

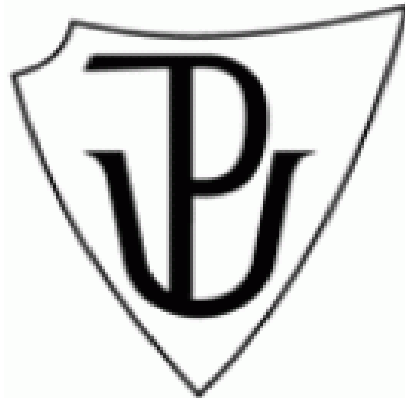
UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

**Katedra biofyziky**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Růst nanočástic vzácných kovů ze zárodků a jejich interakce s  
porfyriny**



Vypracovala: Bc. Kateřina Kumbárová

Studijní obor: Molekulární biofyzika

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Karolína Machalová Šišková, Ph.D.

OLOMOUC 2020



## **Bibliografická identifikace**

*Jméno a příjmení autora:* Bc. Kateřina Kumbárová

*Název práce:* Růst nanočástic vzácných kovů ze zárodků a jejich interakce s porfyriny

*Typ práce:* Experimentální

*Pracoviště:* Katedra biofyziky

*Vedoucí práce:* Doc. RNDr. Karolína Machalová Šišková, Ph.D.

*Rok obhajoby práce:* 2020

*Abstrakt:*

Unikátní optické vlastnosti nanočástic ušlechtilých kovů (především Ag a Au) jsou známy už velmi dlouhou dobu a lze je úspěšně využít v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii (SERS). Připravit tyto nanočástice v roztoku lze mnohými dispergačními i kondenzačními postupy. V této experimentální práci se zaměříme na kondenzační syntézu využívající zárodků nanočástic připravených předem (Au nanočástice). Tyto zárodky necháme nadále narůstat do větších rozměrů použitím odlišného plasmonického kovu (tzn. vznik core-shell částic Au-Ag). Připravené nanočástice lze charakterizovat pomocí UV-Vis spektroskopie, transmisní elektronové mikroskopie (TEM), dynamického rozptylu světla (DLS) a měření zeta potenciálů. Rovněž otestujeme schopnost výsledných nanočástic zesílit Ramanův rozptyl pro vybrané porfyriny.

*Klíčová slova:* seeded-growth, Ag, silver, Au, gold nanoparticle(s), nanocrystal(s), SERS

*Počet stran:* 49

*Počet příloh:* 1

*Jazyk:* Čeština



## **Bibliographical identification**

*Author's first name and surname:* Bc. Kateřina Kumbárová

*Title of thesis:* Growth of noble metal nanoparticles from seeds and their interaction with porphyrins

*Type of thesis:* Experimental

*Department:* Department of biophysics

*Supervisor:* Doc. RNDr. Karolína Machalová Šišková, Ph.D.

*The year of defence:* 2020

*Abstract:*

Unique optical characteristics of nanoparticles of noble metals (in particular Ag and Au) have been known for a long time and they can be used successfully in the Surface-Enhanced Raman spectroscopy (SERS). These nanoparticles could be prepared in solution by a lot of dispersion and condensation procedures. This experimental thesis is focused on condensation synthesis that uses the early stage of nanoparticles prepared in advance (Au nanoparticles). We let the nanoparticles in the early stage grow bigger in size by means of using different plasmonic metals (this means the emergence of core-shell particles Au-Ag). The prepared nanoparticles will be characterised by UV-Vis spectroscopy, TEM, DLS and measuring of zeta potential. We will also test the ability of the final nanoparticles to strengthen Raman scattering for selected porphyrins.

*Key words:* seeded-growth, Ag, silver, Au, gold nanoparticle(s), nanocrystal(s), SERS

*Number of pages:* 49

*Number of attachments:* 1

*Language:* Czech



Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vytvořila samostatně, pod vedením doc. RNDr. Karolíny Machalové Šiškové, Ph.D. a za použití literatury citované v závěru.

V Olomouci dne 10. 8. 2020

.....





**Poděkování:**

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce doc. RNDr. Karolíně Machalové Šiškové, Ph.D. za poskytnuté cenné rady, vstřícný přístup, trpělivost a čas, který mi během měření a psaní této diplomové práce věnovala. Můj velký dík také patří Bc. Jiřímu Švejdovi, který mne nejen při psaní práce podporoval, ale i během celého studia byl pro mne oporou a podporoval mě.



## Seznam zkratek

Ag	stříbro
Au	zlato
Au-Ag NPs	core-shell zlato-stříbrné nanočástice
Au-NPs	zlaté nanočástice
BNPs	bimetalické nanočástice
CNT	klasická nukleační teorie
Cu	měď
DLS	dynamický rozptyl světla
EDL	elektrická dvojvrstva
NC(s)	nanoklastr(y)
NPs	nanočástice
PCS	fotonová korelační spektroskopie
PPIX	protoporfyrin IX
QELS	kvazielastický rozptyl světla
SERS	povrchem zesílená Ramanova spektroskopie
SPR	povrchová plazmonová rezonance
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
TMPyP	5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridyl)-21H, 23H-porfin, tetratosylátová sůl
UV-Vis	ultrafialovo-viditelná spektroskopie



# Obsah

1. Úvod .....	1
2. Přehled problematiky .....	2
2.1 Koloidní systém .....	2
2.1.1 Koloidy .....	3
2.2 Vznik a stabilizace NPs .....	4
2.2.1 Nukleace .....	4
2.2.2 Stabilita NPs .....	5
2.3 Syntézy NPs .....	9
2.3.1 Syntéza bimetalických NPs .....	9
2.3.2 Syntéza zlatých NPs .....	11
2.3.3 Syntéza Au-Ag typu jádro-slupka .....	12
2.4 Porfyriny .....	13
2.5 Charakterizace NPs .....	13
2.5.1 UV-Vis spektroskopie .....	13
2.5.2 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) .....	15
2.5.3 Zeta-potenciál .....	16
2.5.4 Dynamický rozptyl světla (DLS) .....	17
2.5.5 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) .....	17
3. Cíle práce .....	19
4. Materiál a metody .....	20
4.1 Chemikálie .....	20
4.2 Příprava nanočástic .....	20
4.2.1 Citrátový koloid AuCitrLM .....	21
4.2.2 Citrátový koloid AuCitrWi .....	21
4.2.3 Borohydridový koloid Aubh .....	21
4.3 Tvorba Au-Ag NPs .....	21

4.3.1	Syntéza typu (A) Au-Ag NPs .....	22
4.3.2	Syntéza typu (B) Au-Ag NPs.....	23
4.3.3	Syntéza typu (C) Au-Ag NPs.....	23
4.4	Charakterizace Au-Ag NPs.....	23
4.4.1	UV-Vis spektroskopie .....	23
4.4.2	Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) .....	23
4.4.3	pH.....	24
4.4.4	Dynamický rozptyl světla (DLS) a měření zeta-potenciálů .....	24
4.4.5	Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie .....	24
5.	Výsledky a diskuse .....	25
5.1	UV-Vis spektra a TEM.....	25
5.1.1	Výsledný systém Au-CitrLM – Ag NPs.....	26
5.1.2	Výsledný systém Au-CitrWi – Ag NPs.....	28
5.1.3	Výsledný systém Aubh – Ag NPs.....	30
5.2	DLS a zeta-potenciál .....	31
5.2.1	Měření DLS a zeta-potenciálů Au-Ag NPs .....	32
5.3	Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) .....	36
6.	Závěr .....	44
7.	Literatura.....	46
8.	Příloha 1 .....	50

## 1. Úvod

NPs mají přirozený výskyt a jsou předmětem studia ve vědách jako je chemie, fyzika, nanotechnologie apod. Stále dochází k novým objevům, které umožňují pokrok a aplikaci NPs v oblasti vědy.

Syntéza NPs z ušlechtilých kovů, nejčastěji zlata (Au) a stříbra (Ag) je možná různými způsoby. V této práci byla příprava koloidních NPs založena na dvou-krokové syntéze Au-Ag využívající růst ze zárodků, konkrétně nanočásticových Au zárodků. Přídavkem  $\text{Ag}^+$  je pak vytvořena slupka a vznikají výsledné koloidní Au-Ag NPs s kovovým Au jádrem a Ag slupkou.

Připravené core-shell NPs jsou charakterizovány pomocí UV-Vis spektroskopie, transmisní elektronové mikroskopie (TEM), dynamického rozptylu světla (DLS) a měření zeta-potenciálů. Díky výborným optickým vlastnostem NPs je lze využít v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii (SERS). Otestujeme schopnost NPs zesílit Ramanův rozptyl pro modelové porfyriny (TMPyP, PPIX)

Úvodní část práce se zabývá přehledem problematiky týkající se NPs, především jejich vznikem, stabilitou a též vlastnostmi modelových porfyrinů. V následující části jsou popsány biofyzikální metody a přístroje, které byly při studii použity. Nakonec v experimentální části jsou popsány syntézy Au-Ag NPs, diskutovány výsledky charakterizace vlastností těchto koloidních NPs a studována jejich interakce s modelovými porfyriny.

## 2. Přehled problematiky

Za posledních několik desetiletí bylo vyvinuto vysoké úsilí pro vývoj syntetických strategií výroby nanočástic (NPs) o různé velikosti a morfologii (Polte 2015). NPs mohou vykazovat užitečné vlastnosti související s jejich velikostí. Lze je tedy klasifikovat dle jejich průměru.

NPs jsou částice o velikosti 1 – 100 nm, které jsou obklopovány mezifázovou vrstvou. Na rozdíl od mikrometrových částic, může mezifáze tvořit významnou část objemu celkového kompozitu. Mezifázová vrstva je nedílnou součástí nanomateriálu a ovlivňuje jeho vlastnosti - bývá obvykle tvořena organickými molekulami známými jako stabilizátory, povrchové a krycí ligandy či pasivační činidla (DeArmitt 2011; Batista a kol. 2015).

V práci se zabývám koloidy, jejichž dispergovaná fáze má průměr přibližně 1 - 1000 nm.

### 2.1 Koloidní systém

Koloidní soustava, také koloidní disperze se řadí mezi jednu z disperzních soustav. Obvykle se jedná o dvoufázový systém, který lze rozdělit do několika skupin - dle jistých kritérií. Jedná-li se o kritéria charakterizující skupenský stav disperzního prostředí a disperzní fáze, lze koloidní soustavy rozdělit do osmi skupin (Kvítek a Panáček 2007). (viz Tabulka 1) Velikost částic v dispergované fázi má průměr přibližně 1 – 1000 nm, látky zůstávají rozptýlené v celém objemu roztoku a neusazují se ke dnu nádoby.



*Tabulka 1 Klasifikace koloidních soustav dle fázového složení. (Převzato z: Kvítek a Panáček 2007).*

<b>Disperzní prostředí</b>	<b>Disperzní fáze</b>	<b>Označení koloidní disperze</b>
Plynné	Plynný	Netvoří koloid
	Kapalný	Aerosoly
	Pevný	Aerosoly
Kapalné	Plynný	Pěny
	Kapalný	Emulze
	Pevný	Lyosoly
Pevné	Plynný	Tuhé pěny
	Pevný	Tuhé emulze
	Pevný	Tuhé soly

V závislosti na použití disperzního média a dispergovaných částic lze klasifikovat typy koloidů zahrnující sol (suspenze pevných částic v kapalině), emulze (dvě kapaliny, z nichž jedna je dispergovaná ve druhé), pěna (částice plynu dispergované v kapalině či pevné látce), aerosol (částice kapaliny či pevné látky rozptýlené v plynu) [1].

Lyosoly, tzn. kapalné disperzní prostředí a pevná disperzní fáze lze dále klasifikovat dle fázového rozhraní. Jedná-li se o soustavu s ostrým fázovým rozhraním, soustavy nazýváme lyofobní. Naopak je-li fázové rozhraní rozptýleno, jedná se o soustavy lyofilní (Kvítek a Panáček 2007).

Dle povahy interakce mezi dispergovanými částicemi a disperzním médiem lze rozlišit koloidy hydrofilní a hydrofobní. Hydrofilní koloid, také hydrokoloid je systém, ve kterém se nachází např. hydrofilní polymery dispergované ve vodě. Zatímco hydrofobní koloid, označován také jako emulze je systém, kde částice jsou např. hydrofobní polymery. Jelikož koloid neinteraguje s rozpouštědlem, je nutné dodat energii ve formě protřepávání, homogenizací nebo mícháním [2].

### 2.1.1 Koloidy

Koloidní nanočástice vykazují zajímavé jak magnetické, optické, tak i elektrické či adsorpční vlastnosti. Uvedené vlastnosti lze změnit úpravou jejich charakteristických parametrů jako je krystalická struktura, velikost nebo počet dispergovaných částic. Díky jedinečným vlastnostem se využívají v oborech jako je např. medicína a biotechnologie (Polte 2015; Moreno a Peinado 2012).

Již v 9. století v Mezopotámii byly využívány nanočástice k vytvoření třpytivého efektu na povrchu keramiky. Lesk byl způsoben díky použití kovového filmu, který obsahoval nanočástice stříbra a mědi rozptýlené ve skelné matici keramické glazury (Rawson 1984; Heiligtag a Niederberger 2013). Ačkoliv první aplikace koloidů se datuje do doby několika tisíc let – za jejich kolébku je považována polovina devatenáctého století. Velký krok vpřed ve výzkumu nanočástic učinil totiž Michael Faraday. Jeho studie lze ve skutečnosti považovat za základ moderní koloidní chemie, vznik nanotechnologií a nanověd. V roce 1857 představil svou práci královské Londýnské společnosti v díle „*Experimentální vztahy zlata (a dalších kovů) ke světlu*“. Své studie popisoval na experimentech s tenkými kovovými filmy, kovovými hydrosoly a aerosoly, které byly nejvíce prováděny se zlatem, ale i se stříbrem, platinou, mědí, cínem, železem, olovem, zinkem, palladiem, rhodiem, hliníkem, rtutí a arsenem. Faraday připravil koloidní disperze zlata ve dvoufázovém systému – redukce vodného roztoku soli zlata, roztokem fosforu v sirouhlíku. Při pokojové teplotě dochází k redukci rychle a výrazně žlutá barva  $\text{Na}[\text{AuCl}_4]$  roztoku se mícháním mění na rubínovou barvu, která je charakteristická pro koloidní zlato. Autor dospěl k závěru, že zlato bylo rozptýleno v tekutině ve velmi jemné formě, jejíž přítomnost lze detekovat načervenalou opalescencí, která je viditelná prochází-li tekutinou úzký intenzivní paprsek světla (Heiligtag a Niederberger 2013; Edwards a Thomas 2007).

## 2.2 Vznik a stabilizace NPs

### 2.2.1 Nukleace

Nukleací rozumíme formování nové termodynamické fáze nebo struktury. Popisuje výskyt nové fáze (jádra) v metastabilní primární fázi. Teorie, která popisuje chování nové termodynamické fáze, se nazývá klasická nukleační teorie (CNT), vyvinuta Beckerem a Döringerem ve 30. letech 20. století. CNT popisuje pouze nukleaci, růst NPs je oddělen jako následný proces. Růst může být popsán různými růstovými procesy, jako je agregace, růst řízený difúzí nebo Oswaldovo zrání (Polte 2015).

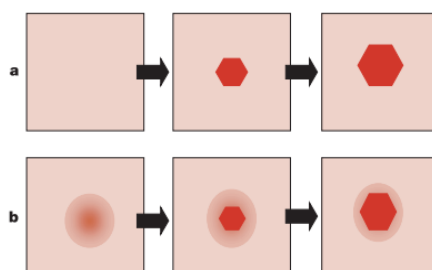
Celý nukleační mechanismus v okolí metastabilního kritického bodu je popsán na obrázku 1. Obrázek 1a zobrazuje nukleaci a růst NC v původní tekutině, díky velké hnací termodynamické síle. Obrázek 1b ukazuje dvou-krokový mechanismus v okolí metastabilního kritického bodu, nukleace je zde symbolizována tvorbou tekuté kapky s obalem fungujícím jako pufr mezi původní tekutinou a rostoucím krystalem, dominuje

pak kineticky řízený růst nad termodynamicky řízeným (Polte 2015; Anderson a Lekkerkerker 2002).

Dále je nutné rozlišovat rozdíl mezi nukleací homogenní a heterogenní, která se užívá v syntéze růstu ze zárodků.

Homogenní nukleace je spontánní a náhodný proces, který však vyžaduje superkritický stav, např. přesycení.

Zatímco heterogenní nukleace se tvoří na strukturálních nehomogenitách, na pevných površích v preferenčních místech (např. nečistoty, fázové hranice), kde je snížena efektivní povrchová energie, a tím i aktivační energie nukleace. Heterogenní nukleace se daleko častěji vyskytuje ve světě koloidů. Oba procesy však mohou probíhat paralelně či heterogenní nukleace může následovat po homogenní.



