

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



**Příprava kompozitních materiálů s nanočásticemi
stříbra za využití reaktivních polymerů**

Bakalářská práce

Vypracovala:

Zdeňka Šinclová

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2014 / 2015

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Zdeňka Šinclová
Název práce:	Příprava kompozitních materiálů s nanočásticemi stříbra za využití reaktivních polymerů
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
Rok obhajoby práce:	2015
Abstrakt:	<p>Cílem této bakalářské práce byla příprava nanokompozitů, které obsahovaly nanočástice stříbra zakotvené na vermikulitu, jehož povrch byl modifikován reakčními polymery, a to polyethyleniminem a poly(diallyldimethylammonium) chloridem. Množství zachyceného stříbra bylo určeno metodou atomové absorpční spektroskopie. Velikost nanočástic byla zjišťována ze snímků provedených pomocí transmisního elektronového mikroskopu a k další charakterizaci nanokompozitních materiálů byly využity snímky vyhotovené pomocí skenovacího elektronového mikroskopu. U připravených nanokompozitních materiálů byla testována jejich antibakteriální aktivita.</p>
Klíčová slova:	nanočástice stříbra, nanokompozit, vermikulit, antibakteriální aktivita, PEI, PDDA
Počet stran:	44
Počet příloh:	0
Jazyk:	čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Zdeňka Šinclová

Title: Preparation on composite materials containing silver nanoparticles using reactive polymers

Department: Department of Physical Chemistry

Type of thesis: Bachelor

Supervisor: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

The year of presentation: 2015

Abstract: The aim of this bachelor thesis was the preparation of nanocomposites, which contained silver nanoparticles enshrined on vermiculite, whose surface was modified by reactive polymers, namely polyethylenimine and poly(diallyldimethylammonium) chloride. Quantity of enshrined silver was determined by atomic absorption spectroscopy. The size of the particles was determined from made by transmission electron microscope and further characterization of nanocomposite materials was used scanning electron microscope. The prepared nanocomposites were tested for their antibacterial activity.

Keywords: silver nanoparticles, nanocomposite, vermiculite, antibacterial activity, PEI, PDDA

Number of pages: 44

Number of appendices: 0

Language: Czech

Prohlašuji, že jsem celou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Libora Kvítka, CSc. a uvedla jsem veškeré použité materiály a literaturu.

Práce byla vypracována na Katedře fyzikální chemie PřF Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne.....

.....

Zdeňka Šinclová

Poděkování

Za vedení práce bych chtěla poděkovat panu doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. Dále bych chtěla poděkovat paní Mgr. Martině Karlíkové, za velkou pomoc při přípravě nanokompozitů a všech testováních. Za její trpělivost a rady při sepisování práce a opatření vermikulitu Další poděkování patří panu doc. RNDr. Aleši Panáčkovi, Ph.D. za pořízení TEM snímků připravených nanokompozitů, paní Mgr. Janě Stránské za SEM snímky, paní Mgr. Renatě Večeřové za provedení testů antibakteriální aktivity připravených nanokompozitů a Mgr. Anně Balzerové za pomoc při stanovování množství stříbra ve vzorcích na AAS.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat za ochotu paní laborantce Karle Slavičkové.

Obsah

Úvod	8
1. Disperzní soustavy	10
1.1. Koloidní disperze	10
1.2. Kinetické vlastnosti koloidních soustav	11
1.2.1. <i>Brownův pohyb</i>	11
1.2.2. <i>Sedimentace</i>	12
1.3. Optické vlastnosti koloidních soustav	13
1.3.1. <i>Rozptyl světla</i>	13
1.3.2. <i>Absorpce záření</i>	14
1.4. Elektrické vlastnosti koloidních soustav	14
1.4.1. <i>Elektrická dvojvrstva</i>	14
2. Jílové minerály	16
2.1. Vermikulity	17
2.1.1. <i>Pravé vermikulity</i>	18
3. Vlastnosti, využití a příprava nanočástic stříbra	20
4. Nanokompozitní materiály	23
4.1. Nanokompozitní materiály obsahující nanočástice stříbra	23
5. Použité chemikálie	27
6. Přístroje a zařízení	28
7. Pracovní postup	29
7.1. Příprava vodné disperze nanočástic stříbra	29
7.2. Příprava nanokompozitu Ag – VER	29
7.3. Příprava nanokompozitu Ag – PDDA – VER	29
7.4. Příprava nanokompozitu Ag – PEI – VER	30
7.5. Úprava vzorků pro stanovení obsahu Ag pomocí AAS	30
8. Výsledky	31

8.1.	Charakterizace připravených nanokompozitních materiálů	31
8.1.1.	<i>Metoda atomové absorpční spektroskopie</i>	31
8.1.2.	<i>Elektronová mikroskopie připravených nanokompozitních materiálů</i> 31	
8.2.	Studium antibakteriální aktivity nanokompozitů stříbra	37
9.	Diskuze výsledků	39
10.	Závěr	41
11.	Summary	42
12.	Použitá literatura	43

Úvod

Jako nanotechnologie je nazýván vědní obor zabývající se vytvářením a využíváním struktur, které obsahují částice o velikosti v rozmezí od 1 nm do 100 nm, tzv. nanočástice. Tato oblast vědy se v poslední době rychle a intenzivně rozvíjí, především díky unikátním fyzikálním, chemickým a biologickým vlastnostem, které nanočástice v porovnání s týmiž makroskopickými objekty nabízejí. V dnešní době mají nanotechnologie široké uplatnění v řadě oborů jako jsou zdravotnictví, kosmetika, strojírenství, stavebnictví, elektronika, textilní a například automobilní průmysl.

Nanokompozitní materiály jsou často využívány právě pro svoje vynikající vlastnosti, kterých není možné dosáhnout pouze sečtením všech vlastností jednotlivých složek nanokompozitu [1]. Velká pozornost je upírána především k nanokompozitním materiálům obsahující nanočástice stříbra, a to zejména pro jejich výslednou antibakteriální aktivitu, danou přítomností nanočástic Ag [2]. Jako nosiče nanočástic jsou velmi často užívány jílové minerály [3], křemelina nebo organické polymery [4].

Cílem této bakalářské práce bylo studium přípravy a charakterizace nanokompozitních materiálů obsahujících nanočástice stříbra ukotvené na jílovém minerálu vermikulitu. Byl studován vliv reaktivních polymerů, konkrétně polyethyleniminu a poly(diallyldimethylammonium) chloridu na vlastnosti a antibakteriální aktivitu připravených nanokompozitů.

Teoretická část

1. Disperzní soustavy

Disperzní soustavy jsou vícesložkové soustavy, které jsou složeny z disperzního prostředí a v něm rovnoměrně, jemně rozptýlené disperzní fáze (disperzního podílu) [5]. Až na výjimky představují disperzní prostředí a disperzní fáze dvě chemicky odlišné složky nebo směsi složek [6].

Dle počtu fází, je možné rozdělit disperzní soustavy na dva základní typy. Pokud obsahuje disperzní soustava dvě fáze, přičemž jedna tvoří disperzní prostředí a druhá disperzní fázi, potom jde o heterogenní (nestejnorodou) soustavu. V těchto soustavách existuje fázové rozhraní, což je určitá hranice mezi částicemi dispergované fáze a prostředím, ve kterém se nachází. Částice heterogenní soustavy je možné pozorovat optickým nebo elektronovým mikroskopem.

Pokud obsahuje disperzní soustava dvě složky, ale jen jednu fázi, potom jde o soustavu homogenní (stejnorodou). V takovéto soustavě je disperzní fáze tak jemně rozptýlena v disperzním prostředí, že není možné uvažovat fázové rozhraní mezi částicemi a jejich disperzním prostředím. Částice homogenní soustavy nelze opticky rozpoznat [7].

Rozeř disperzních částic charakterizuje jemnost, s jakou je disperzní fáze dispergována (rozptýlena) v prostředí. Často je vyjadřován stupněm disperzity, což je převrácená hodnota lineárního rozměru částice. Systém obsahující pouze částice stejné velikosti je označován jako monodisperzní. Polydisperzním systémem je chápán takový systém, který obsahuje velikostně nestejnorodé částice.

Podle stupně disperzity je možné dělit disperzní soustavy na analytické disperze (pravé roztoky nízkomolekulárních látek), koloidní disperze (roztoky makromolekulárních sloučenin, micelární koloidní roztoky, lyofobní soli) a hrubé disperze (dým, pěny, prach, suspenze, emulze) [6]. Hrubé disperze je možné dále dělit podle velikosti částic na makrodisperzní a mikrodisperzní. Mezi jednotlivými typy disperzních soustav neexistují přesné hranice [7].

1.1. Koloidní disperze

Koloidní disperze jsou mikroheterogenní soustavy. Jde o pravé roztoky vysokomolekulárních látek a nanodisperze nebo mikrodisperze dalších látek. Mají mezi disperzní fází a disperzním prostředím velkou plochu fázového rozhraní ve srovnání

s vlastním objemem rozptýlené disperzní fáze. Velikost dispergovaných částic se pohybuje v rozmezí od 10^{-9} m do 10^{-6} m [7]. Díky velkému povrchu disperzní fáze se více projevují povrchové jevy, jako je adsorpce a povrchový náboj [5].

Koloidní disperze je možné filtrovat přes ultrafiltry. Pomalu difundují a mají malý osmotický tlak. Koloidní disperze lze rozdělit podle skupenského stavu disperzní fáze a disperzního prostředí [7].

Tabulka 1.1: Klasifikace koloidních soustav podle fázového složení [7]

Disperzní prostředí	Disperzní fáze	Označení koloidní disperze
plynné	plynná	netvoří koloid
	kapalná	aerosol
	pevná	aerosol
kapalné	plynná	pěna
	kapalná	emulze
	pevná	lyosol
pevné	plynná	tuhá pěna
	kapalná	tuhá emulze
	pevná	tuhá sůl

1.2. Kinetické vlastnosti koloidních soustav

1.2.1. Brownův pohyb

Jde o neustálý, neuspořádaný pohyb částic disperzní fáze způsobený nárazem molekul disperzního prostředí. Tento pohyb se skládá z krátkých, přímočarých drah. Na každou částici koloidního roztoku působí přitažlivá gravitační síla, proti které působí vztlak disperzního prostředí, který je ovlivněn hustotou disperzního prostředí a hustotou částic. Dále proti gravitační síle působí osmotické síly snažící se o rovnoměrné rozprostření částic v roztoku [8]. Čím jsou částice menší a teplota vyšší, tím je Brownův pohyb intenzivnější. Tento pohyb má velký vliv na stabilitu koloidních soustav [7].

Projevem Brownova pohybu je difúze. Jde o pohyb částic po koncentračním spádu s cílem vyrovnání chemických potenciálů difundující látky v různých částech soustavy. Difúze je zapříčiněná rozdílem chemických potenciálů difundující látky v různých místech soustavy. I. Fickův zákon popisuje přestup hmoty ve směru difúze:

$$\frac{dn}{dt} = -SD \frac{dc}{dx} \quad (1.1)$$

kde $\frac{dn}{dt}$ vyjadřuje látkové množství difundující látky v čase, S je plocha kolmá na směr difúze, D je difuzní koeficient m^2s^{-1} a $\frac{dc}{dx}$ vyjadřuje koncentrační gradient. I. Fickův zákon platí pouze v případě, že se nejedná o stacionární fázi, tzn. že $\frac{dc}{dx} \neq f(t)$ [7].

