [90] S. Mondal, A. Mondal, N. Mandal, B. Mondal, S.S. Mukhopadhyay, A. Dey, S. Singh, Physico-chemical characterization and biological response of *Labeo rohita*-derived hydroxyapatite scaffold, *Bioprocess Biosystem Engineering*. 37 (2013) 1233-1240. doi:10.1007/s00449-013-1095-z.
- [91] G. Dhanaraj, E. Shinyjoy, K. Arumugam, D. Rajeswari, K. Louis, T. Tang, Single walled carbon nanotubes reinforced mineralized hydroxyapatite composite coatings on titanium for improved biocompatible implant applications, *RSC Advances*. 5 (2015) 36766–36778. doi:10.1039/C5RA04382D.
- [92] M. Salarian, M. Solati-Hashjin, S.S. Shafiei, A. Goudarzi, R. Salarian, A. Nemat, Ali, Surfactant Assisted Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Nanorods Under Hydrothermal Condition, *Materials Science-Poland*. 27(4/1) (2009) 963-971.
- [93] C. Qi, F. Chen, J. Wu, Y.J. Zhu, C.N. Hao, J.L. Duan, Magnesium whitlockite hollow microspheres: a comparison of microwave-hydrothermal and conventional hydrothermal syntheses using fructose 1,6-bisphosphate, and application in protein adsorption, *RSC Advances*. 6(40) (2016) 33393–33402. doi:10.1039/c6ra00775a.
- [94] B. Schrader, *Raman Spectrometers*, Academic Press. (2017) 900-905. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00268-5>.
- [95] A.F. Khan, M. Awais, A.S. Khan, S. Tabassum, A.A. Chaudhry, I.U. Rehman, Raman Spectroscopy of Natural Bone and Synthetic Apatites, *Applied Spectroscopy Reviews*. 48(4) (2013) 329–355. doi:10.1080/05704928.2012.721107.
- [96] H. Baradari, C. Damia, M. Dutreilh-Colas, E. Champion, D. Chulia, M. Viana, β -TCP porous pellets as an orthopaedic drug delivery system: Ibuprofen/carrier physicochemical interactions, *Science and Technology of Advanced Materials*. 12(5) (2011) 1-10. doi:10.1088/1468-6996/12/5/055008.
- [97] Bakan F. A Systematic Study of the Effect of pH on the Initialization of Ca-deficient Hydroxyapatite to β -TCP Nanoparticles, *Materials*. 12(3) (2019) 1-12. doi:<https://doi.org/10.3390/ma12030354>.
- [98] N.K. Nguyen, M. Leoni, D. Maniglio, C. Migliaresi, Hydroxyapatite nanorods: Soft-template synthesis, characterization and preliminary *in vitro* tests, *Journal of biomaterials applications*. 28 (2012) 49-61. doi:10.1177/0885328212437065.