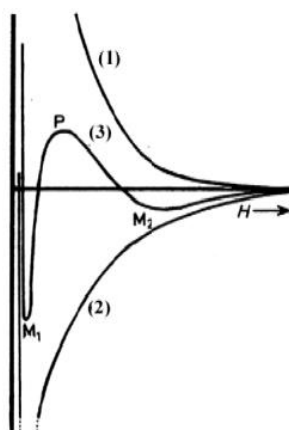
**Obrázek 1 Nukleační mechanismus v okolí metastabilního kritického bodu.** a) Schéma zobrazující nukleaci a růst NCs v původní tekutině – vznik neuspořádaných krystalů a agregátů. b) V okolí metastabilního kritického bodu dochází k dvoukrokovému mechanismu. Počátečním krokem je tvorba tekuté kapky. Při růstu NCs krycí film tekutiny působí okolo tekuté kapky jako pufr mezi původní tekutinou a rostoucím krystalem. Dominantní je spíše kinetika růstu nad termodynamicky řízeným růstem. (Převzato z: Anderson a Lekkerkerker 2002)

Ve většině navrhovaných termodynamických modelech popisující nukleaci a růst NPs se však neberou v úvahu chemické aspekty tvorby monomerů a též je zjednodušen mechanismus reakce. Dále nejsou často zohledněny faktory, jako je např. změna teploty, pH, stabilizace NPs apod., přímo během procesu.

## 2.2.2 Stabilita NPs

Stabilita koloidních systémů je jeden z nejdůležitější aspektů již existujících a nových forem NPs. Mezi částicemi disperzní fáze se uplatňují přitažlivé a odpudivé mezimolekulární interakce. Síly lze znázornit tzv. *křivkou interakční energie* (Obrázek 2), kde  $H$  je vzdálenost interagujících částic. Na křivce vidíme znázorněný bod  $M_1$ , který představuje *první minimum energie*, kde jsou částice spojovány vlivem

silných přitažlivých sil – vznik koagulátu (koagulací). Nachází-li se částice v takové vzdálenosti, kdy křivka dosahuje *maxima P*, převažují při interakci částic odpudivé mezimolekulové síly, koloidní soustava je stabilní. Se zvětšující se vzájemnou vzdáleností částic klesají jak přitažlivé mezimolekulární síly, tak i odpudivé. Může však v některých případech existovat na křivce interakční energie tzv. *sekundární minimum*  $M_2$  – vznik flokulátů (flokulací). Na rozdíl od koagulátů jsou flokuláty poutány velice slabými silami, lze je oddělit a převést zpět do koloidní formy (Polte 2015; Kvítek a Panáček 2007).

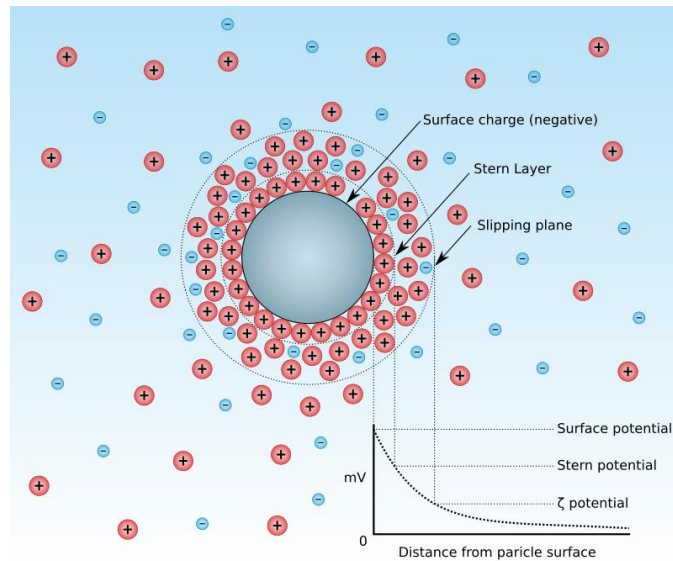


Obrázek 2 Křivka interakční energie (3) v závislosti na vzdálenosti částic  $H$  (1) křivka odpudivých mezimolekulových sil (2) křivka přitažlivých mezimolekulových sil (Převzato z: Kvítek a Panáček 2007)

Ve většině případů jsou NPs nestabilní a mají tendenci agregovat vlivem přitažlivých van der Waals, elektrostatických nebo magnetických sil. Existuje „odpudivá síla“ – repulze, která způsobuje stabilitu NPs. Dle typu rozlišujeme elektrostatickou a sterickou stabilizaci, případně i jejich kombinaci (Sharma a kol. 2019). Přitažlivé mezimolekulární síly klesají s šestou mocninou vzdálenosti částic, zatímco odpudivé síly klesají s dvanáctou mocninou vzdálenosti částic, tudíž odpudivé síly mají kratší dosah.

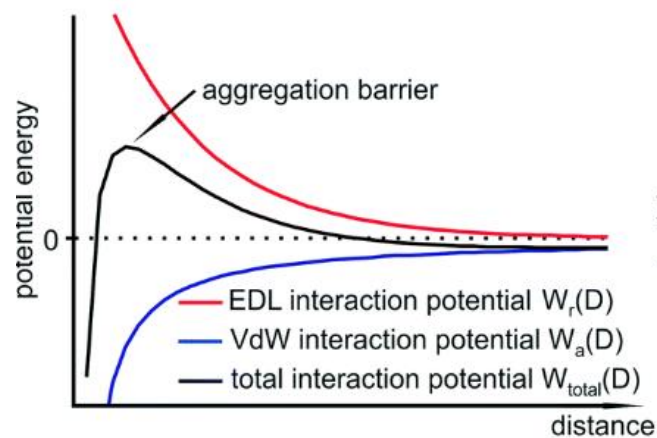
Elektrostatická stabilizace se týká systému, který ve své struktuře obsahuje alespoň jednu elektrickou dvojvrstvu (EDL), kde povrchový náboj NP je obklopen solvatovanými ionty odlišného náboje. (Obrázek 3) EDL lze rozdělit na kompaktní (Sternovu) a difúzní část. Obě tyto části jsou elektricky nabitě. Ve Sternově vrstvě působí adsorpční síly, zatímco v difúzní části adsorpční síly nepůsobí. To lze popsat pomocí teorie Stern-Gouy-Chapman, kde povrchový potenciál klesá během prvních

dvou vrstev známých jako EDL. Tloušťka této dvojité vrstvy se také nazývá Debye délka (Polte 2015).



Obrázek 3 Electric double layer EDL a diagram elektrokinetického (zeta) potenciálu. (Převzato z: [3])

Před více než 70 lety byla popsána DLVO teorie, která je považována za jeden z průlomových modelů ve fyzice a chemii koloidů. O vynalezení teorie koloidní stability se zasloužili Derjaguin a Landau (Rusové), Verwey a Overbeek (Holandřané). Předpokladem pro model DLVO je, že celková síla mezi koloidními částicemi je vlivem působení van der Waalsových (přitažlivých) a EDL (odpudivých) sil, tj. vznik celkového interakčního potenciálu  $W_{total}(D)$  (Obrázek 4). Agregační bariéra, představující maximum výsledné křivky celkového interakčního potenciálu, určuje stabilitu koloidu – jedná se o aktivační energii agregace (Polte 2015; Kvítek a Panáček 2007).



Obrázek 4 Graf potenciální energie EDL  $W_r(D)$ , van der Waals  $W_a(D)$  a celkového interakčního potenciálu  $W_{total}(D)$  dvou NP. (Převzato z: Polte 2015)

Stabilita systému a celková agregační bariéra je ovlivňována několika parametry, a to typem a koncentrací iontů, velikostí částic a hodnotou povrchového potenciálu. Celková síla EDL je závislá na koncentraci iontů, které jsou přítomny na kompaktní a difúzní vrstvě EDL. Koncentrace iontů je přímo úměrná Debye délce (vzorec 1 – převzato z: Polte 2015) a tím dochází k exponenciálnímu snížení povrchového potenciálu. Tzn. čím vyšší je koncentrace iontů, tím menší je EDL. (Obrázek 5a)

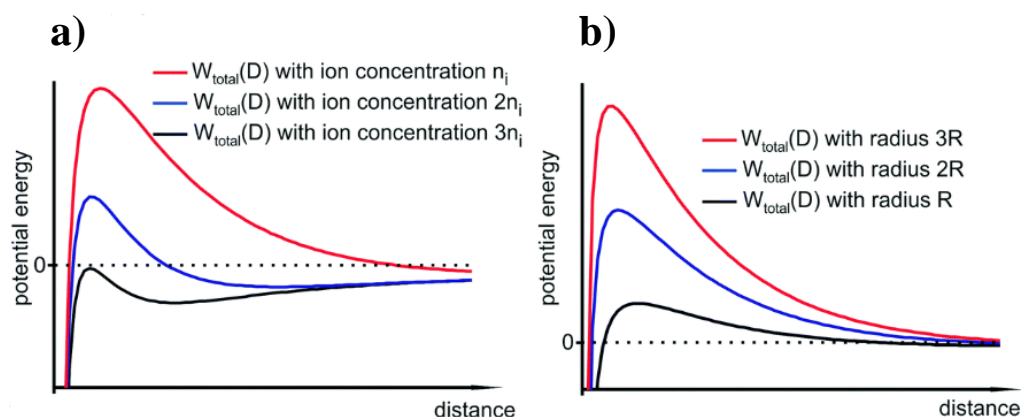
$$\varepsilon\varepsilon_0 \frac{d^2\Psi(x)}{dx^2} = -\rho(x), \quad (1)$$

kde  $\varepsilon$  – permitivita vakua ( $8,854 \cdot 10^{-12} \text{ C} \cdot \text{J}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ )

$\varepsilon_0$  – dielektrická konstanta

$\Psi(x)$  – elektrický potenciál

$\rho(x)$  – hustota náboje ve vzdálenosti  $x$  od povrchu NP



Obrázek 5 Parametry ovlivňující celkový interakční potenciál. Vliv koncentrace a) iontů, b) velikosti částic na celkový interakční potenciál. (Převzato z: Polte 2015)

Dle obrázku 5b) můžeme říci, že celkový interakční potenciál je přímo úměrný poloměru, což znamená, že se zvětšující se velikostí částic se tvar a poloha maxima křivky neposouvají do jiné vzdálenosti, ale dochází ke zvýšení agregační bariéry. Jinými slovy, větší částice jsou obecně koloidně stabilnější než menší částice (Polte 2015).

Pro dosažení lepší koloidní stability se zpravidla využívá sterická stabilizace. Tato nastává díky adsorpci velkých molekul na povrch NPs (např. polymery, povrchově aktivní látky), kdy dochází k vytvoření ochranné vrstvy. Při přibližování dvou NPs

dochází ke zvýšení hustoty molekul v prostoru mezi agregujícími NPs. Sterické stabilizační síly mají krátký dosah interakce, který nezávisí na velikosti NPs, ale především závisí na teplotě, délce řetězce, koncentraci polymeru a jeho rozpustnosti (Polte 2015).

Při porušení jak elektrostatické, tak sterické stabilizace dochází k zániku koloidních NPs vlivem aglomerace, agregace, slinování a koalescence až do makroskopického rozměru. Zániku koloidních NPs lze dosáhnout i rozpuštěním vlivem chemických sloučenin či Ostwaldovým zráním.

## 2.3 Syntézy NPs

Syntéza NPs lze provést cestou fyzikální, chemickou či biologickou. V posledních letech byl však vývoj zaměřen na ekologičtější metodu, tzv. zelenou metodu. Pro syntézu NPs se používají dva základní typy, metoda shora dolů („top down“ - dispergační) a zdola nahoru („bottom up“ - kondenzační) (Santhoshkumar a kol. 2017; Deepak a kol. 2019).

Přístup shora dolů se zabývá velikostmi struktur od větších k menším, jedná se o fyzikální přístup (např. fotolitografie, laserová ablace, různé mechanické techniky apod.). Zatímco metoda zdola nahoru, založena na chemickém přístupu (např. organické syntézy apod.), se zabývá inženýrstvím na atomové, molekulární úrovni (Ju-Nam a Lead 2008).

Kondenzační metody jsou rozděleny dle jistých kritérií. Jedná se o kritérium fáze prostředí, počtu kroků při syntéze, teploty, při níž reakce probíhá. Nejčastější postup pro přípravu bimetalických koloidních NPs je dvou-kroková syntéza – růstem ze zárodků (seeded growth).

### 2.3.1 Syntéza bimetalických NPs

Kromě monometalických částic, lze připravit i bimetalické koloidy, které jsou kombinací dvou různých kovů. Bimetalické nanočástice (BNPs) vykazují lepší vlastnosti, na rozdíl od nanočástic monometalických. BNPs mohou být syntetizovány v různých velikostech, tvarech a strukturách.

Pomocí fyzikálních a spektroskopických měření byly vyvinuty metody pro syntézu nanočástic. Některé z metod používaných pro syntézu:

a) Hydrotermální metoda

Dochází k syntéze NPs za zvýšených teplot a tlaku. Změnou reakčních podmínek (čas, koncentrace, reaktantu, pH, apod.) dochází ke změně mikrostruktury, morfologie a krystalinity získaných nanočástic. Metoda umožňuje kombinaci složek, které jsou za normálních podmínek nerozpustné. Výhodou syntézy je produkce vysokých výtěžků a čistých produktů, na úkor vysokých nákladů (Sharma a kol. 2014).

b) Metoda mikroemulze

Mikroemulze je definována jako roztok skládající se ze tří složek, polární složky, nepolární složky a povrchově aktivní látky. Povrchově aktivní látky jsou termodynamicky stabilní a homogenní povahy. Vykonávají funkci vytvořené vrstvy mezi nepolární a polární složkou mikroemulze (Sharma a kol. 2014).

Mikroemulze typu voda v oleji (w/o) se skládá z kapiček vody (dispergovaná fáze) obklopené kontinuální fází oleje, zatímco naopak mikroemulze typu olej ve vodě (o/w) obsahuje kapičky oleje (dispergovaná fáze) obklopené vodnou kontinuální fází. V obou případech jsou kapičky stabilizovány povrchově aktivní látkou (McEvoy a kol. 2007).

c) Metoda chemického srážení

Srážení neboli precipitace je proces přeměny roztoku na pevnou látku. Dochází-li k reakci v kapalném roztoku, vlivem chemických činidel (srážedel), vytváří se pevné látky (sraženiny). Jedná se o jednostupňový proces, který může nastat v případě přesyceného roztoku nebo také v případě, kdy koncentrace sloučeniny překročí její rozpustnost.

d) Tepelný a fotochemický rozklad

Vlivem vysoké teploty dochází k pyrolýze prekurzorů v rozpouštědlech. Nevýhodou metody je však obtížná izolace nanokrystalické fáze z reaktivní fáze (Sharma a kol. 2014).

e) Elektrochemická redukce

Mezi dvěma elektrodami, které jsou odděleny elektrolytem, prochází stejnosměrný elektrický proud. Pro přípravu kovových nanočástic rozpouštěli vědci kovovou anodickou vrstvu a vytvořená kovová sůl byla katodou redukována na kovové částice. Částice byly následně stabilizovány tetraalkylamoniovými solemi (Sharma a kol. 2014).



#### f) Chemická redukce

Touto metodou lze vytvořit téměř monodisperzní částice. Používají se různá redukční činidla, nejčastěji však citráty, hydridy, askorbát, alkoholy nebo elementární vodík. Počátek reakce je spuštěn redukcí kationtů kovů daným redukčním činidlem, který vede k formování atomů kovu. Ty se následně shlukují do klastrů a tvoří zárodek koloidní nanočástice. Výsledný rozměr nanostruktury závisí na poměru reagujících látek, chemické a termodynamické rovnováže v roztoku. Při použití silného redukčního činidla se, tvoří částice malých rozměrů. Probíhá-li však reakce déle, tvoří se velké nanostruktury s nekontrolovatelnou distribucí velikosti. Naopak při použití slabého redukčního činidla, je vznik nanostruktur pomalejší a s užší distribucí velikosti (Sharma a kol. 2014; Abou El-Nour a kol. 2010).

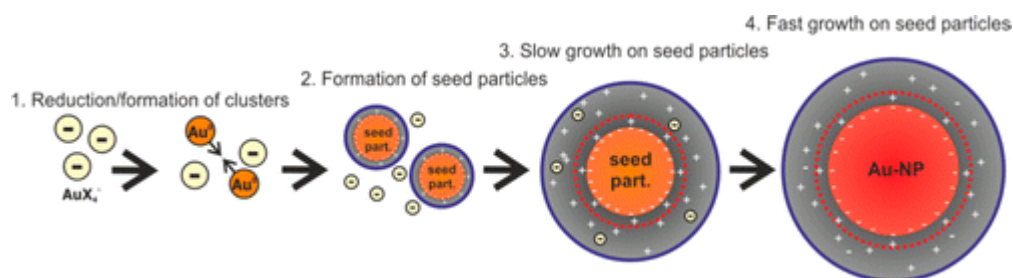
#### g) Sol-gel metoda

Jde o proces zahrnující přeměnu monomerů na koloidní roztok (sol), který se postupně vyvíjí k vytvoření gelového systému obsahujícího jak pevnou, tak i kapalnou fázi. Sol je tvořen pevnými částicemi, které jsou suspendované v kapalně fázi. Působením hydrolytických a polymeračních reakcí vznikají v roztoku makroskopické útvary (Sharma a kol. 2014). Metodou lze připravit materiály s variabilitou vlastností: tenké filmy, aerogely, hutná keramika, sklo, jemné prášky a tenké filmy.