Einsteinova rovnice vyjadřující vztah mezi difuzním koeficientem, koeficientem tření a absolutní teplotou:

$$D = \frac{k_B T}{B} \quad (1.2)$$

kde T vyjadřuje termodynamickou teplotu a k_B Boltzmanovu konstantu. B je koeficient tření, který je pro sféricky symetrickou částici o poloměru r popsán Stokesovou rovnicí:

$$B = 6\pi\eta r \quad (1.3)$$

kde η vyjadřuje viskozitu prostředí. Vzdálenost, kterou částice v daném čase urazí se nazývá střední posuv částice a je popsána Einstein – Stokesovou rovnicí, která je spojením vztahu (1.3) a (1.2), pomocí níž je možné vypočítat poloměr dispergovaných částic [7]:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad (1.4)$$

1.2.2. Sedimentace

Při sedimentaci v gravitačním poli dochází k separaci fází vlivem působení gravitační síly na částice, a také k rovnovážnému rozdělení částic podle jejich velikosti. Částice se pohybují po směru působící gravitační síly, která je součinem hmotnosti částice a gravitačního zrychlení. V každém prostředí navíc působí proti gravitační síle síla viskózního odporu, která je součinem koeficientu tření částic a viskozity disperzního prostředí a poslední silou působící proti síle gravitační je síla vztlaková. V reálné polydisperzní soustavě, kde nejsou všechny částice stejně velké se každá částice pohybuje jinou rychlostí a tudíž sedimentují nezávisle na sobě [9]. Proti

sedimentačnímu toku působí difúzní tok. Po čase v systému dojde k vyrovnání rychlosti sedimentace i difúze a v soustavě se tak ustaví sedimentační rovnováha [5].

Hodnotu rovnovážné rychlosti sedimentace částice pod vlivem gravitačního pole lze vyjádřit:

$$v = \frac{2r^2(\rho - \rho_0)g}{9\eta} \quad (1.5)$$

kde ρ vyjadřuje hustotu dispergovaných částic, ρ_0 hustotu disperzního prostředí, g je gravitační zrychlení, r popisuje velikost částic a η viskozitu prostředí [7].

1.3. Optické vlastnosti koloidních soustav

1.3.1. Rozptyl světla

Pro koloidní roztoky je typické, že se tenké vrstvy jeví v procházejícím světle jako homogenní a v širších vrstvách je pozorován zákal, který je způsoben lomem a odrazem světla od jednotlivých koloidních částic. Světlo se láme, odráží a dále se difúzně rozptyluje a polarizuje [8]. V nesterodném prostředí dochází k difrakci světla na mikroheterogenních složkách prostředí a to vede k Tyndallovu jevu [9], což znamená, že se paprsek při vstupu do mikroheterogenního prostředí začne rozšiřovat – vytvářet kužel, který má vrchol v místě vstupu do nehomogenního prostředí [8]. Díky elektromagnetickému poli dopadajícího záření se v částici indukuje elektrický dipól, který emituje záření o shodné vlnové délce, jako mělo dopadající záření. K tomu se ještě odražené záření částečně polarizuje. Díky rozptylu záření dochází ke snížení intenzity dopadajícího světla ve směru pozorování. Rozptyl světla se tím zvyšuje, čím jsou větší koloidní částice, a čím je kratší vlnová délka dopadajícího záření [7].

Pro intenzitu rozptylu světla částicí platí Rayleighova rovnice:

$$\left(\frac{I}{I_0}\right) = \frac{1}{r^2} \left[\frac{16\pi^4 R^6}{2\lambda^4} \cdot \left(\frac{n_{rel}^2 - 1}{n_{rel}^2 + 2}\right)^2 (1 + \cos^2 \varphi) \right] \quad (1.6)$$

kde I představuje intenzitu rozptýleného záření, I_0 intenzitu dopadajícího záření, r vzdálenost rozptylující částice od detektoru, λ vlnovou délku dopadajícího záření, R poloměr rozptylující částice n_{rel} relativní index lomu prostředí a φ úhel rozptýleného záření a primárního paprsku [7].

Pro celkovou intenzitu rozptylu záření, tzv. turbiditu potom platí:

$$\tau = \left(\frac{I}{I_0}\right) = \frac{24\pi^3}{\lambda^4} \left(\frac{n^2-1}{n^2+2}\right) v^2 c \quad (1.7)$$

kde c představuje koncentraci částic v systému a v objem částic disperzní fáze [7].

1.3.2. Absorpce záření

Jde o pohlcování energetických kvant elektromagnetického záření a následnou změnu energetických stavů vazebných a valenčních elektronů. Absorpce záření vede ke zvýšení vnitřní energie částic, a ta je následně přeměněna na tepelnou energii [7].

Pro popis absorpce světla látkou A slouží Lambert – Beerův zákon:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon c d \quad (1.8)$$

kde I představuje intenzitu záření prošlého látkou, I_0 intenzitu záření dopadajícího na látku, ϵ absorpční koeficient, c koncentraci látky a d tloušťku vrstvy, kterou paprsek prochází [7].

Kvůli závislosti absorpce světla na velikosti částic disperzní fáze je Lambert – Beerův zákon u koloidních soustav komplikován [7].

1.4. Elektrické vlastnosti koloidních soustav

Na fázovém rozhraní disperzního prostředí a disperzní fáze vzniká elektrický náboj, který utváří elektrické pole, v jehož těsné blízkosti se seskupují opačně nabitě ionty a vzniká tak elektrická dvojvrstva. Na rozhraní disperzního prostředí a nabitého povrchu se ustavuje rozdíl elektrických potenciálů [7].

1.4.1. Elektrická dvojvrstva

Jako první představil teorii elektrické dvojvrstvy Helmholtz, který ji popsal jako dvě rovnoběžné desky nabitého kondenzátoru, oddělené disperzním prostředím. První deska je podle jeho představy tvořena ionty fixovanými na povrchu částice, přičemž druhá deska je složena z protiiontů, které jsou obsaženy v disperzním prostředí. Díky takto uspořádaným nábojům vzniká na fázovém rozhraní rozdíl elektrických potenciálů [9]. Tato teorie elektrické dvojvrstvy byla doplněna Gouyem a Chapmanem, kteří zohlednili příspěvek difúze. K vrstvě iontů pevně fixovaných na povrchu částice je tak vázána jen část protiiontů z kapalné fáze. Zbylé protiionty jsou umístěny v difúzní

vrstvě dále od povrchu částice. Teorie Goüyho a Chapmana ovšem nepočítala se skutečnými rozměry iontů, o tuto skutečnost obohatil výklad Stern. Ten dále rozdělil ionty podílející se na tvorbě elektrické dvojvrstvy do tzv. Sternovy vrstvy (vnitřní), tvořené ionty vázajícími se k povrchu částice převážně adsorpčními silami a vrstvy difúzní, nalézající se ve větší vzdálenosti od částice a vázající se k ní převážně elektrostatickými interakcemi. Vnitřní – pohyblivou a vnější – nepohyblivou vrstvu rozděluje pohybové rozhraní. A právě na fázovém rozhraní existuje potenciál, který je zodpovědný za to, že částice interaguje s vnějším elektrickým polem. Tento potenciál je nazývaný ζ - potenciál neboli elektrokinetický potenciál. Výsledné znaménko hodnoty ζ - potenciálu určuje specifická iontová adsorpce. Jeho velikost ovlivňují jak adsorbované ionty, tak iontová síla roztoku. Pokud dojde k přechodu opačně nabitých iontů z difúzní vrstvy blíže k vnitřní vrstvě elektrické dvojvrstvy (což je způsobeno rostoucí koncentrací elektrolytu) zmenší se právě difúzní vrstva, což má za následek snížení ζ - potenciálu a destabilizaci koloidních částic [7].

2. Jílové minerály

Jílové minerály patří k nejrozšířenějším minerálům zemské kůry. Tyto minerály patří mezi přírodní nanomateriály, jejichž strukturu je možné modifikovat a dále technologicky využívat. V jílech jsou obsaženy zejména fylosilikáty, což jsou silikáty, které mají vrstevnatou strukturu, dále mohou jíly obsahovat jiné minerály a organické hmoty, které mohou mít vliv na vlastnosti jílu. Mohou to být například minerály skupiny alofánu, živce, zeolity, karbonáty, krystalické a nekystalické modifikace oxidu křemičitého, dále oxidy a hydroxidy železa a hliníku.

Podle nomenklaturní komise AIPEA (Association Internationale Pour l'Étude des Argiles) a CMS (Clay Minerals Society) je jíl vymezen jako přírodní směsný materiál, který je primárně složený z jemně zrnitých minerálů, je plastický při přiměřeném obsahu vody a po vypálení nebo vysušení ztvrdne.

Strukturu fylosilikátů tvoří zejména tetraedry, u kterých je centrálním kationtem nejčastěji Si^{4+} a oktaedry, kde jako centrální kationty mohou vystupovat Al^{3+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Li^+ . Jako ligandy vystupují ve fylosilikátech O^{2-} , OH^- a F^- . S postupem času bylo zjištěno, že tyto tetraedry a oktaedry nejsou ve fylosilikátech pravidelné, ale deformované. Ve fylosilikátových strukturách se míra deformace tetraedrů odráží ve velikosti meziatomární vzdálenosti a ve velikosti vazebného úhlu kyslík – tetraedrický kation – kyslík. U oktaedrů se míra deformace dá posuzovat stejným způsobem, ale v poslední době se využívá hodnocení pomocí úhlů zploštění a prototočení. Úhel prototočení popisuje prototočení spodní trojice aniontů vzhledem k horní trojici v pohledu proti ose c^* .

Pro úhel zploštění platí výpočet:

$$\psi = \arccos \left(\frac{t_{\text{oct}}}{2\bar{d}(\text{M}-\text{A})_{\text{obs}}} \right) \quad (2.1)$$

kde t_{oct} vyjadřuje výšku oktaedru ležícího na ploše a $\bar{d}(\text{M}-\text{A})_{\text{obs}}$ je průměrná vazebná délka [10].

Planární fylosilikáty obsahují sítě oktaedrů a spojitě dvojrozměrné sítě tetraedrů, přičemž tetraedry jsou spojeny třemi vrcholy a čtvrtý směřuje kolmo na tuto rovinu. Sítě oktaedrů a tetraedrů jsou spolu spojeny rovinou tetraedrických kyslíků. Tímto způsobem dochází ke vzniku vrstev. Zároveň dochází ke spojení dvou tetraedrických

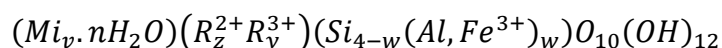
sítí přes bazální kyslíky sítí, nebo může nastat situace, kdy je přes společnou rovinu kyslíkových atomů spojena oktaedrická síť s tetraedrickou. V tomto druhém případě rozlišujeme dva typy vrstev.

