

# Porovnání antibakteriálního vlivu oxidu měďnatého dopovaného do nanovlákněných struktur ve formě nanočástic vs. RF-PACVD/MS

## Bakalářská práce

*Studijní program:*

B3107 Textil

*Studijní obor:*

Textilní technologie, materiály a nanomateriály

*Autor práce:*

**Kristýna Henyšová**

*Vedoucí práce:*

Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.

Katedra materiálu

*Konzultant práce:*

Ing. Michaela Jakubičková





## Zadání bakalářské práce

# Porovnání antibakteriálního vlivu oxidu měďnatého dopovaného do nanovlákných struktur ve formě nanočástic vs. RF-PACVD/MS

*Jméno a příjmení:* **Kristýna Henyšová**  
*Osobní číslo:* T16000153  
*Studijní program:* B3107 Textil  
*Studijní obor:* Textilní technologie, materiály a nanomateriály  
*Zadávací katedra:* Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů  
*Akademický rok:* **2018/2019**

### Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte rešerši k příslušné tématice.
2. Pomocí zelené syntézy připravte nanočástice CuO.
3. Pomocí elektrostatického zvlákňování připravte referenční nanovlákný vzorek a vzorek s inkorporovaným nanočásticemi CuO.
4. Metodou RF-PACVD/MS deponujte tenkou vrstvu CuO na nanovlákný substrát.
5. Realizujte antibakteriální testy.
6. Vyhodnoťte výsledky testů a formulujte závěry.

*Rozsah grafických prací:*  
*Rozsah pracovní zprávy:*  
*Forma zpracování práce:*  
*Jazyk práce:*

dle potřeby dokumentace  
40-60 dle potřeby  
tištěná/elektronická  
Čeština



### **Seznam odborné literatury:**

1. LUKÁŠ, D., A. SARKAR, L. MARTINOVÁ, et al. Physical principles of electrospinning (Electrospinning as a nano-scale technology of the twenty-first century). *Textile Progress* [online]. 2009, 41(2), 59-140 [cit. 2018-02-12]. DOI: 10.1080/00405160902904641. ISSN 0040-5167. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00405160902904641>
2. SAIF, Sadia, Arifa TAHIR, Tayyaba ASIM a Yongsheng CHEN. Plant Mediated Green Synthesis of CuO Nanoparticles: Comparison of Toxicity of Engineered and Plant Mediated CuO Nanoparticles towards *Daphnia magna*. *Nanomaterials* [online]. 2016, 6(12), 205- [cit. 2018-02-12]. DOI: 10.3390/nano6110205. ISSN 2079-4991. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2079-4991/6/11/205>
3. AMINUZZAMAN, Mohammad, Leong Mei KEI a Wong Hong LIANG. Green synthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles using banana peel extract and their photocatalytic activities [online]. In: . 2017, s. 020016- [cit. 2018-02-12]. DOI: 10.1063/1.4979387. Dostupné z: <http://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4979387>
4. UNGUR, Ganna a Jakub HRŮZA. Influence of copper oxide on the formation of polyurethane nanofibers via electrospinning. *Fibers and Polymers* [online]. 2015, 16(3), 621-628 [cit. 2018-02-12]. DOI: 10.1007/s12221-015-0621-9. ISSN 1229-9197. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12221-015-0621-9> KONUMA, Mitsuharu. Film deposition by plasma techniques. S.l.: Springer, 2012. ISBN 9783642845130. CLOETE, T. E. Nanotechnology in water treatment applications. Norfolk, UK: Caister Academic Press, c2010. ISBN 978-1-904455-66-0.

*Vedoucí práce:*

Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.  
Katedra materiálu

*Konzultant práce:*

Ing. Michaela Jakubičková

*Datum zadání práce:*

20. června 2019

*Předpokládaný termín odevzdání:*

10. srpna 2020

Ing. Jana Drašarová, Ph.D.  
děkanka

L.S.

Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.  
vedoucí katedry

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

10. srpna 2020

Kristýna Henyšová



## **Poděkování**

Ráda bych tímto poděkovala Ing. Pavlu Kejzlarovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a čas, který mi věnoval, k vytvoření této práce. Také bych chtěla poděkovat RNDr. Michalu Krejčíkovi za jeho pomoc s deponováním vrstev oxidů mědi na vzorky pomocí metody RF PACVD. Velké poděkování patří i Ing. Michaelae Jakubíčkové za její velkou ochotu a pomoc s antibakteriálními testy, za které děkuji i celému týmu na CxI, jež mě jimi provázel. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině a přátelům, z nichž speciální poděkování patří Ing. Františku Henyšovi za jeho každodenní ochotu mě stále motivovat.

## Anotace

Tato práce se zabývá výrobou a následným srovnáním antibakteriálních účinků oxidů mědi dopovaných do nanovlákných membrán ještě před jejich zvlákňováním a deponováním jejich tenké vrstvy na povrch nanovlákných membrán. Nanočástice oxidu měďnatého, jež byly do zvlákňovaného roztoku polyvinylbutyralu před zvlákňováním přidány, byly vyrobeny zelenou syntézou za využití kyseliny citrónové. Deponované vrstvy oxidů mědi byly zkoumány ve dvou stupních oxidace pro simulaci oxidace způsobené stárnutím materiálu. Následně byly na vzorcích provedeny antibakteriální testy dle normy AATCC147 s bakteriemi *Escherichia coli* a *Staphylococcus epidermis*. Jejich antibakteriální účinky byly vyhodnoceny a srovnávány. Zatímco přídavek nanočástic CuO do nanovláken přímo ze zvlákňovaného roztoku nevykázal výrazné antibakteriální účinky, deponování oxidů mědi na povrch vláken pomocí PACVD se ukázalo jako velmi efektivní metoda zajištění baktericidních vlastností.

**Klíčová slova:** nanočástice, nanovlákná membrána, antibakteriální efekt, oxidy mědi, elektrospinning

## **Abstract**

This thesis deals with the production and subsequent comparison of antibacterial effects of copper oxides doped into nanofiber membranes before their electrospinning and deposition of a thin layer on the surface of nanofiber membranes. Copper oxide nanoparticles, which were added to the spun polyvinyl butyral solution prior to electrospinning, were made by green synthesis using citric acid. The deposited layers of copper oxides were investigated in two oxidation stages to simulate the oxidation caused by the aging of the material. Then, antibacterial tests according to the AATCC147 standard were performed on the samples with the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermis*. Their antibacterial effects were evaluated and compared. While the addition of CuO nanoparticles to nanofibers directly from the spun solution did not show significant antibacterial effects, the deposition of copper oxides on the surface of the fibers by RF PACVD proved to be a very effective method of providing bactericidal properties.

**Key words:** nanoparticles, nanofibrous membrane, antibacterial effect, copper oxides, electrospinning

## Obsah

1	Úvod.....	10
2	Teorie.....	12
	2.1 Elektrostatické zvlákňování.....	12
	2.1.1 Zvlákňování z taveniny polymeru.....	13
	2.1.2 Zvlákňování z roztoku polymeru .....	13
	2.1.3 Jehlové elektrostatické zvlákňování.....	13
	2.1.4 Bezjehlové elektrostatické zvlákňování .....	14
	2.2 Antibakteriální efekt nanovlákných membrán.....	14
	• Stříbro .....	16
	• Měď a oxidy mědi .....	17
	2.2.1 Hodnocení antibakteriální účinnosti .....	18
	• AATCC100 Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of ..	19
	• AATCC147 Antibacterial Activity of Textile Materials: Parallel Streak ...	20
	2.3 Výroba nanočástic CuO pomocí zelené syntézy .....	20
3	Experimentální část .....	22
	3.1 Příprava nanočástic CuO .....	22
	3.2 Elektrostatické zvlákňování.....	22
	3.3 Depozice Cu-O vrstev pomocí RF PACVD .....	23
	3.4 Hodnocení mikrostruktury.....	24
	3.5 Testování antibakteriální účinnosti.....	24
4	Výsledky .....	26
	4.1 Připravené nanočástice CuO .....	26
	4.2 Struktura připravených nanovlákných textilií .....	27
	4.3 Antibakteriální testy.....	31
5	Diskuze.....	35
	5.1 Struktura nanovlákných textilií .....	35
	5.2 Antibakteriální účinky .....	36
	5.3 Použité materiály .....	38
	5.3.1 Měď a její oxidy.....	38
	5.3.2 Nanovlákná textilie z PVB.....	39
6	Závěr .....	40
7	Literatura .....	41

## Seznam zkratk

AC	střídavé elektrické napětí
DC	stejnoseměrné elektrické napětí
EC	Escherichia coli
PVB	polyvinylbutyral
NPs	nanočástice
SE	Staphylococcus epidermis
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
EDS	energie-disperzní spektroskopie
RF PACVD	radio-frekvenčně plasmatem asistovaná chemická depozice z plynné fáze

## 1 Úvod

V současnosti jsou stále více využívány a zkoumány nanomateriály. Jejich vlastnosti otevírají nové možnosti využití pro již dlouho známé materiály i v oblastech, kde by před zkoumáním nanomateriálů jejich využití bylo naopak nevhodné. Díky nim je možné měnit třeba povrchové vlastnosti naprášením nanočástic na povrchy. Může tak být dosaženo hydrofobity povrchů, které jsou běžně hydrofilní, či velkého množství dalších úprav. Často jsou předmětem bádání také nanovláknenné struktury, jejichž využitím jsou například filtry.

Výroba nanovláken ve větším měřítku začala právě na Technické univerzitě v Liberci počátkem roku 2003, kdy přišel profesor Jirsák se svým týmem s unikátní myšlenkou, jak vyrábět velké množství nanovláken ve stejnou chvíli bez použití systému s velkým počtem jehel. V září stejného roku je následně univerzitou na tento průmyslově využitelný vynález přihlášen patent. (Technická Univerzita v Liberci, 2003) Roku 2004 došlo k jednání se společností Elmarco a jeho výsledkem bylo odkoupení licence na tuto technologii. Díky tomu je nejznámějším strojem na průmyslovou výrobu nanovláken Nanospider™. (Zouzalík, 2005)

Běžné nanovláknenné struktury z polymerů jsou velmi vhodným podkladem pro růst bakterií i virů, jsou proto často využívány jako scaffoldy pro efektivní kultivaci buněk. Díky velmi malým průměrům vláken a zejména pórů také vykazují výjimečné filtrační vlastnosti. V době pandemie koronaviru probíhalo velké množství výzkumů, jejichž cílem bylo najít nejvhodnější metodu výroby roušek s antibakteriální a antivirovou účinností. Tato práce popisuje jednu z možných výrob nanovláknenných vrstev s antibakteriální účinností a hodnotí její výstupy.

Vlákna s antibakteriální složkou jsou v poslední době velmi častým tématem kvůli možnosti jejich využití i v oblastech, kde by běžné textilie mohly podporovat kontaminaci bakteriemi či viry. Nejznámější antibakteriální složkou je v současnosti stříbro, které je masově využíváno právě pro své antibakteriální účinky. Kovy (či jejich oxidy) obecně však mají antibakteriální účinky a jde převážně o další vlastnosti daného kovu pro rozhodnutí, kde je vhodné ho použít. (Tamayo et al., 2016)

Tato práce se zaměřuje na použití mědi, přesněji oxidů mědi, a možnosti jejich využití v netkaných textiliích, které jsou tvořeny nanovláknem či vlákny o submikronových rozměrech. Dále sleduje právě jejich antibakteriální účinky.

Cílem této práce je zjistit, zda je z hlediska antibakteriálních úprav výhodnější dotovat oxidy mědi do vláken nebo deponovat měď na jejich povrch plazmatem.

## 2 Teorie

V posledních letech je kladen velký důraz na studium a vývoj nanomateriálů, protože otevírá naprosto nové možnosti využití již dlouho známých materiálů.