- [99] M. Raii, Formulation, characterization and implementation of Permeable Reactive Barrier (PRB) made of calcium phosphate, *Doktoro disertacija, Université de Toulouse, Toulouse, 2012.*
- [100] V.V. Nosenko, A.M. Yaremko, V. M., Dzhagan, I.P. Vorona, Y.A. Romanyuk, I.V. Zatonvsky, Nature of some features in Raman spectra of hydroxyapatite-containing materials, *Journal of Raman Spectroscopy.* 47(6) 2016 726–730. doi:10.1002/jrs.4883.
- [101] C.S. Ciobanu, S.L. Iconaru, P. Le Coustumer, D. Predoi, Vibrational Investigations of Silver-Doped Hydroxyapatite with Antibacterial Properties, *Journal of Spectroscopy.* 2013 (2012) 1–5. doi:10.1155/2013/471061.
- [102] M. Cooper, F. Hawthorne, Y. Abdu, N. Ball, R. Ramik, K. Tait, Wopmayite, Ideally $\text{Ca}_6\text{Na}_3\text{Mn}(\text{PO}_4)_3(\text{PO}_3\text{OH})_4$, A New Phosphate Mineral From The Tanco Mine, Bernic Lake, Manitoba: Description And Crystal Structure, *Canadian Mineralogist.* 51 (2013) 93-106. doi:93-106. 10.3749/canmin.51.1.93.
- [103] B. Jolliff, J. Hughes, J. Freeman, R. Zeigler, Crystal chemistry of lunar merrillite and comparison to other meteoritic and planetary suites of whitlockite and merrillite, *American Mineralogist.* 91 (2006) 1583-1595. doi:10.2138/am.2006.2185.
- [104] M. Markovic, B.O. Fowler, M.S. Tung, Preparation and Comprehensive Characterization of a Calcium Hydroxyapatite Reference Material, *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology.* 109 (2004) 553-568.
- [105] M.T. Postek, A.E. Vladar, Does Your SEM Really Tell the Truth?-How Would You Know? Part 1, *Scanning.* 35 (2013) 355-361. doi:10.1002/sca.21075.
- [106] M.T. Postek, A.E. Vladar, Does Your SEM Really Tell the Truth?-How Would You Know? Part 4: Charging and its Mitigation, *Scan. Microscop.* 9636 (2015) 1-21. doi:10.1117/12.2195344.
- [107] M.T. Postek, A.E. Vladar, P. Cizmar, Does Your SEM Really Tell the Truth?-How Would You Know? Part 3, Vibration and Drift. *Scan. Microscop.* 9236 (2014). doi:10.1117/12.2065235
- [108] S. Kareiva, A. Selskis, F. Ivanauskas, S. Sakirzanovas, Stereophotography and spatial surface reconstruction using scanning electron microscopy images, *Pure and Applied Chemistry.* 87 (2015) 283-292.
- [109] S. Kareiva, V. Klimavicius, A. Momot, J. Kausteklis, A. Prichodko, L. Dagys, F. Ivanauskas, S. Sakirzanovas, V. Balevicius and A. Kareiva. Sol-gel synthesis, phase composition, morphological and structural characterization of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: XRD, FTIR, SEM, 3D SEM and solid-state NMR studies, *J. Molec. Struct.* 1119 (2016) 1-11.
- [110] S. Kareiva, A. Selskis, F. Ivanauskas, S. Šakirzanovas and A. Kareiva. Scanning electron microscopy: Extrapolation of 3D data from SEM micrographs, *Mater. Sci. (Medziagotyra),* 21 (2015) 640-646.
- [111] A. Baghaie, A. P. Tafti, H.A. Owen, R. M. D'Souza, Z. Y. Yu, SD-SEM: sparse-dense correspondence for 3D reconstruction of microscopic samples, *Micron.* 97 (2017) 41-55. doi:10.1016/j.micron.2017.03.009.
- [112] Z. Breijyeh, B. Jubeh, R. Karaman, Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It, *Molecules.* 25(6) (2020) 1-23. doi:10.3390/molecules25061340.

