

# Studium přípravy nanočástic stříbra za použití přírodních látek

Bc. Klára Kostelanská

---

Diplomová práce  
2016



Přírodovědecká  
fakulta

---

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Libora Kvítka, CSc. Veškerou použítu literaturu a jiné prameny, ze kterých jsem čerpala, jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Olomouci dne .....

.....

Klára Kostelanská

## **Bibliografická identifikace:**

<b>Jméno a příjmení autora:</b>	Klára Kostelanská
<b>Název práce:</b>	Studium přípravy nanočástic stříbra za použití přírodních látek
<b>Typ práce:</b>	Diplomová práce
<b>Pracoviště:</b>	Katedra fyzikální chemie
<b>Vedoucí práce:</b>	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
<b>Rok obhajoby:</b>	2016

**Abstrakt:** Cílem této diplomové práce bylo připravit nanočástice stříbra slabými redukčními látkami přírodního původu či jejich syntetickými analogy. Jako redukční látka tak byly použity D-mannit, D-manóza, Polyethylenglykol 300 (PEG 300) a Polyethylenglykol 35 000 (PEG 35 000). Příprava nanočástic stříbra probíhala pomocí modifikované Tollensovy metody ve slabě alkalickém prostředí za termické iniciace klasickým ohřevem a za pomoci mikrovln v mikrovlnném reaktoru. Pro analýzu připravených nanočástic byla použita UV/VIS spektroskopie, dynamický rozptyl světla (DLS) a elektronová mikroskopie (TEM). Získané výsledky ukazují, že výběr metody termické iniciace je do jisté míry závislý na typu použité redukční látky

**Klíčová slova:** nanočástice stříbra, D-mannit, D-manóza, PEG, mikrovlnný reaktor

**Počet stran:** 67

Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta

**Počet příloh:** 0

**Jazyk:** český

## **Bibliographic identification:**

<b>Author's first name and surname:</b>	Klára Kostelanská
<b>Title:</b>	Study of silver nanoparticles preparation using natural compounds
<b>Type of thesis:</b>	Diploma thesis
<b>Department:</b>	Department of Physical Chemistry
<b>Supervision:</b>	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
<b>Year of presentation:</b>	2014
<b>Abstract:</b>	<p>The aim of this diploma thesis was to create silver nanoparticles by weak reducing agent natural character or by their synthetic analogues. As reducing agent were used D-mannit, D-mannose, polyethyleneglycol 300 (PEG 300) and polyethyleneglycol 35 000 (PEG 35 000). The preparation of silver nanoparticles was carried out using modified Tollens method in slightly alkaline environment using thermal initiation. The thermal initiation was carried out by classical heating and by using microwaves in a microwave reactor. An analysis of nanoparticles was performed using UV/VIS spectroscopy, dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). The obtained results show that the selection method of termic initiation is partly dependent on the type of used reducing agent.</p>
<b>Key words:</b>	silver nanoparticles, D-mannit, D-mannose, PEG, microwave reactor
<b>Number of pages:</b>	67

Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta

**Number of appendices:** 0

**Language:** Czech

Za pomoc při sepsání a zpracování této práce bych chtěla poděkovat především svému vedoucímu doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. za ochotu, přístup a cenné rady, které mi během zpracování poskytl. Zároveň bych chtěla poděkovat Mgr. Ing. Radce Pocklanové za pomoc a rady při práci na mikrovlnném reaktoru, děkuji Dr. Anandarup Goswamimu za pomoc s manipulací mikrovlnného reaktoru, doc. RNDr. Aleši Panáčkovi, Ph.D. a Mgr. Janě Stráské za snímky z elektronového mikroskopu, Regionálnímu centru pokročilých technologií a materiálů za možnost práce v jejich laboratoři, také Katedře fyzikální chemie a paní laborantce Karle Slavičkové. V neposlední řadě děkuji mé rodině za trpělivost a podporu, kterou mi nejen během studia poskytla.

## OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 KOLOIDNĚ DISPERZNÍ SYSTÉMY</b> .....	<b>12</b>
1.1 ROZDĚLENÍ DISPERZNÍCH SYSTÉMŮ.....	12
1.2 ROZDĚLENÍ KOLOIDNÍCH SOUSTAV PODLE FÁZOVÉHO SLOŽENÍ.....	13
1.3 KINETICKÉ VLASTNOSTI KOLOIDNÍCH SOUSTAV .....	13
1.3.1 Brownův pohyb a jeho důsledky.....	13
1.3.2 Difúze.....	14
1.3.3 Osmóza.....	15
1.3.4 Sedimentace .....	16
1.4 OPTICKÉ VLASTNOSTI KOLOIDNÍCH SOUSTAV.....	17
1.4.1 Rozptyl světla.....	17
1.4.2 Absorpce světla .....	18
1.5 ELEKTRICKÉ VLASTNOSTI KOLOIDNÍCH SOUSTAV .....	19
1.5.1 Elektrická dvojvrstva a elektrokinetické jevy .....	19
<b>2 NANOTECHNOLOGIE</b> .....	<b>22</b>
2.1 PŘÍPRAVA DISPERZÍ NANOČÁSTIC .....	23
2.1.1 Dispergační metody .....	23
2.1.1.1 Laserová ablace.....	23
2.1.1.2 Elektrochemická metoda.....	23
2.1.2 Kondenzační metody.....	24
2.1.2.1 Borohydridová metoda .....	24
2.1.2.2 Citrátová metoda.....	24
2.1.2.3 Modifikovaná Tollensova metoda .....	24
2.1.2.4 Polysacharidová metoda .....	25
2.1.2.5 Redukce pomocí polyalkoholů .....	25
2.1.2.6 Redukce pomocí dalších anorganických sloučenin .....	26
2.1.2.7 Mikrovlnná syntéza.....	26
2.1.2.8 Redukce za využití ultrazvuku.....	26
2.1.2.9 Redukce za využití $\gamma$ -záření .....	26
2.1.2.10 Polyoxomethalátová metoda .....	27
2.1.2.11 Redukce UV zářením .....	27
2.1.2.12 Biologické metody .....	27
2.2 NANOČÁSTICE STRĚBRA – VLASTNOSTI A VYUŽITÍ.....	28
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>31</b>
<b>3 MATERIÁLY</b> .....	<b>32</b>
3.1 CHEMIKÁLIE.....	32
3.1.1 D-manóza .....	32
3.1.2 D-mannit .....	33
3.1.3 Polyethylenglykol .....	33
3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ .....	33
3.2.1 Zeta Potencial Analyzer Zeta Plus (90Plus).....	33
3.2.2 UV-VIS spektrofotometr Specord S600 .....	34
3.2.3 Mikrovlnný reaktor Monowave 300 .....	34



3.2.4	Transmisní elektronový mikroskop.....	35
3.3	PŘÍPRAVA NANOČÁSTIC STŘÍBRA .....	35
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>37</b>
4.1	TERMICKÁ PŘÍPRAVA NANOČÁSTIC STŘÍBRA KLASICKÝM OHŘEVEM.....	37
4.1.1	Redukce D-mannitem.....	37
4.1.2	Redukce D-manózou .....	39
4.1.3	Redukce Polyethylenglykolem 300.....	42
4.1.4	Redukce Polyethylenglykolem 35 000.....	45
4.2	PŘÍPRAVA NANOČÁSTIC STŘÍBRA POMOCÍ MIKROVLN .....	46
4.2.1	Redukce D-mannitem.....	47
4.2.2	Redukce D-manózou .....	49
4.2.3	Redukce Polyethylenglykolem 300.....	51
4.2.4	Redukce Polyethylenglykolem 35 000.....	53
4.3	POROVNÁNÍ VZNIKU AG-NPS KLASICKÝM OHŘEVEM A V MIKROVLNNÉM REAKTORU.....	55
4.3.1	Redukce D-mannitem.....	55
4.3.2	Redukce D-manózou .....	56
4.3.3	Redukce Polyethylenglykolem 300.....	57
4.3.4	Redukce PEGem 35 000 .....	58
4.4	ELEKTROCHEMICKÉ STUDIUM REDUKČNÍ SÍLY POUŽITÝCH LÁTEK .....	59
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>63</b>
	<b>SUMMARY .....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>65</b>

## ÚVOD

Nanotechnologie je v dnešní době nejrychleji se rozvíjející oblast výroby, jež dává vzniknout novým materiálům, které lidstvo využívá nevědomě už řadu let. V současnosti je škála využití nanomateriálů opravdu široká, můžeme jmenovat například výrobu kosmetických přípravků, diagnostických systémů i léčiv, potravních výrobků, biosenzorů, katalyzátorů, atd. Široké využití nanomateriálů ale může mít nepříznivý vliv i na životní prostředí.<sup>[1]</sup>

V poslední čtvrtině 20. století vzrostl zájem převážně o koloidy kovů, můžeme říct i nanočástice kovů, kdy jako příklad můžeme jmenovat objev stříbrným povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS), který napomohl rozvoji nové metody, jež umožňuje zkoumání i jen jediné molekuly, která se naadsorbovala na povrch nanočástice.