Poklesne-li průměr vláken či částic do řádu desítek až stovek nanometrů, lze pozorovat nové vlastnosti těchto materiálů. Díky jejich jiným vlastnostem je možné jejich využití i v oblastech, kde dříve být využívány nemohly. Takovým příkladem mohou být kovy, které se v nanorozměrech mohou stát polovodiči či dokonce izolanty. (Kolářová, 2014)

Nanočástice a nanovlákná jsou velmi často využívána kvůli svému velkému povrchu. Dělením krychle o délce strany 1 dm až na krychle o délce strany 1 nm lze z původního povrchu 6 dm<sup>2</sup> získat za použití stejného objemu materiálu povrch o rozloze 6 000 ha. Příkladem, kdy je využití co největšího povrchu velmi důležité, jsou katalyzátory, na jejichž povrchu právě dochází k tížené reakci. S použitím stejného množství materiálu je tedy možné dosáhnout významně lepších výsledků. (Kolářová, 2014)

### 2.1 Elektrostatické zvlákňování

Elektrostatické zvlákňování je v současné době velmi rozšířenou a perspektivní technologií především kvůli své všestrannosti a nízké ceně výroby vláken. Jeho princip je jednoduchý. Aparatura na výrobu nanovláken se skládá ze zvlákňovací elektrody a kolektoru, který může být uzemněný nebo mít svůj vlastní zdroj elektrického napětí. U zvlákňovací elektrody se nachází zásobník či dávkovač roztoku či taveniny zvlákňovaného polymeru. Dosažením dostatečného rozdílu elektrického potenciálu dojde k překonání povrchového napětí a tím k tvorbě tzv. Taylorova kuželu. Z něj jsou poté tvořena vlákna, která prochází fází bičování, ve které dochází k dloužení vlákna, což vede k jeho zjemnění. (Long et al., 2019)

V současnosti je velmi zkoumána metoda využití střídavého elektrického napětí (AC) místo stejnosměrného elektrického napětí (DC) pro elektrostatické zvlákňování. Metodou AC electrospinningu je možné dosáhnout vyšší produktivity. Díky tomu, že nepotřebuje kolektor, tvoří více 3D strukturu než DC electrospinning. Jedná se však o málo prozkoumanou metodu. (Pokorný et al., 2014)



### 2.1.1 Zvlákňování z taveniny polymeru

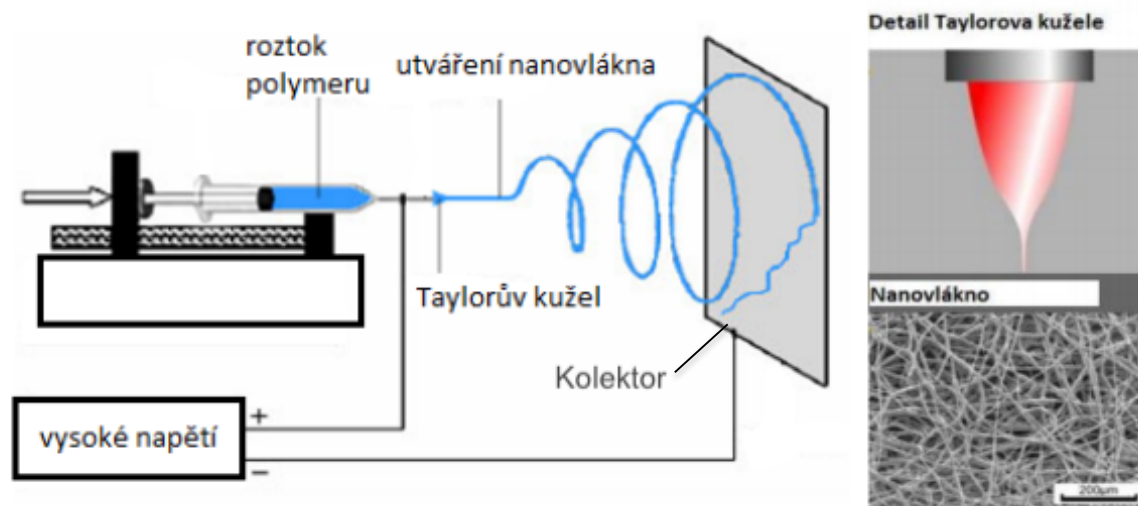
Jedním z největších úskalí zvlákňování z roztoku polymeru je nutnost využít často toxická rozpouštědla, která se poté odpařují do prostředí. To je i z hlediska životního prostředí nevhodné pro průmyslové využití. Pro některé polymery také nebyl zatím nalezen vhodný systém rozpouštědel. Získat kapalnou formu některých polymeru je však možné jejich tavením. Pro dosažení vhodné viskozity je nutné dosáhnout dostatečné teploty taveniny, aby došlo použitým vysokým napětím k překročení povrchové energie taveniny a tvorbě vláken. Zároveň teplota taveniny, a tedy i její viskozita, ovlivňuje průměr vláken. Vlákná zvlákňovaná z taveniny však nedosahují stejně malých průměrů, jako vlákná zvlákňovaná z roztoku. (Sarwar et al., 2019)

### 2.1.2 Zvlákňování z roztoku polymeru

Nejméně energeticky náročnou metodou elektrostatického zvlákňování je využití rozpustnosti polymerů v těkavých rozpouštědlech. Tato rozpouštědla jsou po vzniku vlákná odpařována, a tím dochází k tuhnutí vláken. V závislosti na rychlosti odpaření rozpouštědla se také mění průměr vzniklých vláken. (Long et al., 2019)

### 2.1.3 Jehlové elektrostatické zvlákňování

Dříve byl polymerní roztok přiveden do stříkačky, která byla zapojena do dávkovacího zařízení. Na ni byla nasazena kovová jehla, ke které byl připojen zdroj vysokého elektrického napětí. Naproti jehle je umístěna vodivá deska nebo otáčející se buben jako kolektory vzniklých vláken. Dávkovací zařízení bylo nastaveno na požadované množství polymerního roztoku za minutu. Dále bylo nastaveno vysoké elektrické napětí, které je odlišné pro každý polymerní roztok. Když je elektrickým napětím překonáno povrchové napětí polymerního roztoku, dojde k tvorbě kónického tvaru kapky tzv. Taylorova kuželu, ze kterého se potom stává vlákno, jež prochází oblastí nestability, než se uchytlí na kolektor. (Sridhar et al., 2011)



Obrázek 1 Schéma jehlového elektrostatického zvlákňování stejnosměrným proudem (Kuncová, 2017)

#### 2.1.4 Bezjehlové elektrostatické zvlákňování

Technologie bezjehlového elektrostatického zvlákňování využívá tvorby velkého množství Taylorových kuželů na povrchu kapaliny, a tím i velkého množství vláken zároveň. Stroj na výrobu vláken bezjehlovým elektrostatickým zvlákňováním se opět musí skládat ze dvou elektrod a zdroje materiálu. Je více možností, jak mohou elektrody vypadat. Zvlákňovací elektrody, na které je nanášen polymerní roztok či tavenina, mohou mít formu válečku, strun, strunových válečků, ohrocených válečků a spoustu dalších. Dále se tyto stroje liší způsobem nanášení polymeru na zvlákňovací elektrodu. Ta může být uložena ve vaničce s polymerním roztokem či taveninou a pomocí jejího otáčení je na ní nanášen roztok nebo tavenina. Další možností je pojezdové zařízení, které na elektrodu (nejčastěji strunu) roztok nanáší. Může být na zvlákňovací elektrodu také rozstřikován pomocí zásobníku roztoku s otvory. (Tang, et al., 2010)

## 2.2 Antibakteriální efekt nanovláknenných membrán

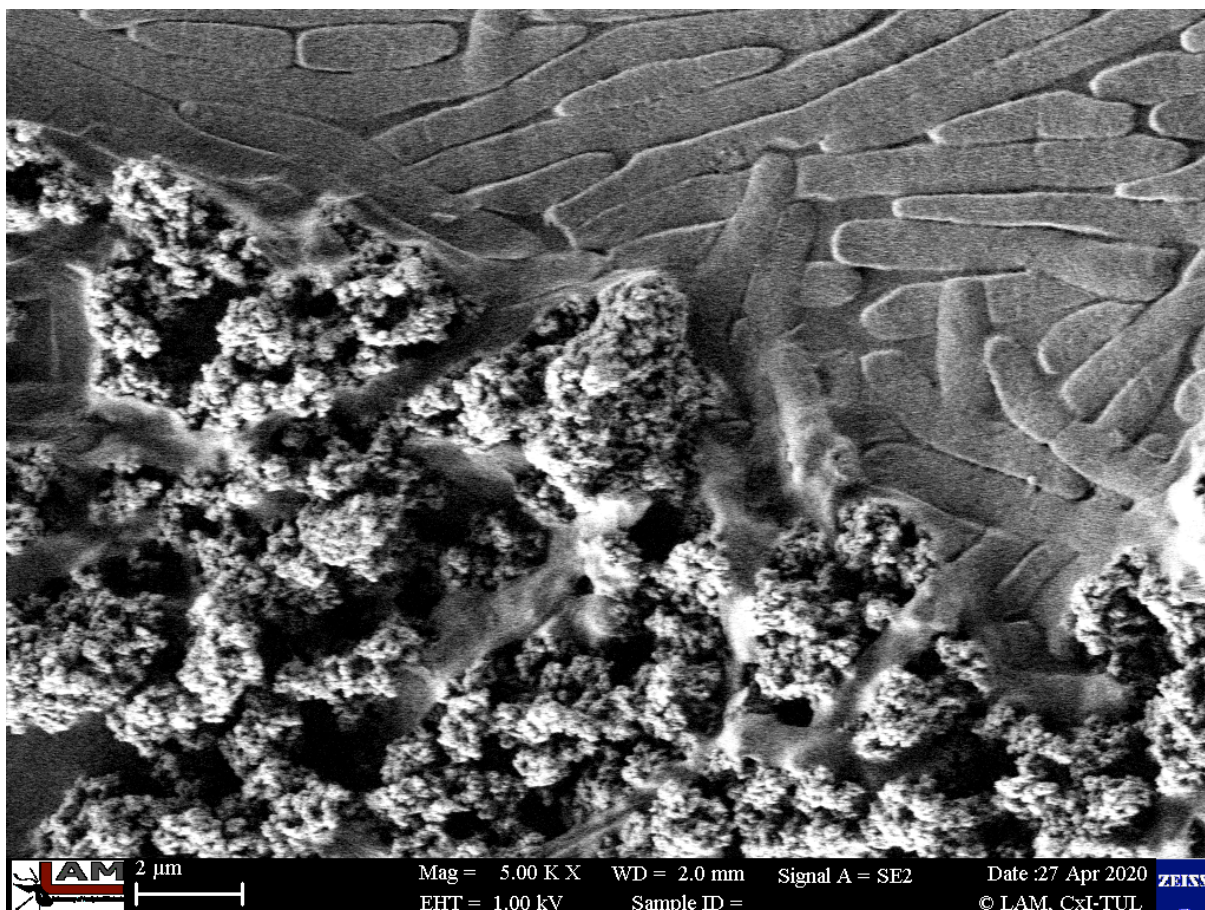
Nanovláknenné struktury jsou dle mnoha studií ideálním scaffoldem pro růst buněk. Jsou velmi často využívány v tkáňovém inženýrství kvůli tomu, že výborně simulují přirozené prostředí jejich růstu a tvoří podporu pro jejich růst do 3D rozměru. Stejně vlastnosti však podporují růst bakterií, což je ve většině odvětví využívajících nanovláknenné struktury nežádoucí. (Frenot and Chronakis, 2003)

Růst bakterií na nanovlákných textiliích může způsobovat velkou řadu problémů. V případě jejich využití v lékařství je na prvním místě sterilita a tím i ochrana pacientů či lékařského personálu před infekcemi. Filtrační nanovlákné vrstvy jsou však touto problematikou také postiženy. Hlavním problémem při množení bakterií na filtrech je ucpání jeho pórů, ale i následný možný průchod bakterií a zápach, který bakterie produkují. (Trogolo, 2006)

Zahubení bakterií lze dosáhnout pomocí fyzikálních či chemických metod. Mezi fyzikální metody patří využití UV záření nebo vysokých teplot. Chemické metody využívají přímého kontaktu s bakteriemi. Mezi běžně používaná chemická antibakteriální činidla patří například alkoholy, oxidační činidla, povrchově účinné látky či kyseliny. (Melicherčíková, 2015)

Další možností je využití fotokatalytických látek. Příkladem v současnosti nejvyužívanější fotokatalytické látky je oxid titaničitý ( $\text{TiO}_2$ ) ve formě anatasu. Ten vykazuje vysokou fotokatalytickou aktivitu, chemickou stabilitu a nízkou toxicitu pro lidský organismus. Jeho nízká cena podporuje jeho široké využití. Problémem fotokatalytických vrstev je však nutnost expozice záření o vhodné vlnové délce, zpravidla UV-A, které je potřebné pro excitaci valenčních elektronů  $\text{TiO}_2$ . (Salazar et al., 2020)

Pro své antibakteriální účinky jsou široce využívány i další kovy a jejich oxidy (obr. 2). Jako jedny z nejvhodnějších jsou vybírány oxidy mědi pro své unikátní biologické, chemické i fyzikální vlastnosti. Studium jejich možného využití se v současnosti těší velkému zájmu i kvůli nízké ceně, ale především díky jejich antibakteriálním účinkům. (Ungur and Hrůza, 2017)



Obrázek 2 Kontakt *Pseudomonada putida* s nanočásticemi  $Fe^0$ . [zdroj archiv snímku Laboratoře mikroskopie CxI, Pavel Kejzlar]

- Stříbro

Využití stříbra je známé již od starověku, kdy bylo například využíváno pro sterilizaci vody pomocí stříbrné mince. Ze středověku jsou dochovány první zmínky o jeho využití pro medicínské účely. Vědecký článek popisující využití stříbra v lékařství byl poprvé napsán v 19. století F. Crédém, který popisoval jeho využití na oční kapky u novorozenců jako prevenci očních infekcí. Protože byl využíván roztok  $AgNO_3$ , bylo později zjištěno, že má na lidskou tkáň i žíravý efekt a bylo ustoupeno k využití stříbra v kombinaci se sulfadiazinem pro krytí ran (například popálenin), které je pro některé aplikace využíváno dodnes. (Maillard and Hartemann, 2013)

21. století přineslo velkou část objevů v oblasti možností využití stříbra pro rozličné aplikace na kůži i vnitřně využívaných implantátů. Zároveň se velmi rozšířilo jeho využití i mimo medicínu. Pro baktericidní účinky je využíváno i v domácnostech pro desinfekci povrchů či

textilním průmyslu při výrobě oděvů s antibakteriální úpravou. (Maillard and Hartemann, 2013)

Pro využití největšího možného povrchu stříbra je v současnosti využíváno ve formě nanočástic. Díky menším rozměrům a většímu povrchu dochází i ke zvýšení baktericidity. Zároveň je možné nanočástice inkorporovat do jiných materiálů pro úpravu jejich vlastností. Především je možné je využít v kombinaci s polymery nebo biomateriály. Stříbro je využíváno i v obalových materiálech na potraviny pro ochranu potravin před bakteriemi. (Maillard and Hartemann, 2013)

Nanočástice stříbra menší než 80 nm jsou schopné procházet buněčnými membránami. Jsou jimi vytvářeny v membránách póry, které mohou zapříčinit cytoplasmatický únik. Již od 17. století jsou známy schopnosti bakterií stát se resistantní vůči stříbru. Tedy jeho použití je doporučováno pouze po omezenou dobu. Existuje více teorií popisujících princip rezistence gramnegativních bakterií na stříbro. Příkladem je nadměrná tvorba detoxikačních enzymů a proteinů, které se podílejí na obnově buněčné membrány a tím zamezují vzniku pórů a cytoplasmatickému úniku. (Maillard and Hartemann, 2013)