Prvním typem jsou vrstvy 1:1, kdy je spojena jedna oktaedrická a jedna tetraedrická síť sdílením jedné roviny kyslíkových atomů, přičemž tyto sdílené kyslíkové atomy tetraedrů vytváří rovinu bazálních kyslíků. Druhým typem jsou vrstvy 2:1, kdy je spojena jedna oktaedrická a dvě tetraedrické sítě, které mají opačnou polaritu. Tyto sítě vzájemně sdílejí dvě roviny kyslíkových atomů, přičemž nesdílené kyslíkové atomy tetraedrů tvoří dvě roviny bazálních kyslíků. Oktaedrické a tetraedrické sítě mohou být spojeny pomocí vodíkových vazeb. Tyto vazby vznikají mezi bazálními kyslíky v tetraedrické síti a rovinou aniontů OH⁻ v oktaedrické síti. Při spojování jednotlivých sítí může docházet k různým posunům či ke změnám orientace jedné sítě vůči druhé, a tak je možné vybudovat při kladení sítí velký počet periodických, ale i neperiodických struktur. Tomuto jevu se říká polytypismus.

Základní stavební jednotkou fylosilikátu je jedna vrstva a mezivrstvi, čím se rozumí prostor mezi dvěma vrstvami. Tato základní jednotka představuje jeho úplné složení. Aby byla vrstva elektroneutrální, musí být celkový záporný náboj aniontů kompenzován celkovým kladným nábojem kationtů [10].

2.1. Vermikulity

Vermikulity se v přírodě často vyskytují ve formě šupinkových agregátů. Jejich krystalová struktura je vytvořena z vrstev 2:1 a v mezivrstevním prostoru se nachází hydratované výměnné kationty. Hlavním mezivrstevním výměnným kationtem v oktaedrech je hořčík, ten je ale snadno měnitelný. Podle něj jsou vermikulity popisovány předponou, která charakterizuje mezivrstevní kation. Mg²⁺ v oktaedrech je nejčastěji nahrazován Ni²⁺ nebo Fe²⁺. V tetraedrech je hlavním výměnným kationtem Si⁴⁺, který může být zaměňován Al³⁺. Obecným krystalochemickým vzorcem lze vyjádřit chemické složení vermikulitů:

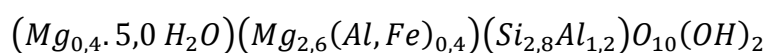


kde Mi vyjadřuje mezivrstevní vyměnitelné kationty, kterými je vyrovnáván náboj vrstvy 2:1, který je u vermikulitů v rozmezí od 0,6 do 0,9 [10].

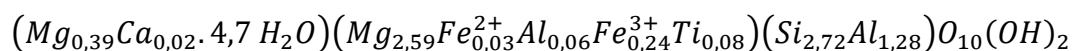
2.1.1. Pravé vermikulity

K pravým vermikulitům jsou přiřazovány jejich přírodní formy, které mohou vznikat alternací hořečnatých chloritů. Tato alternace je způsobena postupnou degradací původně trioktaedrické sítě ve vhodném zvětrávacím prostředí až na monoktaedrickou síť, přičemž vznikají hydratační obaly zbývajících mezivrstevních kationtů. Tento dlouhodobý přírodní proces přeměny probíhá přes stádium smíšených struktur vermikulit/chlorit. Dalším způsobem vzniku pravých vermikulitů je nahrazení mezivrstevního K^+ v biotitu nebo flogopitu především Mg^{2+} za vzniku Mg-vermikulitu, přičemž současně dojde ke vzniku hydratačních obalů mezivrstevních kationtů. K této alternaci dochází během procesu zvětrávání a častokrát probíhá přes stádium smíšených struktur vermikulit/biotit či vermikulit/flogopit [10].

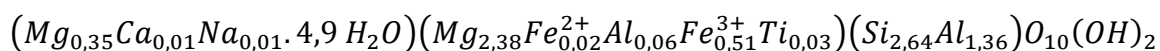
Následující vzorec popisuje chemické složení pravých vermikulitů (Mg-vermikulitů) v ideálním případě [6]:



Mezi pravé vermikulity jsou řazeny vermikulity z lokality Santa Olalla (Španělsko), které vznikly alternací flogopitů. Jejich krystalochemické složení popisuje následující vzorec [10]:



Dále se k pravým vermikulitům řadí vermikulity z lokality Letovice (Česká republika), které vznikly alternací hořečnatých chloritů. Jejich krystalochemické složení popisuje následující vzorec [10]:

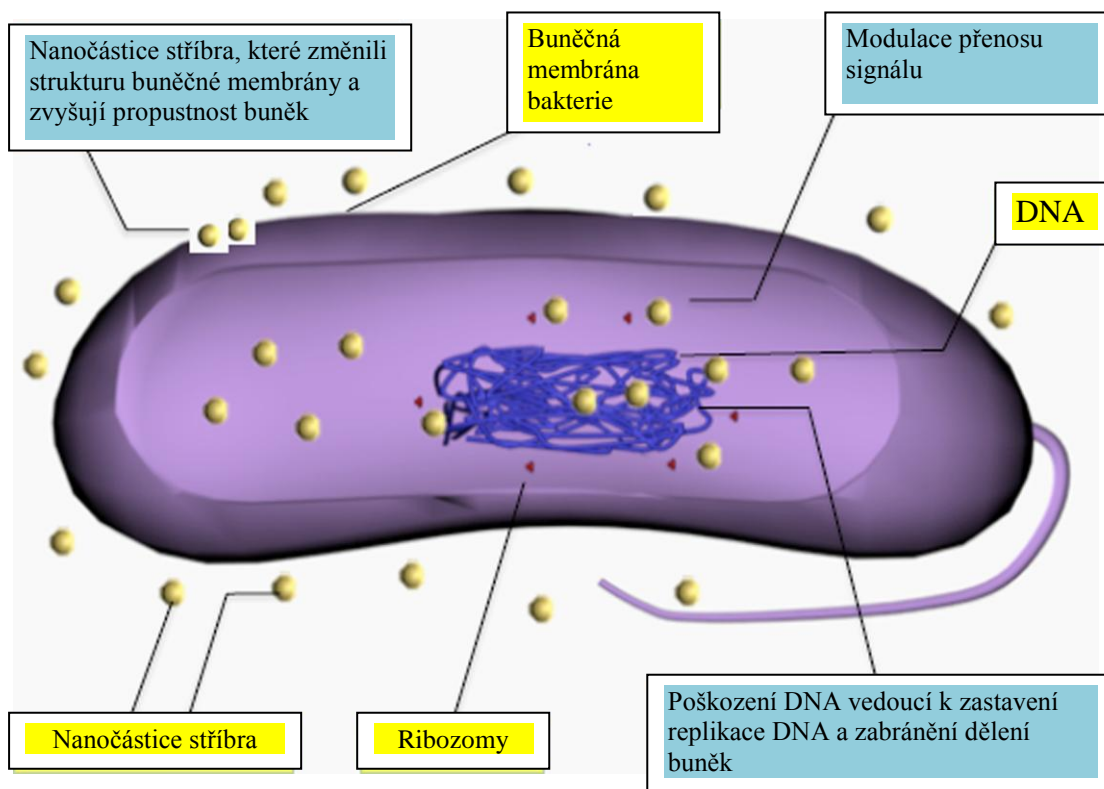


V závislosti na vnějších podmínkách, kterým je vermikulit vystaven je schopen odevzdávat nebo přijímat vodu. Při dehydrataci nebo rehydrataci dochází ke změnám struktury mezivrsteví. Při dehydrataci dochází k postupnému úbytku hmotnosti až do 19,11 % celkové hmotnosti vzorku. Vermikulit je schopen rehydratovat do své původní hmotnosti, pokud nedojde k překročení dehydratační teploty 300 °C. Pokud dojde k jejímu překročení, schopnost rehydratace vermikulitu se snižuje, až k úplné ztrátě této schopnosti, která nastává při teplotě 550 °C. Při zahřátí na teplotu 700 – 900 °C dochází k silné expanzi Mg - vermikulitu a jeho objem se může zvýšit až dvacetinásobně.

Dochází k viditelné exfoliaci šupinek a často k expanzi částic do formy červíkovitých agregátů. Dehydratace Mg-vermikulitu je provázena postupným kolapsem struktury, což je zapříčiněno tím, že dochází k úniku mezivrstevních molekul vody. Čím je vermikulit vystavován vyšším teplotám, tím dochází ke snižování mezivrstevních vzdáleností [10].

3. Vlastnosti, využití a příprava nanočástic stříbra

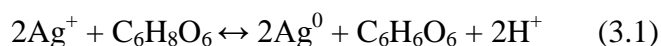
Antibakteriální aktivita stříbra je známa již z dob starověkého Řecka, kdy byl tento kov velmi často využíván zejména k úpravě povrchů nádob, ve kterých byla přechovávána voda. Později se stříbro začalo využívat v lékařství, hlavně k léčbě bakteriálních infekcí, chronických onemocnění, pohlavních nemocí a popálenin. K útlumu jeho využívání ve zdravotnictví došlo po objevu penicilínu a s dalším rozvojem účinných antibiotik. V poslední době se antibakteriální vlastnosti stříbra opět dostávají do popředí zájmu vědců, a to díky vzrůstající rezistenci bakterií vůči antibiotikům, která je zapříčiněna jejich častým a opakovaným užíváním [2][11][12][13]. Ionty stříbra jsou schopny působit buď bakteriostaticky, kdy dochází k zastavení růstu bakterií [12][14][15], či baktericidně (antibakteriálně), kdy jde o úplné zahubení buňky. Kompozity s anorganickými nanočásticemi vykazují jedinečné chemické a fyzikální vlastnosti, čímž se stávají ojedinělým materiálem s širokým využitím. Zejména v biomedicině a farmacii se užívají k léčbě popálenin [2][16]. Nanočástice stříbra a jejich kompozity jsou dále využívány i například v leteckém a kosmickém průmyslu. Slouží jako aditivum povrchových nátěrů, či k desinfekci vody a vzduchu [14][15]. Ač je antibakteriální účinek nanočástic stříbra v poslední době obsáhle studován, přesný mechanismus jeho působení není úplně vysvětlen. Bylo prokázáno, že se stříbrné nanočástice mohou zabudovat do buněčných membrán, kde napáchají značné škody v podobě vzniku „jam“ v buněčných stěnách. Takto poškozené buňky nejsou schopny regulovat přenos látek přes plazmatickou membránu, dochází k nárůstu propustnosti membrány, vedoucí až k buněčné smrti [15]. Bylo také pozorováno, že nanočástice mohou pronikat do buňky bakterie, přičemž inhibují její replikační proces díky interakci s thiolovými skupinami buňky [17].



Obr. 3.1: Antibakteriální mechanismus nanočástic stříbra [17].