### 2.3.2 Syntéza zlatých NPs

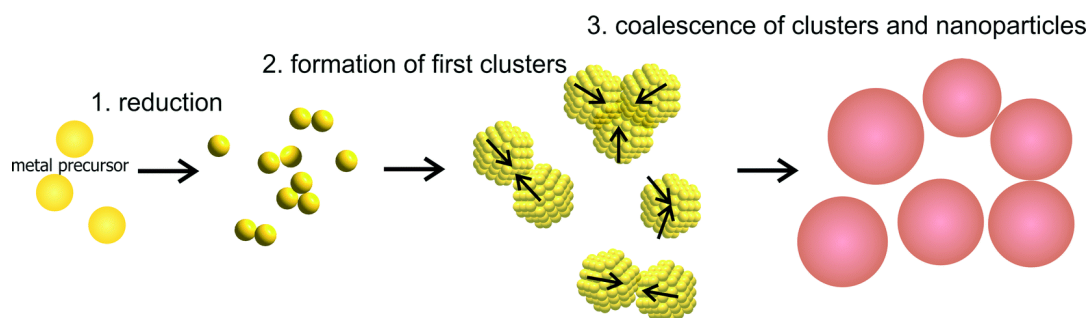
Nejčastěji používaná syntéza pro tvorbu zlatých NPs je růstový mechanismus zvaný Turkevichova metoda. Principem je čtyřkrokový mechanismus (Obrázek 6), kdy ve vodném roztoku dochází k redukci kyseliny tetrachlorozlatité ( $\text{HAuCl}_4$ ) citrátem sodným ( $\text{Na}_3\text{Citr}$ ) (Wuithschick a kol. 2015).

Prvním krokem mechanismu je redukce jisté frakce prekursoru  $\text{Au}^{3+}$  iontů a tvorba shluků z Au monomerů, které vedou ke vzniku zárodečných NPs s poloměrem  $> 1,5$  nm (2. krok). Zbylé ionty jsou přitahovány EDL vzniklých Au-NPs. Po vytvoření zárodečných částic nevznikají další částice, stávající generované zlaté monomery rostou na povrchu částic zárodků. Nejprve pomalu (3. krok), pak rychle (4. krok) (Wuithschick a kol. 2015).



**Obrázek 6** Růstový mechanismus zlatých NPs Turkevichovou syntézou. 1. Redukce kovového prekursoru a formace NCs, 2. tvorba zárodečných částic koalescencí, 3. pomalý růst na zárodečných částicích, 4. vznik konečných NPs vlivem rychlejšího růstu. (Převzato z: Wuithschick a kol. 2015)

Předchozí mechanismus je odlišný od borohydridové syntézy. Syntéza Au-NPs probíhá ve třech krocích (Obrázek 7), redukcí  $\text{HAuCl}_4$  s borohydridem sodným  $\text{NaBH}_4$ . Prvním krokem je redukce kovového prekursoru na  $\text{Au}(0)$  monomery. Po vytvoření primárních částic, ve druhém kroku částice rostou vlivem koalescence s odpovídajícím poklesem počtu částic a agregace ve třetím kroku. Proces koalescence se zastaví, jakmile velikost NP dosáhne bodu odpovídajícímu koloidní stabilitě (Polte 2015).



**Obrázek 7** Růstový mechanismus zlatých NPs redukcí  $\text{NaBH}_4$ . 1. Redukce kovových prekursorů na Au monomery, 2. tvorba primárních částic, 3. růst vlivem koalescence a tvorba finálních NPs. (Převzato z: Polte 2015)

### 2.3.3 Syntéza Au-Ag typu jádro-slupka

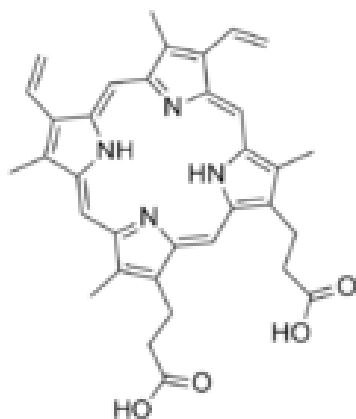
Pro přípravu kovových bimetalických NPs se zejména používá syntéza růstem ze zárodků (seeded growth). Kdy prvním krokem mechanismu je vytvoření zárodků, semen (core) a následné vytvoření obalu/slupky (shell), a tím finálních NPs. Vznikají kompozity různých struktur, nejčastěji však homogenní (Hazra a kol. 2017; Godfrey a kol. 2017).

Částice předem vytvořených koloidních systémů představují „jádra“. Nanesením stejného či jiného kovu na povrch zárodku dodatečnou redukcí kovové soli slabým redukčním činidlem vzniká obal, nejčastěji tedy homogenní nanočástice se strukturou jádro-slupka (core-shell).

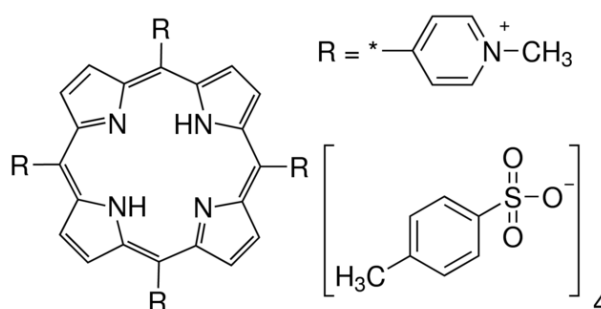
## 2.4 Porfyriny

Nejnámějším příkladem přirozeně vyskytujících se porfyrinů je komplex obsahující železo v hemu v hemoglobinu, nebo dále komplex s hořčíkem je chlorofyl.

V práci se věnuji přirozeně se vyskytujícímu protoporfyrinu IX (Obrázek 8) a kationtovému porfyrinu s anglickým názvem 5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridinio)porphyrin tetra(p-toluenesulfonate) (TMPyP)). (Obrázek 9)



Obrázek 8 Strukturální vzorec protoporfyrinu IX (Převzato z: [4])



Obrázek 9 Strukturální vzorec TMPyP (Převzato z: [5])

## 2.5 Charakterizace NPs

Charakterizační techniky jsou užitečné pro zkoumání vlastností a struktury materiálu. Pomáhají nám určit složení materiálů a také umožňují posoudit, zda metoda syntézy byla úspěšná či ne. Pro správnou charakterizaci je nutné kombinovat několik technik, které jsou vhodné pro konkrétní materiál (Titus a kol. 2019).

V této práci jsou připravené vzorky NPs charakterizovány UV-Vis spektroskopií, transmisí elektronovou mikroskopií, dynamickým rozptylem světla, měřením zeta-potenciálu a povrchově zesílenou Ramanovou spektroskopií.

### 2.5.1 UV-Vis spektroskopie

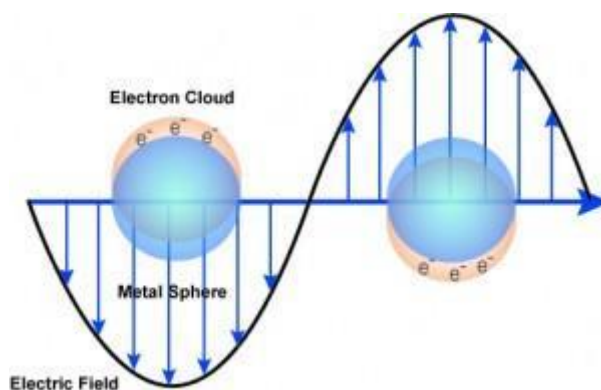
Ultrafialovo-viditelná spektroskopie je technika používaná ke kvantifikaci světla, které je rozptýleno a absorbováno vzorkem (interval vlnových délek 200 – 800 nm). Součet absorbovaného a rozptýleného světla je známé pod názvem extinkce. Absorbuje-li molekula určité množství energie ve formě ultrafialového nebo viditelného

světla dochází k excitaci elektronů z vazebného molekulového orbitalu s nízkou energií na proti-vazebný molekulární orbital o vyšší energii (Titus a kol. 2019; [6]).

Přístroj, s názvem, absorpční spektrofotometr se v praxi užívá pro měření spekter propustnosti. Skládá se z části optické, která sestává ze zdroje záření (nejčastěji deuteriové a wolframové lampy), monochromátoru, vzorkové části, detektoru a optických prvků. Dále z části elektromechanické obsahující pohon ladění monochromátoru, měřič signálu detektoru a počítač. Vzorek bývá umístěn mezi monochromátor a detektor spektrofotometru. Pro měření kapalných vzorků se používají kyvety. Jako kyvety lze použít skleněné, plastové a křemenné. Plastové a skleněné kyvety absorbují vlnové délky pod 310 nm, proto je nelze použít pro studie absorbance pod tuto vlnovou délku. V tomto případě se pak užívají křemenné kyvety, které jsou průhledné pro vlnové délky nad 180 nm a jsou tedy vhodné pro měření absorpce v ultrafialové oblasti (Titus a kol. 2019, Prosser a kol. 1989).

Měření může být prováděno jak na jedné vlnové délce, tak i na předem určeném spektrálním rozsahu. V případě dvoupráskových přístrojů je intenzita světla procházejícího vzorkem porovnávána s intenzitou světla, která prochází referenční kyvetou. Svazek záření je střídavě veden na vzorek a referenci (Prosser a kol. 1989). Naměřená data jsou porovnávána při každé vlnové délce pro kvantifikaci extinkčního spektra závislého na vlnové délce vzorku. Shromážděná data jsou obvykle vynesena jako extinkce v závislosti na vlnové délce.

Nanočástice z ušlechtilého kovu vykazují tzv. plazmony (kolektivní oscilace vodivých elektronů tvořících stojatou vlnu na povrchu nanočástic) (Obrázek 10). Tyto plasmony jsou původcem mimořádných optických vlastností nanočástic ušlechtilých kovů a jsou citlivé na tvar, velikost, koncentraci, aglomerační stav a na index lomu poblíž povrchu nanočástic. Díky tomu lze UV-Vis spektroskopii považovat za cenný nástroj pro identifikaci, charakterizaci a studium těchto nanomateriálů. Částice nevykazující povrchový plazmon mohou mít také významné optické vlastnosti, avšak na rozdíl od plasmonových nanočástic není jejich spektrum tak citlivé na disperzní vlastnosti [6].



*Obrázek 10 Lokalizovaný povrchový plazmon. Na částici dopadá světlo o větší vlnové délce  $\lambda$ , než je velikost částice. Následkem je oscilace plazmonu kolem částice. Frekvence oscilace se nazývá lokalizovaná povrchová plazmonová rezonance (Převzato z: [7])*

Povrchová plazmonová rezonance (z angl. Surface plasmon resonance, SPR) je jev, při kterém dochází k excitaci elektronů povrchového plazmonu fotony dopadajícího světla s určitým úhlem dopadu a dále se šíří rovnoběžně s kovovým povrchem (Zeng a kol. 2017). Při konstantní vlnové délce světla a kovovém tenkém povrchu je určitý úhel, kdy dochází k rezonanci. Z toho plyne, že úhel, při kterém dochází k rezonanci, je závislý na indexu lomu částice v blízkosti rozhraní (Zhu a Gao 2019).

### 2.5.2 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)

Transmisní elektronová mikroskopie je mikroskopická technika, která se stala jednou z nejsilnějších technik v oboru materiálové vědy, nanotechnologie a anorganické chemie. Na rozdíl od světelného mikroskopu má mnohem širší pole působnosti, alespoň co se týče rozlišovací schopnosti. V tomto případě namísto světelných paprsků prostupujících objektem a systémem skleněných čoček přebírá funkci svazek elektronů přenášený skrze vzorek (Prosser a kol. 1989; Su 2017).

Tubus mikroskopu je připojen ke zdroji vysokého napětí a při dostatečně vysokém proudu, začne tzv. elektronová tryska emitovat elektrony. Z trysky následně proud elektronů prochází magnetickými poli kondenzorových čoček. V dnešní době se již vyrábí mikroskopy, které dominují dvěma kondenzorovými čočkami. Svazek elektronů dále prostupuje do preparátové komory, kde je v nosníku umístěný pozorovaný objekt. Dochází k interakci urychlených elektronů s objektem, část elektronů prozařuje skrze vzorek a část se rozptyluje. Rozptyl svazku elektronů závisí jak na součinu tloušťky, tak i na hustotě objektu. Vzorkem ovlivněný proud urychlených elektronů prochází dále

zobrazovací soustavou a výsledný obraz pozorujeme v prohlížecí komoře na luminiscenčním stínítku (Prosser a kol. 1989).

TEM zobrazování je obvykle preferovaný způsob přímého měření velikosti částic, velikosti zrn, distribuce velikosti a morfologie nanočástic. Vzorky připraveny pro zobrazování v TEM jsou nanášeny na kruhové měděné sítky, které jsou potaženy uhlíkovým filmem. Vzorky s elektronovou hustotou, které jsou vyšší, než amorfni uhlík, se snadno zobrazují (Prosser a kol. 1989; Titus a kol 2019; [6]). Během procesu sušení bohužel může dojít ke změně distribuce velikosti a morfologie, vlivem agregace.

### 2.5.3 Zeta-potenciál

Měření zeta-potenciálu je technika pomocí níž lze stanovit hodnota povrchového náboje NPs v koloidním roztoku. NPs mají povrchový náboj, který přitahuje vrstvu protiiontů k povrchu částice (Sternova vrstva) (Kumar a Kumar Dixit 2017) (Obrázek 3).

Je-li na suspenzi částic aplikováno elektrické pole, částice se začnou pohybovat vlivem interakce mezi elektrickým polem a nabitou částicí. Směr a rychlost pohybu jsou funkcí elektrického pole, náboje a suspendujícího média (Titus a kol. 2019).

Hodnota potenciálu zeta je mírou rozdílu potenciálu mezi objemovou tekutinou, ve které je částice dispergována, a vrstvou tekutiny obsahující opačně nabitě ionty, které se nachází na povrchu NPs. Částice se záporným potenciálem se vážou na kladně nabitě povrchy a naopak [6]. Velikost zeta-potenciálu poskytuje informaci o krátkodobé či dlouhodobé stabilitě emulzí. Přičemž NPs s vysokým potenciálem (kladný nebo záporný) jsou elektricky stabilizovány, zatímco NPs s nízkým potenciálem mají tendenci flokulovat či aglomerovat, tzn., že mají sníženou stabilitu (Wei Lu a Gao 2010). Bývají uváděny následující rozsahy pro posouzení stability částic:

- 0-5 mV částice mají tendenci aglomerovat nebo agregovat
- 5-20 mV částice jsou minimálně stabilní
- 20-40 mV částice jsou středně stabilní
- $40 < \text{mV}$  částice jsou vysoce stabilní [6]

Nejdůležitější faktor ovlivňující potenciál zeta, je pH média. Mezi další faktory patří iontová síla, teplota a koncentrace všech přísad (Wei Lu a Gao 2010).

#### 2.5.4 Dynamický rozptyl světla (DLS)

Dynamický rozptyl světla, také známý jako fotonová korelační spektroskopie (PCS) či kvazielastický rozptyl světla (QELS) je důležitá technika využívající se při výpočtu průměru různých typů částic dispergovaných v kapalném médiu (Ramos 2017; Malm a Corbett 2019).

Ve skutečnosti při měření DLS dochází k záznamu Brownova pohybu, který je způsoben náhodnou srážkou částic s molekulami prostředí, a uvádí jej do vztahu s velikostí částic (Zheng a kol. 2016). Rychlost Brownova pohybu závisí na velikosti částic a Viskozitě média, ve kterém jsou částice dispergovány. Proces se provádí osvětlením částic laserem a analyzováním fluktuací intenzity v rozptýleném světle (Zhu a Gao).

Pro osvětlení částic vzorku uvnitř cely se užívá laserový paprsek a rozptýlené světlo je měřeno detektorem pod úhlem  $90^\circ$  nebo  $173^\circ$  (v závislosti na určitém nastavení a typu přístroje). Fluktuace intenzity rozptylu jsou analyzovány pomocí autokorelační funkce. Základní distribuce velikosti generována DLS je na základě distribuce intenzity. Tato distribuce velikosti na základě intenzity rozptýleného světla se dá dále převést na distribuci dle počtu a dle objemu (Zheng a kol. 2016).

V případě nesférických NPs dochází ke měření velikosti NP mající hydrodynamický průměr (tj. průměr neporézní koule, která difunduje stejnou rychlostí jako charakterizovaná částice) [6]. Měřená velikost NP je také ovlivněna látkami adsorbovanými na povrchu NP a tloušťkou EDL.

#### 2.5.5 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)

Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie, nebo také technika známá pod názvem povrchem zesíleného Ramanova rozptylu je velmi citlivá a selektivní spektroskopická technika, jejíž počátky se datují od roku 1974, kdy Fleischmann a kol. ve studii adsorpce pyridinu na stříbrné elektrodě poznamenali, že Ramanův rozptyl byl znatelnější, když byl povrch elektrody zdrsněn (Littleford 2017).

Celý proces SERS začíná, je-li analyt adsorbován na nebo se nachází v těsné blízkosti připraveného zdrsněného kovového povrchu vhodného kovu, nejčastěji stříbra nebo zlata. Excitací povrchu laserovým paprskem dochází ke změně polarizovatelnosti analytu ve směru kolmém k povrchu, čímž dochází ke zvýšení rozptylu o několik řádů, a to až  $10^8 - 10^{12}$  krát. Hrubý povrch vhodného kovu potřebný pro rozptyl lze připravit

---

mnoha způsoby. Běžné metody používají agregované koloidní částice, zdrsňené elektrody nebo tenké kovové povlaky. Nyní však existuje mnoho speciálně navržených povrchů, z nichž některé jsou komerčně dostupné (Littleford 2017). K celkovému zesílení intenzity Ramanova rozptylu přispívá elektromagnetický jev (dopadající světlo na povrch kovu vybudí rezonanční povrchový plazmon v kovu) a chemický jev (přenos náboje mezi kovovým povrchem a adsorbátem) (Kučková a kol. 2018).