Nevýhodou nanočástic stříbra je jejich shlukování a hromadění v lidském těle. Při vyšších dávkách může dojít k jeho subdermálnímu ukládání a poté k zašednutí či zmodrání pleti. Dle aktuálně známých informací pravděpodobně není tento stav zdraví ohrožující. Existují však teorie, které upozorňují na možné ohrožení jater či ledvin. Další problém je při použití derivátů stříbra na krytí ran. To sice působí baktericidně, ale také cytotoxicky, a tedy dochází ke zpomalení hojení ran. (Maillard and Hartemann, 2013)

- **Měď a oxidy mědi**

V našem případě používáme jako antibakteriální složku vláken měď. Ta je jedním z prvních masově využívaných kovů. Díky její nízké teplotě tání byla využívána pro výrobu zemědělských nástrojů, zbraní, mincí, domácích zařízení i uměleckých předmětů. Díky tomu, že v rudách obsahujících měď se nacházely i jiné kovy, například cín, získávali naši předci pevnější slitiny. Nejdůležitější z těchto slitin je bronz, podle kterého byla nazvána celá epocha lidstva – doba bronzová. Již ve starém Egyptě byla měď nazývána v překladu „věčný život“. A to kvůli její odolnosti proti korozi a antimikrobiálním vlastnostem. Měděné

předměty časem získaly zelenou barvu kvůli její reakci se vzdušnou vlhkostí, kyslíkem a oxidem uhličitým. Během působení těchto vnějších vlivů se na povrchu měděných předmětů vytvoří vrstvička jejich oxidů, hydroxidů a uhličitánů, které jsou zelené, ale neporůstají například řasami. Proto byla měď využívána i při výrobě lodí. (Medportal, nedatováno)

Antimikrobiální účinky mědi jsou lidstvu známy stovky let. Ve starém Egyptě byla používána měď pro dezinfekci vody nebo dokonce ran. V době Římské říše bylo vysoce ceněné a často používané měděné nádobí pro zabránění šíření nemocí. Praktické využití mědi v námořnictví vymysleli již staří Féničané. Ti vyráběli lodě s měděnými pláty na trupu tak, aby vždy převyšovaly maximální linii ponoru. Právě díky působení mědi neporůstaly trupy lodí řasami a mořskými živočichy, a tak byly lodě obratnější a rychlejší. Měď byla také využívána v období druhé světové války japonskými vojáky, kteří používali její kousky pro zamezení nákazy úplavicí vodou, kterou pili. Ve 20. století byla v USA a ve Francii využita i její fungicidní vlastnost v kombinaci s dalšími látkami. (Tamayo et al., 2016)

Kontakt buňky s oxidem měďnatým (CuO) způsobuje zvýšení průchodnosti částic cytoplazmatickou membránou, čímž dovnitř buňky pronikají další částice CuO. Výrobou menších částic oxidu měďnatého můžeme dosáhnout dalšího zvýšení průchodu těchto částic díky jejich většímu aktivnímu povrchu, a tím i rychlejšího usmrcení buňky. V případě gramnegativních bakterií je citlivost na CuO ještě větší. Díky karotenovým pigmentům jsou buněčné membrány grampozitivních buněk celistvější, a tedy jsou jejich vnitřní prostředí lépe chráněna proti oxidativnímu stresu než u gramnegativních buněk obsahujících porin. Membrána grampozitivních buněk se však nasatí a poté se spustí programovaná buněčná smrt. Některé studie ukazují, že nanočástice mědi reagují se skupinami –SH, což vede k denaturaci proteinů. Další studie tvrdí, že nanočástice oxidu měďnatého vyvolávají tvorbu anion superoxidů, hydrogenperoxidů a jednovláčenné DNA už při velmi nízkých koncentracích. Většina studií poukazuje na fakt, že antimikrobiální vlastnosti mědi závisí na velikostech částic respektive na velikostech jejich povrchu. (Tamayo et al., 2016)

### 2.2.1 Hodnocení antibakteriální účinnosti

V případě nanokompozitů, které jsou vyráběny za účelem využití v oblastech, kde je nutná či výhodná antimikrobiální vlastnost materiálu, jsou antimikrobiální testy jedny z nejdůležitějších. Jsou používány zejména dvě metody zkoumání antimikrobiálních účinků

materiálů. První z nich je metoda difúzní. Ta spočívá ve vložení daného vzorku do media, které je naočkováno danou koncentrací testovaného mikroorganismu. Ze vzorku se difuzí dostává antibakteriální látka k bakteriím a je pozorován vznik inhibiční zóny, což je oblast okolo vzorku, kde dochází k inhibici růstu mikroorganismu. Je-li mikroorganismus vůči antimikrobiálním účinkům vzorku rezistentní, nevznikne inhibiční zóna. Druhou metodou testování antimikrobiálních účinků je metoda diluční. Tato metoda zkoumá minimální inhibiční koncentraci zkoumané látky. Do zkumavek jsou napipetovány sestupné koncentrace antimikrobiální látky a následně je do nich očkovan testovaný mikroorganismus. Ve zkumavkách, kde vzniká zákal či sediment, není dostatečná koncentrace antimikrobiální látky pro inhibici růstu mikroorganismu. Tedy ze zkumavek, které zákal ani sediment neobsahují, vybereme tu s nejnižší koncentrací antimikrobiální látky a tato koncentrace je označena jako minimální inhibiční koncentrace. (Husnu Can Baser & Buchbauer, 2015)

Jako u každého materiálu není důležitá pouze základní vlastnost, což je v našem případě antibakteriální účinnost, ale také další vlastnosti ovlivňující možnosti jeho použití. Téměř každé použití je ovlivněno mechanickými vlastnostmi vláken. Některá použití však vyžadují, aby i termální, optické či morfologické charakteristiky odpovídaly jejich použití. (Tamayo et al., 2016)

Přehled využívaných metod testování antibakteriální účinnosti na textiliích je uveden například na webových stránkách Textilního zkušebního ústavu <https://www.tzu.cz/mikrobiologie-mikrobiologie>. (Textilní zkušební ústav, 2020)

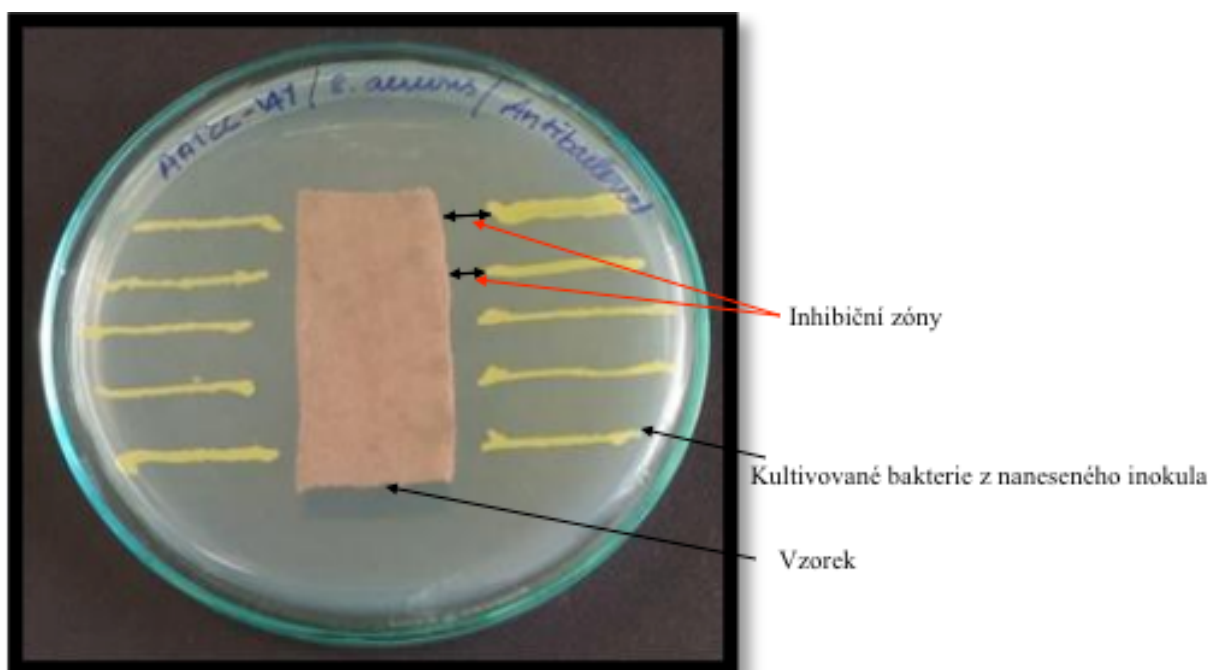
- AATCC100 Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of

Metoda AATCC100 sleduje procentuální snížení koncentrace bakterií, které byly inokulovány na testované vzorky. Jsou spočteny kolonie na začátku testu a po 1 dni. Z toho je poté vypočteno procentuální snížení jejich počtu. Vždy je vhodné využít srovnání testovaného materiálu, který je očkovan antibakteriální látkou, s materiálem bez ní. (Textilní zkušební ústav, 2020)



- AATCC147 Antibacterial Activity of Textile Materials: Parallel Streak

Výsledky metody AATCC147 jsou pouze kvalitativní. Jde o metodu, která pouze zjišťuje, je-li daná bakterie citlivá na testovanou látku. V případě citlivosti na ní, vzniká v okolí vzorku inhibiční zóna, ve které nedochází k růstu bakterií (obr. 3). Pokud není daná bakterie citlivá na testovanou látku, je viditelný růst kolonií bakterií i pod sledovaným vzorkem. Toto je vyhodnoceno po 24 hodinách od nanesení inokula. (Textilní zkušební ústav, 2020)



Obrázek 3 Příklad testu dle metody AATCC147 Parallel Streak s testovanou bakterií *Staphylococcus aureus* a vzorkem dopovaným Ethyl acetátem (Kalaiselvi et al., 2019)

### 2.3 Výroba nanočástic CuO pomocí zelené syntézy

Běžné způsoby výroby nanočástic jsou z důvodu nutnosti využití rozpouštědel a činidel ekonomicky i ekologicky velmi zatěžující. Tato činidla bývají toxická a jejich zbytky mohou být součástí vyrobených nanočástic, čímž jsou omezeny následně možnosti jejich využití. Jsou-li využívána jiná činidla, s jejichž pomocí je možné vyrobit velmi čisté nanočástice, cena nanočástic velmi výrazně stoupne. Snaha o snížení dopadu jejich výroby a také anížení jejich ceny přinesla metodu, která využívá přírodní obnovitelné zdroje a omezuje množství odpadních materiálů i jejich dopad na životní prostředí. (Shafey, 2020)

K výrobě nanočástic oxidů kovů je využívána řada výtažků z rostlin, jež umožňují tvorbu komplexních sloučenin s kovovými ionty. Díky těmto komplexům nedochází k tvorbě



jednoho velkého krystalu, ale mnoha nanočástic. Nicméně k narušení komplexu dochází až při velmi vysokých teplotách. (Shafey, 2020)

### 3 Experimentální část

Celý postup experimentu byl rozdělen do tří základních kroků

- Příprava nanočástic
- Příprava nanovlákných textilií
- Mikrobiologické testování antibakteriální účinnosti

Označení připravených vzorků nanovlákných membrán je zřejmé z Tabulky 1.

Tabulka 1 Popis označování vzorků

Složení vzorku	Označení vzorku
Čisté PVB	PVB
PVB s přidáním nanočástic CuO před zvlákněním	PVB-CuO
Čistá PVB vlákna deponovaná Cu-O s nižším oxidačním stupněm pomocí RF PACVD	PACVD-Cu
Čistá PVB vlákna deponovaná Cu-O s vyšším oxidačním stupněm pomocí RF PACVD	PACVD-Cu-O

#### 3.1 Příprava nanočástic CuO

Nanočástice CuO byly připraveny postupem uvedeným v (Seibert, 2019). Nejprve bylo naváženo 0,41 g kyseliny citrónové a 1 g  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ . Dusičnan byl přidán do kádinky s 10 ml destilované vody. Po jeho úplném rozpuštění bylo přimícháno navážené množství kyseliny citrónové. Takto připravený roztok byl následně vložen do sušárny, která byla nastavena na teplotu 90 °C. Po 12 hodinách byl vzorek vyjmut ze sušárny. Následně byl vzorek postupně v dalších 12 hodinách zahříván až k dosažení 650 °C.

#### 3.2 Elektrostatické zvláknování

Pro účely testů byly připraveny dva typy vzorků.

Nejprve bylo naváženo 0,5 g PVB 60 H, ke kterému bylo přidáno 4,5 g ethanolu. Po několikaminutovém rozmíchávání bylo dosaženo úplného rozpuštění PVB. Stejný postup byl

opakován do druhé kádinky. Výsledkem byly dvě kádinky s 10% roztokem PVB. Do kádinky číslo 2 bylo ještě přidáno 0,17 g CuO vyrobeného v předchozím experimentu. V jedné kádince tedy byl 10% roztok PVB v ethanolu a v druhé 3,4% roztok CuO v 10% PVB v ethanolu.

Pro rovnoměrnější rozptýlení částic CuO v roztoku a rozbití jejich shluků byla kádinka uzavřena a vložena na 10 minut do ultrazvukové vany.