Běžně jsou nanočástice stříbra připravovány chemickými syntézami. Nejčastěji používaným chemickým postupem pro přípravu vodné disperze nanočástic stříbra je redukce dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným. Jde o přímou redukci stříbrné soli, přičemž velikost takto připravených nanočástic se pohybuje v rozmezí od 10 do 20 nm [18][19]. Nanočástice stříbra se také mohou připravovat tzv. Lee – Meiselovou metodou, kdy je jako redukční činidlo použit citrátový anion. Při přípravě nanočástic stříbra pomocí této metody je nejprve přiveden k varu vodný roztok dusičnanu stříbrného, do kterého je následně přidán 1% roztok citrátu sodného. Výsledný roztok je poté udržován ve varu po dobu jedné hodiny. Takto připravené nanočástice mají vyšší polydisperzitu než nanočástice vyrobené redukcí tetrahydridoboritanem sodným a jejich velikost se pohybuje v rozmezí od 30 do 120 nm [12]. Další možností přípravy nanočástic stříbra s kontrolovatelnou velikostí je jednoduchá, jednostupňová syntéza založená na modifikaci tzv. Tollensova procesu. Jde o redukci diaminstříbrného komplexu pomocí redukujícího sacharidu, a to buď glukosou, galaktosou, maltosou nebo laktosou, kdy vznikají částice o velikosti pohybující se v rozmezí od 25 až do 450 nm. Velikost vznikajících nanočástic je ovlivněna koncentrací amoniaku a syntéza je tak silně závislá na pH systému. Dále ovlivňuje velikost nanočástic zvolený redukující sacharid. Z pohledu stability a nízké

polydisperzity systému se jako nejvhodnější redukční činidlo ze zmíněné škály sacharidů ukázala být maltóza [2]. Dalším možným způsobem přípravy vodné disperze nanočástic stříbra je redukce iontů stříbra kyselinou askorbovou [15][21]. Kyselina askorbová je schopna vysrážet stříbro podle rovnice [21]:



Tato redukce je prováděna za přítomnosti Daxadu 19, což je sodná sůl naftalensulfonátu a formaldehydu, která se do systému přidává jako stabilizační činidlo. Syntéza je založena na postupném přidávání kyseliny askorbové do roztoku obsahujícího dusičnan stříbrný a stabilizační činidlo. Po ukončení procesu srážení jsou získané nanočástice stříbra znovu dispergovány v deionizované vodě pomocí ultrazvuku [21].

V posledních dvaceti letech se čím dál častěji připravují nanočástice stříbra tzv. zelenou syntézou, neboli biosyntézou, kdy jsou k redukci stříbrných solí využity peptidy, bílkoviny, sacharidy a některé druhy kvasinek, řas, hub, bakterií a rostlin [17][22]. Hlavní výhodou biosyntézy je stabilita takto připravených nanočástic. Nejen, že jsou takto připravené nanočástice velmi stabilní, ale zároveň mohou zůstat stabilní po dlouhou dobu [17]. Během posledního roku byla prokázána antibakteriální a antifungální aktivita nanočástic stříbra, připravených redukcí dusičnanu stříbrného sekrečními proteiny, které byly extrahovány z houby *Bipolaris tetramera*. Takto připravené nanočástice způsobily inhibici růstu patogenních hub, konkrétně *Aspergillus niger* a *Trichoderma* a dále prokázaly antibakteriální aktivitu proti *Bacillus cereus* a *Staphylococcus aureus* [23].

4. Nanokompozitní materiály

Nanokompozity, jsou takové materiály, které jsou složeny z více fází, přičemž alespoň jedna má nejméně jeden rozměr pohybující se v řádech nanometrů. Využití nanokompozitních materiálů není nová myšlenka, již ve starověku byly nanokompozity používány zejména v malířství. Příkladem běžně se vyskytujícího nanokompozitního materiálu jsou například kosti, jde o nanokompozit sestavený z keramických destiček a organických pojiv. V posledních letech, se studium nanokompozitních materiálů velmi rozvíjí. Nanokompozity, jsou významné díky své multifunkčnosti a možnosti realizace jedinečných vlastností, které jsou způsobeny kombinací vlastností jednotlivých složek nanokompozitních materiálů. K hlavním výhodám těchto materiálů patří zlepšení mechanických, elektrických, elektrochemických, optických a katalytických vlastností. K nanokompozitům, které díky aditivům v podobě nanočástic vykazují zvýšenou houževnatost a odolnost patří například: nanočástice W, Mo, Ni, Cu, Co, Fe zakotvené na oxidu hlinitém dále nanočástice Ni, Mo zakotvené na oxidu zirkoničitém, či nanočástice Fe, Co, Ni na oxidu hořečnatém. Mezi další hojně se používající nanokompozity patří materiály na bázi keramika/feromagnetický kov, které mají užití při dálkovém sledování hojení zlomenin [1]. Zabudováním kovových nanočástic do struktur kubického oxidu zirkoničitého, oxidu zinečnatého a oxidu barnato-titaničitého dochází k razantnímu zlepšení pevnosti, tvrdosti a houževnatosti materiálu, který je pak využitelný v extrémních podmínkách [1]. Termicky stabilní materiál, který dokáže odolávat teplotám až 1500 °C je tvořen systémem karbid křemíku/nitrid křemičitý. Takové materiály se využívají pro výrobu plynových turbín, spalovacích systému a katalytických výměníků tepla [1].

4.1. Nanokompozitní materiály obsahující nanočástice stříbra

Jak již bylo uvedeno v kapitole 3., jsou nanočástice stříbra hojně studovány a využívány pro svou antibakteriální aktivitu [12]. Díky této vlastnosti jsou nanočástice také hojně využívány při přípravě nanokompozitních materiálů. Výhodou imobilizace nanočástic Ag na pevném substrátu je taktéž předcházení jejich případné agregaci, mající za následek snížení biologických vlastností [24][25]. Pevným substrátem mohou být jak organické tak anorganické látky, například jílové minerály, křemelina, zeolity [25].

Vhodným substrátem pro přípravu nanokompozitů obsahujících nanočástice stříbra jsou jílové minerály. U těchto materiálů nemusí docházet pouze k pokrytí povrchu nanočásticemi, ale nanočástice mohou, v závislosti na své velikosti, vstupovat i do pórů a mezivzdušných prostor matrice. M. Hundáková a kolektiv připravili nanokompozity obsahující nanočástice stříbra a mědi na vermikulitu dvěma způsoby. Přičemž v prvním způsobu přípravy byl první vzorek připraven přenesením vermikulitu do vodného roztoku AgNO_3 , druhý vzorek přenesením vermikulitu do vodného roztoku $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. V druhém způsobu přípravy byly nejprve připraveny nanokompozity V/Ag a V/Cu, jako při prvním způsobu přípravy. Poté s nimi bylo dále pracováno, a to tak, že nanokompozit V/Ag byl protřepáván s vodným roztokem $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a nanokompozit V/Cu s vodným roztokem AgNO_3 . Bylo zjištěno, že nejvíce stříbra obsahoval nanokompozit V/Ag a nejvíce mědi nanokompozit V/Cu. Snížení obsahu stříbra v nanokompozitu V/Ag – Cu a obsahu mědi v nanokompozitu V/Cu – Ag bylo zapříčiněno způsobem vazání stříbrných a měďnatých kationtů ve vermikulitu a schopností vermikulitu vázat kationty v mezivrstvě. Bylo zjištěno, že jak nanokompozit V/Ag, tak nanokompozit V/Cu vykazují antibakteriální aktivitu proti gram – negativním bakteriím *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*. Proti gram – pozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* prokázal antibakteriální aktivitu nanokompozit V/Cu–Ag a růst gram – pozitivní bakterie *Enterococcus faecalis* inhiboval nanokompozit V/Cu [3].

K dalším způsobům přípravy nanokompozitů obsahujících nanočástice stříbra patří redukce stříbrných iontů na povrchu SiO_2 . Nanokompozity jsou připravovány metodou FSP (Flame Spray Pyrolysis). Tomto případě byl připraven roztok octanu stříbrného ve směsi kyseliny 2 – ethylhexanové a acetonitrilu, poté přidán hexamethyldisiloxan a směs byla po dobu několika minut míchána. Následně byla směs přivedena kapilární tryskou do reaktoru FSP, kde spalováním vznikal nanokompozit Ag/ SiO_2 . Bylo prokázáno, že takto připravený nanokompozit vykazuje vysokou antibakteriální aktivitu, zejména proti *Escherichia coli* [26].

Další možný způsob přípravy nanokompozitů obsahujících nanočástice Ag je generace nanočástic Ag na substrát pomocí reakčních polymerů, jako jsou polyethylenimin (PEI), poly(diallyldimethylammonium) chlorid (PDDA), poly(styren sulfonát) (PSS), polyakrylová kyselina (PAA), polymetakrylová kyselina (PMA), poly(vinyl sulfát) (PVS), či poly(allylamin) (PAH) [27]. Dále pak pro generaci

nanočástic Ag na substrátu je možné využít přírodní polymery jako nukleové kyseliny, DNA, polysacharidy nebo proteiny [27]. A. Panáček a kolektiv připravili nanokompozit křemeliny, obsahující nanočástice Ag zakotvené na substrátu právě přes PDDA. Pro přípravu nanokompozitu Ag/PDDA–křemelina byla použita metoda layer – by- layer, která spočívá v tom, že původně záporný náboj vyskytující se na povrchu křemeliny byl po namáčení v roztoku PDDA změněn na kladný. Nejprve bylo 0,5 g sušeného křemelinového prášku dispergováno ve 150 ml 0,01 % roztoku PDDA a takto upravená křemelina byla po dobu dvou hodin protřepávána, a poté byla řádně promyta, aby došlo k odstranění nadměrného množství PDDA. Křemelinový prášek modifikovaný PDDA byl poté protřepáván dvě hodiny s vodnou disperzí nanočástic stříbra, připravenou modifikovanou Tollensovou metodou, redukcí komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ D-maltózou v alkalickém prostředí (pH 11,5). Velikost nanočástic Ag zakotvených na takto modifikované křemelině se pohybuje kolem 28 nm. U takto připraveného nanokompozitního materiálu byla prokázána vysoká antimikrobiální aktivita jak proti gram – pozitivním, tak proti gram – negativním bakteriím a také proti kvasinkám *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* a *Candida albicans* [28]. H. S. Mohammed a D. A. Shipp ve své práci představili modifikaci povrchu polystyren(glycidylmethakrylátu) (PSGMA) polyethyleniminem (PEI). A to tak že 2 g PSGMA rozpustili ve 30 ml vody a tuto reakční směs podrobili působení ultrazvuku, kvůli usnadnění dispergace. Následně přidali roztok 2 g PEI ve 3 ml vody. Tuto reakční směs nechali 24 hodin promíchávat při pokojové teplotě, následně ji odstředili, promyli a modifikované částice oddělili dialýzou. Takto upravený systém následně modifikovali pomocí nanočástic Ag, kdy jako prekurzor Ag použili dusičnan stříbrný, redukčním činidlem byl roztok tetrahydridoboritanu sodného. Bylo prokázáno, že takto získané nanočástice byly rovnoměrně kulovité a jejich velikost se pohybovala v rozmezí od 460 nm do 560 nm. Připravený nanokompozit byl velmi stabilní a vykazoval antibakteriální vlastnosti [29].