Plazmonické vlastnosti (závislé na typu, velikosti a struktuře) kovových NPs jsou zajímavé díky svým optickým vlastnostem, které umožňují intenzivní rozptyl světla k dosažení kvantifikace, lokalizace a tedy zobrazení biologických systémů až po molekulární úroveň (Taylor a kol. 2016).



### 3. Cíle práce

- Dvoukroková syntéza částic typu Au jádro a Ag slupka, tzn. core-shell Au-Ag NPs připravených metodou růstem ze zárodků (seeded-growth).
- Charakterizace připravených Au-Ag NPs metodami:
  - UV-Vis spektroskopie (UV-Vis)
  - Dynamický rozptyl světla (DLS)
  - Měření hodnot zeta-potenciálů
  - Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)
- Měření povrchem zesílených Ramanových spekter modelových porfyrinů (TMPyP, PPIX), při excitaci 785 nm za použití připravených Au-Ag NPs.

## 4. Materiál a metody

### 4.1 Chemikálie

Chemikálie použité pro přípravu Au-Ag NPs:

- Citronan sodný -  $C_6H_5O_7Na_3$  (Sigma-Aldrich, USA)
- Kyselina tetrachlorozlatitá –  $HAuCl_4$  (Sigma-Aldrich, USA)
- Tetrahydridoboritan sodný –  $NaBH_4$  (Sigma-Aldrich, USA)
- Kyselina L-askorbová – vitamín C (Sigma-Aldrich, USA)
- Dusičnan stříbrný –  $AgNO_3$  (Sigma-Aldrich, USA)
- Deionizovaná voda (vodivost  $18,3 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ ) – čištěná systémem Milli-Q (Millipore Corp. Bedford, MA, USA) umístěným v budově CRH

Porfyrinové roztoky

- TMPyP - 5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridinio)porphyrin tetra(p-toluenesulfonate) (Sigma-Aldrich, USA)
- PPIX – protoporfyrin IX (Sigma-Aldrich, USA)

Jednotlivé roztoky byly připraveny za použití deionizované vody, a to v koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ . Čištění laboratorního skla a křemenných kyvet bylo zajištěno mezi jednotlivými měřeními použitím lučavky královské (směs kyseliny dusičné ( $HNO_3$ ) a kyseliny chlorovodíkové ( $HCl$ ) v poměru 1:3) a následným několikanásobným opláchnutím deionizovanou vodou.

### 4.2 Příprava nanočástic

Přípravou nanočástic typu core-shell z ušlechtilých kovů metodou seeded-growth, kdy prvním krokem reakce je rychlá redukce k vytvoření malých zárodků a druhým krokem je přidání daného redukčního činidla. Au-Ag NPs jsou připraveny redukcí rozpuštěného kovového prekursoru (kovová sůl) redukčním činidlem, jako je např. kyselina askorbová, tetrahydridoboritan sodný apod.

Distribuce velikosti NPs je ovlivněna vnějšími podmínkami reakce. Příkladem je rychlost a způsob míchání roztoku, pH či teplota, při které reakce probíhá. Ne vždy je tedy syntetický proces zcela reprodukovatelný, konečná velikost NPs se může lišit.

Vzorky uváděné v této diplomové práci byly připravené za běžné laboratorní teploty (21 °C) a míchání (1100 ot./min) bylo prováděno na elektromagnetické míchačce.

#### 4.2.1 Citrátový koloid AuCitrLM

Citrátový koloid pojmenován jako AuCitrLM byl předem připraven ve vodní lázni o teplotě 100 °C (var). Byl použit koncentrační poměr reaktantů dle Lee-Meisela (Wuithschick a kol. 2015),  $c(\text{Au}^{3+}) : c(\text{citrát}) \approx 3:1$ . Roztok  $1 \cdot 10^{-3}$  M H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> o objemu 200 ml byl přiveden k varu a za stálého míchání bylo přidáno 20 ml 1% citrátu sodného. Následně byl roztok udržován ve varu po dobu 1 hodiny přikrytého „poklicí“ tvořenou hodinovým sklíčkem. Podle této syntézy by měly vytvořené částice dosahovat velikosti kolem 20 nm.

#### 4.2.2 Citrátový koloid AuCitrWi

Koloid AuCitrWi byl připraven podobně, jako předcházející koloid. Avšak zde byl použit koncentrační poměr reaktantů dle Willnera (Wuithschick a kol. 2015), tj.  $c(\text{Au}^{3+}) : c(\text{citrát}) \approx 1:3$ . 200 ml 0,2% roztoku citrátu sodného bylo přivedeno k varu a za stálého míchání přidáno 10 ml  $5 \cdot 10^{-3}$  M H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>. Konečná velikost nanočástic by měla být okolo 15 nm.

#### 4.2.3 Borohydridový koloid Aubh

Borohydridový koloid Aubh byl předem připraven ve vychlazené lázni o teplotě 4 °C. V této ledové lázni o objemu 75 ml bylo rozpuštěno  $3,6 \cdot 10^{-3}$  g NaBH<sub>4</sub>. Roztok byl ponechán 30 minut a následně za stálého míchání bylo přikapáno 9 ml  $2,2 \cdot 10^{-3}$  M H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>. V míchání za laboratorní teploty se pokračovalo 45 minut. Velikost vytvořených částic by měla být kolem 5 nm.

### 4.3 Tvorba Au-Ag NPs

Tvorba core-shell Au-Ag NPs je sestavena ze dvou kroků. První krok syntézy spočívá v redukci jisté frakce Au<sup>3+</sup> iontů, za použití silného redukčního činidla (NaBH<sub>4</sub>) nebo slabého redukčního činidla (citrát sodný), kdy vznikají NCs a vedou ke vzniku zárodečných NPs. Druhým krokem k vytvoření finálního koloidního systému ze

zárodečných NPs je redukce následně přidané kovové soli  $\text{AgNO}_3$  přidanou L-kyselinou askorbovou.

Byly provedeny 3 druhy syntéz lišících se použitím zárodečných NPs a sledem přidávání reaktantů v druhém kroku tvorby Au-Ag NPs. Zárodečné NPs byly připraveny syntézami uvedenými v této práci a označenými AuCitrLM, AuCitrWi, Aubh. Nutno podotknout, že při přípravě Au-Ag NPs jsou zárodečné NPs stáří 7 měsíců.

Tabulka 2 Syntéza finálního koloidního systému core-shell Au-Ag NPs

Název	Sled přidávání během syntézy
<b><u>Typ (A) Au-Ag NPs</u></b>	(i) L-askorbová kyselina (ii) $\text{AgNO}_3$ (iii) Zárodečné NPs (AuCitrLM/AuCitrWi/Aubh) => <b>Název syntézy</b> <b>(A) AuCitrLM/CitrWi/bh - Ag</b>
<b><u>Typ (B) Au-Ag NPs</u></b>	(i) L-askorbová kyselina (ii) Zárodečné NPs (AuCitrLM/AuCitrWi/Aubh) (iii) $\text{AgNO}_3$ => <b>Název syntézy</b> <b>(B) AuCitrLM/CitrWi/bh - Ag</b>
<b><u>Typ (C) Au-Ag NPs</u></b>	(i) Zárodečné NPs (AuCitrLM/AuCitrWi/Aubh) (ii) $\text{AgNO}_3$ (iii) L-askorbová kyselina => <b>Název syntézy</b> <b>(C) AuCitrLM/CitrWi/bh - Ag</b>

#### 4.3.1 Syntéza typu (A) Au-Ag NPs

K 1 ml  $10 \cdot 10^{-3}$  M vodného roztoku kyseliny L-askorbové bylo přidáno 48 ml  $0,2 \cdot 10^{-3}$  M vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$ . Při této reakci dochází k redukci stříbrných iontů kyselinou L-askorbovou. Následným krokem, po 1 minutě, je přidání 2 ml příslušných zárodečných NPs (AuCitrLM nebo AuCitrWi nebo Aubh). Finální koloidní systém ((A) AuCitrLM/CitrWi/bh - Ag) byl míchán rychlostí 950 ot./min po dobu 30 minut, kdy se systém ustálí do rovnovážného stavu.

### 4.3.2 Syntéza typu (B) Au-Ag NPs

K 1 ml  $10 \cdot 10^{-3}$  M vodného roztoku kyseliny askorbové byly přidány zárodečné NPs o objemu 2 ml. Posledním krokem, po 1 minutě, je přidání 48 ml  $0,2 \cdot 10^{-3}$  M vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$ . Finální koloidní systém ((B) AuCitrLM/CitrWi/bh - Ag) byl míchán 30 minut rychlostí 950 ot./min.

### 4.3.3 Syntéza typu (C) Au-Ag NPs

48 ml  $0,2 \cdot 10^{-3}$  M vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$  bylo přidáno ke 2 ml předem připraveným zárodečným NPs. Nakonec přidán, po 1 minutě,  $10 \cdot 10^{-3}$  M vodný roztok kyseliny L-askorbové o objemu 1 ml. Míchání pokračovalo na elektromagnetické míchače po dobu 30 min, rychlostí 950 ot./min.

## 4.4 Charakterizace Au-Ag NPs

Připravené core-shell Au-Ag NPs byly pozorovány a charakterizovány UV-Vis spektroskopii, transmisní elektronovou mikroskopií (TEM), měřením hodnot zeta-potenciálu, dynamickým rozptylem světla (DLS). Následně byly použity pro povrchově zesílenou Ramanovou spektroskopii porfyriu.

### 4.4.1 UV-Vis spektroskopie

Extinkční spektra čerstvě připravených core-shell Au-Ag NPs byla měřena na absorpčním spektrometru SPECORD 250 PLUS (Analytik Jena, Německo), v rozsahu vlnových délek 190 – 850 nm, rychlostí 10 nm/s s rozlišením 1 nm. Pro všechna měření koloidních vzorků (2,5 ml v kyvetě) byla použita křemenná kyveta (3/Q/10, ChromSpec) o optické dráze 1 nm. Jako reference byla použita deionizovaná voda nacházející se ve stejném typu kyvet jako vzorek.

### 4.4.2 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)

Velikost a tvar Au-Ag NPs byly sledovány transmisním elektronovým mikroskopem Jeol 2010F, který je vybaven Lab6 katodou a CCD kamerou. Konkrétní koloidní vzorek, o objemu 2  $\mu\text{l}$ , byl nanášen na měděnou mřížku potaženou uhlíkovým filmem. Nanosený vzorek na Cu mřížce se nechal sušit při pokojové teplotě v Petriho misce

přikryté víkem, aby nedocházelo ke znečištění vzorku. Snímky z TEM nejsou vždy doostřené, způsobené stářím TEM.

#### 4.4.3 pH

Měření hodnot pH zárodečných roztoků a finálních koloidních systémů bylo provedeno na stolním pH metru 7110.

#### 4.4.4 Dynamický rozptyl světla (DLS) a měření zeta-potenciálů

Distribuce velikosti (dle intenzity nebo dle počtu) zárodečných a koloidních Au-Ag NPs byla měřena pomocí Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments, Velká Británie). Vlnová délka laseru používaného v měření je 632,8 nm, detekce úhlu zpětného rozptylu nastavena výrobcem na 173° a měření provedeno při teplotě 25 °C. Neředěné vzorky, o objemu 1 ml, byly měřeny v jednorázových plastových kyvetách. Byl zaznamenán průměrný výsledek ze tří měření.

Měření hodnot zeta-potenciálu zárodečných a koloidních Au-Ag NPs probíhalo obdobným způsobem na stejném laboratorním přístroji, avšak za využití speciálních kyvet pro měření zeta-potenciálů ve tvaru U a s elektrodami (dodávaných výrobcem přístroje Zetasizer Nano Series). 750 µl neředěného vzorku byl umístěn do kyvety a byl zaznamenán průměrný výsledek ze tří měření.

#### 4.4.5 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie

Měření povrchem zesílených Ramanových spekter probíhalo na přístroji ProRaman-L Raman spektrometr (Německo) s laserem 785 nm s výkonem 300 mW a integrační dobou 2 s. Všechny systémy byly nejprve proměřeny na UV-Vis spektrometru před a po přidání porfyriu, a to pro určení procesu agregace, kdy dochází k posunu maxima SPR. Měření bylo prováděno v křemenné kyvetě (3/Q/10, ChromSpec) naplněné konkrétním vzorkem o objemu 1,515 ml, finální koncentrace porfyriu v koloidu byla  $1 \cdot 10^{-6}$  M.

## 5. Výsledky a diskuse

### 5.1 UV-Vis spektra a TEM

Extinkční spektra zárodečných Au NPs byla měřena 2 týdny po dokončení syntézy, zatímco UV-VIS spektra finálních systémů Au-Ag NPs byla proměřována 30 minut v průběhu syntézy s intervalem 5 minut. Pro příklad je zde uveden graf 1, na kterém je vidět postupná tvorba finálních systémů. Ve výsledných UV-Vis grafech jsou vždy uvedeny příslušné zárodečné Au NPs a spektrum ustáleného stavu finálních systémů Au-Ag NPs.

Snímky z TEM jsou získány zobrazením vzorků zárodečných nanočástic a konečných koloidních systémů získaných vyschnutím kapky na měděné mřížce. Zkoumáme tvar a velikost NPs, agregace může být ovlivněna procesem vysychání.

Také byly proměřeny hodnoty pH zárodečných a finálních koloidních NPs. Hodnota pH zárodečných AuCitrLM byla 6,02; AuCitrWi 7,28; Aubh 7,80. pH konečných koloidních systémů (A) AuCitrLM – Ag 3,77; (A) AuCitrWi – Ag 4,59; (A) Aubh – Ag

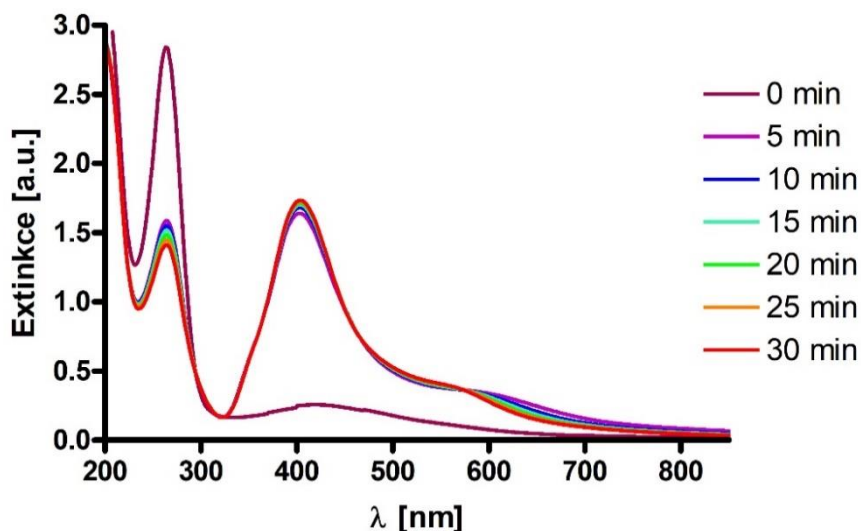
3,55

(B) AuCitrLM – Ag 3,73; (B) AuCitrWi – Ag 4,55; (B) Aubh – Ag 3,49

(C) AuCitrLM – Ag 3,69; (C) AuCitrWi – Ag 4,54; (C) Aubh – Ag 3,44

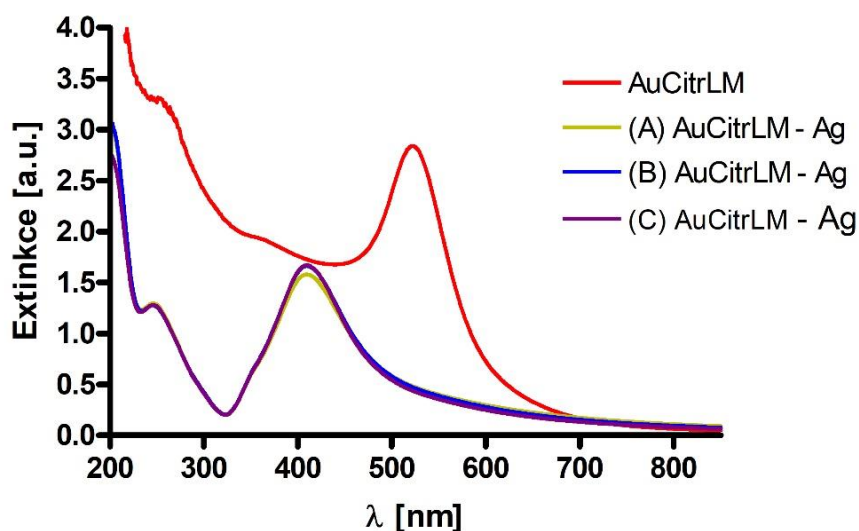
Evidentní je pokles hodnot pH oproti zárodečným koloidním roztokům. Pokles je způsoben přidavkem jednotlivých reaktantů pro tvorbu stříbrné slupky finálních Au-Ag NPs. Pozoruhodné je, že pH neklesá o konstantní hodnotu u všech systémů, ač jediným rozdílem je typ zárodečných částic; objemy a koncentrace přidaných reaktantů ( $\text{AgNO}_3$  a kyseliny L-askorbové) jsou ve všech případech stejné. Poukazuje to na jiný molekulární mechanismus reakcí při tvorbě finálních Au-Ag NPs.