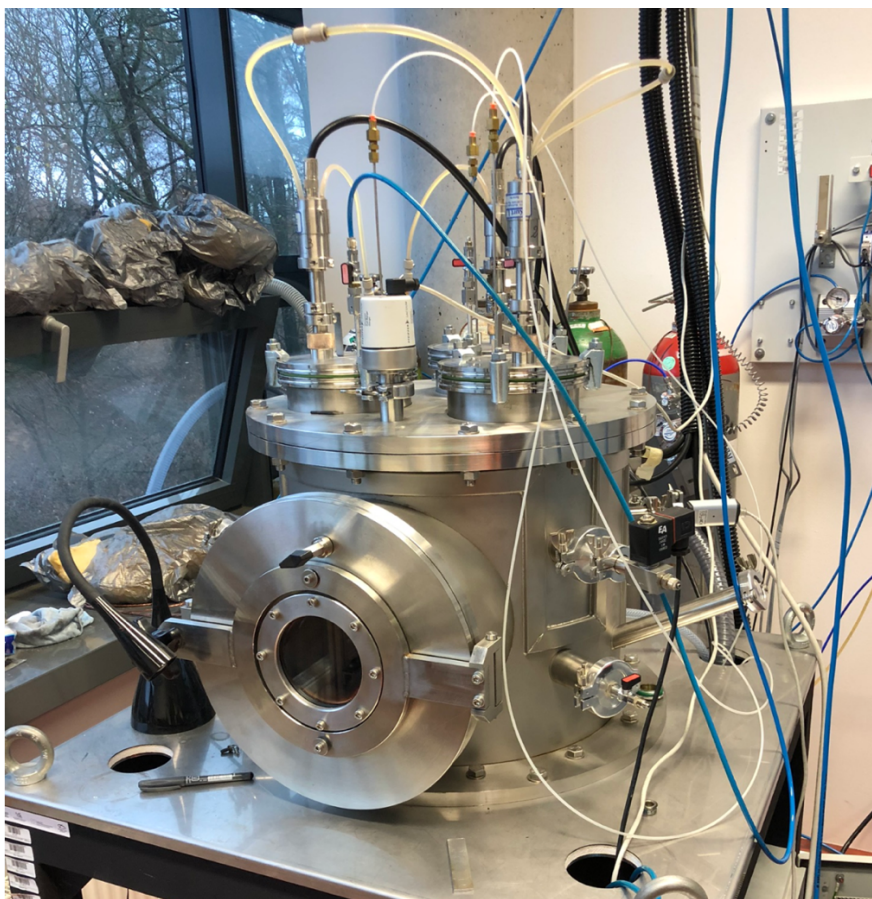
Oba roztoky byly následně elektrostaticky zvlákňovány z tyčky. Při zvlákňování bylo na tyčku použité napětí 15 kV. Teplota v laboratoři při zvlákňování byla 21,9 °C a vlhkost 17,9 %. Takto byly vytvořeno 6 vzorků čistého PVB a 3 vzorky s nanočásticemi PVB-CuO.

Z čistých PVB vzorků byla část ponechána jako vzorky referenční a část byla použita jako substráty pro depozici Cu-O vrstev pomocí RF PACVD.

### 3.3 Depozice Cu-O vrstev pomocí RF PACVD

Vzorky PVB nanotextilie o rozměru cca 20 × 20 cm byly v laboratoři plasmatických úprav na CxI TUL (operátor RNDr. Michal Krejčík) naprášeny dvěma vrstvami na bázi Cu-O pomocí metody RF PACVD (obr. 4). Jako target byl použit 2“ Cu disk. Podmínky depozice:

tlak v komoře:	0,7 Pa
Průtok Ar:	15 sccm
Průtok O <sub>2</sub> :	15 a 35 sccm
Výkon magnetronu:	120 W
Předpětí plasmy:	200 V
Čas depozice:	3 minuty



*Obrázek 4 Komora pro radio-frekvenčně buzené PACVD*

### 3.4 Hodnocení mikrostruktury

Pro vyhodnocení mikrostruktury byl využit rastrovací elektronový mikroskop Zeiss Ultra Plus. Vzorky byly fixovány pomocí oboustranné uhlíkové lepicí pásky na hliníkové terčíky. Před pozorováním byly vzorky zvodivěny tenkou vrstvou Pt (tloušťka cca 1 nm); vzorky s plasmově deponovanou mědí pokoveny nebyly. U vzorků s plasmově deponovanými vrstvami Cu-O byla provedena lokální chemická analýza složení pomocí EDS Oxford X-Max.

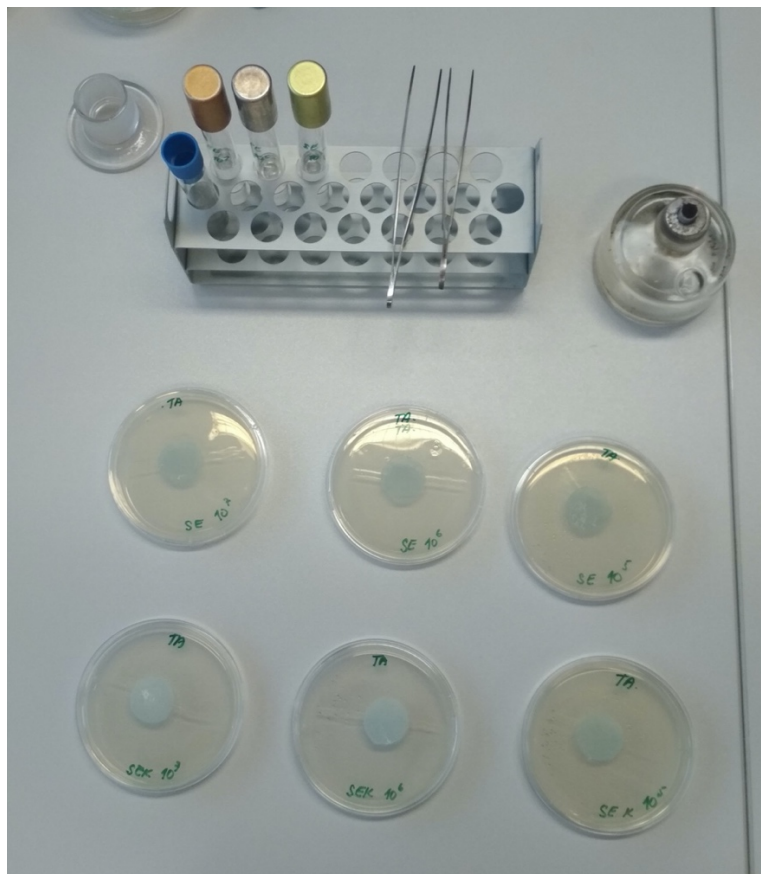
### 3.5 Testování antibakteriální účinnosti

Antibakteriální účinnost byla testována dle modifikované metody AATCC147 Parallel streak method.

Jako zástupci gramnegativních a grampozitivních bakterií byly vybrány kmeny *Escherichia coli* (EC) a *Staphylococcus epidermis* (SE). Z těch byla nejprve připravena inokula bakterií o koncentracích  $10^5$ ,  $10^6$  a  $10^7$  CFU. Jako živné médium byl použit agar bez dextrózy. Na

agarovou plotnu byla nanesa připravená inokula a každý vzorek byl popsán pro rozlišení jejich koncentrací a použité bakterie. Přes místo nanesení inokula byly položeny vzorky, které byly zvlákňovány s nanočásticemi oxidů mědi v roztoku, a slepé vzorky, které neobsahovaly měď (obr. 5).

Pro nanovláknenné textilie PACVD-Cu a PACVD-Cu-O, byly použity vzorky ve tvaru proužku a na jednu Petriho misku byly naneseny všechny tři koncentrace inokula. Přes ně byly poté položeny testované proužky vzorku, které tak byly v kontaktu se všemi třemi koncentracemi.

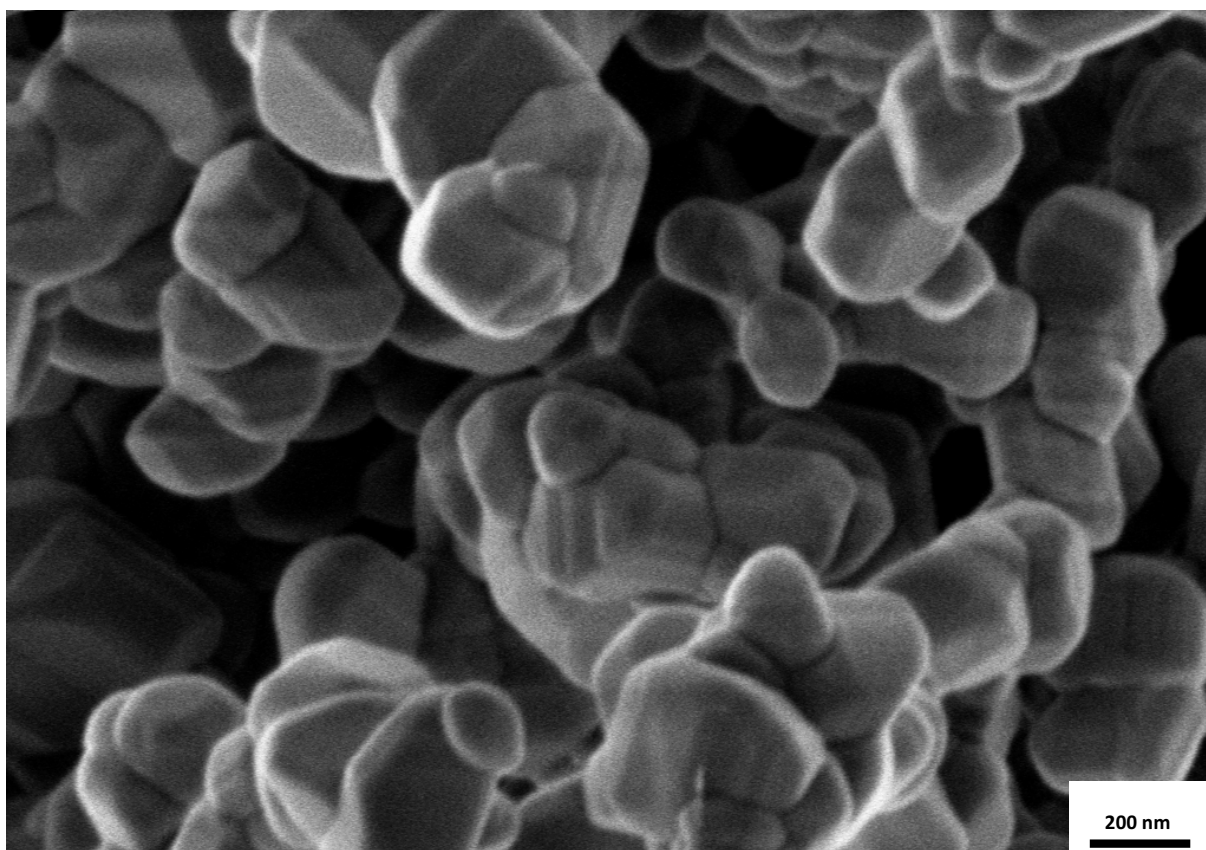


Obrázek 5 Připravené antibakteriální testy na vzorcích PVB a PVB-CuO s bakterií SE

## 4 Výsledky

Výsledné vzorky byly hodnoceny z hlediska struktury na rastrovacím elektronovém mikroskopu Zeiss Ultra Plus. Dále byla hodnocena jejich antibakteriální aktivita ke gram pozitivním i gramnegativním bakteriím jako jejichž zástupci byly vybrány bakterie *Staphylococcus epidermis* a *Escherichia coli*.

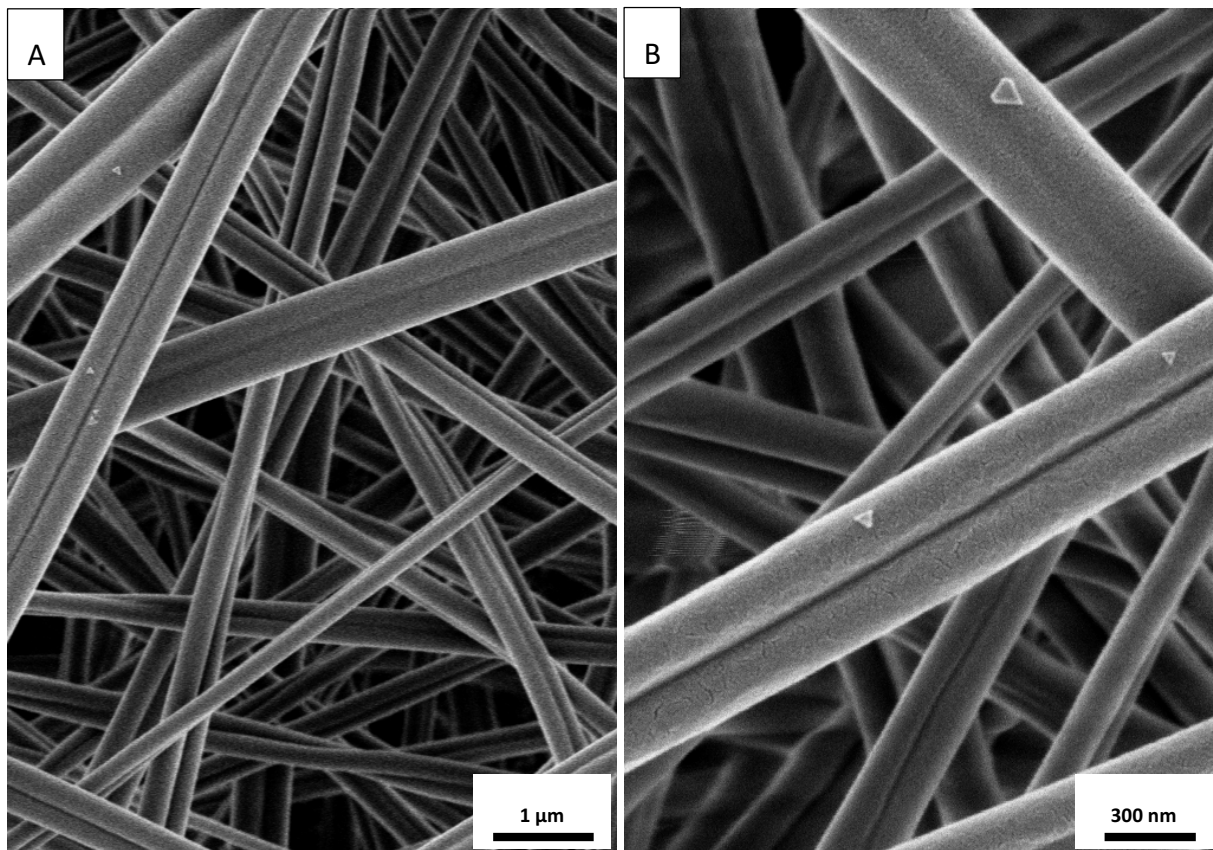
### 4.1 Připravené nanočástice CuO



*Obrázek 6 Nanočástice CuO vyrobené zelenou syntézou za využití kyseliny citrónové*