Praktická část

5. Použité chemikálie

K přípravě vodné disperze nanočástic stříbra byly použity tyto chemikálie:

- Dusičnan stříbrný – AgNO_3 (99,9 %, Sigma – Aldrich)
- Amoniak – NH_3 (p. a., 25% (w/w) vodný roztok, Sigma – Aldrich)
- Hydroxid sodný – NaOH (p. a., Penta)
- Monohdrát D(+) - maltózy – $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (p. a., Sigma – Aldrich)

Pro zakotvení nanočástic stříbra byl jako substrát použit:

- Vermikulit - (Brazílie) (dále VER)

Pro tvorbu mezivrstvy modifikující povrch substrátu byly použity následující chemikálie:

- Polyethylenimin – PEI (Mr 800 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, p. a., Sigma - Aldrich)
- Polyethylenimin – PEI (Mr 25000 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, p. a., Sigma - Aldrich)
- Poly(diallyldimethylammonium) chlorid – PDDA (p. a., 20 % vodný roztok, Sigma – Aldrich)

Pro úpravu vzorků v rámci stanovení obsahu stříbra v kompozitech metodou AAS byla použita kyselina dusičná - HNO_3 (p. a., Lach – Ner).

Ke stanovení antimikrobiální aktivity připravených nanokompozitních materiálů byl použit jako kultivační médium Mueller-Hinton bujón (Difco Bedston Dickinson, Francie). Referenčními kmeny bakterií byly: *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* 1, *Staphylococcus epidermidis* 2, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium* (VRE), *Klebsiella pneumoniae* (ESBL).

6. Přístroje a zařízení

Množství zachyceného stříbra na nanokompozitech bylo určeno metodou atomové absorpční spektrometrie na atomovém absorpčním spektrometru Perkin Elmer 3300. Při přípravě vodné disperze nanočástic stříbra a všech nanokompozitů bylo použito míchadlo Heidolph RZR 2051 control a při přípravě nanokompozitů Ag – VER a Ag – PDDA - VER bylo zajištěno protřepávání na třepačce LT2. Díky snímkům z transmisního elektronového mikroskopu JEM 2010 (Jeol, Japan) byla potvrzena přítomnost nanočástic stříbra ve vzorcích a byla určena jejich velikost. Dále byla přítomnost stříbra potvrzena SEM snímky vyhotovenými na skenovacím elektronovém mikroskopu Hitachi SU6600 (Hitachi, Japan).

7. Pracovní postup

Vodná disperze nanočástic stříbra byla připravena redukcí diaminstříbrného komplexu maltózou, přičemž diaminstříbrný komplex byl připraven reakcí dusičnanu stříbrného s amoniakem. Nanokompozitní materiály byly připravovány třemi různými postupy – prostou adsorpcí nanočástic Ag z jejich vodné disperze na povrchu jílu, adsorpcí nanočástic Ag z disperze na povrchu jílu modifikovaného pomocí PDDA a přímou redukcí Ag^+ iontů na povrchu jílu modifikovaného pomocí PEI o relativní molekulové hmotnosti 800 a 25 000. Byl studován vliv polymeru na obsah Ag v kompozitu a jeho celkovou antibakteriální aktivitu.

Pro modifikaci povrchu vermikulitu byly použity roztoky PEI s M_r 800 mol.l^{-1} a 25000 mol.l^{-1} a roztok PDDA o koncentraci 0,1 % (w/w).

7.1.Příprava vodné disperze nanočástic stříbra

K 200 ml vodného roztoku AgNO_3 o koncentraci $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ bylo přidáno 360 ml destilované vody, poté 200 ml $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ vodného roztoku NH_3 a dále 40 ml $0,24 \text{ mol.l}^{-1}$ vodného roztoku NaOH . Nakonec bylo přidáno 200 ml redukčního činidla, kterým byla D(+) – maltóza o koncentraci $5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$. Celý postup byl prováděn za stálého míchání na elektromagnetické míchačce. Výsledný objem disperze byl 1 l a její koncentrace byla 108 mg.l^{-1} . Velikost a polydispersita připravených nanočástic Ag byla změřena metodou pracující na principu dynamického rozptylu světla, metodou DLS. Průměrná velikost připravených nanočástic se pohybovala v rozmezí 28 – 29 nm s velmi úzkou velikostní distribucí.

7.2.Příprava nanokompozitu Ag–VER

Materiál byl připravován prostou adsorpcí nanočástic Ag z jejich vodné disperze na povrchu jílového minerálu. V Erlenmeyerově baňce bylo třepáno 0,5 g jemně nadrceného VER se 150 ml vodné disperze nanočástic Ag. Po dvou hodinách byl modifikovaný materiál zfiltrován, promyt destilovanou vodou a následně sušen v sušičce při $105 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 24 hodin.

7.3.Příprava nanokompozitu Ag–PDDA–VER

0,5 g VER bylo třepáno v Erlenmeyerově baňce se 150 ml 0,1 % (w / w) vodného roztoku PDDA. Po uplynutí dvou hodin byl modifikovaný VER zfiltrován a na filtru důkladně promyt destilovanou vodou tak, aby se odstranily slabě vázané části polymeru.

K takto upravenému VER bylo následně v Erlenmayerově baňce přidáno 150 ml vodné disperze nanočástic Ag o koncentraci 108 mg.l^{-1} . Po dvou hodinách byl materiál zfiltrován, opět důkladně promyt destilovanou vodou a sušen v sušárně při teplotě $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin.

Postup přípravy vycházel z publikace: Panáček, A. a kol. Preparation, characterization and antimicrobial efficiency of Ag/PDDA – diatomite nanocomposite, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 110 (2013) 191– 198

7.4.Příprava nanokompozitu Ag–PEI–VER

Do kádinky o objemu 50 ml bylo napipetováno 25 ml vodného roztoku PEI o koncentraci 6,0 % (w/w). Tento roztok byl zahříván na teplotu $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Do takto vyhřátého roztoku bylo následně přidáno 0,5 g předem rozdrceného VER a tato směs byla po dobu 30 minut udržována za stálého míchání na teplotě $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Poté byl modifikovaný VER zfiltrován, důkladně promyt destilovanou vodou tak, aby byly odstraněny případné slabě vázající se části polymeru. Modifikovaný materiál byl následně kvantitativně převeden do předem vyhřátého roztoku AgNO_3 o koncentraci $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$. Teplota byla udržována na $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Po 30 minutách byl nanokompozitní materiál zfiltrován a opět důkladně propláchnut destilovanou vodou. Výsledný materiál byl sušen při teplotě $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin v sušárně.

7.5.Úprava vzorků pro stanovení obsahu Ag pomocí AAS

Pro stanovení obsahu Ag ve vzorcích byly jednotlivé vzorky mineralizovány ve 20% HNO_3 . Roztoky byly následně centrifugovány tak aby došlo k odstranění nerozpustného pevného podílu kompozitu. Výsledný obsah nanočástic stříbra v mg.l^{-1} byl přepočten na 1 g kompozitu. Stanovení bylo provedeno metodou kalibrační křivky v rozsahu $0,25 - 2,00 \text{ mg Ag.l}^{-1}$.

8. Výsledky

8.1. Charakterizace připravených nanokompozitních materiálů

8.1.1. Metoda atomové absorpční spektroskopie

Množství zachycených nanočástic Ag na vzorcích bylo stanoveno pomocí atomové absorpční spektroskopie (AAS). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 7.1.

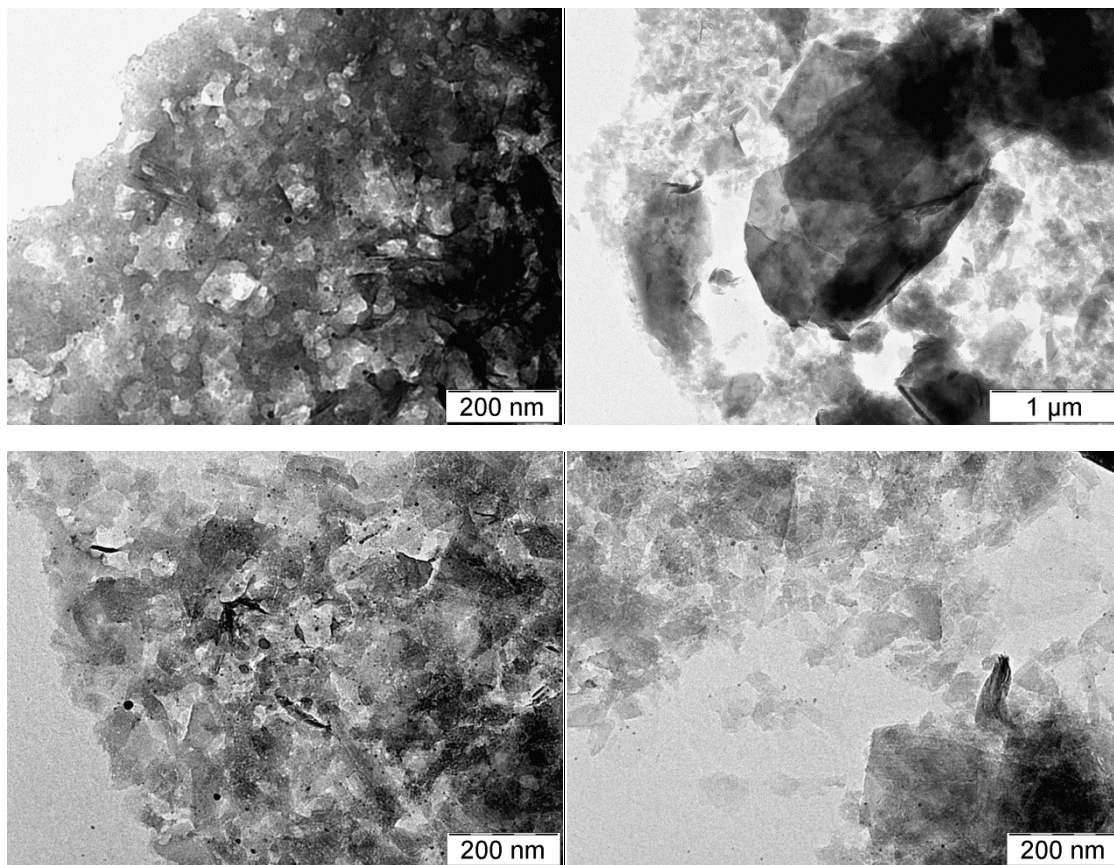
Tabulka 7.1: Stanovené obsahy Ag metodou AAS přepočtené na 1 g nanokompozitu.