SANTRAUKA

VILNIAUS UNIVERSITETAS CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS

RŪTA STANKEVIČIŪTĖ

Antibakterinio muilo sintezė ir apibūdinimas

Rankų higienos strategija turi didelę reikšmę kontroliuojant infekcijų plitimą. FDA (Food and Drug Administration) yra paskelbusi, jog antiseptiniai rankų plovimo produktai geba mažinti bakterines infekcijas lyginant su ne antibakteriniais. Tokie muilai nuo žmogaus odos gali pašalinti nuo 65 iki 85 % bakterijų. Pasaulio rinkoje antibakterinių muilų įvairovė yra labai plati ir vis auga, jų sudėtyje randama didelis kiekis skirtingų aktyviųjų ingredientų, kurie taip pat gali turėti ir šalutinių poveikių. Todėl labai svarbu yra gerinti antibakterinių muilų efektyvumą, kurti saugesnius antiseptinius aktyviuosius ingredientus, mažinti mikroorganizmų atsparumą šioms medžiagoms. Spręsti šioms problemoms kaip potencialūs sudedamieji komponentai gali būti metalų jonai, kurie pasižymi antibakterinio aktyvumo savybėmis, kas leidžia juos efektyviai naudoti antibakterinio muilo sintezei. Kaip aktyvieji tokio muilo komponentai tyrimui buvo pasirinkti skirtingais sintezės metodais Fe ir Zn legiruotų β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (TCP), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (CHA) ir $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ (WT) junginiai, kurie dėl metalų jonų integracijos į kristalinės formos kalcio fosfatą (Ca-P) keičia ir junginių tirpumą, stabilumą bei kristališkumą, tokie Ca-P jau geba pasižymėti antimikrobinėmis ir baktericidinėmis savybėmis.

Tyrimo metu buvo susintetinti Fe ir Zn legiruoti Ca-P: bendrojo nusodinimo metodu TCP, zolių-gelių metodu CHA bei tirpinimo-nusodinimo metodu WT junginiai, kurie skirtingomis koncentracijomis (0,1-5 %) buvo dedami į muilą.

XRD, FT-IR bei Raman spektroskopijos analizių rezultatai leido teigti, kad buvo gauti vienfaziai Fe ir Zn pakeisti Ca-P junginiai, po muilinimo reakcijos kietojo muilo mišinio sudėtyje identifikuoti $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa})$, $(\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O})$, $(\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ ir $(\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ junginiai. Mažesnių koncentracijų (0,1-0,5 %) Ca-P antibakterinių muilų difraktogramose stebimi maži fosfatų pėdsakai arba jų išvis nėra, o didesnių koncentracijų (1-5 %) jau yra intensyvesnės atspindžio smailės, priskirtinos Ca-P junginiams.

SEM analizė atskleidė, jog 0,1%-5 % Fe ir Zn legiruotų TCP bei CHA kompozitų paviršiaus morfologijos skiriasi nuo paprasto kietojo muilo, tačiau jų paviršiaus morfologija beveik nepriklauso nuo įvedamo TCP ir CHA kiekio, tuo tarpu 0,1 %-5 % Fe ir Zn legiruotų WT kompozitų paviršiaus morfologija neįdomiai priklauso nuo įvedamo WT kiekio.

Remiantis diskų difuzijos metodo rezultatais, visi Fe ir Zn legiruoti Ca-P muilai pasižymi antibakteriniu aktyvumu. Antibakterinių muilų efektyvumas priklauso tiek nuo dedamos Ca-P koncentracijos, mažiausiai efektyvus 0,1 % muilas, slopinimo zona 6,55 mm, daugiausiai 5 % Ca-P muilo kompozitas, slopinimo zona 9,89 mm; tiek nuo muilo koncentracijos tirpale, mažiausiai jautrus mikroorganizmams 50 mg/ml muilas, slopinimo zona 7,84 mm, daugiausiai jautrus 150 mg/ml koncentracijos Ca-P muilas, slopinimo zona 8,56 mm; tiek nuo bakterijų rūšies, *S. saprophyticus* bakterijų kultūra yra mažiau atspari Ca-P junginiams negu *E. coli* (slopinimo zonos 8,29 bei 8,11 mm). Fe ir Zn legiruotas CHA junginys yra efektyviausias antibakterinio muilo ingredientas.