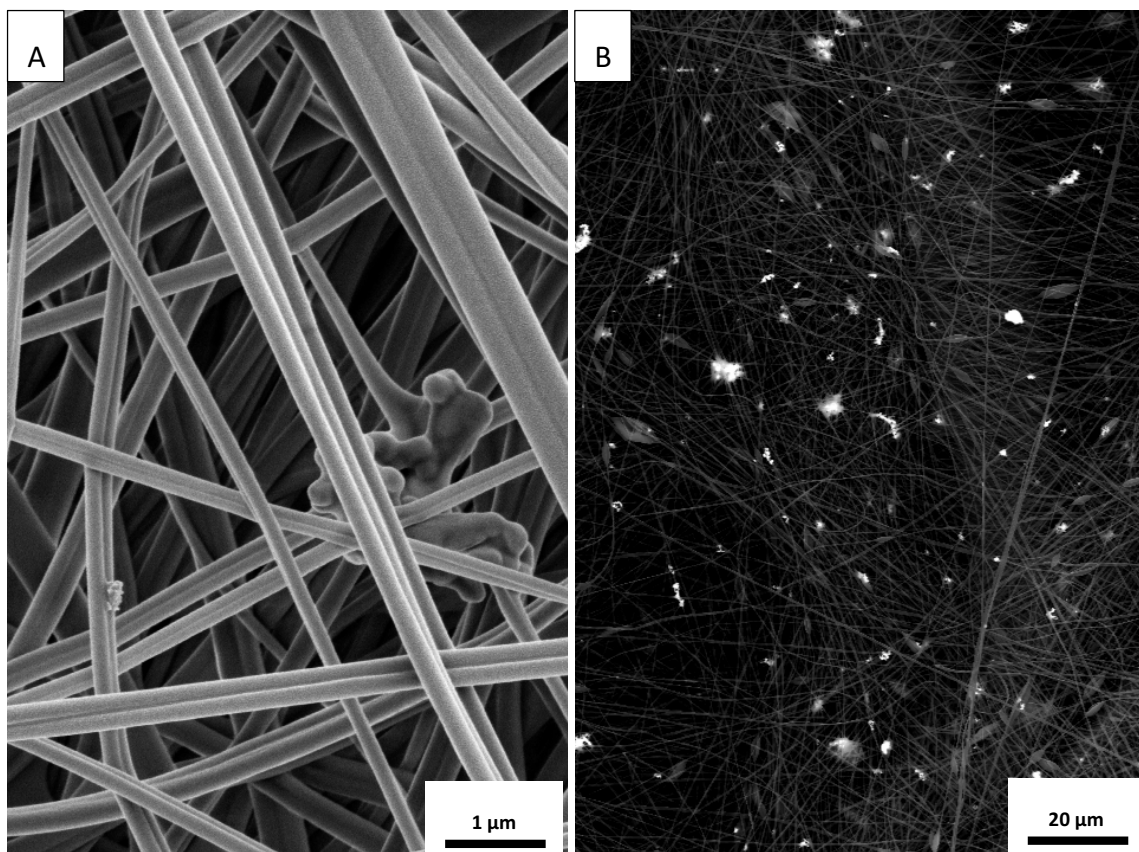


## 4.2 Struktura připravených nanovláknenných textilií



*Obrázek 7 Vlákná z čistého PVB topografický kontrast při zvětšení 10 000× (A) a 25 000× (B). Vlákná mají homogenní strukturu a průměr 150–900 nm.*

Pro srovnání vláken po a před úpravou bylo zvlákňováno čisté PVB. Na obrázku 7 jsou tato vlákna vyfocena na SEM při zvětšení 10 000× a 25 000×. Vlákná vykazují rovnoměrnou strukturu bez výskytu defektů, průměr vláken se pohybuje v rozmezí 150 až 300 nm.

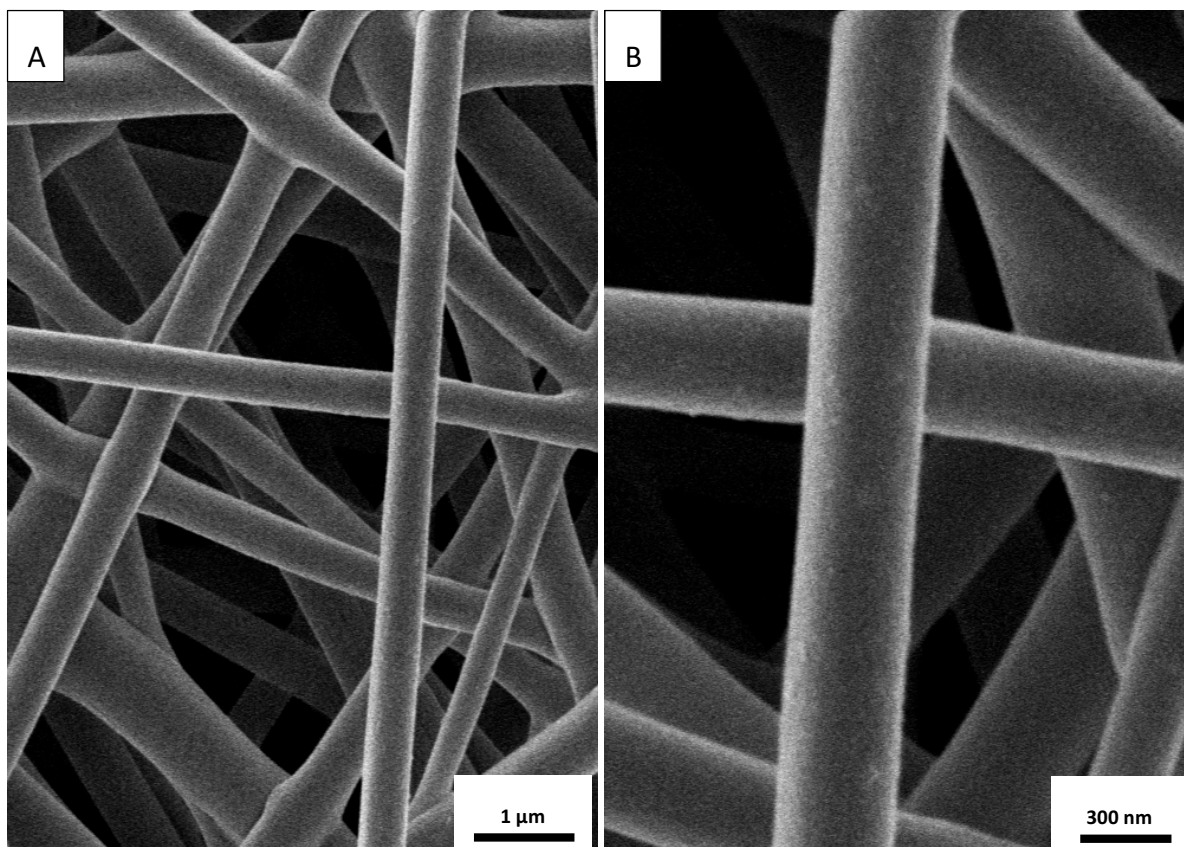


*Obrázek 8 Vlákna z PVB s přimíchanými nanočásticemi oxidů mědi do zvlákňovaného roztoku. A) topografický kontrast, zvětšení 10 000×; B) snímek v chemickém kontrastu, kde jsou částice CuO viditelné jako svítící body, zvětšení 500×. Průměr vláken je 140-800 nm.*

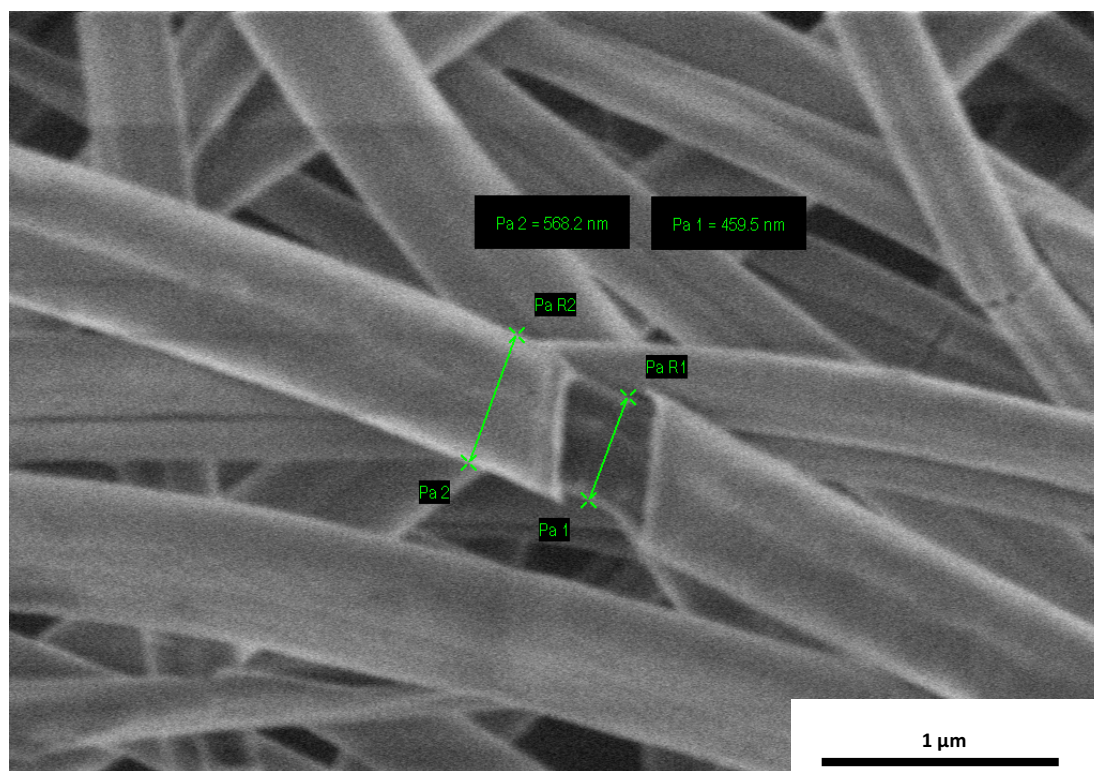
Na obrázku 8 jsou vyfoceny nanovláknenné textilie zvlákňované z roztoku PVB s 3,4 hm. % nanočástic oxidů mědi. V levé části je snímek pořízený v topografickém kontrastu, kde je dobře vidět shluk nanočástic zakotvený ve vláknu; vpravo je snímek pořízený v chemickém kontrastu, kde je možné pozorovat plošnou distribuci nanočástic oxidů mědi. Shluky CuO jsou rovnoměrně distribuovány po celé ploše vzorku.

Strukturu nanovláknenné textilie vyrobené z čistého PVB a poté plasmaticky povrchově upravené vrstvou oxidů mědi za průtoku O<sub>2</sub> 15 sccm je možné pozorovat na obrázku 9.



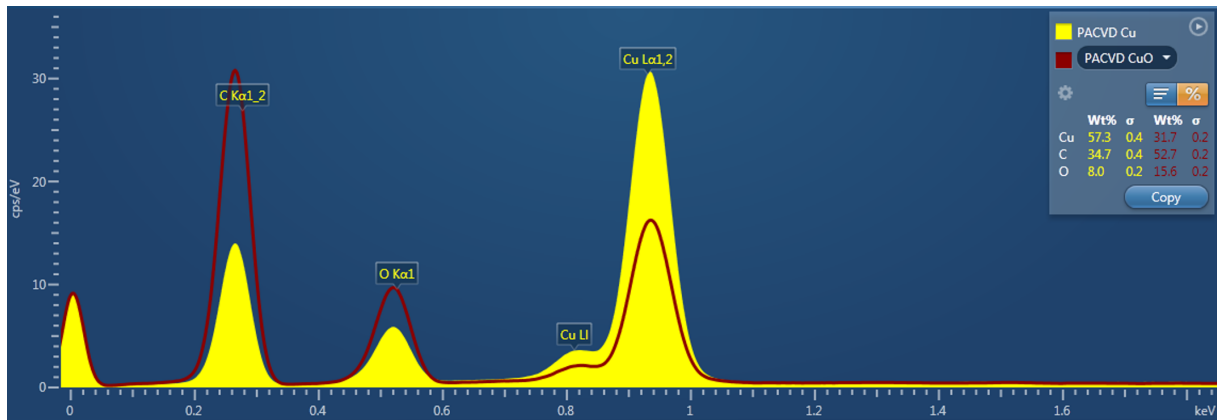


Obrázek 9 Nanovláknenná membrána z PVB s RF PACVD deponovaou vrstvou oxidů mědi při průtoku kyslíku 15 sccm; zvětšení 10 000 (A) a 25 000× (B). Vláknna jsou rovnoměrně pokryta vrstvou Cu-O. Je patrný nárůst průměru vláken na 250-900 nm v důsledku depozice vrstvy.