Nanokompozit	Obsah stříbra v mg vztažený na 1 g kompozitu
Ag-VER	0,523
Ag-PDDA-VER	30,130
Ag-PEI (25000)-VER	130,750
Ag-PEI (800)-VER	141,800

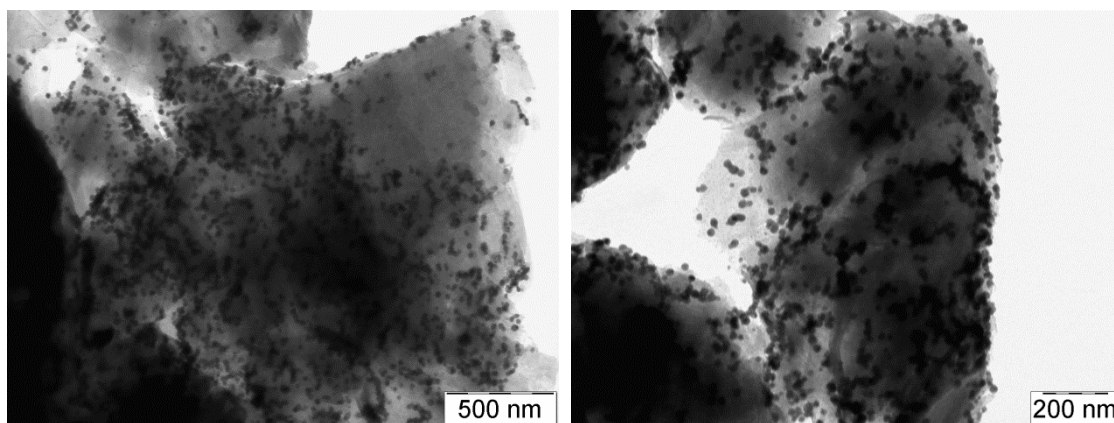
Z tabulky je evidentní rozdíl v obsahu Ag v závislosti na typu jednotlivých nanokompozitů. Nejnižší obsah byl zjištěn v případě kompozitního materiálu typu Ag-VER, připraveného prostou adsorpcí nanočástic Ag z jejich vodné disperze na povrchu jílu, který nebyl upravován žádným polymerem. Takto nízký obsah je velmi pravděpodobně dán repulzí mezi záporně nabitým povrchem nanočástic Ag a taktéž záporně nabitým povrchem vermikulitu. Modifikací povrchu vermikulitu pomocí polymerů PDDA, či PEI lze povrchu jílu udělit kladný náboj. Jak je vidět opět z tabulky 7.1. je v případě modifikace povrchu vermikulitu polymerem PDDA obsah Ag značně vyšší. Ještě razantnější nárůst v obsahu Ag byl pozorován v případě modifikace substrátu pomocí PEI. Obsahy se v těchto případech pohybovaly kolem 130 – 140 mg Ag na 1 g nanokompozitu.

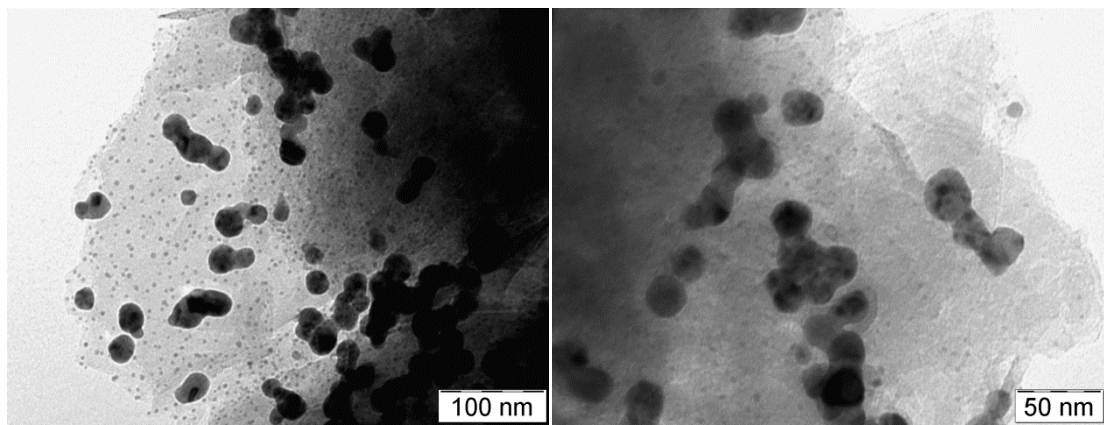
8.1.2. Elektronová mikroskopie připravených nanokompozitních materiálů

Charakterizace připravených nanokompozitních materiálů byla dále provedena pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Snímky kompozitů (obr. 7.1 – 7.4) byly pořízeny doc. RNDr. Alešem Panáčkem, Ph.D.

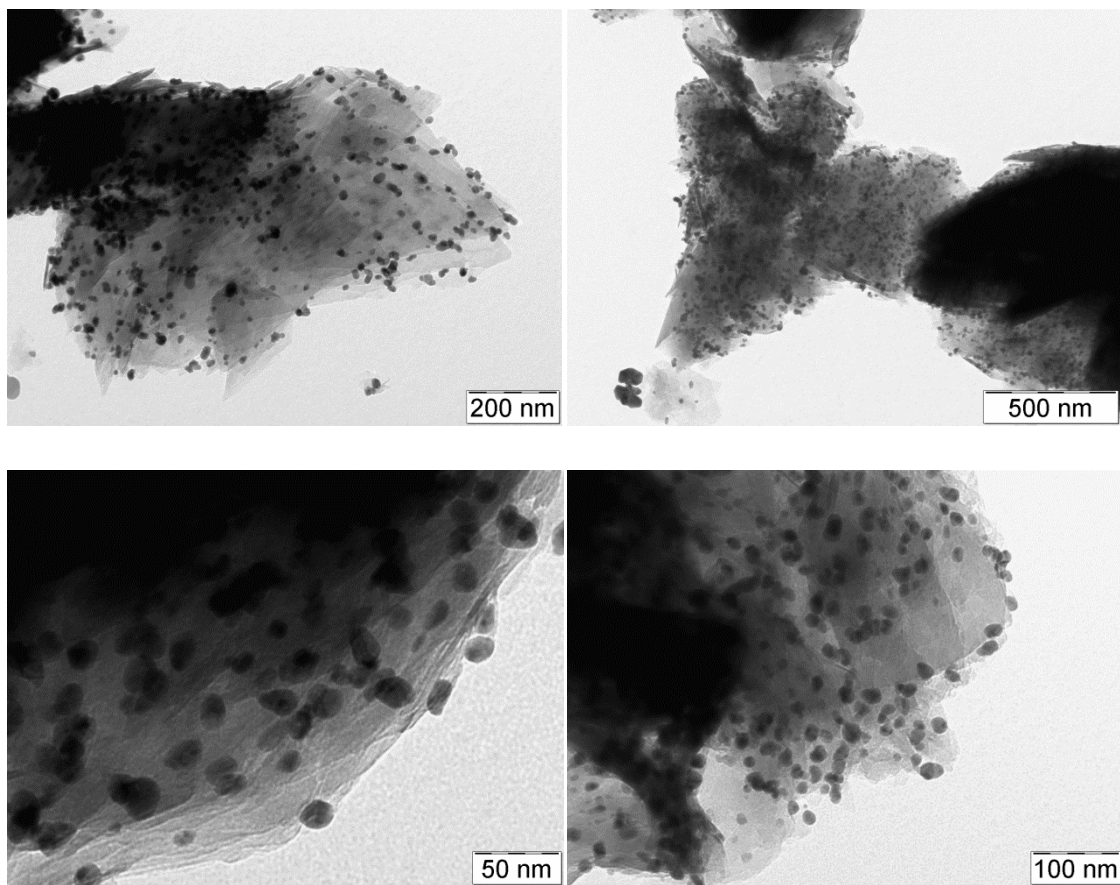


Obr. 7.1: TEM snímek nanokompozitu Ag-VER

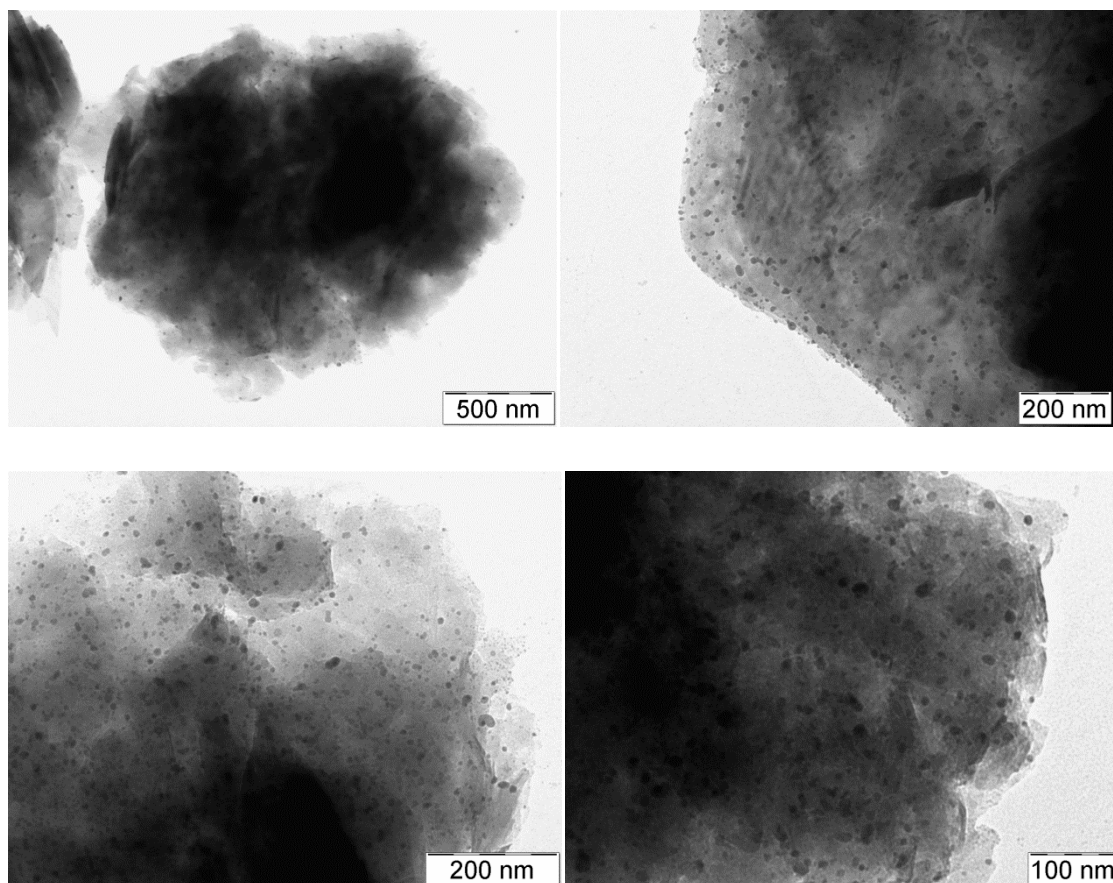




Obr. 7.2: TEM snímky nanokompozitu Ag-PDDA-VER, při různém zvětšení.