Tato práce se věnuje zejména přípravě nanočástic stříbra, které je využíváno a známo především pro svoji antibakteriální a antimikrobiální aktivitu. Zároveň mají tyto nanočástice výrazné optické, katalytické a další biologické vlastnosti, díky kterým nacházejí Ag-NPs (nanočástice stříbra) využití ve výzkumných laboratořích, ale i mimo ně.

Významnou roli v nanotechnologických aplikacích hraje velikostní distribuce, morfologie, stabilita používaných nanočástic. Příprava s jasným cílem vytvořit nanostříbro požadovaných velikostí však není v současném materiálovém výzkumu ještě zcela uspokojivě vyřešena. S tímto problémem souvisí i rostoucí počet publikací na toto téma.

Ag-NPs jsou připravovány dvěma způsoby, a to dispergačními či kondenzačními metodami, kdy v praxi se využívají spíše ty druhé.<sup>[2]</sup>

Nanostříbro přitahuje svoji pozornost především v medicínském průmyslu díky své antibakteriální aktivitě. V posledních letech bylo prokázáno, že nanočástice stříbra mají výrazné protizánětlivé účinky. Používají se např. pro úpravu obvazových materiálů používaných pro snadnější hojení ran či popálenin.<sup>[3]</sup>

Tato práce pojednává o přípravě nanočástic stříbra pomocí modifikované Tollensovy metody, která je založena na redukci pomocí slabého redukčního činidla, převážně cukrů. Příprava probíhala termickou iniciací klasickým ohřevem a pomocí mikrovln, aby bylo možné provést srovnání výhodnosti či nevýhodnosti obou postupů v praxi.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 KOLOIDNĚ DISPERZNÍ SYSTÉMY

Disperzní systémy jsou soustavy, které obsahují látku tzv. disperzní fázi (podíl), která je rozptýlená v látce jiné, tedy v tzv. disperzním prostředí. Disperzní fáze a disperzní prostředí jsou téměř vždy chemicky odlišné složky. Příkladem takových systémů může být například mlha, což je disperze vodních kapének ve vzduchu. <sup>[4,5,6]</sup>

## 1.1 Rozdělení disperzních systémů

Základní rozdělení disperzních systémů se odvozuje od počtu fází, ze kterých se celá soustava skládá. Podle toho můžeme rozdělit soustavy:

- **Homogenní disperze** – tyto soustavy obsahují jen jednu fázi. Mezi disperzním prostředím a rozptýlenými částicemi neexistuje pevná hranice. Homogenní disperze jsou obvykle nazývány analytické disperze (pravé roztoky).
- **Heterogenní disperze** – tyto soustavy obsahují minimálně dvě fáze. Mezi disperzním prostředím a rozptýlenými částicemi existuje hranice zvaná fázové rozhraní. Heterogenní disperze lze dále dělit na koloidní a hrubé disperze (viz níže).

Typické pro koloidní soustavy je vysoký stupeň disperzity, tedy vysoký stupeň rozptýlení částic disperzního podílu v disperzním prostředí. Pro znázornění jednotlivých velikostních frakcí v koloidním systému se používají distribuční křivky, které ukazují, že pokud je systém monodisperzní, jsou v něm částice pouze jedné velikosti. Ve skutečnosti jsou ale častější systémy polydisperzní, které obsahují různé velikostní frakce.

- **Analytické disperze** – velikost částic  $d < 10^{-9}$  m. Jedná se o pravé roztoky nízkomolekulárních látek, jsou termodynamicky stálé a nefiltrovatelné. Zároveň mají vysokou difúzi a osmózu.
- **Koloidní disperze** – velikost částic  $10^{-9}$  m  $< d < 10^{-6}$  m. Jsou to především pravé roztoky vysokomolekulárních látek a nano nebo mikrodisperze dalších látek. Tyto disperze jsou termodynamicky stálé i nestálé a jsou filtrované přes ultrafiltry. Zároveň je u nich pozorována slabá difúze i osmóza.
- **Hrubé disperze** – velikost částic  $d > 10^{-6}$  m. Jedná se o systémy nestálé, filtrované snadno, pouze přes filtrační papír. Osmóza ani difúze se u tohoto typu disperzí nepozoruje. <sup>[4,5,6]</sup>

## 1.2 Rozdělení koloidních soustav podle fázového složení

Podobně jako jsou děleny disperzní systémy do osmi skupin, můžeme na základě několika kritérií dělit i koloidní soustavy. Budeme – li klasifikovat na základě skupenských stavů disperzní fáze a disperzního prostředí, rozdělíme koloidní soustavy do několika skupin (viz Tabulka 1). Koloidní soustavy můžeme označit jako soly, kdy předpona aero (= vzduch) charakterizuje soly s plynným disperzním prostředím a předpona lyo (= rozpouštědlo), pak charakterizuje soly s kapalným disperzním prostředím.<sup>[4]</sup>

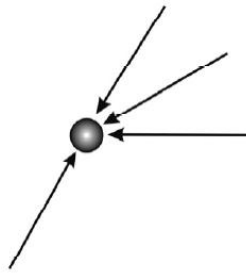
disperzní prostředí	disperzní fáze	označení koloidní disperze
plynné	plynný	netvoří koloid
	kapalný	aerosoly
	pevný	aerosoly
kapalné	plynný	pěny
	kapalný	emulze
	pevný	lyosoly
pevné	plynný	tuhé pěny
	pevný	tuhé emulze
	pevný	tuhé soly

**Tabulka 1:** Rozdělení koloidních soustav dle skupenství<sup>[4]</sup>

## 1.3 Kinetické vlastnosti koloidních soustav

### 1.3.1 Brownův pohyb a jeho důsledky

Koloidní částice mají stejné chování jako částice v pravých roztocích – chovají se chaoticky, svými srážkami mění směr i rychlost svého pohybu. Během takových procesů dochází k nárazům molekul disperzního prostředí do koloidních částic. Tento pohyb pak nazýváme Brownův. Čím menší jsou částice a čím vyšší je teplota, tím je tento pohyb intenzivnější. Tohoto poznatku je možné využít i v průběhu měření velikosti částic.<sup>[4,5,6,9]</sup>



**Obr. 1:** Nárazy molekul disperzního prostředí do koloidní částice <sup>[4]</sup>

### 1.3.2 Difúze

V disperzních soustavách s koncentračním gradientem dochází v souvislosti s translačními pohyby k samovolnému vyrovnávání koncentrací pomocí difúze. Ta probíhá ve směru koncentračního gradientu, tedy z míst o vyšší koncentraci do míst o nižší koncentraci se snahou o vyrovnání koncentrace v celé soustavě (vytvoření rovnováhy).

Difúze je popsána I. Fickovým zákonem:

$$J_i = -D_i \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

kde  $J_i$  představuje difúzní tok,  $D_i$  difúzní koeficient [ $\text{m}^2/\text{s}$ ] a  $dc/dx$  koncentrační gradient.

Einsteinova rovnice popisuje vztah mezi difúzním koeficientem, koeficientem tření a absolutní teplotou:

$$D_i = \frac{kT}{B} \quad (2)$$

kde  $k$  je Boltzmanova konstanta,  $T$  je termodynamická teplota a  $B$  představuje koeficient tření. Pro symetricky souměrnou částici o poloměru  $r$ , která se pohybuje v prostředí o viskozitě  $\eta$  je koeficient tření popsán pomocí Stokesovy rovnice:

$$B = 6\pi\eta r \quad (3)$$

Pokud se částice pohybuje vlivem difúze, která je způsobena Brownovým pohybem, pak v daném čase  $\Delta t$  urazí určitou vzdálenost, kterou nazýváme střední posuv částice. Pro tento střední posuv byla Einsteinem a Smoluchowskim odvozena rovnice popisující pohyb koloidní částice vlivem Brownova pohybu.<sup>[4,9]</sup>

$$\bar{\Delta} = \sqrt{\frac{kT_{\Delta}t}{3\pi\eta r}} \quad (4)$$

### 1.3.3 Osmóza

Osmóza je dalším typem vyrovnávání koncentračního mezi dvěma systémy, které jsou od sebe odděleny polopropustnou – semipermeabilní membránou. Skrze semipermeabilní membránu mohou pronikat pouze molekuly rozpouštědla, jelikož částice větších rozměrů nejsou schopny projít přes póry. Během osmózy dochází ke snaze o vyrovnání chemických potenciálů rozpouštědla na obou stranách membrány. Dochází k vyrovnání koncentrace mezi roztokem a čistým rozpouštědlem, což způsobuje opačný směr, než kterým funguje difúze rozpuštěné látky.