Obrázek 10 Nanovláknenná membrána z PVB s RF PACVD deponovaou vrstvou oxidů mědi při průtoku kyslíku 35 sccm; zvětšení 25 000×. Vzorek se v důsledku vyššího stupně oxidace mědi nabíjel. Bylo možné pozorovat praskliny v deponované vrstvě.

Na obrázku 10 je viditelné vlákno vzorku PACVD-Cu-O, na kterém praskla naprášená vrstva oxidů mědi. To umožnilo změření tloušťky naprášené vrstvy. Jak z tohoto obrázku vyplývá, tloušťka vrstvy je přibližně 50 nm.



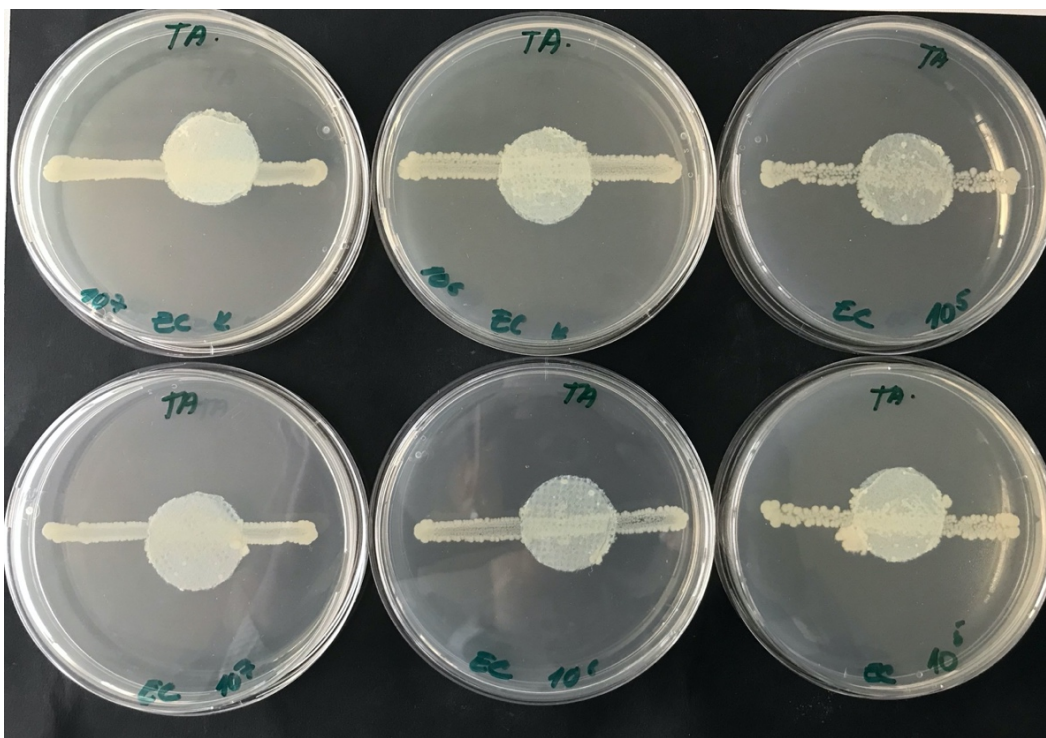
Obrázek 11 porovnání energiově disperzních spekter vzorků PACVD-Cu a PACVD-Cu-O prokazující rozdílný poměr Cu/O v deponovaných vrstvách.

U vzorků s plasmaticky deponovanými vrstvami Cu-O byla provedena lokální chemická analýza za účelem ověření rozdílného stupně oxidace Cu. Jak je zřejmé z obrázku 11, při vyšším parciálním tlaku  $O_2$  bylo docíleno vyššího stupně oxidace mědi.



### 4.3 Antibakteriální testy

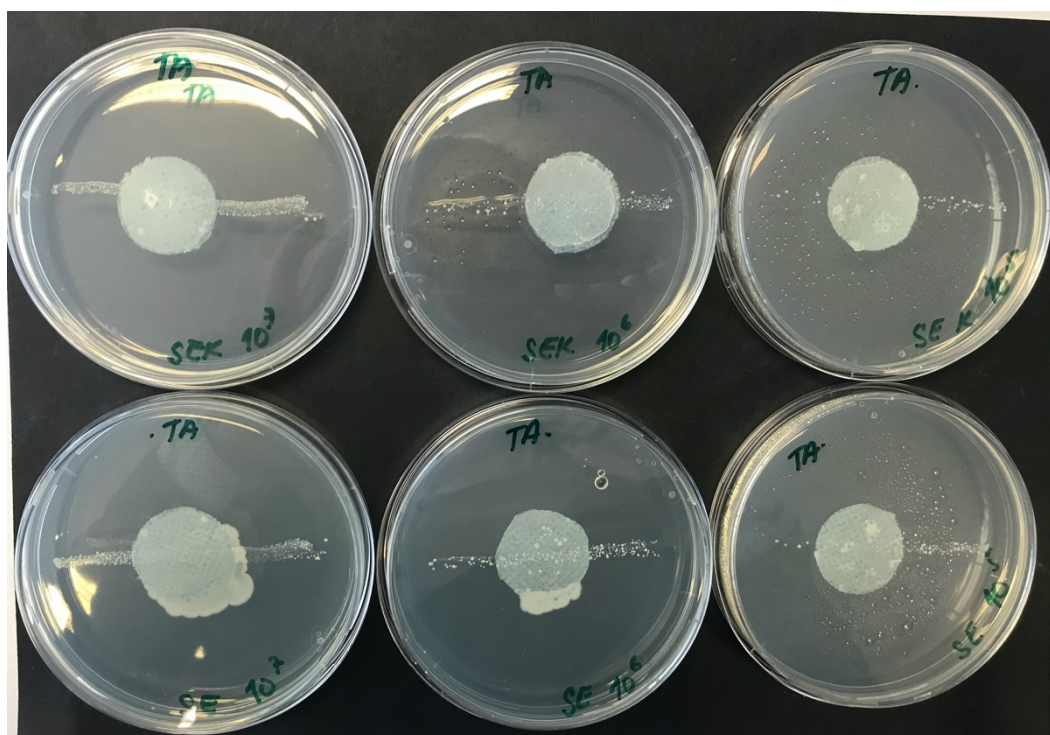
Antibakteriální efektivita provedených úprav byla hodnocena na základě modifikované metody AATCC147.



Kontrolní vzorky –  
čisté PVB (PVB)

Testovací vzorky  
s nanočásticemi  
oxidů mědi ve

Obrázek 12 Výsledky antibakteriálních testů s *Escherichia coli* na vzorcích PVB a PVB-CuO. Vzorky nevykazují žádné viditelné inhibiční účinky, kompletně podrůstají bakteriemi.

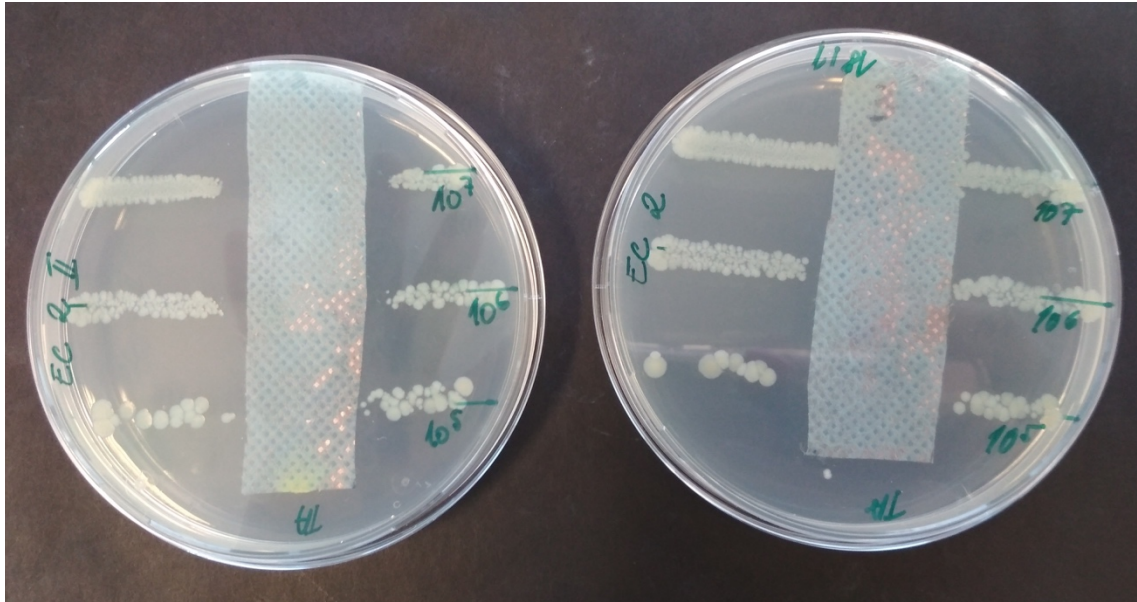


Kontrolní vzorky –  
čisté PVB (PVB)

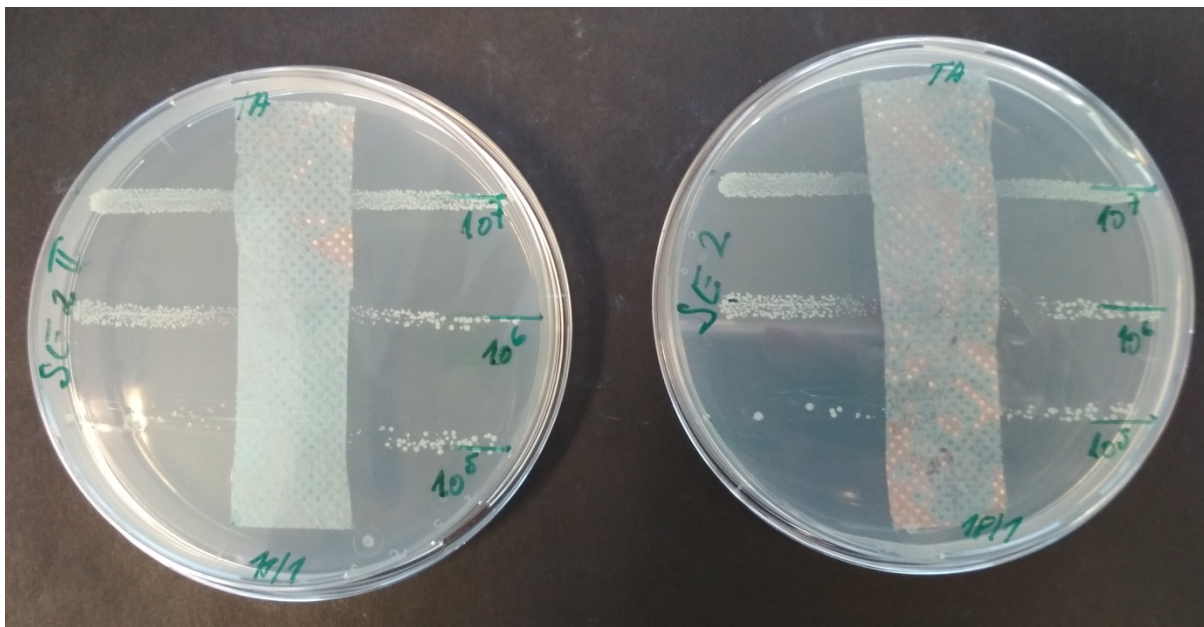
Testovací vzorky  
s nanočásticemi  
oxidů mědi ve

Obrázek 13 Výsledky antibakteriálních testů se *Staphylococcus epidermidis* na vzorcích s nanočásticemi oxidů mědi ve vláknech v srovnání se slepými vzorky

Kontrolní vzorky (PVB), také označované jako slepé vzorky, byly podrobené antibakteriálním testům současně se vzorky PVB-CuO. Jak je dobře patrné z obrázků 12 a 13, u vzorků čistého PVB i PVB-CuO došlo k podrostu bakteriemi EC i SE, což znamená, že nejsou pozorovatelné žádné signifikantní antibakteriální účinky těchto nanovláknenných textilií vůči grampozitivním ani gramnegativním bakteriím.

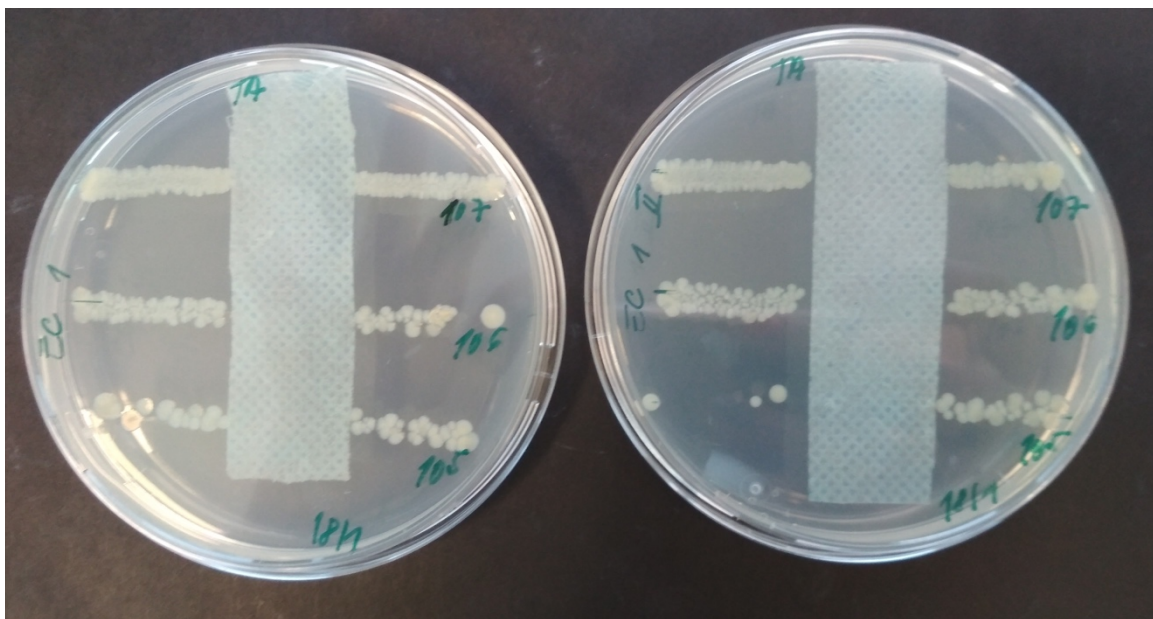


Obrázek 14 Duplet vzorků PACVD-Cu testovaných na účinnost vůči EC. Je možné pozorovat výrazné inhibiční zóny značící vysokou antibakteriální účinnost vůči EC.