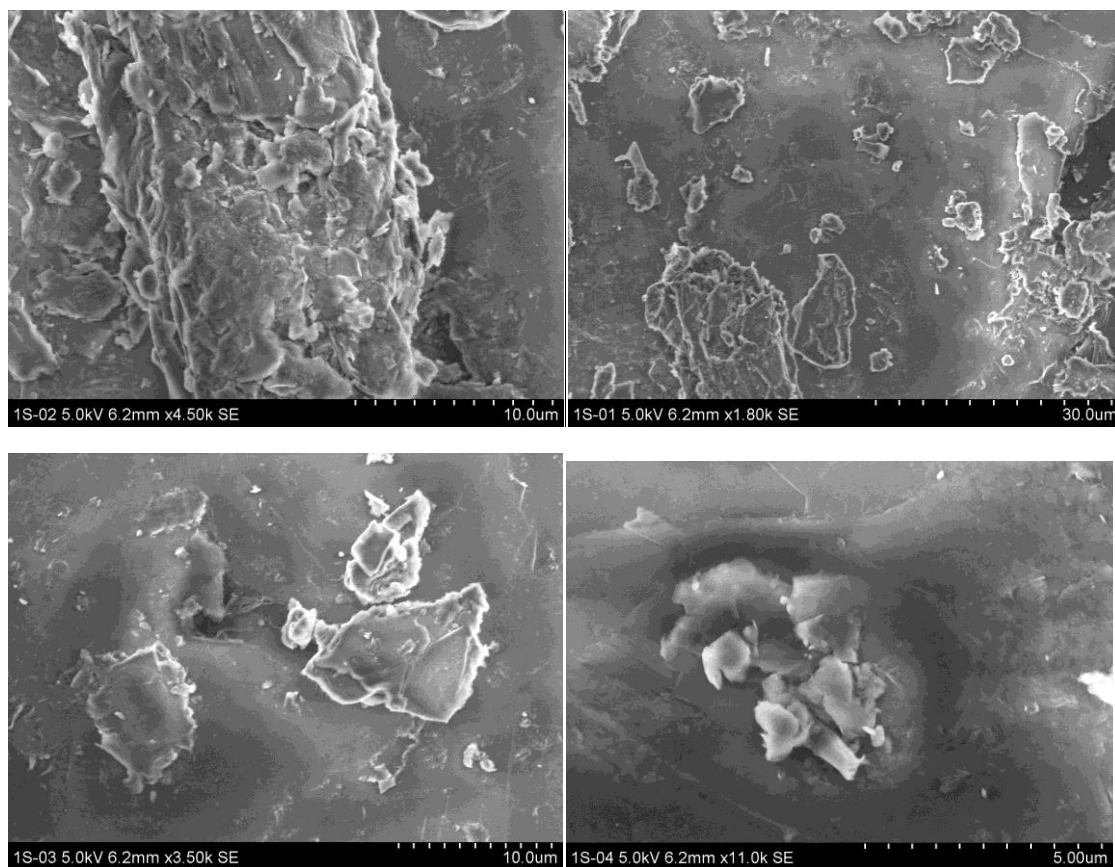
Obr. 7.3: TEM snímky nanokompozitu Ag-PEI (800)-VER, při různém zvětšení.



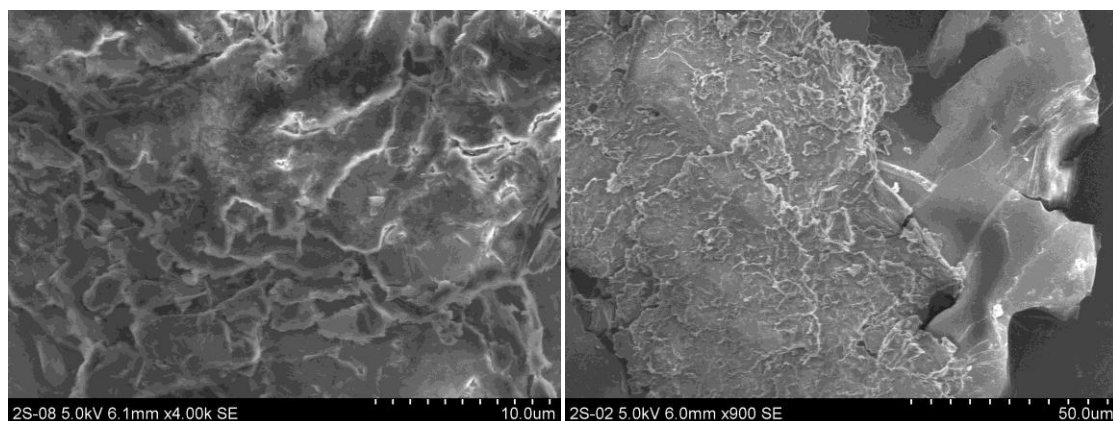
Obr. 7.4: TEM snímky nanokompozitu Ag–PEI (25000)–VER, při různém zvětšení.

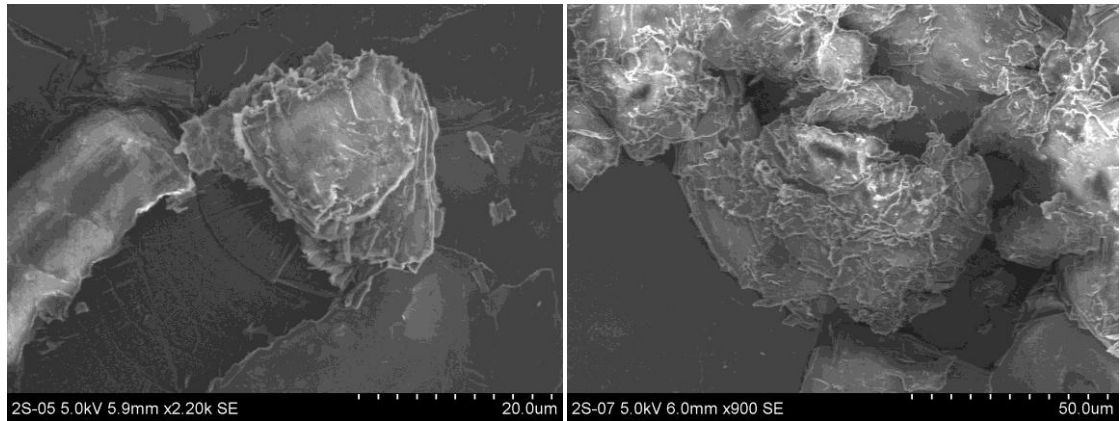
Obrázek 7.1.dokládá nízký obsah zachycených nanočástic Ag, potvrzující výsledky atomové absorpční spektroskopie. Nicméně, je vidět, že částice, které se na povrchu jílu zachytily, neagregují a zachovávají si svou původní velikost přibližně 29 nm. V případě vermikulitu modifikovaného pomocí 0,1% PDDA je vidět značný nárůst v zachyceném množství nanočástic Ag (obrázek 7.2). Měření provedené na AAS dokládá, že došlo k naadsorbování prakticky veškerého množství nanočástic přítomných v disperzi. Ze snímků pořízených při větším zvětšení je také patrná částečná agregace těchto nanočástic za tvorby objektů velikosti přibližně 50 nm. V případě modifikace povrchu materiálu pomocí PEI došlo k vyredukování částic velikosti pohybující se v rozmezí od 25 nm do zhruba 50 nm (obrázek 7.3 a 7.4). Systém tedy, pakliže nebudeme brát v potaz částečně agregované nanočástice v případě kompozitu Ag-PDDA-VER, disponuje značně vyšší polydisperzitou generovaných nanočástic Ag, než v případě kompozitu PDDA-VER

Nanokompozitní materiál připravený s pomocí PEI o M_r 800 mol.l^{-1} byl dále charakterizován metodou skenovací elektronové mikroskopie (obr. 7.5 – 7.9). Snímky kompozitů (obr. 7.5 – 7.9) byly pořízeny Mgr. Janou Stránskou.

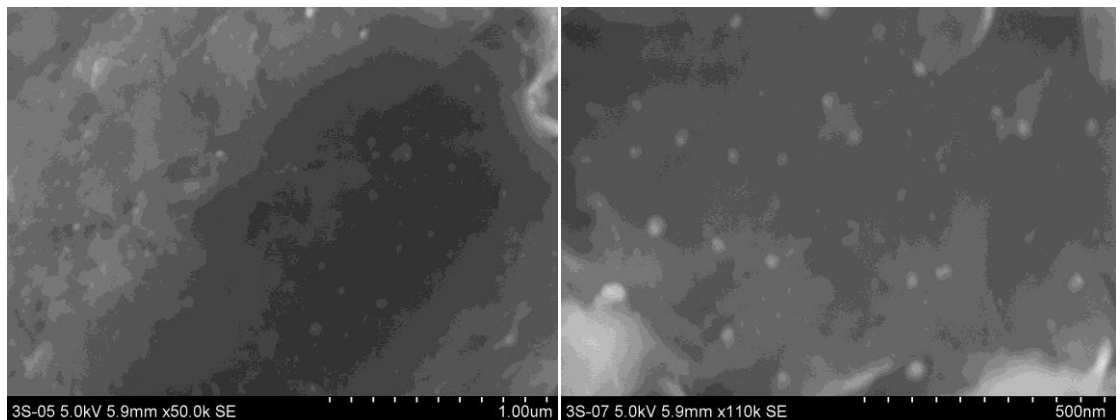
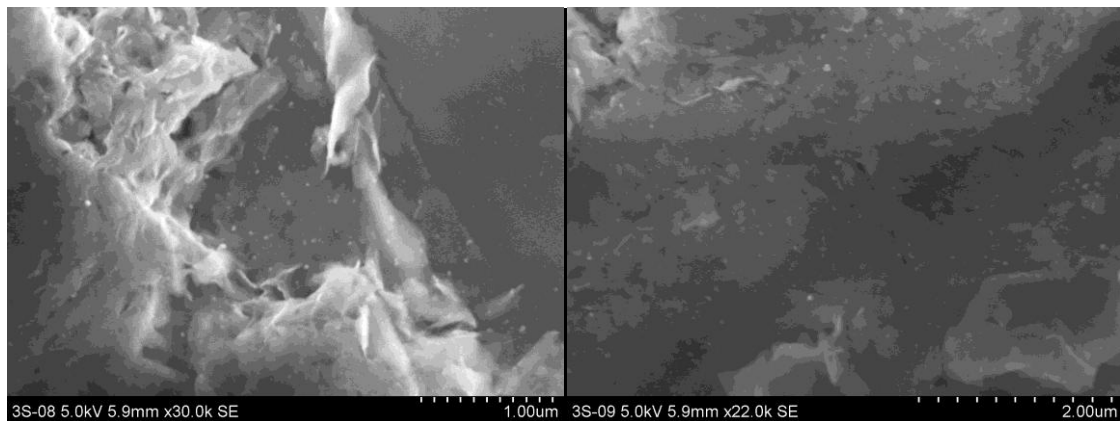


Obr. 7.5: SEM snímky nemodifikovaného vermikulitu





Obr. 7.6: SEM snímky vermikulitu modifikovaného PEI



Obr. 7.7: SEM snímky nanokompozitu Ag-PEI-VER

Obrázek 7.7 potvrzuje přítomnost nanočástic Ag na nanokompozitu Ag-PEI-VER, kde je možné vidět četné světlé body, které představují právě nanočástice stříbra o velikosti v rozmezí 25 nm - 50 nm.

8.2. Studium antibakteriální aktivity nanokompozitů stříbra

Připravené nanokompozity byly podrobeny testu na antibakteriální aktivitu standardní diluční mikrometodou, pomocí které lze stanovit minimální inhibiční koncentrace (MIC) testovaných nanokompozitů.

Navážky vzorků pro stanovení byly upraveny tak, aby při všech testováních obsahovaly výchozí disperze kompozitů stejné množství Ag.

Testy byly provedeny na pracovišti Ústavu mikrobiologie LF UP Olomouc pod vedením prof. MUDr. M. Koláře, Ph.D

Tabulka 7.2: Přehled minimálních inhibičních koncentrací (MIC) připravených nanokompozitů uvedená v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Hodnoty MIC jsou přepočteny na obsah Ag v kompozitech.