Z porovnání hodnot pH pro jednotlivé typy pořadí přídavků reaktantů (A, B, C) vždy pro jeden typ zárodečných částic je patrné, že se pH finálních Au-Ag NPs liší pouze v rámci experimentální chyby (rozlišení přístroje  $\pm 0,05$ ). To by poukazovalo na fakt, že ač je měněno pořadí reaktantů, čímž je nejspíše ovlivňována tvorba výsledných Au-Ag NPs, nemá to vliv na pH výsledného systému.



Graf 1 UV-Vis spektra finálního systému (C) AuCitriWi – Ag proměřované v průběhu 30 minut s časovým intervalem 5 minut.

### 5.1.1 Výsledný systém Au-CitrLM – Ag NPs



Graf 2 UV-Vis zárodečných AuCitriLM NPs (červená křivka) a finálních koloidních systémů příslušných typů syntéz, (A) AuCitriLM – Ag (žlutá křivka), (B) AuCitriLM – Ag (modrá křivka), (C) AuCitriLM – Ag (fialová křivka).

UV-Vis zárodečných roztoků a konečných koloidních systémů jsou zobrazeny v grafu 2. Pás absorpce zárodečných roztoků AuCitriLM (červené spektrum) je kolem hodnoty 520 nm, velikost zárodečných NPs by měla odpovídat hodnotě 20 nm. Absorpční pás kolem 265 nm v případě výsledných koloidních systémů odpovídá kyselině L-askorbové.

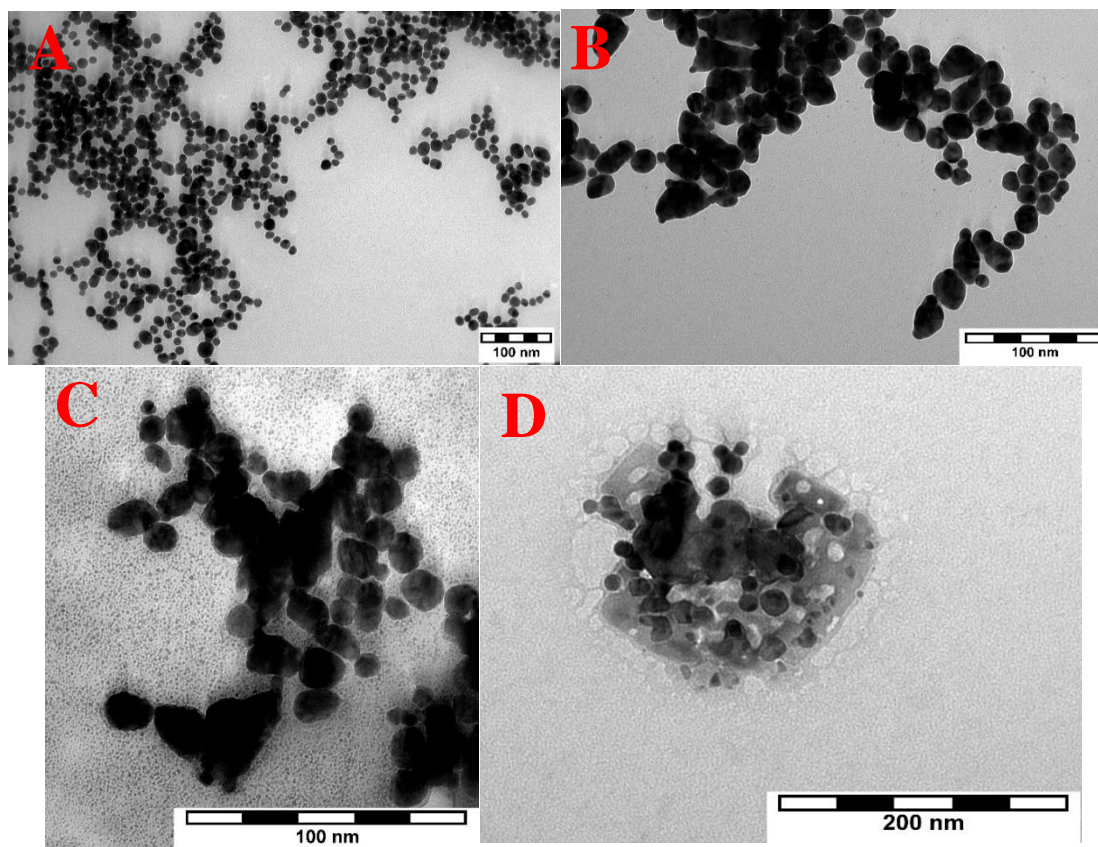


Extinkční spektra finálních koloidních systémů (A) AuCitrLM – Ag (žlutá křivka), (B) AuCitrLM – Ag (modrá křivka), (C) AuCitrLM – Ag (fialová křivka) se liší pouze minimálně v intenzitě absorpčních hodnot pásů SPR, které jsou umístěny nad hodnotou extinkce 1,5 a kolem vlnové délky 410 nm, což je charakteristická poloha SPR pro Ag NPs. Dalo by se tudíž usuzovat dle průběhu extinkce, že změna pořadí přidávání reaktantů pro tvorbu stříbrné slupky nemá v tomto případě použitých AuCitrLM zárodků žádný výrazný dopad na výsledné systémy koloidních částic. Mohlo by souviset s faktem, že AuCitrLM je sám o sobě značně stabilní koloidní systém s elektro-stericky chráněným Au povrchem. Blíže se o míře stabilizace dozvíme z hodnot zeta-potenciálů v kapitole 5.2.1.

Snímky z TEM jsou zobrazeny na obrázku 11. Snímek 11A zárodečného roztoku AuCitrLM ukazuje zárodky, které jsou relativně monodisperzní, mají kulovitý tvar, tvoří však agregáty (což však může být vlivem vysychání vzorku na síťce).

TEM snímky finálních koloidních systémů (A) AuCitrLM – Ag (obrázek 11B), (B) AuCitrLM – Ag (obrázek 11C), (C) AuCitrLM – Ag (obrázek 11D), připravené ze zárodečného roztoku AuCitrLM, zobrazují Au-Ag NPs s jádrem a obálkou. Konečné systémy NPs mají polydisperzní tvar, tvoří kulovité, tyčinkovité, lichoběžníkové útvary. Kolem zárodečných Au NPs byla vytvořena Ag vrstva, která není spojitá a nemá stejnou tloušťku kolem celého obvodu Au NPs.

Výsledné morfologie NPs se zdají být obdobné pro typy syntéz A a B, zatímco odlišné pro C typ. To nepochybně souvisí s ovlivňováním elektrostatické dvojvrstvy zárodečných nanočástic AuCitrLM, alias jejich agregací vlivem přídatku  $\text{AgNO}_3$  a teprve následně L-askorbové kyseliny v případě syntézy typu C. V případě syntéz typu A a B jsou zárodky vystaveny buď účinku směsi  $\text{AgNO}_3$  a L-askorbové kyseliny - typ A, či nejprve účinku L-askorbové kyseliny a následnému přidání zdroje stříbrných iontů – typ B. Kyselina L-askorbová může elektrostaticky interagovat s povrchem Au zárodků a v průběhu času se nepochybně ustaví rovnováha mezi volnou L-askorbovou kyselinou v roztoku a vázanou L-askorbovou, která může nahrazovat citrátové anionty na povrchu zárodečných Au NPs (citrátové ionty se též mohou uvolňovat z povrchu Au do roztoku, a to rovněž do dosažení jisté rovnováhy).



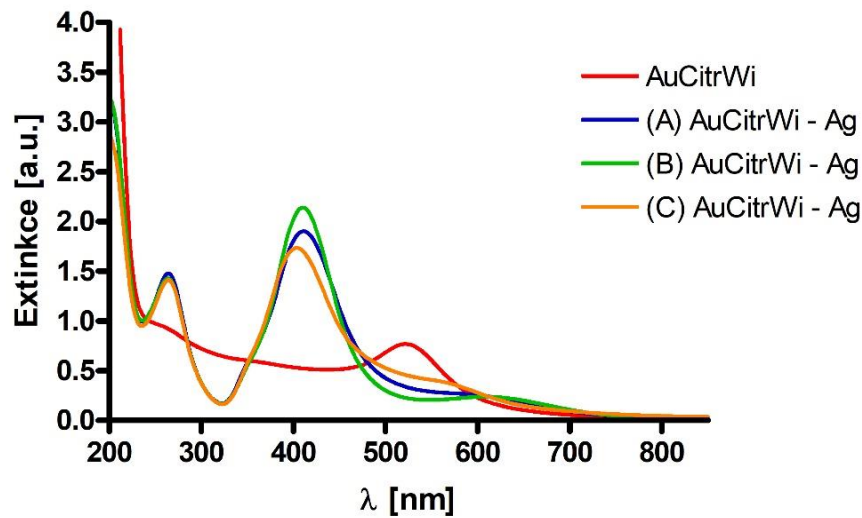
**Obrázek 11** TEM snímky zárodečného roztoku a finálních koloidních systémů. Snímek A – zárodečný roztok AuCitrLM (zvětšení TEM 60 000 x), snímek B – finální koloidní systém (A) AuCitrLM – Ag (zvětšení TEM 60 000 x), snímek C – finální koloidní systém (B) AuCitrLM – Ag (zvětšení TEM 60 000 x), snímek D – finální koloidní systém (C) AuCitrLM – Ag (zvětšení TEM 60 000 x)

### 5.1.2 Výsledný systém Au-CitrWi – Ag NPs

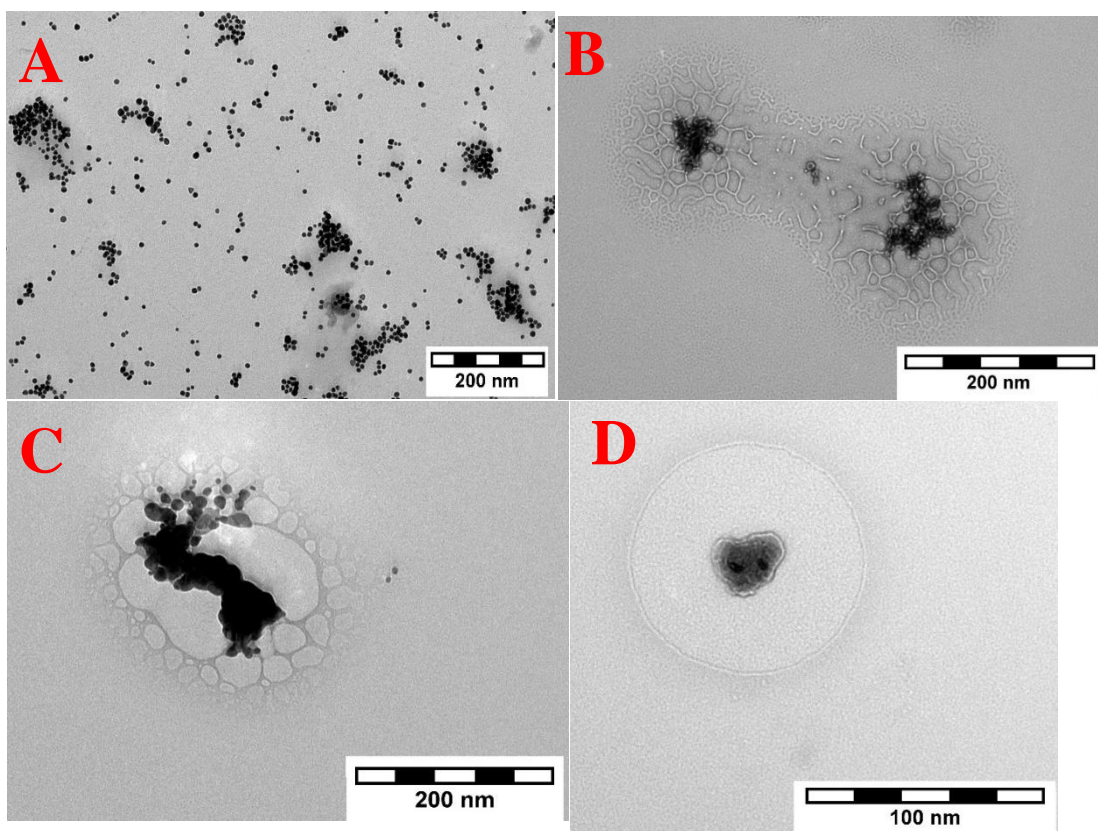
Finální koloidní systém (A) AuCitrWi – Ag (modrá křivka), (B) AuCitrWi – Ag (zelená křivka), (C) AuCitrWi – Ag (oranžová křivka) byly připraveny ze zárodečného roztoku AuCitrWi (červená křivka) (Graf 3). Opět můžeme pozorovat výskyt kyseliny L-askorbové a změnu vlnové délky absorpčního pásu při přepěstování Au NPs na Au-Ag NPs. Konečné koloidní systémy se vzájemně liší změnou intenzity absorpčních pásů SPR kolem hodnoty 410 nm, což může být způsobeno odlišným pořadím přidávání reaktantů.

Z UV-Vis spekter citrátových koloidů (Graf 2 a 3) lze odvodit, že oba koloidní systémy mají přibližně stejnou reaktivitu. Podobnost extinkčních spekter při vlnové délce je pravděpodobně přičítána barvě (rubínově červená) citrátových koloidů. Lze říci, že použití obráceného pořadí reaktantů v konečné syntéze koloidního systému neposkytuje žádný výrazný rozdíl. Což se na rozdíl od konečného koloidního systému obsahující borohydrid (Graf 4) jako první redukční činidlo nedá srovnávat.

Dále jsou pozorovatelné absorpční píky kyseliny L-askorbové (přibližně 265 nm) přítomné ve spektrech citrátových a borohydridových finálních koloidních systémů.



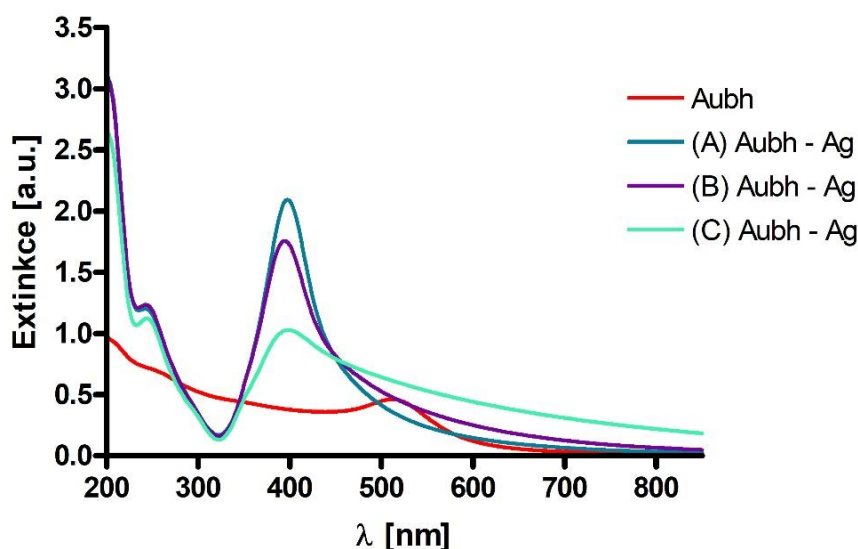
Graf 3 UV-Vis zárodečných AuCitrWi NPs (červená křivka) a finálních koloidních systémů příslušných typů syntéz, (A) AuCitrWi - Ag (modrá křivka), (B) AuCitrWi - Ag (zelená křivka), (C) AuCitrWi - Ag (oranžová křivka).



Obrázek 12 TEM snímky zárodečného roztoku a finálních koloidních systémů. Snímek A – zárodečný roztok AuCitrWi (zvětšení TEM 30 000 x), snímek B – finální koloidní systém (A) AuCitrWi - Ag (zvětšení TEM 20 000 x), snímek C – finální koloidní systém (B) AuCitrWi - Ag (zvětšení TEM 25 000 x), snímek D – finální koloidní systém (C) AuCitrWi - Ag (zvětšení TEM 30 000 x).