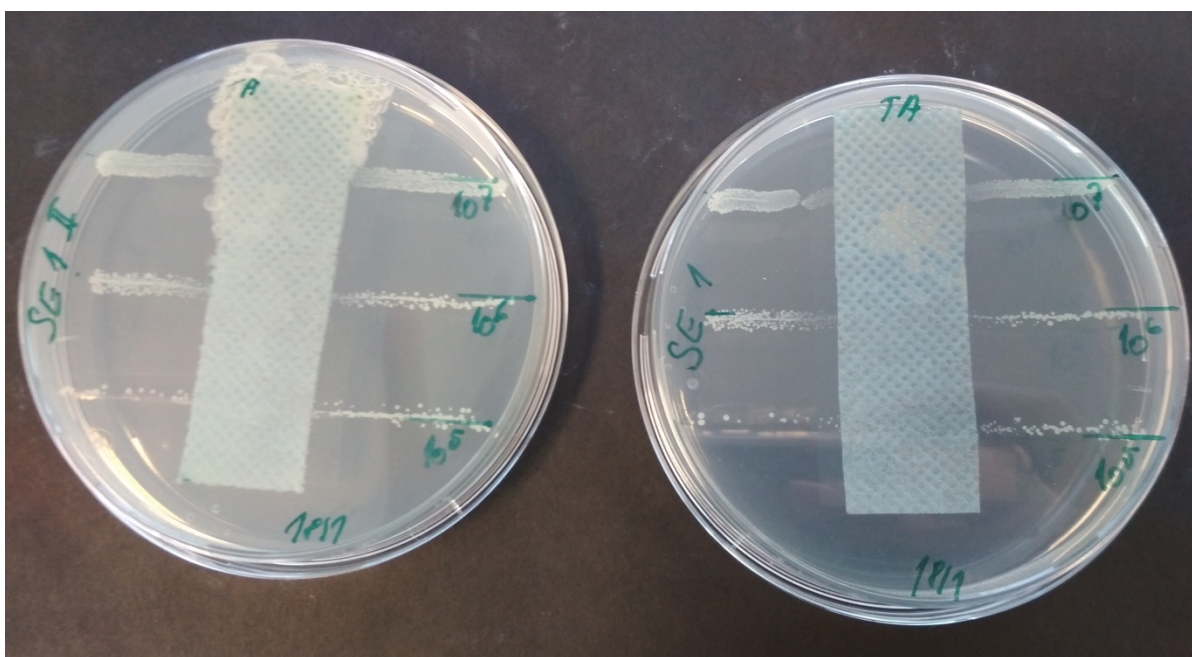


Obrázek 15 Duplet vzorků PACVD-Cu testovaných na účinnost vůči SE. Je možné pozorovat inhibiční zóny, ale jsou méně výrazné než u vzorku testovaného s EC.





Obrázek 16 Duplet vzorků PACVD-Cu-O testovaný na účinnost vůči EC. Je možné pozorovat inhibiční zóny na vzorku vpravo. Vlevo je vzorek téměř bez inhibičních zón.



Obrázek 17 Duplet vzorků PACVD-Cu-O testovaných na účinnost vůči SE. Je možné pozorovat velmi malé inhibiční zóny.

Antibakteriální testy vzorků PACVD-Cu (obr. 14 a 15) a PACVD-Cu-O (obr. 16 a 17) prokázaly antibakteriální účinnost deponovaných vrstev vůči EC a SE. V obou případech byly pozorovány mírně širší inhibiční zóny u vzorků s EC proti SE.

Celkem byly vytvořeny 2 vzorky s plasmaticky deponovanými vrstvami oxidů mědi. Na rastrovacím elektronovém mikroskopu byla provedena prvková analýza (obr. 11) a vzorek PACVD-Cu vykazoval větší podíl mědi, zatímco u druhého vzorku PACVD-Cu-O byl prokázán

vyšší stupeň oxidace Cu. Na obrázcích 14 a 16 je možné pozorovat výsledky antibakteriálních testů vzorků PACVD-Cu a PACVD-Cu-O, které byly testovány na antibakteriální účinky na gramnegativní bakterie, jako jejichž zástupce byl vybrán kmen *Escherichia coli*. Na obrázcích 15 a 17 je možné pozorovat výsledky antibakteriálních testů vzorků PACVD-Cu a PACVD-Cu-O, což byly vzorky testované na antibakteriální účinky vůči grampozitivním bakteriím, jako jejichž zástupce byl vybrán kmen *Staphylococcus epidermidis*. Všechny vzorky s plasmaticky deponovanou vrstvou na bázi Cu-O na povrchu nanovlákně textilie prokazatelně vykazují antibakteriální účinnost.

## 5 Diskuze

Tato práce je zaměřena na posouzení efektivity různých metod ovlivnění antibakteriálních účinků zvolené nanovlákněné vrstvy. Jakožto antibakteriální agens zde byla zvolena měď, respektive její oxidy.

V prvním případě byly oxidy mědi do struktury připravených nanovlákněných membrán zakomponovány ve formě nanočástic při procesu zvlákňování. V laboratorních podmínkách byly nejprve pomocí zelené syntézy připraveny nanočástice CuO za využití kyseliny citrónové. Velikost takto připravených částic se pohybovala okolo 100 až 350 nm. Částice jeví tendenci ke shlukování, proto byly před zvlákňováním roztoku nejprve vloženy do ultrazvukové vany, aby došlo k jejich disperzi.

Druhou zvolenou metodikou byla depozice na povrch nanovláken pomocí plasmatu, což bylo realizováno v laboratoři plasmatických úprav na CxI TUL. Byly vytvořeny dvě vrstvy Cu-O s odlišným průtokem O<sub>2</sub>, aby byl simulován vliv oxidace měděného povlaku v čase.

Efektivita těchto úprav byla vyhodnocena na základě antibakteriálních testů.

### 5.1 Struktura nanovlákněných textilií

Pomocí elektrostatického zvlákňování byly připraveny nanovlákněné textilie z čistého PVB, PVB aditivovaného nanočásticemi CuO zvlákňované z blendu a vzorky PVB, jež byly následně naprášeny oxidy mědi pomocí RF PACVD.

Srovnáním struktury pozorované pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu Zeiss Ultra Plus lze zjistit, že morfologie, průměr vláken ani jejich makroskopická struktura nebyly ovlivněny přidáním nanočástic CuO do zvlákňovaného roztoku (obr. 7A vs. 8A). Je viditelné, že jsou částice ve vláknech dobře ukotveny, ale tvoří shluky (obr. 8A). Ty nabývají různých velikostí. Ze snímku v chemickém kontrastu (obr. 8B) je dobře patrné, že shluky CuO jsou ve vzorku distribuovány rovnoměrně.

Naprášením vláken oxidy mědi pomocí RF PACVD (obr. 9A,B a 10) však ovlivnilo průměr vláken, nárůst průměru vláken činí přibližně 100 nm, čímž současně dochází se snížení velikosti pórů. V důsledku toho lze předpokládat horší prodyšnost plasmaticky modifikovaných vzorků, což by však mělo být potvrzeno dalšími laboratorními testy. Na obrázku 10 je také možné pozorovat prasknutí naprášené vrstvy. Tedy mechanickým

namáháním pravděpodobně může docházet k jejímu praskání. Na zkoumaný vzorek bylo naprášeno přibližně 50 nm oxidů mědi. Je možné, že došlo k prasknutí naprášené vrstvy protažením vlákna a tím k zúžení průměru vlákna samotného. Snížením depozičního času by bylo možné docílit tenčích vrstev, a tak redukovat jejich praskání na povrchu i ovlivnění mechanických vlastností nanovlákněné textilie. Je možné předpokládat, že i tenčí vrstva by vykazovala stejné antibakteriální účinky. Bylo by však nutné si tuto hypotézu potvrdit dalšími testy.

## 5.2 Antibakteriální účinky

Efektivita antibakteriálních úprav byla hodnocena na základě testu AATCC147, který se ukázal dostatečně vhodný pro kvalitativní posouzení účinnosti jednotlivých úprav.

Z obrázků 12 a 13 je patrné, že všechny vzorky PVB i PVB-Cu jsou podrostlé a není mezi nimi viditelný rozdíl. V okolí vzorků se nevyskytují žádné pozorovatelné inhibiční zóny. Lze tedy předpokládat, že přídavek CuO do nanovlákněných membrán nevedl k významnému navýšení antibakteriální účinnosti. Toto lze vysvětlit tím, že nanočástice CuO jsou obaleny polymerem, což zabraňuje přímému kontaktu s bakterií. Jejich využití pro oblasti s potřebou antibakteriálních účinků je v této podobě nevhodné.

Lze předpokládat, že přidaná koncentrace 3,4 hm. % CuO nebyla dostatečná pro testované koncentrace bakterií. Je možné, že zvýšením jejich koncentrace by došlo ke zlepšení antibakteriální účinnosti, protože by se ve vláknech nacházely blíže u sebe a tvořily menší prostor pro růst bakterií. Mohlo by však dojít pouze k jejich většímu shlukování, a tedy vzdálenosti mezi částicemi by byly stejné jen by byly shluky větší.

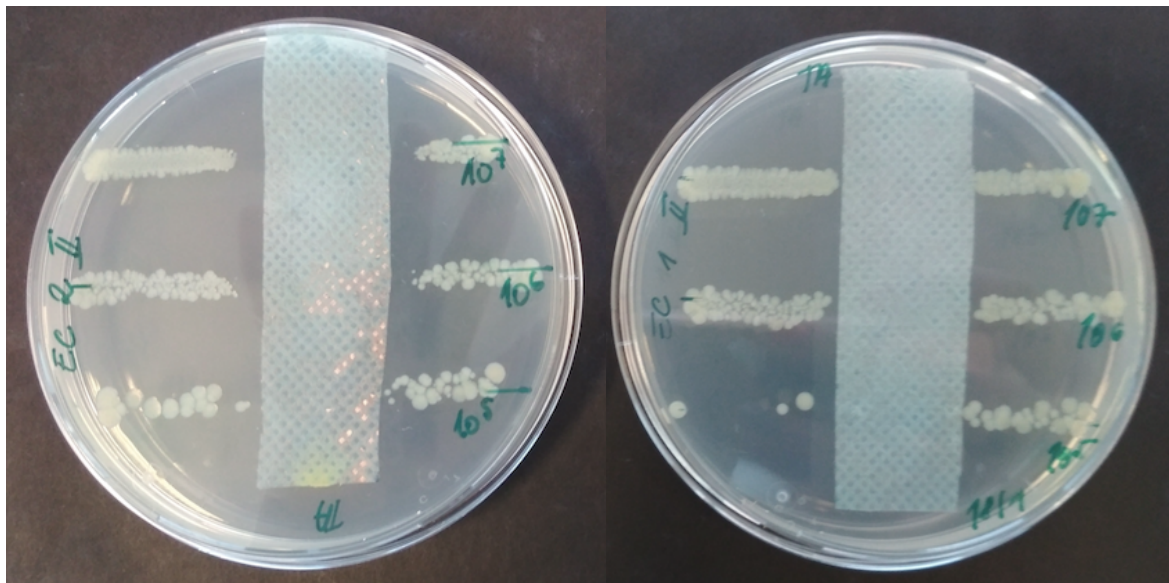
Kvůli shlukování nanočástic CuO došlo k tomu, že ve struktuře nanovlákněné textilie jsou oblasti, kde nejsou žádné částice CuO, a následkem toho zde mohou růst bakterie a nepřijdou s těmito částicemi do kontaktu. Lepší rozbití shluků nebo zabránění jejich tvorbě by pravděpodobně vedlo k lepšímu rozptýlení nanočástic a tím k tvorbě menších oblastí, kde by s nimi bakterie nepřišly do kontaktu. V ideálním případě by bylo vhodné dosáhnout takového rozptýlení, které by tvořilo tyto oblasti menší, než je velikost jedné bakteriální kolonie, proti jejímuž kmeni má být vzorek účinný. Takové rozptýlení by však mohlo způsobit naprosté obalení nanočástic či jejich shluků polymerem a tím jejich izolaci uvnitř vláken.



Kvůli tomu by poté nebylo možné docílit přímého kontaktu bakterií s nanočásticemi CuO, bez kterého se neprojevují antibakteriální účinky.

Nanovláknenné textilie s deponovanou vrstvou oxidů mědi metodou RF PACVD vykazovaly lepší výsledky v antibakteriálních testech. Na obrázku 19 jsou pozorovatelné inhibiční zóny na vzorcích PACVD-Cu i PACVD-Cu-O testovaných na účinnost vůči SE. Vzorek PACVD-Cu-O vlevo na obrázku 17 má v oblasti, kde bylo naneseno inokulum s nejvyšší koncentrací  $10^7$  CFU, obrostlé kraje. To mohlo být způsobeno porušením naprášené vrstvy oxidů mědi při manipulaci, jeho kontaminací nebo oddělením od podkladového materiálu, který nebyl naprášen, a tak tvořil pro bakterie scaffold.