V případě, že membrána rozdělí roztok od čistého rozpouštědla, pak nastává přetlak, který je nazýván osmotický tlak  $\pi$ . Osmotický tlak v pravých roztocích je popsán Van't Hoffovou rovnicí:

$$\pi = cRT \quad (5)$$

kde  $c$  je molární koncentrace [ $\text{mol}/\text{m}^3$ ],  $R$  univerzální plynová konstanta a  $T$  termodynamická teplota.<sup>[4,5,6]</sup>

### 1.3.4 Sedimentace

Všechny částice, ať už hrubě nebo koloidně disperzní podléhají působení gravitační síly, což se projevuje jako usměrněný pohyb částic, tedy sedimentace, která buď způsobí úplné usazení částic, nebo je rovnovážně rozdělí podle jejich velikosti. Pohyb částic ovlivňuje jejich hmotnost, tvar a hustotu, a také závisí na vlastnostech prostředí, ve kterém se dané částice pohybují. Na každou kulovitou částici ve vodě, která vykonává pohyb a je ovlivněna působením gravitační síly  $F_g$ , působí také síla vztlaková  $F_{vztl}$  a viskozní odpor  $F_{vis}$ , což můžeme vyjádřit Stokesovým vztahem:

$$F_g = F_{vztl} + F_{vis} \quad (6)$$

Poté můžeme gravitační sílu, s ohledem na vztlakovou sílu, popsat rovnicí:

$$F_g = \frac{4}{3}\pi r^3(\rho - \rho_0)g \quad (7)$$

Pokud se částice pohybují určitou rychlostí, pak dojde k vyrovnání všech sil:

$$\frac{4}{3}\pi r^3(\rho - \rho_0)g = 6\pi\eta r v \quad (8)$$

Ze vztahu (8) jsme schopni určit hodnotu rychlosti  $v$  sedimentace částice, která je ovlivněna působením gravitačního pole:

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

kde  $\rho$  značí hustotu dispergovaných částic,  $\rho_0$  hustotu disperzního prostředí a  $g$  je gravitační zrychlení.



Během centrifugace působí na částice síla odstředivá  $F_{\text{odstř}}$  namísto síly gravitační  $F_g$ . Stav, kdy se velikost sil  $F_{\text{odstř}}$  a  $F_{\text{tření}}$ , vyrovnají, je vyjádřen vztahem:

$$v = \frac{2r^2(\rho - \rho_0)\omega x}{9\eta} \quad (10)$$

kde  $\omega$  značí úhlovou rychlost a  $x$  vzdálenost od osy otáčení.<sup>[4,6]</sup>

## 1.4 Optické vlastnosti koloidních soustav

Mezi charakteristické prvky koloidních soustav patří optické vlastnosti. Během průchodu světla disperzním systémem dochází k pravé absorpci a zároveň k rozptylu světla. Následná velikost obou dvou efektů se odvíjí od charakteru disperzní soustavy a vlnové délky světla. U systémů, které jsou analyticky disperzní, se projevuje především pravá absorpce, kdežto u systémů, které obsahují částice koloidní nebo částice větších rozměrů, se projevuje zejména rozptyl světla.<sup>[6,9]</sup>

### 1.4.1 Rozptyl světla

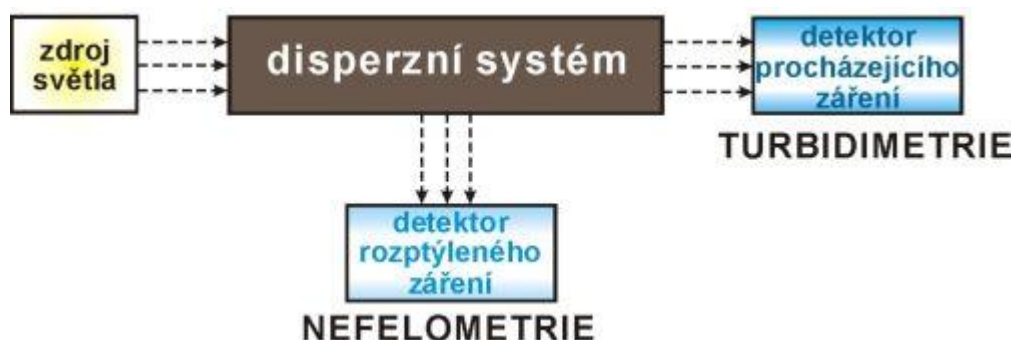
Jen u systémů, které mají různé indexy lomu disperzních částic a disperzního prostředí, je pozorovatelný rozptyl světla. Samotný rozptyl nastává v případě, že vlnová délka světla  $\lambda$  je mnohem větší, než koloidní částice o poloměru  $r$  ( $\lambda \gg r$ ). Pokud však dojde k odrazu světla a vznikne zákal, hovoříme o hrubě disperzních soustavách. Podle Rayleigha teorie rozptylu světla, která je založená na představě částice jako oscilujícího dipólu vyzařujícího pohlcenou světelnou energii do všech stran bez toho, aniž by se změnila vlnová délka, je rozptýlená intenzita světla  $I_\theta$  závislá jak na elektrických vlastnostech (polarizovatelnost  $\alpha$ ), tak i na pozorovací vzdálenosti  $R$  a pozorovacím úhlu  $\theta$ :

$$\frac{I_\theta}{I_0} = \frac{8\pi^4}{\lambda^4 R^2} \left( \frac{\alpha}{4\pi\epsilon_0} \right)^2 (1 + \cos^2\theta) \quad (11)$$

Polarizovatelnost částice  $\alpha$  můžeme vyjádřit z její závislosti na objemu  $V$  a indexu lomu  $n$ :

$$\alpha = 3\varepsilon_0 \left( \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) V \quad (12)$$

Rozptyl světla můžeme nejjednodušeji studovat pomocí dvou metod. Jednou z nich je nefelometrie, která je založená na přímém měření intenzity světla rozptýleném ve směru kolmém na paprsek světla dopadající na studovaný systém. Nefelometrie je používána pro zředěné systémy, popřípadě slabě zkalené. Další metodou je turbidimetrie, kdy se měří zeslabení primárního paprsku, což je způsobeno rozptylem během průchodu paprsku disperzním systémem. Tato metoda je využívána pro koncentrované systémy. Pomocí získaných hodnot se z tzv. statického rozptylu světla nejčastěji určuje průměrná molekulová hmotnost polymerních molekul. <sup>[4,6,10]</sup>



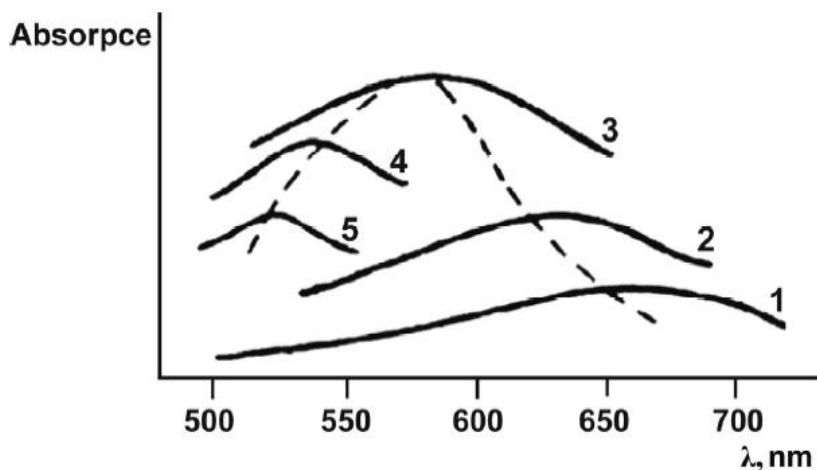
**Obr. 2:** Schéma nefelometrie a turbidimetrie, jež od sebe odlišuje způsob snímání<sup>[6]</sup>

### 1.4.2 Absorpce světla

Během absorpce dochází k pohlcení energetického kvanta elektromagnetického záření, což vede ke změně energetických stavů valenčních a vazebných elektronů. Během absorpce se tedy zvýší vnitřní energie molekul systému, která se transformuje na tepelnou energii. Absorpci popisuje Lambert – Beerův zákon:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon cd \quad (13)$$

kde  $A$  je absorpce světla,  $I$  je intenzita prošlého záření,  $I_0$  je intenzita dopadajícího světla,  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient,  $c$  je koncentrace látky a  $d$  je tloušťka květy, ve které je měřená látka umístěná. Absorpční koeficient u koloidních soustav závisí na velikosti částic disperzní fáze, čehož si lze všimnout především u elektricky vodivých koloidních částic, což lze vidět například na absorpčním spektru solí zlata (viz Obr. 3):<sup>[4]</sup>



**Obr. 3:** Absorpční spektra solí zlata a jejich posuny absorpčních maxim ke kratším vlnovým délkám v důsledku vzrůstu stupně disperzity<sup>[4]</sup>

## 1.5 Elektrické vlastnosti koloidních soustav

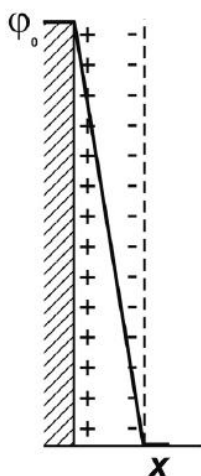
Elektrický náboj koloidních částic spoluurčuje stabilitu koloidní soustavy a také chování nabitých částic v elektrickém poli.<sup>[4]</sup>

### 1.5.1 Elektrická dvojvrstva a elektrokinetické jevy

Elektrokinetické jevy souvisí s pohyby nabitých částic disperzní fáze vůči disperznímu prostředí. Můžeme mezi ně zařadit elektroforézu, sedimentační potenciál, elektroosmózu nebo potenciál proudění. U elektroforézy a elektroosmózy se pohybují částice vlivem vnějšího elektrického pole a u sedimentačního potenciálu a potenciálu proudění nastává opačná situace, a to, že mechanický pohyb částic vyvolává vznik elektrického pole (vůči elektroforéze a elektroosmóze jsou tyto jevy inverzní). Na fázovém rozhraní disperzní fáze a disperzního prostředí se nachází elektrický náboj, který způsobuje vznik uspořádané vrstvy v bezprostřední blízkosti fázového rozhraní – elektrické dvojvrstvy.