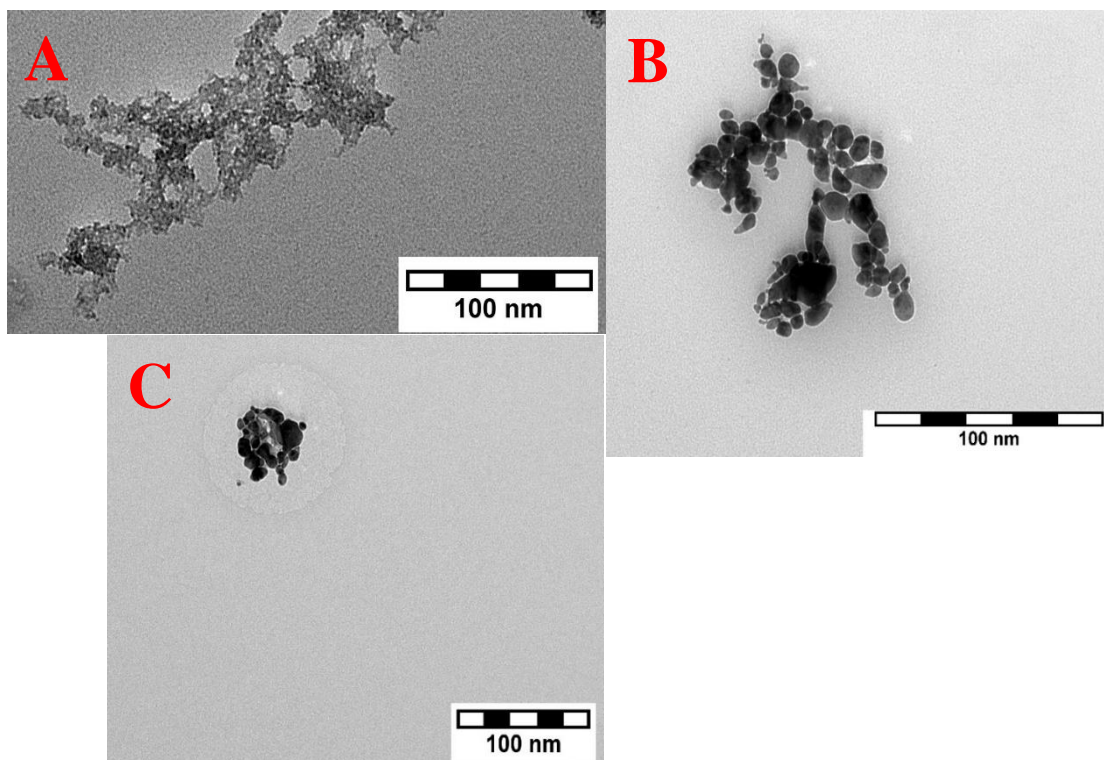
TEM snímky na obrázku 12 zobrazují zárodečný citrátový koloid připravený dle Willnera, AuCitrWi (obrázek 12A), a finální koloidní systémy (A) AuCitrWi – Ag (obrázek 12B), (B) AuCitrWi – Ag (obrázek 12C), (C) AuCitrWi – Ag (obrázek 12D). Dle snímku 12A vidíme tvorbu převážně kulovitých NPs, které mají na některých místech tendenci agregovat. Tato myšlenka lze podložit i UV-Vis spektrem (Graf 3), kde opět vidíme rozmytí absorpčního píku zárodečného koloidu při 610 nm. Finální koloidy agregují a vytváří shluky. Tmavá část snímku představuje Au jádro, které je obklopené Ag částicemi, vzájemně mohou sloužit jako spojení mezi Au jádry. Světlejší skvrny kolem Au jader pravděpodobně představují amorfni složku, což bylo způsobeno odsycháním vzorku na síťce.

### 5.1.3 Výsledný systém Aubh – Ag NPs



Graf 4 UV-Vis zárodečných Aubh NPs (červená křivka) a finálních koloidních systémů příslušných typů syntéz, (A) Aubh – Ag (modrá křivka), (B) Aubh – Ag (fialová křivka), (C) AuCitrWi – Ag (cyanová křivka).

UV-Vis zárodečných a finálních borohydridových koloidních systémů jsou zobrazeny v grafu 4. Konečné systémy byly připraveny ze zárodečného borohydridového koloidního roztoku. Pozorujeme výskyt kyseliny L-askorbové (265 nm) a změnu intenzity absorpčních pásů, kdy finální koloidní systém (A) Aubh - Ag a (B) Aubh – Ag se nejvíce liší intenzitou absorpce od systému (C) Aubh – Ag při hodnotě vlnové délky 400 nm. Výsledná změna intenzity finálních roztoků je způsobena odlišným způsobem přidávání reaktantů.



Obrázek 13 TEM snímky zárodečného roztoku a finálních koloidních systémů. Snímek A – zárodečný roztok Aubh (zvětšení TEM 40 000 x), snímek B – finální koloidní systém (A) Aubh – Ag (zvětšení TEM 40 000 x), snímek C – finální koloidní systém (C) Aubh – Ag (zvětšení TEM 25 000 x).

V případě TEM snímků finálních koloidních systémů (A) Aubh – Ag (obrázek 13B) a (C) Aubh - Ag (obrázek 13C) syntetizované ze zárodečného roztoku Aubh (obrázek 13A) sledujeme agregaci NPs. Systémy opět tvoří polydisperzní NPs různorodých tvarů, viz obrázky výše. TEM snímky zárodečného roztoku Aubh na obrázku 13A ukazují zárodky vzájemně spojené, tvoří propojenou síť. Snímky koloidního systému (B) Aubh – Ag se nepodařilo pořádit z důvodu poškozené sítě.

## 5.2 DLS a zeta-potenciál

V době měření velikosti nanočástic a hodnot jejich zeta-potenciálu byly zárodečné roztoky a finální koloidní systémy stáří 1 měsíce. Nejprve je nutné provést vizuální hodnocení (okem) zárodečných roztoků a finálních koloidních systémů pro následující charakterizaci. Nedošlo-li k detekci žádných mikročástic a agregátů, bylo provedeno měření DLS a měření hodnot zeta-potenciálu již zmiňovaných systémů.

### 5.2.1 Měření DLS a zeta-potenciálů Au-Ag NPs

Pro dosažení nejlepšího výsledku DLS měření je nutné uvážit fyzikální vlastnosti vzorku, jako je koncentrace vzorku a velikost částic. Měření DLS a hodnot zeta-potenciálu bylo provedeno s nezředěnými roztoky. Nicméně zárodečné roztoky a finální koloidní systémy nevykazovaly monodisperzitu, tudíž výsledná data mají několik vrcholů velikostí. Pozorovaná širší distribuce velikostí, polydisperzita, může vést k jistému zkreslení naměřených dat a výsledných zeta-potenciálů NPs.

Na naměřená data se díváme z pohledu distribuce velikosti jak dle intenzity, tak i počtu rozptylujících částic. Platí, že velké částice rozptylují mnohem více světla, než malé částice, což velmi často vede k rozporu mezi distribucí velikosti částic na základě intenzity a počtu. Data v tabulce 3 ukazují distribuci velikosti částic na základě intenzity rozptýleného světla (DLS intenzita), nejčastěji v bimodálním zastoupení se směrodatnou odchylkou a v procentuálním zastoupení. Rozdělení založené na intenzitě může být převedeno na rozdělení založené na distribuci velikosti dle počtu (DLS počet) rozptylujících částic (Tabulka 4).

*Tabulka 3 Velikost distribuce rozptýlených částic podle intenzity, se směrodatnou odchylkou, pro Au zárodečné roztoky a Au-Ag finální koloidní systémy.*

Název	DLS intenzita					
	Pk 1		Pk 2		Pk 3	
	Velikost [nm]	%	Velikost [nm]	%	Velikost [nm]	%
AuCitrLM	60 ± 30	48	329 ± 207	43	4122 ± 1025	5
(A) AuCitrLM - Ag	78 ± 37	84	12 ± 4	16	-	-
(B) AuCitrLM - Ag	74 ± 39	76	13 ± 5	22	4 ± 1	2
(C) AuCitrLM - Ag	65 ± 34	80	10 ± 4	20	-	-
AuCitrWi	41 ± 13	59	14 ± 4	35	2,0 ± 0,3	6
(A) AuCitrWi - Ag	45 ± 15	89	5 ± 1	11	-	-
(B) AuCitrWi - Ag	54 ± 23	100	-	-	-	-
(C) AuCitrWi - Ag	59 ± 26	90	6 ± 2	10	-	-
Aubh	9 ± 1	54	144 ± 12	46	-	-
(A) Aubh - Ag	61 ± 27	79	9 ± 4	18	5186 ± 482	2
(B) Aubh - Ag	55 ± 27	70	7 ± 3	30	-	-
(C) Aubh - Ag	67 ± 38	76	11 ± 4	24		

*Tabulka 4 Velikost distribuce rozptýlených částic podle počtu Au zárodečných roztoků a Au-Ag finálních koloidních systémů, se směrodatnou odchylkou.*

Název	DLS počet	
	Pk 1	
	Velikost [nm]	%
AuCitrLM	7,0 ± 2,0	100
(A) AuCitrLM - Ag	8,0 ± 2,0	100
(B) AuCitrLM - Ag	3,0 ± 1,0	100
(C) AuCitrLM - Ag	6,0 ± 1,0	100
AuCitrWi	1,0 ± 0,3	100
(A) AuCitrWi - Ag	3,0 ± 1,0	100
(B) AuCitrWi - Ag	26,0 ± 8,0	100
(C) AuCitrWi - Ag	27,0 ± 8,0	100
Aubh	8,0 ± 1,0	100
(A) Aubh - Ag	1,0 ± 0,3	100
(B) Aubh - Ag	4,0 ± 1,0	100
(C) Aubh - Ag	6,0 ± 2,0	100

Distribuce finálních koloidních systémů založená na intenzitě, konkrétně: (A) AuCitrLM - Ag, (B) AuCitrLM - Ag, (C) AuCitrLM - Ag, (C) AuCitrWi – Ag, (A) Aubh - Ag, (C) Aubh – Ag; ukazují, že ve vzorku dominují NPs o velikosti v intervalu 60 – 80 nm. Ostatní zbyte typy finálních koloidních systémů ((A) AuCitrWi – Ag, (B) AuCitrWi – Ag, (B) Aubh – Ag) vykazují částice menší než 60 nm v průměru.

Naopak jak lze vidět v tabulce 4, většina přítomných nanočástic dle početní distribuce, se velikostně pohybuje v rozmezí 1 – 10 nm (včetně experimentální chyby); výjimkami jsou leda vzorky (B) AuCitrWi – Ag a (C) AuCitrWi – Ag, které obsahují 26-27 nm částice. Jak již bylo zmíněno výše, nesoulad mezi distribucí velikosti částic podle intenzity nebo podle počtu je způsoben díky rozdílným vlastnostem velikostně rozdílných NPs při rozptylu světla.

Podstatné je, že zatímco distribuce intenzitní je přímo měřená hodnota, distribuce početní je odvozená a jsou uvažovány jisté aproximace (kulovité částice atd.). Slouží tudíž spíše pro posouzení, jak moc je hodnota procentuálního zastoupení větších částic hodnověrná. Při posuzování výsledků je tudíž důležité vzít v úvahu vyšší rozptyl od větších částic a sledovat spíše relativní změny mono-, bi-, tri-modálních distribucí při

přechodu od vzorku zárodků k vygenerovaným finálním bimetalickým systémům. Z tabulky 3 je viditelný rozdíl velikostí mezi výslednými koloidními systémy a zárodky. Z toho je patrné, že dochází, zcela logicky, ke zvětšování velikosti částic, např. pro (A) AuCitrLM - Ag je převažující hodnota ( $78 \pm 37$ ) nm a zárodky AuCitrLM ( $60 \pm 30$ ) nm. Tudíž změna velikosti při přetváření těchto zárodků na bimetalické nanočástice Au-Ag je okolo 18 nm. Podobně je to tak i pro (C) AuCitrWi - Ag s hodnotou ( $59 \pm 26$ ) nm a zárodky AuCitrWi ( $41 \pm 13$ ) nm. Změna velikosti vytvořených bimetalických nanočástic je také okolo 18 nm. Podstatně větší změnu velikosti lze vidět na přepěstovaných nanočásticích (C) Aubh - Ag s hodnotou ( $67 \pm 38$ ) nm a zárodky Aubh ( $9 \pm 1$ ) nm. Rozdíl změny velikosti je kolem 58 nm.

DLS je sice výhodná metoda, protože měříme přímo v roztoku (oproti TEMu není vysychání vzorku a případný reduktivní účinek dopadajících elektronů), ale není zdaleka tak přesná, jako TEM. Neurčíme hodnotu velikostí přesně, zvláště nemáme-li zcela monodisperzní koloidy. Je tudíž lepší právě určovat tuto relativní změnu při přechodu z počátečního do finálního systému. (totéž platí pro agregaci nanočástic vlivem přídavku adsorbátu, např. porfyriu.)

Hodnoty zeta-potenciálu totožných koloidních vzorků jsou uvedeny v tabulce 5. Vzájemné interakce NPs v roztoku jsou závislé na potenciálu zeta. Jedná-li se o suspenzi, ve které mají všechny částice velký kladný nebo záporný potenciál, budou inklinovat k odpuzování se navzájem a není možné, aby dosáhly flokulace. Obecně lze považovat nanočástice za stabilní, je-li hodnota zeta-potenciálu vyšší než +30 mV, nebo zápornější než -30 mV (Zheng a kol. 2016). Pochopitelně vždy záleží ještě na funkcionalizaci povrchu NPs, zda kromě elektrostatického příspěvku ke stabilizaci systémů můžeme či nemůžeme uvažovat o sterickém příspěvku. Proto je uvedená hodnota zeta-potenciálu obecnou indicií při posuzování stability systému, nikoliv však absolutně vždy platícím kritériem. Také velmi záleží na pH roztoku a iontové síle.



Tabulka 5 Zeta-potenciál (se směrodatnou odchylkou) Au zárodečných roztoků a Au-Ag finálních koloidních systémů

Název	Pk 1		Pk 2		Pk 3	
	Zeta-potenciál [mV]	%	Zeta-potenciál [mV]	%	Zeta-potenciál [mV]	%
AuCitrLM	19 ± 6	92	-39 ± 4	6	4 ± 3	2
(A) AuCitrLM - Ag	-24 ± 15	23	-62 ± 7	8	81 ± 8	8
(B) AuCitrLM - Ag	25 ± 16	25	92 ± 7	7	70 ± 6	7
(C) AuCitrLM - Ag	17 ± 14	28	-8 ± 7	21	-38 ± 8	7
AuCitrWi	-26 ± 13	81	15 ± 7	6	-66 ± 6	2
(A) AuCitrWi - Ag	-19 ± 18	48	68 ± 10	10	55 ± 9	6
(B) AuCitrWi - Ag	-14 ± 9	19	11 ± 10	19	-101 ± 11	10
(C) AuCitrWi - Ag	-18 ± 16	48	115 ± 13	8	-62 ± 7	7
Aubh	-25 ± 5	100	-	-	-	-
(A) Aubh - Ag	110 ± 18	28	68 ± 8	9	-114 ± 9	9
(B) Aubh - Ag	13 ± 17	26	58 ± 12	13	-81 ± 9	9
(C) Aubh - Ag	20 ± 23	32	132 ± 7	8	87 ± 6	6

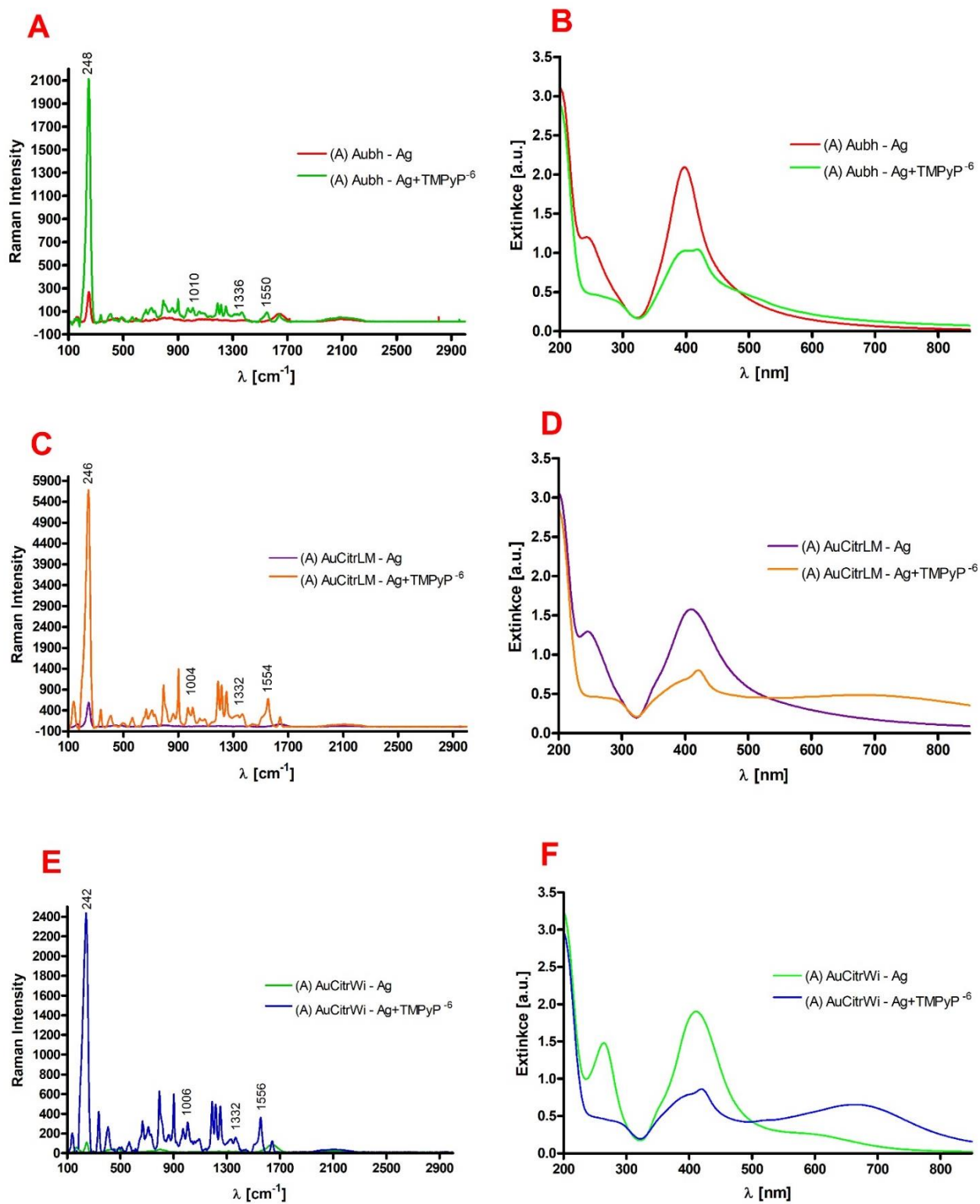
Z tabulky 5 je zřejmé, že stejně jako DLS výsledky pro bimetalické systémy vykazovaly polydisperzitu, též hodnoty zeta-potenciálů jsou různorodé, dle procentuálního zastoupení jsou rozmístěny kolem tří nejčastěji obsažených hodnot. Hodnota zeta-potenciálu zárodečných částic v 92% zastoupení, v případě AuCitrLM koloidu odpovídá  $19 \pm 6$  mV. Obvykle hodnota zeta-potenciálu uvedeného citrátového koloidu vychází kolem -20 až -40 mV. Při měření pravděpodobně došlo k systematické chybě a měření by bylo potřeba zopakovat. Záporný zeta-potenciál citrátového koloidu AuCitrWi v 81% zastoupení se rovná hodnotě  $-26 \pm 13$  mV. Zatímco zárodečné NPs Aubh v plném zastoupení mají zápornou hodnotu  $-25 \pm 5$  mV.