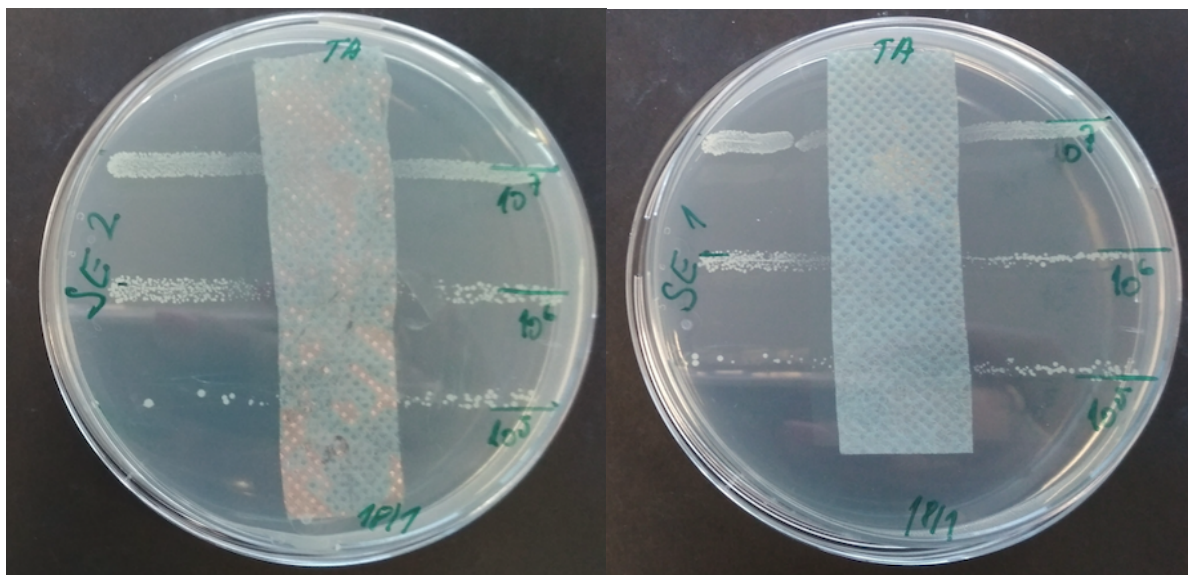
Na obrázku 18 je srovnání výsledků antibakteriálních testů na vzorcích PACVD-Cu a PACVD-Cu-O s EC. U obou vzorků je zřetelně viditelná inhibiční zóna. Pro přesnější (kvantitativní) vyhodnocení by bylo vhodné využít metodu AATCC100, dle které by bylo možné přesněji vyjádřit antibakteriální účinnost obou vzorků a zda na ni má oxidační stupeň naprášené mědi vliv.



Obrázek 18 Srovnání výsledků antibakteriálních testů vzorků PACVD-Cu (vlevo) a PACVD-Cu-O (vpravo) na účinnost vůči gramnegativnímu kmeni bakterií – EC.

Ve srovnání antibakteriálních účinků vzorků na grampozitivní a gramnegativní bakterie (obr. 14 vs. 15; resp. 16 vs. 17) mezi nimi není viditelný rozdíl. Vzhledem k použité metodě AATCC147, která nespecifikuje přesně míru antibakteriálních účinků, není možné potvrdit ani vyvrátit teorii, kterou popisuje Tamayo (2016), že gramnegativní bakterie jsou na nanočástice CuO citlivější.

Vzájemným porovnáním výsledků PACVD-Cu a PACVD-Cu-O (obr. 18 a 19) nelze s jistotou stanovit, zda stupeň oxidace Cu-vrstvy má nějaký vliv na pozorovanou antibakteriální účinnost. Za tímto účelem by bylo vhodné provést další testování dle AATCC100 a na větším množství vzorků umožňujícím relevantní kvantifikaci.



Obrázek 19 Srovnání výsledků antibakteriálních testů vzorků PACVD-Cu (vlevo) a PACVD-Cu-O (vpravo) na účinnost vůči grampozitivnímu kmeni bakterií – SE

### 5.3 Použité materiály

Vzorky nanovlákných membrán byly zvlákněny z roztoku PVB. Nanočástice CuO byly vyráběny zelenou syntézou za použití kyseliny citrónové. Metodou RF PACVD byla z měděného targetu deponovaná vrstva oxidů mědi na nanovláknou membránu z čistého PVB.

#### 5.3.1 Měď a její oxidy

Využití mědi jako antibakteriální složky se dle výsledků zdá být velmi vhodné. Jedná se však o materiál, jehož účinky na lidské tělo nejsou dostatečně prozkoumány. Jeho využití je omezené pouze na místa, kde by nepřišla měď přímo do kontaktu s kůží. Vzhledem k jejím antibakteriálním účinkům a jejímu mechanismu zabíjení buněk dochází k neselektivnímu hubení což by mohlo vést například k narušení přirozené mikroflóry kůže či zapříčinit nežádoucí alergické reakce.

Vdechování nanočástic mědi je potenciálně také nebezpečné. V současnosti nebyla zatím dostatečně prokázána souvislost mezi zdravotními problémy a jejich využíváním. Jako každé nanočástice mají však tendence se shlukovat a ukládat v lidském těle. Měď je

v mikroskopických rozměrech pro lidské tělo toxická. Jak bylo již zmíněno, vlastnosti látek mohou být však v případě mikro a nano rozměrů odlišné. Každá jejich vlastnost musí být otestována, protože neexistuje pravidlo, které by popisovalo, jak se budou měnit vlastnosti látek v závislosti na jejich rozměrech.

Pro předcházení možných zdravotních problémů kvůli kontaktu mědi s lidským tělem je vhodné ho využívat v místech jako jsou například filtrace. I v takových použitích však musí být zajištěno, že jsou nanočástice fixovány na nanotextilii a nebude docházet k jejich oddělování a tím i kontaminaci filtrovaného materiálu. V případě zvlákňování s nanočásticemi CuO ve zvlákňovacím roztoku jsou, jak je vidět na obrázku 8, shluky CuO pevně vázány ve vláknech. K uvolnění těchto částic by však mohlo dojít v důsledku mechanického namáhání. Při použití v oblastech, kde dochází k abrazi, by tyto shluky nanočástic mohly kontaminovat prostředí. Antibakteriální účinnost vzorku PVB-Cu však nebyla prokázána, a tedy by musely proběhnout další testy pro stanovení potřebných koncentrací nanočástic CuO v roztoku či lepší dispergaci jejich shluků. Naprášená vrstva oxidů mědi na povrch vláken metodou RF PACVD je sice jednolitá a kompaktní, ale na obrázku 10 je viditelné, že se jedná o křehkou strukturu, která může praskat, a tedy by mohlo dojít k odlamování jejích částí, které by následně nebyly nijak fixovány k nanovláknenné textilii a kontaminovaly by filtrát. V případě použití čisté mědi by šlo o tažný materiál, který by nepraskal. Měď však s časem oxiduje, a tedy křehne. V případě, že by docházelo k odlamování částí naprášené vrstvy oxidů mědi, ovlivňovalo by to i antibakteriální účinky takto upravené nanovláknenné textilie. Podnětem pro další výzkum by mohlo být zkoumání vlivu mechanického namáhání vrstev s nižším i vyšším oxidačním stupněm na jejich strukturu a antibakteriální účinnost.

### 5.3.2 Nanovláknenná textilie z PVB

Jak již bylo dříve prokázáno, PVB se ukázal jako vhodný materiál pro inkorporaci nanočástic ze suspenze (Grégr, 2019). PVB bylo vybráno především kvůli jeho rozpustnosti v ethanolu, jehož toxicita pro lidský organismus není vysoká. Manipulace s tímto materiálem tedy byla jednodušší. Pro různá využití by bylo možné otestovat více druhů polymerů pro použité typy antibakteriální úpravy. Využití jiných polymerů by také mohlo podpořit antibakteriální účinky.

## 6 Závěr

- Byly připraveny NPs CuO pomocí zelené syntézy za využití kyseliny citrónové
- NPs CuO byly pomocí elektrostatického zvlákňování inkorporovány do nanovlákně PVB textilie
- Na vzorky nanovlákněných textilií z čistého PVB byly pomocí RF PACVD deponovány tenké vrstvy na bázi Cu-O s odlišným poměrem Cu/O
- Připravené vzorky byly charakterizovány pomocí SEM.
- Byly realizovány testy antibakteriální účinnosti dle modifikované metody AATCC147 na kmenech EC a SE.
- Na základě provedených antibakteriálních testů nebyl prokázán vliv přídavku 3,4 hm.% CuO na antibakteriální účinnost
- Depozice Cu-O vrstev pomocí PACVD vedla ke tvorbě inhibičních zón, což svědčí o antibakteriální efektivitě úpravy.

## 7 Literatura

- Balogh, A., Cselkó, R., Démuth, B., Verreck, G., Mensch, J., Marosi, G., Nagy, Z.K., 2015. Alternating current electrospinning for preparation of fibrous drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics* 495, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.08.069>
- Frenot, A., Chronakis, I.S., 2003. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 8, 64–75. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(03\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(03)00004-9)
- Grégr, J., Mészáros, L., Kozlovská, M., Havlíček, K., Kuželová Košťáková, E., 2019. Polymer composites 2019. *Elektricky zvlákněné materiály s integrovanými anorganickými částicemi*, POLYMER COMPOSITES 2019 – Proceedings, Praha, Czech Technical University in Prague, ISBN: 978-80-01-06582-2, p. 23-28, 6 pages. Dostupné z: <https://polymer-composites.cz/sbornik-konference-2019/>
- Kalaiselvi, E., Yasothe, P., Pachiyappan, K. M., 2019. Phytochemical screening and antimicrobial potential of melia azedarach bark extraxts for developing health care textile materials. *World journal of pharmaceutical research*. India. Volume 8, Issue 2, 776-787. ISSN: 2277-7105.
- Kolářová, L., 2014. Úvod do nanovědy a nanotechnologií. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Kuncová, V., 2017. Nanovlákněné vzduchové filtry. Zlín. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Polášková, M.
- Long, Y.-Z., Yan, X., Wang, X.-X., Zhang, J., Yu, M., 2019. Electrospinning, in: *Electrospinning: Nanofabrication and Applications*. Elsevier, pp. 21–52. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00002-9>
- Maillard, J.-Y., Hartemann, P., 2013. Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. *Critical Reviews in Microbiology* 39, 373–383. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.713323>
- Melicherčíková, V., 2015. Sterilizace a dezinfekce ve zdravotnictví. 2. Vydání. Praha: Galén. 174 str. ISBN: 978-80-7492-180-3.
- Pokorný, P., Kostakova, E., Sanetnik, F., Mikes, P., Chvojka, J., Kalous, T., Bilek, M., Pejchar, K., Valtera, J., Lukas, D., 2014. Effective AC needleless and collectorless electrospinning for yarn production. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16, 26816–26822. <https://doi.org/10.1039/C4CP04346D>
- Salazar, H., Martins, P.M., Santos, B., Fernandes, M.M., Reizabal, A., Sebastián, V., Botelho, G., Tavares, C.J., Vilas-Vilela, J.L., Lanceros-Mendez, S., 2020. Photocatalytic and antimicrobial multifunctional nanocomposite membranes for emerging pollutants water treatment applications. *Chemosphere* 250, 126299. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126299>
- Sarwar, Z., Krugly, E., Danilovas, P.P., Ciužas, D., Kauneliene, V., Martuzevicius, D., 2019. Fabrication and characterization of PEBA fibers by melt and solution electrospinning.

Journal of Materials Research and Technology 8, 6074–6085.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.10.001>

Seibert, O., 2019. Vliv přídavku nanočástic připravených zelenou syntézou na tribologické vlastnosti lubrikantu. Liberec. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci.

Sridhar, R., Venugopal, J.R., Sundarrajan, S., Ravichandran, R., Ramalingam, B., Ramakrishna, S., 2011. Electrospun nanofibers for pharmaceutical and medical applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 21, 451–468. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(11\)50075-9](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(11)50075-9)

Shafey, A.M.E., 2020. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review. *Green Processing and Synthesis* 9, 304–339. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0031>

Tang, S., Zeng, Y., Wang, X., 2010. Splashing needleless electrospinning of nanofibers. *Polym Eng Sci* 50, 2252–2257. <https://doi.org/10.1002/pen.21767>

Tamayo, L., Azócar, M., Kogan, M., Riveros, A., Páez, M., 2016. Copper-polymer nanocomposites: An excellent and cost-effective biocide for use on antibacterial surfaces. *Materials Science and Engineering: C* 69, 1391–1409. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.08.041>

Technická Univerzita v Liberci. A method of nanofibers production from a polymer solution using electrostatic spinning and a device for carrying out the method. Inventors: Jirsak O., Sanetnik F., Lukas D., Kotek V., Martinova L., Chaloupek J. European patent specification. EP 1673493 B1. 08.09.2004.

Textilní zkušební ústav, s.p., VaP, 2020 [online]. [cit. 26.07.2020] Dostupné z: <https://www.tzu.cz/mikrobiologie-mikrobiologie>.

Trogolo, J., 2006. Filter media: bacterial growth on filters – the silver solution. *Filtration & Separation* 43, 28–29. [https://doi.org/10.1016/S0015-1882\(06\)70918-1](https://doi.org/10.1016/S0015-1882(06)70918-1)

Ungur, G., Hruza, J., 2017. Modified polyurethane nanofibers as antibacterial filters for air and water purification. *RSC Adv.* 7, 49177–49187. <https://doi.org/10.1039/C7RA06317B>

Zouzalík <https://21století.cz/2005/01/21/unikatni-technologie-pro-vyrobu-nanovlaken-vznikla-v-cr/>