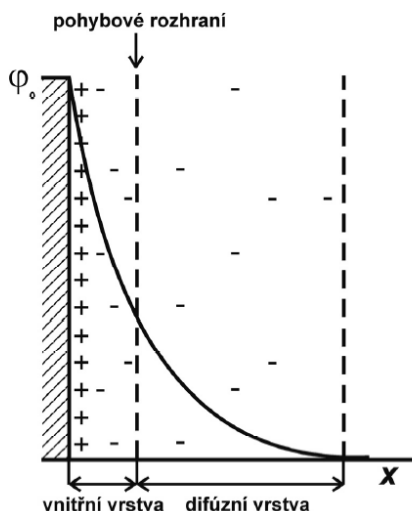
Elektrický náboj, který je na povrchu koloidní částice může vznikat buď ionizací funkčních skupin povrchových molekul (nebo rozpouštěním či substitucí iontů v krystalové mřížce), anebo adsorpcí iontů nacházejících se v disperzním prostředí. Existuje několik typů uspořádání elektrické dvojvrstvy.

První ne zcela dokonalou teorií elektrické dvojvrstvy vypracoval Helmholtz na základě podobnosti s uspořádáním deskového kondenzátoru, kde je zcela vykompenzován náboj částic, které tvoří jednu vrstvu, nábojem opačně nabitých částic, které se nachází ve vrstvě druhé.



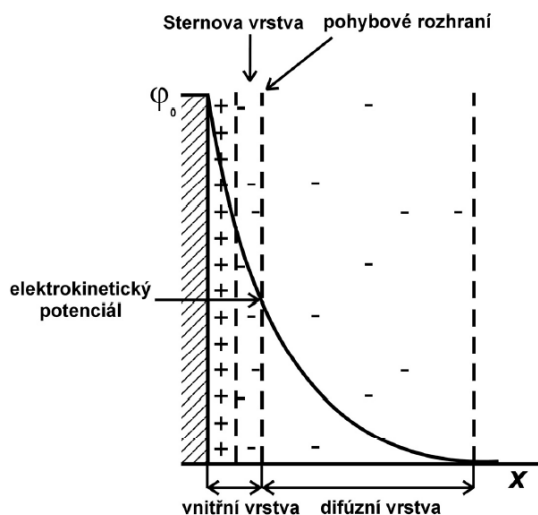
**Obr. 4:** Schématické uspořádání elektrické dvojvrstvy podle Helmholtze<sup>[4]</sup>

Podle Gouy – Chapmanovy teorie ionty, které jsou lokalizované na povrchu částice, nemohou navázat příslušné množství iontů opačného náboje v protivrstvě z důvodu jejich pohybu vlivem difúze a jejich rozptýlení v celém objemu kapalné fáze. K první (vnitřní, kompaktní) vrstvě je poután jen určitý počet protiontů, zbývající část opačně nabitých iontů je lokalizovaná ve vnější (difúzní) vrstvě. Tato teorie rovněž selhávala, jelikož autoři nepočítali se skutečnými rozměry iontů, proto ji není možné použít na vysoce koncentrované systémy.



**Obr. 5:** Schématické uspořádání elektrické dvojvrstvy podle Gouye – Chapmana<sup>[4]</sup>

Teorie, která už počítala se skutečnými rozměry molekul, je teorie podle Sterna. K vnitřní vrstvě se ionty opačného náboje vážou elektrostatičtými a adsorpčními silami. Sternova vrstva, což je vrstva protiontů těsně přiléhajících k povrchu, je tvořena ionty vázanými adsorpčními silami. Takové ionty potom společně s ionty navázanými na povrch částice vytváří kompaktní vnitřní vrstvu. Ostatní protionty více vzdálené od částice jsou přitahovány elektrostatičtými silami a jsou zahrnuty do difúzní vrstvy.<sup>[4]</sup>



**Obr. 6:** Schématické uspořádání elektrické dvojvrstvy podle Sterna<sup>[4]</sup>

## 2 NANOTECHNOLOGIE

Počátek vědy o nanočásticích souvisí s Richardem Philipsem Feynmanem, americkým vědcem a držitelem Nobelovy ceny za fyziku. Z počátku nazýval tuto vědu mikrotechnologií. Po tomto vědci se každoročně uděluje Feynmanova cena za přínos do oboru nanotechnologií.

Pojem nanotechnologie byl poprvé použit v roce 1974 japonským fyzikem Taniguchim. Ten tak pojmenoval novou metodu, která umožňovala vyrobit součástky o velikosti nanometrů.

Specifikujeme – li obor nanotechnologie, pak máme na mysli částice nebo struktury, které se rozměrově pohybují od 1 do 100 nm a nazýváme je nanostruktury, což jsou základní stavební jednotky nanomateriálů. Z předchozí věty tedy plyne, že za nanomateriály považujeme částice, které mají alespoň jeden ze tří rozměrů menší než 100 nm (např. velmi tenké vrstvy, nanotrubičky, nanovlákna apod.). Nanověda, jejíž hranice se nedají tak úplně vymezit, neboť zahrnuje oblasti fyziky pevných látek, chemie, molekulární biologie nebo inženýrství, se pak zabývá zkoumáním vlastností nanomateriálů.

Nanomateriály, jejichž všechny tři rozměry jsou menší, než 100 nm se pak nazývají nanočástice. <sup>[7,8]</sup>

V současné době se do popředí dostává téma nanotechnologie, které dávají vznik novým materiálům, jež lidstvo již po staletí neuvědoměle využívá. Tyto materiály pak daly vznik nové oblasti fyzikální chemie, a to koloidní chemii. Důležitou součástí tohoto tématu jsou koloidy kovů, které nacházejí své uplatnění například při barvení keramiky a skla, kde hovoříme především o koloidu zlata. Ve 2. polovině 19. století zahájil vědecký výzkum koloidní chemie Michael Faraday, který studoval koloid zlata. Tento výzkum přinesl mimo jiné na počátku 20. století masové rozšíření fotografie nebo naději v boji proti mikroorganismům za využití koloidu stříbra.

Velkou roli v nanotechnologických aplikacích hraje právě velikost, tedy velikostní distribuce nanočástic, dále pak morfologie, stabilita, stav povrchu jak z fyzikálního (elektrický náboj), tak i chemického (modifikace povrchu) hlediska. <sup>[2]</sup>

## 2.1 Příprava disperzí nanočástic

Koloidně disperzní soustavy vznikají pomocí dvou odlišných způsobů příprav – dispergačních a kondenzačních. Během dispergačních metod dochází k rozměňování makroskopického materiálu na objekty o velikosti několik nanometrů. V případě kondenzačních metod se využívá chemické reakce, během které se atomy nebo molekuly spojují do jader, která se v disperzním médiu shlukují do objektů o velikosti nanometrů. <sup>[12]</sup>

### 2.1.1 Dispergační metody

Dispergační metody přípravy koloidně disperzních soustav jsou někdy označovány jako Top-Down metody. Využívají především mechanických procesů jako je mletí, míchání, ultrazvuku, elektrického výboje nebo laserové ablace. Tyto metody jsou spíše vhodné pro přípravu většího množství koloidů, především v průmyslové praxi, a obvykle nejsou schopny poskytnout dostatečně malé částice (pod 100 nm). Proto se také většina těchto metod nevyužívá při přípravě nanočástic stříbra. V praxi se používají pouze laserová ablace a elektrochemická metoda. <sup>[10,12,15]</sup>

#### 2.1.1.1 Laserová ablace

Laserová ablace je jednou z fyzikálních metod, pomocí kterých se připravují koloidní částice kovů. Výhodou této metody je snadnost procesu, univerzálnost, co se týče výběru kovu nebo volby rozpouštědla, stejně jako aditivních látek modifikujících celý proces. Kovové prášky připraveny laserovou ablací jsou chemicky čisté, a proto je možné je použít v SERS (povrchem zesílený Ramanův rozptyl), protože přítomnost zbytkových iontů na povrchu koloidní částice významně ovlivňuje adsorpční procesy, stabilitu částic a reprodukovatelnost měření SERS. Takto připravené částice stříbra dosahují velikosti několik desítek nanometrů, zpravidla 30 – 40 nm. Jejich velikost je závislá na vlnové délce a intenzitě laseru použitého pro ozařování. <sup>[13]</sup>

#### 2.1.1.2 Elektrochemická metoda

Pro přípravu stříbrných nanočástic je také možné využít elektrochemické zařízení, což je systém se dvěma elektrodami. Stříbrné dráty sloužící jako katoda a anoda jsou umístěny asi 10 mm od sebe v elektrochemické cele, která je naplněna destilovanou vodou. Elektrolyza je provedena v teplotním rozmezí 20 – 95°C při konstantním napětí 20 V. Důležité je během elektrochemické syntézy brát v potaz, že střídání polaritý stejnosměrného proudu me-

zi elektrodami v intervalu 3 – 300 s spolu s intenzivním mícháním během celého procesu elektrolýzy přispívá k úspěšné tvorbě nanočástic. Velikost nanočástic vzniklých tímto postupem je 5 – 13 nm.<sup>[14,15]</sup>