Srovnáme-li hodnoty zeta-potenciálů finálních systémů, lze říci, že pro typ koloidu AuCitrLM – Ag, typ syntéz B, C nabývají v největším zastoupení kladných hodnot zeta-potenciálů. Zatímco stejný koloidní systém typu A nabývá v největším zastoupení záporných hodnot, v 23% zastoupení  $-24 \pm 15$  mV a v 8% dokonce až  $-62 \pm 7$  mV. Citrátové koloidy, dle Willnera, nabývají v největším procentuálním zastoupení záporných hodnot kolem -20 mV. Borohydridové finální systémy nám dávají kladné hodnoty zeta-potenciálů. V největším procentuálním zastoupení systémů Aubh – Ag,

typ syntéz B, C nabývají hodnot do 20 mV. Zatímco pro systém typu A se hodnota potenciálu pohybuje až kolem 100 mV.

### 5.3 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)

Měření SERS probíhalo za použití všech finálních koloidních systémů a vhodně zvoleného porfyriu, v tomto případě byl zvolen TMPyP. Jelikož se jedná o kationtový porfyrin a koloidní systémy vykazují převážně záporné hodnoty zeta-potenciálů, měl by přídavek tohoto porfyriu k bimetalickým systémům vést k agregaci NPs, kterou lze pozorovat UV-Vis spektroskopií. Proto před každým měřením SERS spekter byly nejprve proměřeny absorpční spektra bez přidaného TMPyP a následně konečný koloidní systém s TMPyP. Pro měření byla použita koncentrace TMPyP  $1 \cdot 10^{-6}$  M (ve finálním roztoku), ve spektrech značení TMPyP<sup>-6</sup>. Byla provedena dvě opakující se měření a výsledná spektra jednoho z nich jsou zde ukázána.



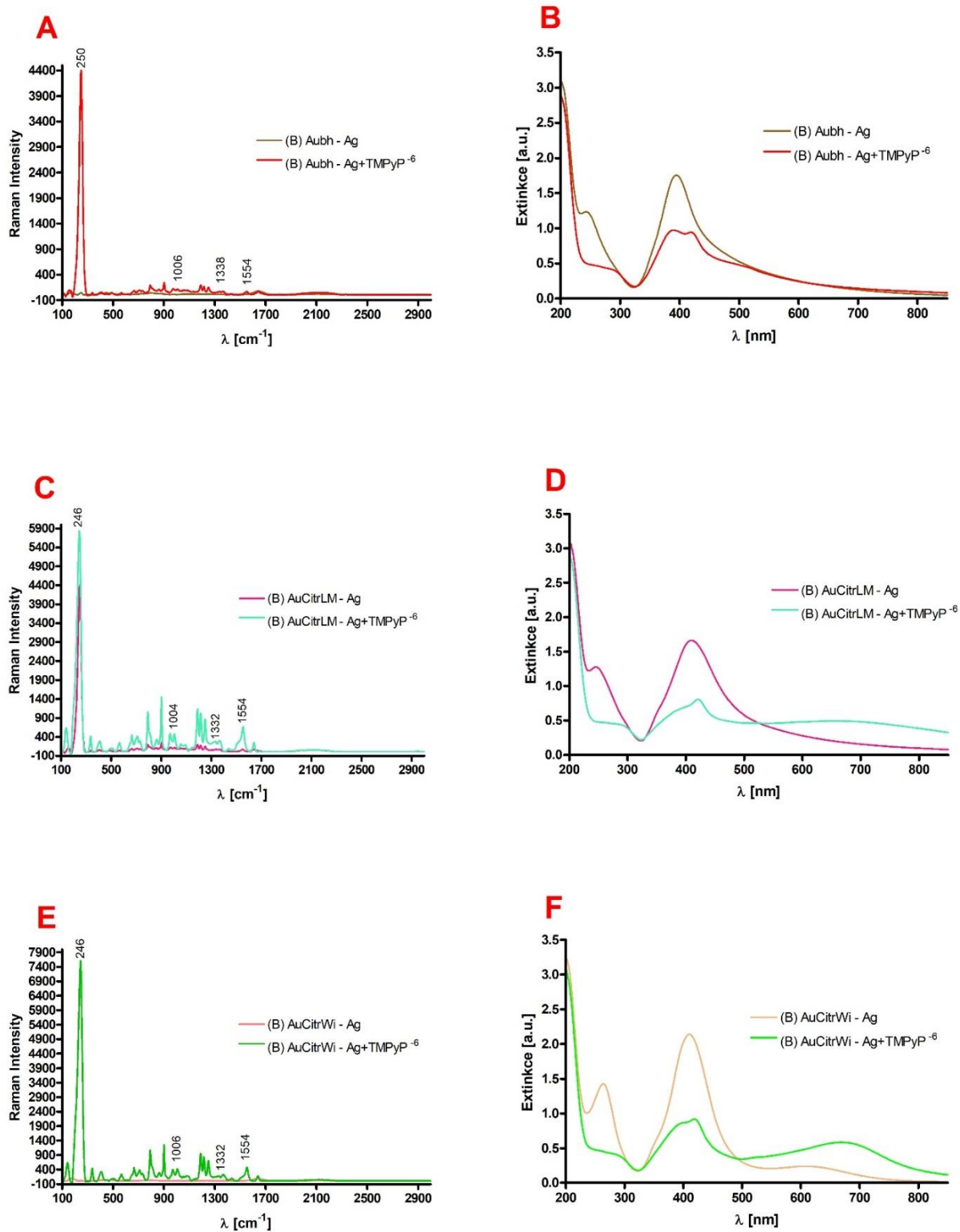
Graf 5 SERS spektra a UV-Vis spektra syntéz typu (A) Au-Ag NPs bez přidaného TMPyP a s přidaným TMPyP.

Na grafu 5A vidíme SERS spektrum (A) Aubh – Ag bez TMPyP a s přidaným TMPyP, kde můžeme pozorovat vzájemnou interakci mezi NPs a TMPyP. Dochází k mírné agregaci NPs (Graf 5B), výsledkem je signál zesílený pomocí NPs.

Dle Vlčkové a kol. (2000) byly určeny význačné pásy pro metalovaný kationtový porfyrin. Námi pozorované hodnoty pásů se však liší od hodnot uvedených ve článku Vlčkové a kol. Dalo by se tudíž usuzovat, že TMPyP nebyl metalován Ag ionty z povrchu finálních bimetalických částic. Nicméně k interakci dochází (jak vidíme dle spekter), ale je otázkou, zda jde pouze o iontovou či koordinačně kovalentní vazbu mezi Ag a dusíky pyrolových jader porfyrinu. Pro porovnání je v příloze 1 zobrazeno SERS a UV-Vis spektrum samotného TMPyP o koncentraci  $1 \cdot 10^{-6}$  M. V UV-Vis spektru vidíme absorpční pás při 420 nm a několik slabších maxim od 500 do 600 nm (Q-pásy). Srovnáme-li tento graf (Příloha 1) s UV-Vis grafy 5B, 5D a 5F sledujeme rozšíření Q-pásu, dochází tedy k agregaci NPs. Porovnáme-li SERS spektra samotného TMPyP a spektra s finálními koloidními systémy, pozorujeme několikanásobně zvětšení intenzity Ramanova rozptylu, tzn., že dochází ke vzájemné interakci mezi daným výsledným koloidním systémem a TMPyP. Je známo, že adsorpční vlastnost kationtového TMPyP na koloidy redukovaných citrátem či borohydridem je účinnější, než-li aniontových nebo neutrálních molekul (Hajduková a kol. 2008).

Citrátový koloidní systém (graf 5D a 5F) má zápornější zeta-potenciál oproti (A) Aubh – Ag, proto lze pozorovat viditelnější agregaci systému. Absorpční signál pásu kolem 420 nm v grafech 5B, 5D, 5F odpovídá Soretovu pásu.

Srovnáním grafů lze říci, že nejlepší signál (A) syntézy Au-Ag NPs byl u koloidu používající Lee-Meiselovi zárodky. Obecně lze říci, že intenzita rozptylu v případě citrátových koloidních systémů NPs je vyšší, přibližně 2,5x, než v případě borohydridových NPs.



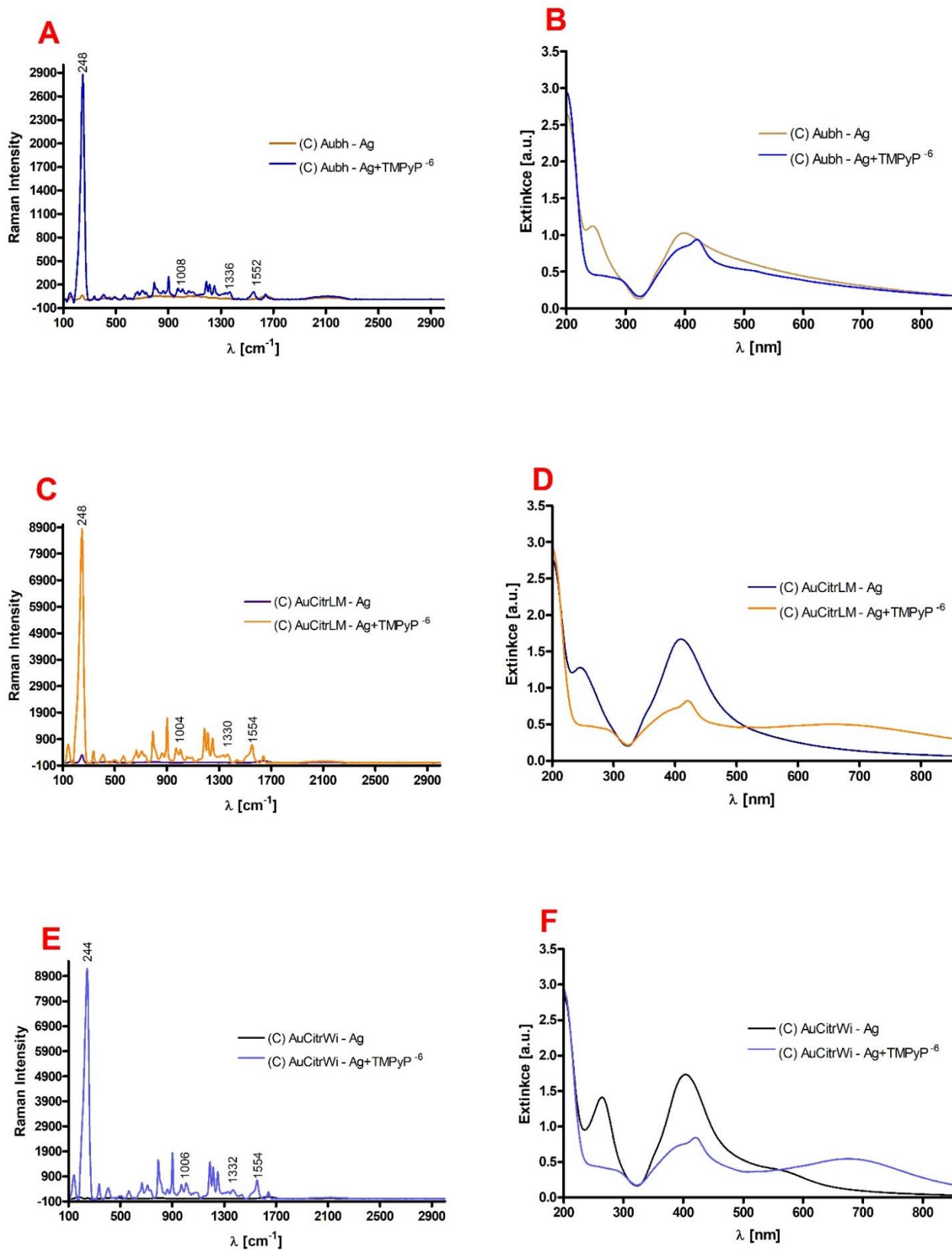
Graf 6 SERS spektra a UV-Vis spektra syntéz typu (A) Au-Ag NPs bez přidaného TMPyP a s přidaným TMPyP.

SERS význačné píky zobrazené v grafu 6A, 6C a 6E jsou opět popsány dle článku Vlčková a kol. (2000). Pozorované hodnoty se však liší od uvedených hodnot v SERS spektrech.

To, že dochází k vzájemné interakci mezi výslednými systémy a porfyrinem, můžeme opět porovnat se samostatným grafem TMPyP, který je přiložen na konci práce. V UV-Vis spektru TMPyP (Příloha 1) pozorujeme Soretův pás – 420 nm a Q-pásky 500-600 nm. V absorpčních spektrech systémů s přidaným porfyrinem také vidíme tyto pásy a zároveň pozorujeme agregaci koloidů, která je viditelná v oblasti 500-700 nm. Nejviditelnější agregace je u finálních citrátových koloidů. V SERS spektrech konečných systémů s přidaným TMPyP pozorujeme několikanásobné zvětšení intenzity Ramanova rozptylu při porovnání se samotným TMPyP, což je důsledek vzájemné interakce mezi porfyrinem a systémy.

Vzájemnou interakci nám také dokazují SERS pásy okolo  $250\text{ cm}^{-1}$ , kdy dochází k navázání Ag na dusík heterocyklu pyridinu nacházející se na okrajích struktury TMPyP. Tento způsob metalace bych nazvala semi-metalovanou formou (podle mého nejlepšího vědomí dosud nepopsána forma v odborné literatuře), jelikož se nejedná o metalaci TMPyP v pravém slova smyslu, kdy dochází k navázání kovového iontu doprostřed struktury porfyriu. Ostatní zvýrazněné pásy v SERS spektru (Graf 6A, 6C, 6E) také potvrzují, že se nejedná o zcela metalovanou formu TMPyP, orientace porfyriu je pravděpodobně jiná vůči Ag povrchu iontu.

Srovnáním grafů lze říci, že nejlepší signál (B) syntézy Au-Ag NPs byl u koloidu používající Willnerovy zárodky. Avšak je opět pozorovatelná intenzita Ramanova rozptylu několikanásobně vyšší u citrátových systému, než-li u borohydridových.



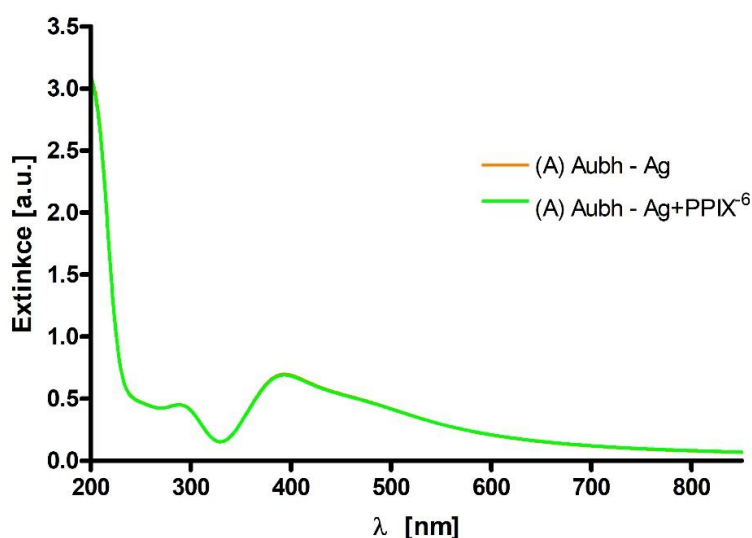
Graf 7 SERS spektra a UV-Vis spektra syntéz typu (C) Au-Ag NPs bez pridaného TMPyP a s pridaným TMPyP.

Metalovaná forma AgTMPyP je charakterizována spektrálními pásy při 396, 1014, 1341 a 1543  $\text{cm}^{-1}$  (Vlčková a kol. 2000). Jak bylo popsáno i výše, byly zvýrazněny tzv. metalační markery pro kationtový porfyrin TMPyP, které neodpovídají skutečným hodnotám uvedeným v článku Vlčkové a kol. (2000). Opět bych poukázala na způsob vazby Ag iontu na dusík pyridilového heterocyklu TMPyP. Mohlo by se jednat o semi-metalovanou formu, která zcela neodpovídá metalované formě – Ag iont není navázán uprostřed pyrrolových jader makrocyklu.