SUMMARY

VILNIUS UNIVERSITY FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES

RŪTA STANKEVIČIŪTĖ

Synthesis and Characterization of Antibacterial Soap

The hand hygiene strategy is essential for controlling the spread of infections. FDA (Food and Drug Administration) has declared that antiseptic handwashing products are capable of reducing bacterial infections compared to non-antibacterial. Such soaps can remove from 65 to 85 % of bacteria from the skin of a person. On the world market, the variety of antibacterial soaps is very wide and growing, they contain a large amount of different active ingredients, which can also have side effects. Therefore, it is very important to improve the effectiveness of antibacterial soaps, create safer antiseptic active ingredients and reduce the resistance of microorganisms to these substances. For solving these issues metal ions can be used as potential components, which antibacterial activity properties allows them to be used effectively for the synthesis of antibacterial soap. The compounds of Fe and Zn alloyed β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (TCP), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (CHA) and $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ (WT) were selected as the active components of such soap for the study, which, due to the integration of metal ions into the crystalline form of calcium phosphates (Ca-P), also alter the solubility and crystallinity of compounds, such Ca-P are already capable of having antimicrobial and bactericidal properties.

The study synthesized Fe and Zn alloyed Ca-P: total precipitation TCP, sol-gel method CHA and dissolution-precipitation method WT compounds with different concentrations (0,1-5 %) was added to soap.

The results of XRD, FT-IR and Raman spectroscopy analyses suggested that single-phase Fe and Zn alloyed Ca-P compounds were obtained, after saponification reaction in a solid soap mixture was $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa})$, $(\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O})$, $(\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ and $(\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ compounds. Lower concentrations (0,1-0,5 %) Ca-P antibacterial soap diffractograms show little or no traces of phosphates and higher concentrations (1-5 %) there are already more intense reflection peaks attributable to Ca-P compounds.

The SEM analysis revealed that the surface morphology of 0,1-5 % Fe and Zn alloyed TCP and CHA composites is different from ordinary solid soap, but their surface morphology is largely independent of the amount of TCP and CHA introduced, while the morphology of 0,1-5 % Fe and Zn alloyed WT composite surface depends little on the amount of WT introduced.

According to the results the disc diffusion method, all Ca-P soaps alleged with Fe and Zn are characterized by antibacterial activity. The effectiveness of antibacterial soaps depends on concentration of Ca-P added, on the least effective soap of 0,1 % with 6,55 mm inhibition zone, the most effective of 5 % Ca-P soap composites, inhibition zone 9,89 mm; on soap concentration in solution, least susceptible to microorganisms 50 mg/ml soap, inhibition zone 7,84 mm, mainly sensitive Ca-P soap with a concentration of 150 mg/ml, inhibition zone 8,56 mm, finally on the type of bacteria, the *S. saprophyticus* bacteria is less resistant to Ca-P compounds than *E. coli* (inhibition zones 8,29 and 8,11 mm). Fe and Zn alloyed CHA compound is the most effective antibacterial soap ingredient.

PRIEDAI

1 priedas
PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju moksliniam vadovui prof. habil. dr. Aivarui Kareivai už įvairiapusę pagalbą.

Nuoširdžiai dėkoju doc. dr. Ingai Grigoravičiūtei-Puronienei už pagalbą sintetinant vitlokیتą bei atliekant XRD matavimus.

Nuoširdžiai dėkoju asist. prof. dr. Živilei Stankevičiūtei už pagalbą sintetinant hidroksiapatitą bei atliekant FT-IR matavimus.

Nuoširdžiai dėkoju Laurynai Sinušaitei už pagalbą sintetinant beta-trikalčio fosfatą.

Nuoširdžiai dėkoju Agnei Kizalaitei už pagalbą atliekant Raman spektrometrijos matavimus.

Nuoširdžiai dėkoju Andriui Pakalniškiui už atliktus SEM matavimus.

Nuoširdžiai dėkoju prof. habil. dr. Lilijai Kalėdienei už leidimą naudotis Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Mikrobiologijos ir biotechnologijos katedros įranga bei pagalbą atliekant antibakterinius tyrimus.

Nuoširdžiai dėkoju visiems Vilniaus universiteto Chemijos ir Geomokslų fakulteto Neorganinės chemijos katedros „zolių-gelių“ chemijos mokslinės grupės kolegoms už pagalbą ir patarimus.