### **2.1.2 Kondenzační metody**

Kondenzační metody přípravy koloidně disperzních soustav jsou někdy označovány jako Bottom-Up metody. Základem těchto metod jsou analytické disperze a podstata chemické reakce, především redukce iontu kovu v roztoku. Tyto metody se využívají převážně k výrobě nanočástic kovů, protože je možné připravit nanočástice menších rozměrů, než u dispergačních metod. Během výroby je také možné ovlivnit i polydisperzitu přidávkou dalších látek.<sup>[13,15]</sup>

#### **2.1.2.1 Borohydridová metoda**

Příprava nanočástic stříbra pomocí tzv. mokrých syntéz je spojena se jmény Albrecht, Blatchford, Creighton, kteří publikovali postup první masově využívané syntézy nanočástic stříbra. Základem jejich postupu je roztok  $\text{AgNO}_3$ , který je redukován silným redukčním činidlem ( $\text{NaBH}_4$ ) ve vodném prostředí. Disperze stříbra připravené touto metodou jsou stabilní po dobu několika měsíců. Částice dosahují velikosti 5 – 20 nm, což potvrzuje i absorpční spektrum, kdy se absorpční maximum pohybuje v okolí 400 nm. Velkou nevýhodou takto připravených nanočástic je právě borátový anion adsorbovaný na jejich povrchu, což komplikuje jejich použití v některých aplikacích (např. SERS).<sup>[2]</sup>

#### **2.1.2.2 Citrátová metoda**

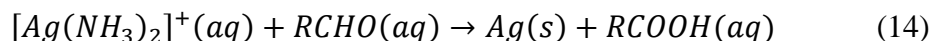
V případech, kdy není možné využít borohydridové metody, byla vyvinuta citrátová metoda. Tento redukční postup byl objeven Leem a Meiselem a využívá mírnějšího redukčního činidla – citrátového anionu, který má zároveň schopnost stabilizovat vzniklou nanočástici stříbra. Touto metodou vznikají mnohem větší a polydisperznější nanočástice stříbra, než je tomu u borohydridové metody. Velikost takových částic pak je kolem 30 až 120 nm, čemuž odpovídá i absorpční spektrum, jehož maximum se pohybuje kolem 420 nm. Stabilita takto vzniklých částic je menší, než je tomu u borohydridové metody.<sup>[2]</sup>

#### **2.1.2.3 Modifikovaná Tollensova metoda**

Tato metoda vychází z historického Tollensova postupu přípravy stříbrného zrcátka. Jedná se o redukci amoniakálního komplexu kationtu  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  redukujícími cukry (např.



glukózou). Díky této metodě jsme schopni připravit nanočástice stříbra jediným reakčním krokem, což zapříčiňuje vazba  $\text{Ag}^+$  iontu do komplexního iontu  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ . Vznikají nanočástice stříbra o velikostech 25 – 400 nm. Jejich velikost lze ovlivnit změnou koncentrace ligandu. Základní Tollensova reakce je založena na redukci kationtu  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  Tollensovým činidlem pomocí aldehydů.



Velikost částic je možné ovlivnit výběrem redukujícího cukru, kdy může být použita např. glukóza, galaktóza, maltóza či laktóza. Důležitou součástí této reakce je i hydroxid sodný, jehož přídavek upravuje pH na hodnotu nutnou pro redukci těmito slabými redukčními činidly a celý průběh reakce udržuje v řádu několika minut.<sup>[2,15,16,17]</sup>

#### 2.1.2.4 Polysacharidová metoda

V této metodě vznikají nanočástice stříbra díky slabým redukčním účinkům a polysacharidu. V některých případech může polysacharid sloužit jako redukční i stabilizační činidlo. Například syntéza AgNPs o velikosti menší než 10 nm pomocí škrobu, který zde hrál roli stabilizačního a  $\beta$ -D-glukózy jako redukčního činidla. Z řady polysacharidů je možné využít na přípravu nanočástic stříbra i negativně nabitého heparinu, který má roli redukčního/stabilizačního činidla. Celá syntéza probíhá zahříváním  $\text{AgNO}_3$  a heparinu na teplotu  $70^\circ\text{C}$  po dobu cca 8 hodin. Vzniklé nanočástice jsou vysoce stabilní a nevykazují žádné známky agregace po dobu 2 měsíců.<sup>[16]</sup>

#### 2.1.2.5 Redukce pomocí polyalkoholů

K přípravě nanočástic stříbra mohou být využity také polyalkoholy, které působí v reakčním systému jako solvent, stabilizátor a redukční látka. Jako příklad můžeme uvést použití ethylenglykolu za přítomnosti polyvinylpyrrolidinu (PVP). Nejdříve se v 10 ml ethylenglykolu rozpustí určité množství PVP a vzniklý roztok je dále temperován při teplotě  $160^\circ\text{C}$  v olejové lázni. Poté se do dalších 10 ml ethylenglykolu přidá určité množství  $\text{AgNO}_3$  a takto vzniklý roztok se po kapkách přidá k prvnímu roztoku. Celá reakce probíhá po dobu 4 hodin. Vzniklé nanočástice se pohybují kolem 10 až 80 nm, kdy je jejich velikost možno kontrolovat přídavkem amoniaku a změnou koncentrace PVP.<sup>[15]</sup>

### 2.1.2.6 Redukce pomocí dalších anorganických sloučenin

Nanočástice stříbra je možné připravit také pomocí jiných redukčních látek, než je tetrahydridboritan sodný. Může být využito například vodíku, peroxidu vodíku, hydrazinu, hydroxylaminu či vybraných komplexních sloučenin železa.<sup>[12,13,15]</sup>

### 2.1.2.7 Mikrovlnná syntéza

Další z možných příprav nanočástic kovů je mikrovlnná syntéza, která se využívá v případech, kdy ke správnému průběhu reakce nestačí pokojová teplota. Mikrovlnné záření ohřívá rychleji, než konvenční vedení a proudění tepla. Pomocí této syntézy je možné připravit například platinové, stříbrné či zlaté nanočástice. Mikrovlnné záření ohřívá materiál přes jeho dielektrické ztráty, což způsobuje převod energie záření na tepelnou energii. Frekvence mikrovln se pohybuje od 300 MHz do 300 GHz, u polárních molekul jako je H<sub>2</sub>O se orientuje s elektrickým polem. Frekvence a interakce s dipólovým momentem mají velký vliv na ohřev. Během této syntézy bývá využito látek jako je AgNO<sub>3</sub>, polyvinylpyrrolidon, který má úlohu redukčního činidla. Využít lze i ethanol. Vzniklé nanočástice dosahují velikosti 5 – 50 nm.<sup>[15,18,19,20]</sup>

### 2.1.2.8 Redukce za využití ultrazvuku

Ultrazvuk je možno využít jak v dispergačních metodách na rozmělnění větších částic, tak i jako redukční činidlo, kdy jej řadíme mezi metody kondenzační. Ultrazvuk je schopen rozložit molekulu vody na vodíkové a hydroxylové radikály. Následně po přidání vhodných přísad dojde ke vzniku organických radikálů, které pak slouží jako redukční činidlo. Pomocí ultrazvuku z vodných solí stříbra, za přítomnosti povrchově aktivní látky, vznikají stříbrné nanočástice, které dosahují velikosti cca 13 nm.<sup>[12,13,15]</sup>

### 2.1.2.9 Redukce za využití $\gamma$ -záření

Tato redukce se využívá na přípravu submikroskopických částic stříbra přímou radiolýzou za účasti vodných roztoků stříbrných solí. Velkou výhodou této metody je minimální množství látek do reakční směsi, které by se mohly adsorbovat na částice a změnit tak jejich specifické vlastnosti. Během ozařování roztoku stříbrné soli ve vodíkové atmosféře, dochází ke vzniku vodíkových atomů redukující stříbrné ionty na požadované nanočástice. Výsledné nanočástice pak mají velikost 7 nm. V průběhu celé redukce hrají důležitou roli další přidané látky jako je například 2-propanol.<sup>[13]</sup>

### 2.1.2.10 Polyoxomethalátová metoda

Polyoxomethaláty jsou použitelné pro syntézu nanočástice stříbra jednak proto, že jsou rozpusté ve vodě, ale také mají schopnost postupně procházet redoxní reakcí bez jakéhokoli narušení struktury. Během této metody není zapotřebí katalyzátoru ani jiného selektivního činidla. Nanočástice stříbra mohou být získány z různých polyoxomethalátů, kde tyto látky vystupují jako stabilizátor a redukční činidlo. Výsledná velikost nanočástic se pak pohybuje kolem 38 nm.<sup>[16]</sup>