Testovaný kmen	Ag - VER	Ag – PDDA (0,1%) - VER	Ag – PEI (800) - VER	Ag – PEI (25000) - VER
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	8,73	10,16	9,75	9,81
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	8,73	5,08	0,49	4,90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955	8,73	5,08	4,87	4,90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,37	10,16	9,75	9,81
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1	8,73	5,08	9,75	4,90
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 2	8,73	5,08	9,75	4,90
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	8,73	10,16	9,75	9,81
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	8,73	10,16	9,75	9,81
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL)	8,73	10,16	9,75	9,81

Antibakteriální aktivita byla prokázána vůči všem testovaným kmenům bakterií a to v případě všech typů připravených nanokompozitních materiálů. Zároveň také nebyly zjištěny výraznější odchylky těchto hodnot v závislosti od druhu testovaného nanokompozitu. Velmi nízké hodnoty MIC byly zjištěny například v případě kompozitu Ag-PEI(25000)-VER proti bakteriím *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a bakterie *Staphylococcus epidermidis*. V těchto případech se inhibiční koncentrace pohybovaly kolem hodnoty $4,9 \mu\text{g Ag}\cdot\text{ml}^{-1}$. Naopak nejvyšší hodnoty MIC byly

zaznamenány v případě nanokompozitu Ag-PDDA-VER proti bakteriím *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* nebo *Klebsiella pneumoniae*. Tyto hodnoty se pohybovaly kolem $10,16 \mu\text{g Ag}\cdot\text{ml}^{-1}$. Zjištěné MIC nanokompozitu Ag-PDDA-VER lze porovnat s hodnotami MIC uvedených v již v dříve citované publikaci Panáčka et al. [28], jelikož byly tyto kompozity připraveny podobným způsobem a liší se pouze matricí vzorku. V případě bakterií *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* vykazovaly nanokompozity připravené na křemelině (označeno jako Ag/PDDA-CBL-3) vyšší antibakteriální aktivitu než nanokompozity připravené v této práci. V případě dalších kmenů bakterií tomu bylo opačně, kdy nejvyšší rozdíl byl pozorován u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955. V případě této bakterie se hodnoty MIC nanokompozitů připravených na křemelině pohybovali kolem $19,40 \mu\text{g Ag}\cdot\text{ml}^{-1}$, zatím co na vermikulitu kolem $5,08 \mu\text{g Ag}\cdot\text{ml}^{-1}$.

9. Diskuze výsledků

Tato bakalářská práce se zabývá studiem přípravy nanokompozitních materiálů obsahujících nanočástice stříbra vázaných na jílovém minerálu vermikulitu. Kompozity byly připravovány třemi různými postupy a to přímou adsorpcí nanočástic Ag z jejich vodné disperze na povrchu neupraveného vermikulitu, v dalším byl materiál připravován taktéž adsorpcí nanočástic Ag z disperze na povrchu vermikulitu, který byl předem upraven vrstvou PDDA a nakonec byla využita přímá generace nanočástic Ag na vermikulitu upraveném s pomocí PEI o relativní molekulové hmotnosti 800 a 25 000. Při této poslední metodě sloužil PEI nejen jako linker, vázající nanočástice Ag s povrchem matrice, ale zároveň také jako redukční činidlo, a to díky existenci volných elektronových párů vyskytujících se na atomech dusíku v molekule polymeru.

Výsledky stanovení obsahu Ag v připravených kompozitech dokládají důležitý vliv povrchové modifikace materiálu reaktivními polymery (PDDA a PEI). V případě, kdy nedošlo k žádné předcházející modifikaci povrchu vermikulitu polymery a ten byl použit ve svém původním stavu, došlo k zachycení jen nepatrného množství Ag na povrchu jílu. Toto lze vysvětlit vzájemným elektrostatickým odpuzováním mezi záporně nabitým povrchem vermikulitu a záporně nabitým povrchem nanočástic Ag. Značně vyšší množství zachycených nanočástic Ag bylo zjištěno v případě, kdy byl materiál v prvním kroku modifikován pomocí vrstvy PDDA. Množství Ag stanovené pomocí AAS bylo rovno 30,13 mg Ag na gram kompozitu, což prakticky odpovídá adsorpci veškerého teoreticky přítomného množství Ag v disperzi, se kterou byl vermikulit protřepáván. Ještě vyšší obsahy lze pozorovat v případě, kdy byl vermikulit upraven vrstvou PEI. V těchto případech byl zjištěný obsah Ag připadající na 1 g jílu vyšší než 100 mg.

Připravené nanokompozitní materiály byly charakterizovány pomocí transmisní a skenovací elektronové mikroskopie. Tyto metody jednoznačně potvrdily přítomnost nanočástic na površích jílu. Velikost nanočástic v případě materiálu Ag-VER a Ag-PDDA-VER se pohybovala kolem 30 nm a nelišila se tak od velikosti, kterou částice disponovaly v disperzi, připravené modifikovaným Tollensovým postupem. Na povrchu Ag-PDDA-VER se současně vyskytovaly i částečně agregované nanočástice stříbra velikosti přibližně 50 nm. V případě modifikace povrchu materiálu pomocí PEI došlo k vyredukování částic o velikosti 25 - 50 nm. Ze snímků lze usuzovat na výraznější

polydisperzitu zachycených nanočástic. Zároveň nebyly pozorovány výraznější rozdíly v morfologii generovaných nanočástic Ag v závislosti na použitém typu PEI.

Antibakteriální aktivita byla prokázána vůči celému spektru testovaných bakteriálních kmenů u všech typů nanokompozitních materiálů. Nejvyšší antibakteriální aktivitu (nejnižší hodnoty MIC) vykazoval nanokompozit Ag-PEI(25000)-VER proti bakteriím *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus epidermidis*. Inhibiční koncentrace se v těchto případech rovná $4,9 \mu\text{g Ag}\cdot\text{ml}^{-1}$.

10. Závěr

Cílem této bakalářské práce byla aplikace studia zakotvení nanočástic stříbra na vermikulitu, jehož povrch byl modifikován buď PEI nebo PDDA, či nebyl modifikován vůbec. A následně byla zkoumána antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů.

Získané výsledky poukazují na to, že obsah nanočástic stříbra je výrazně ovlivněn tím, zda je k modifikaci povrchu vermikulitu použit PEI, či PDDA nebo jeho povrch není modifikován vůbec. Bylo prokázáno, že nanokompozity modifikované PEI obsahují podstatně více nanočástic stříbra vztažených na gram nanokompozitu než nanokompozity modifikované PDDA.

Charakterizace připravených nanokompozitů byla provedena metodou AAS a pomocí TEM i SEM snímků.

Byla prokázána antibakteriální aktivita nanokompozitů obsahujících PEI a PDDA proti všem testovaným kmenům bakterií. Nanokompozit Ag - VER vykazoval antibakteriální vlastnosti jen proti některým kmenům bakterií.

11. Summary

The aim of this thesis was a study by embedding silver nanoparticles on vermiculite, whose surface has been modified either PEI or PDDA, or was not modified at all. And was subsequently examined the antibacterial activity of prepared nanocomposites.

The results indicate that the content of silver nanoparticles is strongly affected by whether to modify the surface of vermiculite used in PEI, or PDDA. It was shown that nanocomposites modified PEI contain substantially more of silver nanoparticles of the nanocomposite relative gram than nanocomposites modified PDDA.

It was found that all nanocomposites except Ag - VER possess antibacterial activity against all tested strains of bacteria.

12. Použitá literatura

- [1] Ajayan, P. M., Schadler, L. S. a Braun, P. V. *Nanocomposite Science and Technology*, Wiley – Vch, Weinheim, 2003
- [2] Panáček, A., Kvítek, L., Pucek, R., Kolář, M., Večeřová, R., Pizúrová, N., Sharma, V.K., Nevěčná, T. a Zabořil, R. *J. Phys. Chem. B* 2006, *110*, 16248-16253
- [3] Hundáková, M., Valášková, M., Tomášek, V., Pazdziora, E. a Matějová, K. *Acta Geodyn. Geomater.*, Vol. 10, No. 1 (169), 97–104, 2013, DOI: 10.13168/AGG.2013.0009
- [4] Kothyar, A. a kol. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 104, 2868–2876, 2007, VVC 2007 Wiley Periodicals, Inc
- [5] Fischer, Kišová, Miakodová a Mollin *Fyzikální chemie: (Termodynamika, elektrochemie, kinetika, koloidní soustavy)*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1984. 333 s, učebnice pro vysoké školy.
- [6] Pouchlý, J. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*, VŠCHT Praha, 2008
- [7] Kvítek, L. a Panáček, A. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. 70 s. Skripta. ISBN 978-80-244-1669-4
- [8] Brdička, R. a Dvořák, J. *Základy fyzikální chemie: Vysokošk. učebnice. 2., přeprac. vyd.* Praha: Academia, 1977. 850, [1] s.
- [9] Percov, A. V., Amelina, E. A. a Ščukin, E. D. *Koloidní chemie*. 1. vyd. Praha: Academia, 1990. 484 s. ISBN 80-200-0259-6
- [10] Weiss, Z. a Kužvart, M. *Jílové minerály jejich nanostruktura a využití*, Karolinum, Praha, 2005
- [11] Kolář, M., Urbánek, K. a Látal, T. *International Journal of Antimicrobial Agents* 17 (2001) 357–363
- [12] Kim, J. S. a kol. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 3 (2007) 95– 101

- [13] Rai, M., Yadav, A. a Gade, A. *Biotechnology Advances* 27 (2009) 76–83
- [14] Thiel, J., Pakstis, L., Buzby, S., Raffi, M., Ni, C., Pochan, D.J. a Shah S.I. *small* 2007, 3, No. 5, 799 – 803
- [15] Sondi, I. a Salopek – Sondi, B. *Journal of Colloid and Interface Science* 275 (2004) 177–182
- [16] Ülkür, E. a kol. *Burns* 31 (2005) 874–877
- [17] Ge, L. a kol. *International Journal of Nanomedicine* 2014:9 2399–2407
- [18] Yakovlev, A. V. a Golubeva, O.Yu. Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Nanomaterials*, Volume 2014, Article ID 460605, 8 pages
- [19] Liu, H., Wang, D., Song, Z. a Shang, S. *Cellulose* (2011) 18:67–74, DOI 10.1007/s10570-010-9464-0
- [20] Lee, P. C. a Meisel, D. *J. Phys. Chem.* 1982, 86, 3391-3395
- [21] Sondi, I., Goia, D. V. a Matijević, E. *Journal of Colloid and Interface Science* 260 (2003) 75–81
- [22] Raveendran, P., Fu, J. a Wallen, S. L. *J. AM. CHEM. SOC.* 2003, 125, 13940-13941
- [23] Fatima, F. a kol. *BMC Microbiology* (2015) 15:52, DOI 10.1186/s12866-015-0391-y
- [24] Jegatheeswaran, S. a Sundrarajan, M. *Materials Science and Engineering C* 51 (2015) 174–181
- [25] Shameli, K. a kol. *International Journal of Nanomedicine* 2011:6 331–341
- [26] Sotiriou, G. A. a Pratsinis, S. A. *Environ. Sci. Technol.* 2010, 44, 5649–5654
- [27] de Villiers, M. M. a kol. *Advanced Drug Delivery Reviews* 63 (2011) 701–715
- [28] Panáček, A. a kol. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 110 (2013) 191– 198
- [29] Mohammed, H. S. a Shipp, D. A. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim *Macromol. Rapid Commun.* 2006, 27, 1774–1778