V absorpčních spektrech systémů (graf 7B, 7D a 7F) vidíme, že dochází k agregaci vlivem působení TMPyP na NPs. Se srovnáním UV-Vis spektra samotného TMPyP (Příloha 1) pozorujeme lehké posunutí Soretova pásu a Q-pásů k vyšším vlnovým délkám, navíc dochází k rozšíření pásu povrchového plasmonu. Pozorované zvětšení intenzit Ramanova rozptylu (graf 7A, 7C, 7E) nám také dokazuje, že dochází k interakci mezi daným finálním systémem a TMPyP.

Opět srovnáním můžeme říci, že nejlepší signál (C) syntézy Au-Ag NPs byl u koloidu používající citrátové zárodky. Pozorovatelná intenzita Ramanova rozptylu několikanásobně vyšší u citrátového systému, než-li u borohydridových.

Dalším zvoleným porfyrinem byl protoporfyrin IX, kde také bylo úkolem zjistit, zda modelový porfyrin mění intenzitu Ramanova rozptylu, jako předchodí TMPyP. Dle naměřených UV-Vis spekter bylo zjištěno, že nedochází k žádné změně signálu u žádného finálního koloidního systému. Ukázkou je vybrané absorpční spektrum konečného koloidu (A) Aubh – Ag (Graf 8). Pro měření byla použita koncentrace PPIX  $1 \cdot 10^{-6}$  M, ve spektrech značení PPIX<sup>-6</sup>.



Graf 8 UV-Vis spektrum samotného finálního koloidního systému (A) Aubh – Ag (oranžová křivka) a s přidaným PPIX (zelená křivka).



---

Důvodem naměřené nulové změny signálu absorpčních spekter je struktura porfyriu PPIX. Jedná se o porfyrin, který není kationtový a ani aniontový, a tudíž nemá schopnost interagovat s připravenými NPs.

## 6. Závěr

Diplomová práce se zabývá přípravou, charakterizací a porovnáváním koloidních systémů, které byly připraveny metodou dvou-krokové syntézy. Ze zárodečných borohydridových či citrátových NPs byly připraveny částice s Au jádrem a Ag slupkou třemi typy syntéz, které se vzájemně liší v postupném přidávání reaktantů do syntézy. Typ A syntézy začíná nejprve redukcí stříbrných iontů L-askorbovou kyselinou a následným přidáním příslušných zárodečných NPs. Zatímco při přípravě Au-Ag NPs syntézou typu B dochází nejprve k reakci askorbové L-kyseliny se zárodečnými NPs a poté přidání vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$ . Poslední syntéza typu C se nejvíce liší od předchozích typů syntéz v postupu přidávání reaktantů. Nejprve došlo ke smíchání stříbrných iontů se Au zárodky a nakonec byl přidán vodný roztok L-askorbové kyseliny. Pojmenování finálních koloidních systémů je uvedeno v tabulce 2. Připravené NPs byly charakterizovány pomocí UV-Vis spektroskopie, TEM, DLS a hodnotami zeta-potenciálů. Optické vlastnosti NPs byly využity pro SERS měření vybraných porfyrinů (TMPyP, PPIX). Ve skutečnosti však SERS spektra pro PPIX naměřena nebyla z důvodu nulové změny signálu při měření absorpčních spekter tohoto porfyrinu v interakci s Au-Ag NPs.

V experimentální části byla získána a diskutována SERS a UV-Vis spektra porfyrinu TMPyP s připravenými finálními koloidními systémy Au-Ag NPs. Mezi jednotlivými koloidními systémy a porfyrinem docházelo k interakci, což je prokazatelné porovnáním intenzit spekter Ramanova rozptylu samotného TMPyP (Příloha 1) a SERS spekter získaných z TMPyP s přidáním koloidem (viz SERS grafy).

Porovnáme-li připravené systémy, dá se říci, že nejlepší SERS signál vykazuje kationtový porfyrin TMPyP s nanočásticemi AuCitrLM – Ag v případě syntézy typu A. To je dáno pravděpodobně díky zápornému náboji těchto AuCitrLM – Ag NPs, které mají snahu více agregovat vlivem interakce s kationtovým TMPyP porfyrinem. U syntézy typu B nám nejlepší signál dává výsledný citrátový koloid připravený dle Willnera, tedy AuCitrWi – Ag, což lze dokázat srovnáním SERS grafů v grafu 6. Intenzita signálu TMPyP s AuCitrWi se zvýšila přibližně 60x při porovnání se samotným TMPyP. V poslední syntéze, typu C, vykazují nejlepší výsledky oba citrátové koloidy. Tento fakt lze podložit tím, že adsorpce kationtového TMPyP na koloidy redukováné citrátem či borohydridem je účinnější, než-li adsorpce aniontových

---

nebo neutrálních molekul (viz UV-Vis spektrum PPIX a koloidního systému (A) Aubh – Ag).

## 7. Literatura

- Abou El-Nour K.M.M., Eftaiha A., Al-Warthan A., Ammar R.A.A., (2010) Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry* **3**, 135-140.
- Anderson V.J. a Lekkerkerker H.N.W., (2002) Insights into phase transition kinetics from colloid science. *Nature* **416**, 811-815.
- Batista C.A.S., Larson R.G., Kotov N.A., (2015) Nonadditivity of nanoparticle interactions. *Science* **350**, 176-188.
- DeArmitt Ch., (2011) Functional Fillers for Plastics. In: Kutz M. (1st ed): *Applied Plastics Engineering Handbook*. Pp 455-468. Elsevier Books, Amstrdam.
- Deepak P., Amutha V., Kamaraj Ch., Balasubramani G., Aiswarya D., Perumal P., (2019) Chemical and green synthesis of nanoparticles and their efficacy on cancer cells. In: Kumar Shukla A. a Iravani S. (1st ed): *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Pp 369-387. Elsevier Books, Amstrdam.
- Edwards P.P. a Thomas J.M., (2007) Gold in a metallic divided state - From Faraday to present-day nanoscience. *Angewandte Chemie International Edition* **46**, 5480-5486.
- Godfrey I.J., Dent A.J., Parkin I.P., Maenosono S., Sankar G., (2017) Structure of Gold-Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C* **121**, 1957-1963.
- Hajduková N., Procházka M., Molnar P., Štěpánek J., (2008) SERRS of free-base porphyrins on immobilized metal gold and silver nanoparticles. *Vibrational Spectroscopy* **48**, 142-147.
- Hazra A., Hossain S.M., Pramanick A.K., Ray M., (2017) Gold-silver nanostructures: Plasmon-plasmon interaction. *Vacuum* **146**, 437-443.
- Heiligtag F.J a Niederberger M., (2013) The fascinating world of nanoparticle research. *Materials Today* **16**, 262-271.
- Ju-Nam Y. a Lead J.R., (2008) Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of The Total Environment* **400**, 396-414.
- Kučková Š., Hamid-Asl E., Matulková I., Hynek R., De Wael K., Sanyova J., Janssens K., (2018) Techniky a aplikace povrchově zesílené Ramanovy spektroskopie se zaměřením na umělecká díla. *Chemické listy* **112**, 312-316.

- Kumar A. a Kumar Dixit Ch., (2017) Methods for characterization of nanoparticles. In: Nimesh S., Chandra R., Gupta N. (1st ed): *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*. Pp 43-58, Woodhead Publishing, Cambridge.
- Kvítek L. a Panáček A., (2007) *Základy koloidní chemie*. Katedra fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzita Palackého, 52 stran
- Littleford R.E., Graham D., Smith W.W. Khan I., (2017) Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS), Applications. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* **4**, 389-395.
- Malm A. a Corbett J.C.W., (2019) Improved Dynamic Light Scattering using an adaptive and statistically driven time resolved treatment of correlation data. *Scientific Reports* **9**.
- McEvoy E., Donegan S., Power J., Altria K., Marsh A., (2007) LIQUID CHROMATOGRAPHY | Microemulsion Based HPLC Methods. In: Wilson I.D. (1st ed): *Encyclopedia of Separation science*. Pp 1-10. Academia Press, Cambridge.
- Moreno J. a Peinado R., (2012) *Enological Chemistry*. 1st ed, Elsevier, Amstrdam, 442 stran.
- Polte J., (2015) Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles - a new perspective. *Crystengcomm* **17**, 6809-6830.
- Prosser V., Bakule R., Balgavý P., Beneš K., Čápek V., Englich J., Janáček O., Jelínek O., Jelínková E., Ludvík J., Nešpůrek S., Pančoška P., Pilař J., Pilný J., Sedlák B., Šichová H., Štěpánek J., Valvoda V., Vondřejš V., Zachová J., (1989) *Experimentální metody biofyziky*. 1st ed, Academia, Praha, 716 stran.
- Ramos A.P., (2017) Dynamic Light Scattering Applied to Nanoparticle Characterization. In: Da Róz A.L., Ferreira M., de Lima Leite F., Oliveira O.N. (1st ed): *Nanocharacterization Techniques*. Pp 99-110, William Andrew, New York.
- Rawson P., (1984) *Ceramics*. 1st ed, University of Pennsylvania Press, Filadelfie, 240 stran.
- Rodwell V.W. a Murray R.K., (2015) Porphyrins & Bile Pigments. In: Rodwell V.W., Bender D.A., Botham K.M., Kennelly P.J., Weil P.A. (30th ed): *Harper's illustrated biochemistry*. Pp 323-338. McGraw-Hill Education, New York.
- Santhoshkumar J., Rajeshkumar S., Venkat Kumar S., (2017) Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles – a review. *Biochemistry and Biophysics Reports* **11**, 46-57.

- Sharma G., Kumar A., Sharma S., Naushad M., Dwivedi R.P., AlOthman Z.A., Mola G.T., (2019) Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: A review. *Journal of King Saud University* **31**, 257-269.
- Sharma V.K., Machalová Šišková K., Zbořil R., Gardea-Torresdey J.L., (2014) Organic-coated silver nanoparticles in biological and environmental conditions: Fate, stability and toxicity. *Advances in Colloid and Interface Science* **204**, 15-34.
- Su D., (2017) Advanced electron microscopy characterization of nanomaterials for catalysis. *Green Energy & Environment* **2**, 70-83.
- Taylor J., Huefner A., Li L., Wingfield J., Mahajan S., (2016) Nanoparticles and intracellular applications of surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analyst* **141**, 5037-5055.
- Titus D., Samuel J.J., Roopan S.M., (2019) Nanoparticle characterization techniques. In: Kumar Shukla A. a Iravani S. (1st ed): *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Pp 303-319. Elsevier Books, Amstrdam.
- Vlčková B., Šmejkal P., Michl M., Procházka M., Mojžeš P., Lednický F., Pflieger J., (2000) Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of porphyrin and metalloporphyrin species in systems with Ag nanoparticles and their assemblies. *Journal of Inorganic Biochemistry* **79**, 295-300.
- Wei Lu G. a Gao P., (2010) Emulsions and Microemulsions for topical and Transdermal Drug Delivery. In: Kulkarni V.S. (1st ed): *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*. Pp 59-94, William Andrew, New York.
- Wuithschick M., Birnbaum A., Witte S., Sztucki M., Vainio U., Pinna N., Rademann K., Emmerling F., Kraehnert R., Polte J., (2015) Turkevich in New Robes: Key Questions Answered for the Most Common Gold Nanoparticle Synthesis. *ACS Nano* **9**, 7052-7071.
- Zeng Y.J., Hu R., Wang L., Gu D.Y., He J., Wu S., Ho H., Li X., Qu J., Gao B.Z., Shao Y., (2017) Recent advances in surface plasmon resonance imaging: detection speed, sensitivity, and portability. *Nanophotonics* **6**, 1017-1030.
- Zheng T.Y., Bott S., Huo Q., (2016) Techniques for Accurate Sizing of Gold Nanoparticles Using Dynamic Light Scattering with Particular Application to Chemical and Biological Sensing Based on Aggregate Formation. *ACS Applied Materials & Interfaces* **8**, 21585-21594.
- Zhu X. a Gao T., (2019) Spectrometry. In: Li G. (1st ed): *Nano-Inspired Biosensors for Protein Assay with Clinical Applications*. Pp 273-264. Elsevier, Amstrdam.

**Internetové zdroje**

[1] Colloids home page:

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Physical\\_Properties\\_of\\_Matter/Solutions\\_and\\_Mixtures/Colloid](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Physical_Properties_of_Matter/Solutions_and_Mixtures/Colloid) [cit. 11.02.2020].

[2] Lumen learning home page:

<https://courses.lumenlearning.com/introchem/chapter/hydrophilic-and-hydrophobic-colloids/> [cit. 11.02.2020].

[3] Wikipedia home page:

[https://www.wikiskripta.eu/w/Elektrick%C3%A9\\_vlastnosti\\_koloid%C5%AF](https://www.wikiskripta.eu/w/Elektrick%C3%A9_vlastnosti_koloid%C5%AF) [cit. 15.02.2020].

[4] Wikipedia home page: [https://cs.qwe.wiki/wiki/Protoporphyrin\\_IX](https://cs.qwe.wiki/wiki/Protoporphyrin_IX) [cit. 01.03.2020].

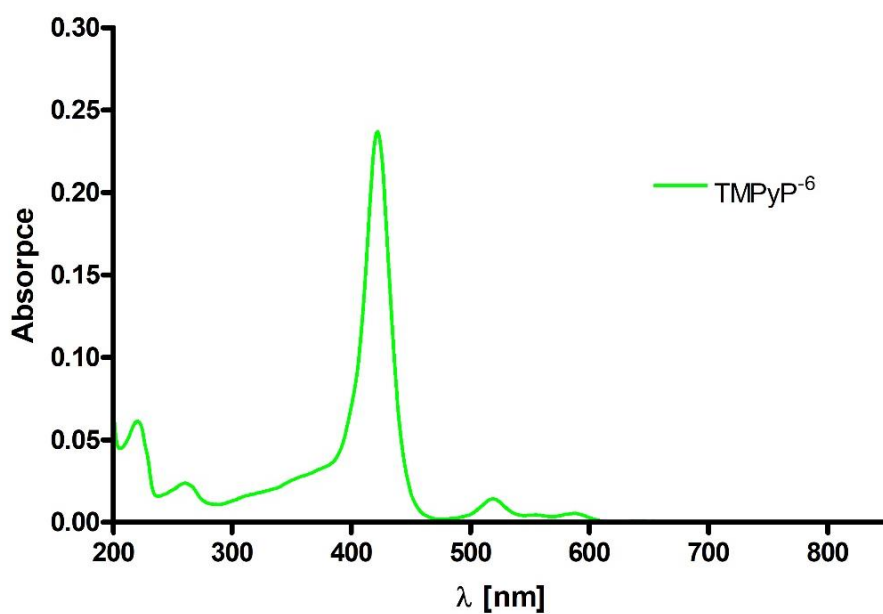
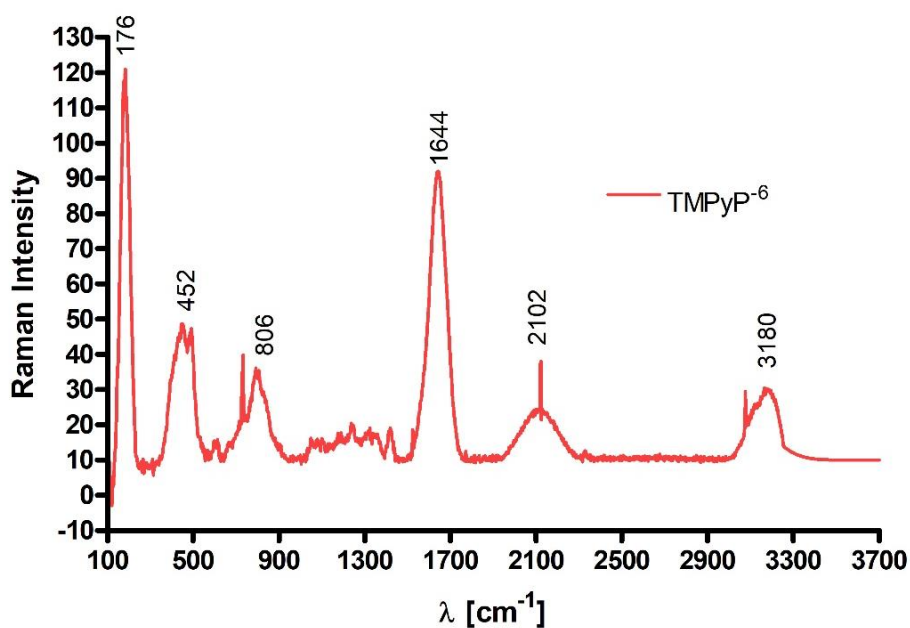
[5] Sigma Aldrich home page:

<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/323497?lang=en&region=CZ> [cit. 01.03.2020].

[6] nanoComposix home page: <https://nanocomposix.com/pages/nanoparticle-characterization-techniques> [cit. 03.04.2020].

[7] nanoComposix home page: <https://nanocomposix.com/pages/plasmonics> [cit. 03.04.2020].

## 8. Příloha 1



Příloha 1 SERS a UV-Vis spektra TMPyP o koncentraci  $1 \cdot 10^{-6}$  M.