### 2.1.2.11 Redukce UV zářením

Během redukce UV zářením získáme částice podobné, jaké nám vznikly už během výše uvedené metody redukcí  $\gamma$ -zářením. Výhodou této metody je její jednoduchost a dostupnost experimentálního zařízení. Jako zdroj UV záření se často používají rtuťové lampy. Reakční směs obsahuje kromě stříbrné soli a případných stabilizátorů také vhodné organické sloučeniny. Tyto sloučeniny pak interagují s UV zářením, což způsobí vznik radikálů nutných pro redukci stříbrných iontů. Velikost takto vzniklých nanočástic se pohybuje kolem 7 nm.<sup>[13]</sup>

### 2.1.2.12 Biologické metody

Jak už bylo výše uvedeno, tak během přípravy nanočástic stříbra chemickou cestou jsou zapotřebí tři hlavní složky: rozpustná stříbrná sůl (většinou  $\text{AgNO}_3$ ), redukční činidlo (např. ethylenglykol) a stabilizátor (např. PVP – polyvinylpyrrolidon). V případě biologických metod se na přípravu nanočástic stříbra používají živé organismy, kde nahrazují redukční a stabilizační činidla. Mezi takové organismy patří např. bakterie, houby, kvasinky či rostliny. Typicky pomocí extraktu z jednobuněčných zelených řas *Chlorella vulgaris*, byly připraveny monokrystalové Ag nanodestičky při pokojové teplotě. Proteiny obsažené v extraktu zajišťují dvojí funkci, a to redukci  $\text{Ag}^+$  a kontrolu tvaru během samotné syntézy nanočástic. Ag-NPs (silver nanoparticles – nanočástice stříbra) je možné vytvořit i za využití bakterie *Shewanella oneidensis*, která redukuje ionty stříbra. Během reakce s dusičnanem stříbrným je schopna vytvořit malé, kulovité, téměř monodisperzní Ag-NPs o velikosti 2 – 11 nm. Takové nanočástice jsou hydrofilní, stabilní a mají velkou plochu povrchu. Tato metoda je velice jednoduchá, cenově dostupná a vyžaduje méně energie, než je tomu u chemické cesty přípravy. Je možné využít i bakterie *Lactobacillus spp.* jako redukčního a stabilizačního činidla během přípravy Ag-NPs. Samotná syntéza a velikost čás-

tic je pak závislá na použitém druhu této bakterie. Nejmenší syntetizované nanočástice dosáhly průměrné velikosti 11,2 nm.

Pomocí houby *Trichoderma viridae* mohou být vytvořeny Ag-NPs extracelulární biosyntézou s dusičnanem stříbrným. Morfologie takto vzniklých NPs je pak vysoce proměnlivá, sférická a občas mají částice tyčinkovitý tvar. Jejich průměrná velikost se pak pohybuje mezi 5 až 40 nm.

Mimo výše zmíněné biologické látky můžeme použít i extrakty z běžných rostlin, např. vojtěšky, muškátu či vývaru z citronové trávy. Reakce vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$  s vodným roztokem extraktu z listů muškátu (*Pelargonium graveolens*) dala vznik nanočásticím stříbra během 24 hodin. Zahříváním reakční směsi těsně pod bod varu se reakční doba snížila na 2 hodiny. Vzniklé nanočástice pak mají průměrnou velikost 30,5 nm.

V závěru lze konstatovat, že biologické metody poskytují širokou škálu ekologicky a ekonomicky příznivých metod přípravy NPs. Bylo zjištěno, že biologické syntézy jsou rychlejší a zároveň mají lepší okolní teplotní a tlakové podmínky.<sup>[12,21]</sup>

## 2.2 Nanočástice stříbra – vlastnosti a využití

Vzhledem ke svým unikátním optickým, biologickým a katalytickým vlastnostem, mají nanočástice stříbra širokou škálu uplatnění, ať už ve výzkumných laboratořích nebo i v běžném životě. Tyto jedinečné vlastnosti jsou využívány v biomedicíně, například v SERS – povrchově zesílený Ramanův rozptyl. Ve většině případů se stříbrné nanočástice připravují pomocí redukce rozpustné stříbrné soli vhodným redukčním činidlem.<sup>[2,3]</sup>

Nanočástice stříbra, někdy také nazývány nanostříbro, jsou shluky atomů stříbra o průměrné velikosti 1 – 100 nm. V poslední době byly syntetizovány Ag-NPs, které stejně jako různé sloučeniny na bázi stříbra obsahující iontové stříbro vykazují vysokou antimikrobiální aktivitu. Jejich antibakteriální a antimikrobiální aktivita je široce zkoumaná a dokonce komerčně využívána. Antibakteriální aktivity materiálu obsahujícího stříbro se využívá například v lékařství pro snížení rizika infekce při léčbě popálenin, k zabránění kolonizace bakterií na protézách, katetrech, cévních štěpech, dentálních materiálech, materiálech z nerezové oceli či lidské kůži. Implantovatelné materiály jsou hlavním rizikovým faktorem v rámci nozokomiálních infekcí během lékařského zásahu. Existují dva typy implantovatelných prostředků, a to zařízení, jež je implantované v těle pacienta a zařízení, jež

je umístěno částečně uvnitř těla a je v kontaktu s okolím. Zvýšené riziko vzniku bakterií omezuje možnost využití různých materiálů. Proto je možné na ně použít antibakteriální úpravu, která zahrnuje prodlouženou aktivitu, vysokou baktericidní a bakteriostatickou aktivitu, biokompatibilitu, schopnost účinkovat proti širokému spektru bakterií aj.

Se svojí antibakteriální aktivitou je stříbro známo už od Hippokrata, kdy bylo použito na léčbu vředů. Vzrůstající zájem o stříbro opadl s objevem antibiotik na bázi penicilinu, ale postupně vzrůstající problém rezistence bakterií vůči těmto antibiotikům a včetně zvyšujícího se výskytu bakteriálních nozokomiálních infekcí zájem o antibakteriální aktivitu stříbra včetně nanočástic stříbra opět zvyšuje. Nanotechnologie daly vznik novým materiálům, které jsou mnohem účinnější v boji proti bakteriím a co je nejdůležitější, jsou mnohem méně toxické než jednoduché sloučeniny stříbra.

Materiály obsahující stříbro mohou být využity pro odstranění mikroorganismů z textilních materiálů nebo pro úpravu vody. Nanočástice stříbra vykazují silnou cytoprotektivní aktivitu vůči infikovaným buňkám virem HIV. Vzhledem k široké škále aplikací byly vyvinuty četné syntetické metody (viz 2.1.2 Kondenzační metody).

Jak už bylo výše zmíněno, nanostříbro je vysoce komerčně využitelné a například v textilním průmyslu hojně využívané. Výrobci oděvů jej začlenili do vláken na výrobu ponožek, kde využívají antimikrobiální účinky právě na neutralizaci zápachu. Zároveň jsou AgNPs využívány i v potravinářském průmyslu, kde jsou součástí potravinových obalů, skladovacích tašek aj., právě aby inhibovaly růst mikroorganismů.

Nanočástice všeobecně mohou mít nepříznivý vliv na biologické systémy na buněčné úrovni, jako například strukturální uspořádání, které mají určitou podobnost s nanomateriály či nanostrukturami v souvislosti s jejich funkcemi, např. DNA a bílkoviny. A tak mohou poškozovat DNA, denaturovat proteiny a enzymy či produkovat volné radikály. Což je dále umocněno, v souvislosti s AgNPs, toxicitou elementárního stříbra a biologicky aktivních iontů stříbra. Vzhledem k tomu, že v současné době roste používání nanočástic stříbra především v medicíně, je nezodpovězená otázka o toxicitě velkým otazníkem. Studie prokázaly, že jsou cytotoxické pro některé buněčné linie, jmenovat můžeme např. THP-1 monocytů aj. Nedávný důkaz naznačuje, že nanočástice stříbra jsou toxické prostřednictvím interakce s mitochondriemi. Omezené studie byly provedeny i na lidech. Týká se to především obvazů na popáleniny, které byly shledány nezávadnými. Avšak stále musí být toxicit

ta stříbra sledována (např. v ponožkách). Také by se mělo zabránit vypouštění stříbrných iontů do vodovodních systémů, aby se předešlo ekologické katastrofě.<sup>[3,11,22]</sup>

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 MATERIÁLY

Veškeré materiály včetně experimentálního vybavení jsou uvedeny níže.

#### 3.1 Chemikálie

Chemikálie, jež byly použity v této práci, jsou uvedeny v Tabulce 2. Pro přípravu všech roztoků byla zároveň použita demineralizovaná voda z přístroje Aqual 29 firmy Mercier.

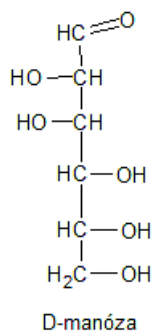
Název	M. h.	Výrobce	Čistota
Dusičnan stříbrný	169,87	Fagron	ČsL4
Hydroxid amonný	35,05	Sigma - Aldrich	p.a.
D-manóza	180,16	Sigma - Aldrich	≥99%
D-mannit	182,18	Penta	p.a.
Polyethylenglykol	300	Fluka	purum
Polyethylenglykol	35 000	Fluka	purum
Dusičnan draselný	101,11	Penta	p.a.

**Tabulka 2:** Seznam použitých chemikálií během experimentů

Pro přípravu nanočástic stříbra byly využity 4 redukční látky, uvedené i v Tabulce 2.

##### 3.1.1 D-manóza

D-manóza je šestiuhlíkatý cukr, jež patří mezi monosacharidy, přesněji mezi aldosity (hexoaldosity). Monosacharidy jsou látky bezbarvé, dobře rozpustné ve vodě a většinou nerozpustné v organických rozpouštědlech. D-manóza je epimerem glukózy a zároveň je součástí rostlinných polysacharidů mannanů a živočišných glykoproteinů.<sup>[24]</sup>



**Obr. 7:** Fischerův vzorec D-manózy<sup>[25]</sup>



### 3.1.2 D-mannit

Také nazýván D-mannitol ( $C_6H_{14}O_6$ ), je bílá krystalická pevná látka, která má sladkou chuť. Je rozpustný ve vodě a nerozpustný v étheru. Mannitol je klasifikován jako cukrový alkohol, tedy že je redukován z cukru (manózy). Ostatní alkoholové cukry zahrnují xylitol a sorbitol. Mannitol a sorbitol jsou izomery, přičemž jediný rozdíl mezi nimi je umístění hydroxylové skupiny na atomu uhlíku.<sup>[27,28]</sup>

### 3.1.3 Polyethylenglykol

Polyethylenglykol  $HO(CH_2CH_2O)_nH$  (PEG) byl charakterizován jako čirá viskózní kapalina ( $M_r$  menší než 400), voskovitá látka ( $M_r = 400 - 2000$ ) a neprůhledná bílá krystalická látka (vyšší  $M_r$ ). PEG jsou látky rozpustné ve většině organických rozpouštědel jako je například benzen, tetrachlormethan, chloroform, dimethylformamid (DMF) a acetonitril. PEG je zcela rozpustný ve vodě, ale se zvyšující se molekulovou hmotností se rozpustnost snižuje.<sup>[26]</sup> Během této práce byl využit PEG o molekulových hmotnostech 300 a 35 000, kdy pro rozpuštění ve vodě druhého jmenovaného muselo být využito ultrazvuku.

## 3.2 Experimentální vybavení

Během realizovaných experimentů bylo použito laboratorní sklo (odměrné baňky 50 ml, 100 ml, kádinky, varné baňky s plochým dnem o objemu 100 ml, chladič), lžička, váženka, míchadla, automatické pipety, špičky, zkumavky, míchačka s ohřevem, analytické váhy, Zeta Potencial Analyzer Zeta Plus (90Plus), UV/VIS spektrometr, mikrovlnný reaktor Monowave 300 a transmisní elektronový mikroskop.

### 3.2.1 Zeta Potencial Analyzer Zeta Plus (90Plus)

Dynamický rozptyl světla (DLS), na jehož principu měří přístroj Zeta Potencial Analyzer (Brookhaven, USA) velikost nanočástic v disperzi, může být někdy také nazýván kvazielastický rozptyl světla (QELS) nebo fotonová korelační spektroskopie (PCS), DLS je metodou pomocí které získáváme hodnoty velikosti částic v submikronové oblasti. Tato technika je založená na měření fluktuace intenzity rozptýleného světla z laserového zdroje okolo její průměrné hodnoty. Takové fluktuace mají spojitost s interferenčním zeslabováním a zesilováním světla, které je rozptýlené na nestacionárních částicích disperzní fáze, jež podléhají Brownovu pohybu.<sup>[23]</sup>



**Obr. 8:** Zeta Potencial Analyzer Zeta Plus (90Plus) používaný během všech experimentů.

Mimo velikost částic je konkrétně tento přístroj schopen měřit také zeta potenciál.

### 3.2.2 UV-VIS spektrofotometr Specord S600

Veškerá naměřená spektra potřebná pro experimenty v této práci byly získány pomocí UV-VIS spektrofotometru Specord S600 (Analytik Jena, Germany). Tento jednopaprskový spektrofotometr s diodovým polem je ovládán pomocí programu WINASPECT, jež umožňuje měření, vizualizaci i jednoduché operace s naměřenými spektry v rozsahu vlnových délek 190 – 1050 nm.

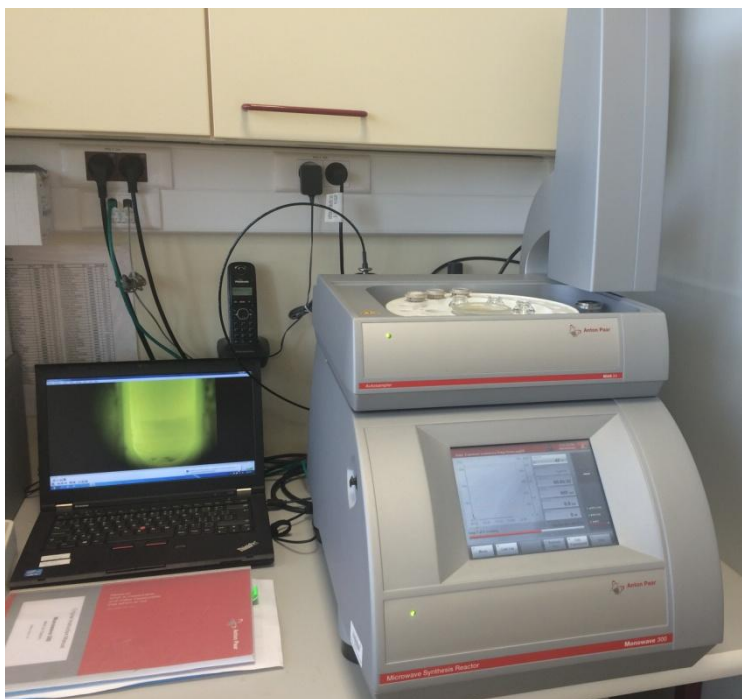


**Obr. 9:** UV-VIS spektrofotometr Specord S600 používaný pro měření všech spekter.

### 3.2.3 Mikrovlnný reaktor Monowave 300

Mimo termický vznik nanočástic klasickým ohřevem bylo v průběhu realizovaného výzkumu využito také mikrovlnného reaktoru Monowave 300 (Anton Paar, Canada), (příprava pomocí mikrovln viz 2.1.2.7 Mikrovlnná syntéza). Jedná se o vysokoúčinný mikrovlnný reaktor jež je uzpůsoben pro přípravu malého množství vzorku za působení mikrovln.

Spojitý výkon mikrovlnného pole je 850 W.<sup>[29]</sup> Zároveň je obohacen o sondu, která nám přibližuje průběh reakce.



Obr. 10: Mikrovlnný reaktor Monowave 300.

### 3.2.4 Transmisní elektronový mikroskop

TEM snímky byly pořízeny elektronovým mikroskopem JEM-2010 firmy JEOL. Bylo použito urychlovací napětí 160 kV.<sup>[15]</sup> Příprava vzorku pro elektronovou mikroskopii probíhala přímým nanesením kapky disperze nanočástic stříbra na nosnou síťku s uhlíkovou vrstvou. Následně byla síťka vysušena samovolně na vzduchu při laboratorní teplotě.

### 3.3 Příprava nanočástic stříbra

Pro přípravu nanočástic stříbra byla využita modifikovaná Tollensova metoda, kdy se redukuje komplex  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  zvolenou redukční látkou. Vzniklé nanočástice byly tedy připravovány ve slabě alkalickém prostředí.<sup>[15,16,17]</sup>

Do kádinky bylo odpipetováno 5 ml dusičnanu  $\text{AgNO}_3$ , 9 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , 5 ml  $\text{NH}_3$  a 5 ml redukční látky. Celkový objem v kádince byl tedy 24 ml. Koncentrace zásobních roztoků látek pro realizaci studovaných reakcí jsou uvedeny v Tabulce 3:

Název látky	koncentrace
$\text{AgNO}_3$	$0,005 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

NH <sub>3</sub>	0,025 mol·dm <sup>-3</sup>
D-mannit	0,05 mol·dm <sup>-3</sup>
D-mannosa	0,05 mol·dm <sup>-3</sup>
Polyethylenglykol (Mr = 300)	0,03 mol·dm <sup>-3</sup>
Polyethylenglykol (Mr = 35 000)	0,0003 mol·dm <sup>-3</sup>

**Tabulka 3:** Jednotlivé koncentrace všech složek přítomných v reakčním systému.

Příprava byla prováděna při teplotách nad 40°C, protože při nižších teplotách redukce neprobíhala. V případě vzniku nanočástic stříbra pomocí zahřátí bylo využito míchačky s ohřevem, kdy byla reakční směs míchána při dané teplotě ještě před přidáním roztoku redukční látky, která byla předehřáta na danou teplotu v jiné varné baňce s plochým dnem. Po dosažení požadované teploty obou roztoků, byla přidána redukční látka do reakční směsi a baňka byla přikryta chladičem po dobu minimálně 15 minut. Byla zde sledována a zapisována rychlost reakce.

V případě reakce pomocí mikrovln byl roztok složený z AgNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O a NH<sub>3</sub> připraven při pokojové teplotě a těsně před vložením roztoku do mikrovlnného reakturu byla přidána redukční látka. Následně bylo odpipetováno 10 ml do vialky, která se vložila do reaktoru. Celý reaktor byl pak vytemperován na požadovanou teplotu v závislosti na čase.

Vzniklé disperze nanočástic stříbra pak byly zkoumány pomocí dynamického rozptylu světla (DLS), absorpčního spektra (měřeno pomocí UV/VIS spektrometru) a následně byly pořízeny snímky pomocí transmisního elektronového mikroskopu (TEM) doc. RNDr. Alešem Panáčkem, Ph.D., z katedry Fyzikální chemie a Mgr. Janou Stráskou z Regionálního centra pokročilých technologií a materiálů.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

V následující kapitole budou shrnuty veškeré výsledky získané během celého výzkumu dokumentované grafy, tabulkami a snímky z elektronového mikroskopu.

### 4.1 Termická příprava nanočástic stříbra klasickým ohřevem

Jak už bylo výše (3.3 Příprava nanočástic stříbra) zmíněno, na vznik nanočástic stříbra byly využity 4 redukční látky, které byly před přidáním do zahřátého roztoku předehřáty na požadovanou teplotu.

#### 4.1.1 Redukce D-mannitem

Ještě před zahřátím celé směsi byla otestována reaktivita při laboratorní teplotě cca 22°C po dobu 2 hodin. Reakce neproběhla ani do druhého dne (roztok byl stále čirý), kdy bylo změřeno absorpční spektrum a velikost částic, která činila 109,0 nm při velmi nízké intenzitě rozptýleného záření (náhodný signál).

Pro termický vznik nanočástic stříbra bylo využito teplot v rozmezí 40 – 90°C, kdy bylo zjištěno, že D-mannit začíná ve směsi reagovat až od 55°C, avšak až po hodině po přidání redukční látky (v tomto případě D-mannitu), dosáhne roztok žlutohnědého zbarvení. Při teplotě 60°C do 2 minut po přidání D-mannitu vzniká sraženina a výsledné zbarvení vzorku je zelenohnědé. Při teplotě 70°C se sraženina na dně nádoby vytvořila okamžitě a výsledný roztok byl opět zelenohnědý. Při 80°C se opět vytvořila ihned na dně a stěnách nádoby žlutohnědá sraženina, která vedla k celkovému zbarvení do žlutohněda. Při teplotě 90°C došlo k okamžitému zbarvení do zelenohněda. Absorpční spektrum bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené metodou DLS jsou uvedeny v Tabulce 4.

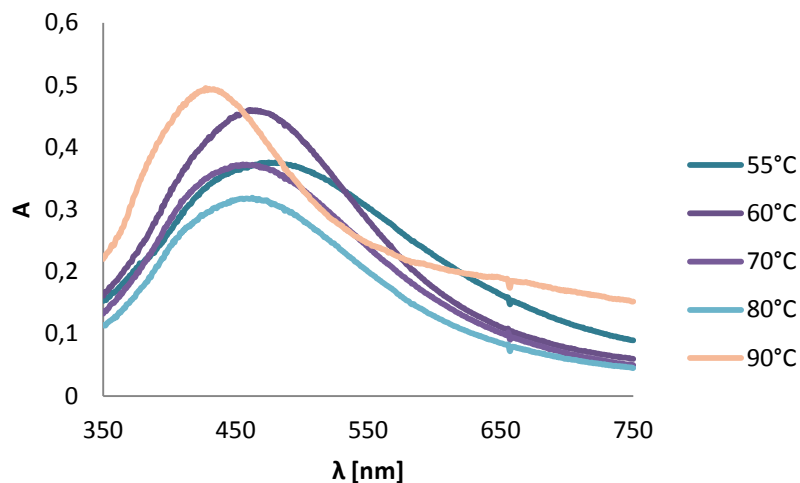
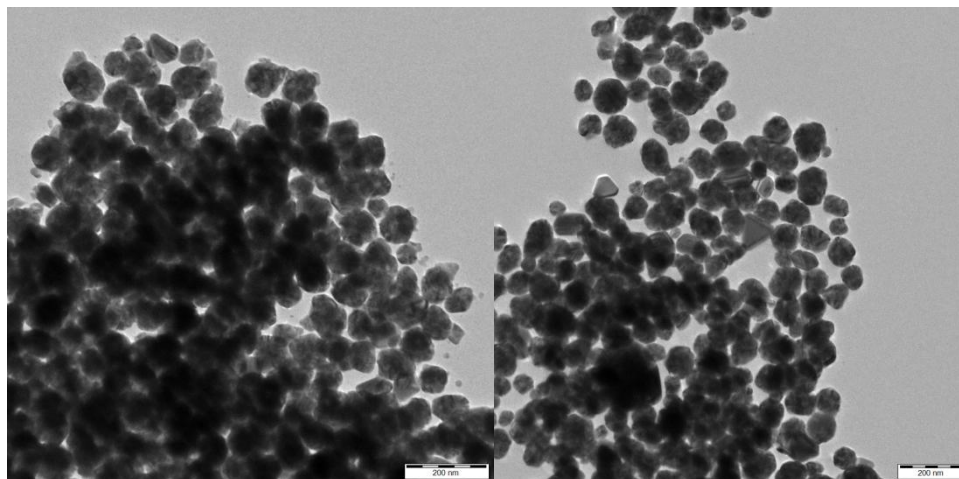
Teplota	Velikost částic [nm]
55°C	71,2
60°C	62,4
70°C	64,8
80°C	67,0

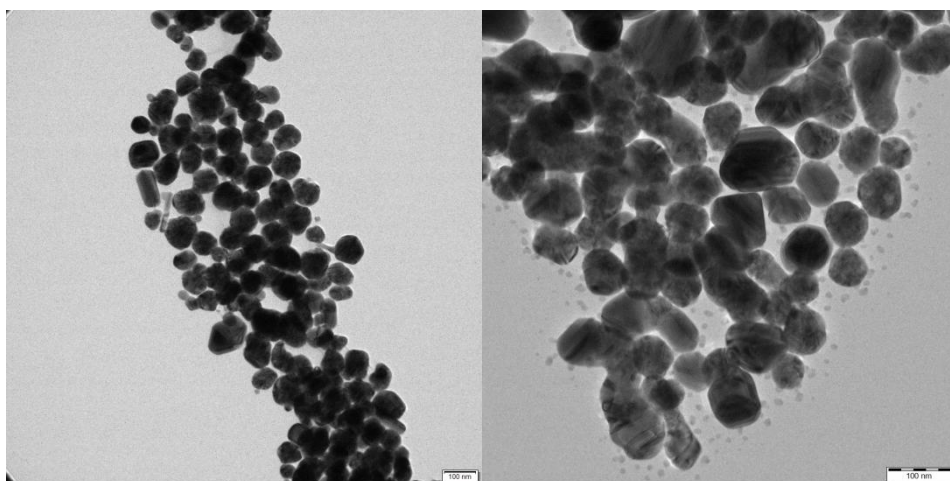
90°C

35,1

**Tabulka 4:** Velikost částic vzniklých termicky za daných teplot reakcí s D-mannitem.

Tabulka 4 naznačuje, že při nejvyšší teplotě (90°C) dochází ke vzniku nejmenších nanočástic.

**Graf 1:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs připravených s redukční látkou D-mannitem vzniklých termicky při různých teplotách reakce.**Obr. 11:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky PEG 300 při teplotě 60°C (vlevo) a 70°C (vpravo).



**Obr. 12:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky PEG 300 při teplotě 80°C (vlevo) a 90°C (vpravo).

Tento závěr z měření velikosti částic metodou DLS potvrzují i absorpční spektra připravených disperzí, kdy při teplotě 90°C vykazuje disperze absorpci s maximem okolo 420 nm, kdežto při nižších teplotách se toto maximum posouvá až k hodnotám okolo 450 nm. Přitom podle teorie vyšší vlnová délka absorpčního maxima odpovídá všem nanočásticím. Potvrzení této závislosti ovšem ne zcela poskytla elektronová mikroskopie (Obr. 11 a 12), z níž lze usoudit, že velikost nanočástic stříbra sice klesá s rostoucí teplotou při reakci, ale u teploty 90°C náhle velikost částic vzrůstá. Vedle těchto větších částic jsou ale na snímku z elektronové mikroskopie vidět velmi malé částice o rozměru pod 10 nm, které se při nižších teplotách na snímcích nevyskytují.

#### 4.1.2 Redukce D-manózou

Opět byla nejdříve reaktivita směsi otestována při laboratorní teplotě, která činila cca 23°C. Reakce proběhla do 2 hodin, kdy došlo ke zbarvení celého roztoku, a velikost částic změřená přístrojem DLS byla 61,2 nm.

Termický vznik Ag-NPs byl zvolen pro rozmezí teplot 40 – 80°C. D-manóza reagovala ze všech redukčních látek nejlépe, což je patrné i z absorpčních spekter. Při teplotě 40°C došlo k reakci po 8 minutách a roztok se zbarvil do zelenohněda. Při 50°C se roztok zbarvil do 2 minut opět do zelenohněda, při 60°C se roztok zbarvil okamžitě po přidání redukční látky do zelenohněda. Při teplotě 70°C došlo opět okamžitě ke zbarvení roztoku do zelenohněda a při 80°C se opět vzorek okamžitě po přidání redukční látky zbarvil do zelenohněda. Absorpční spektrum bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplo-

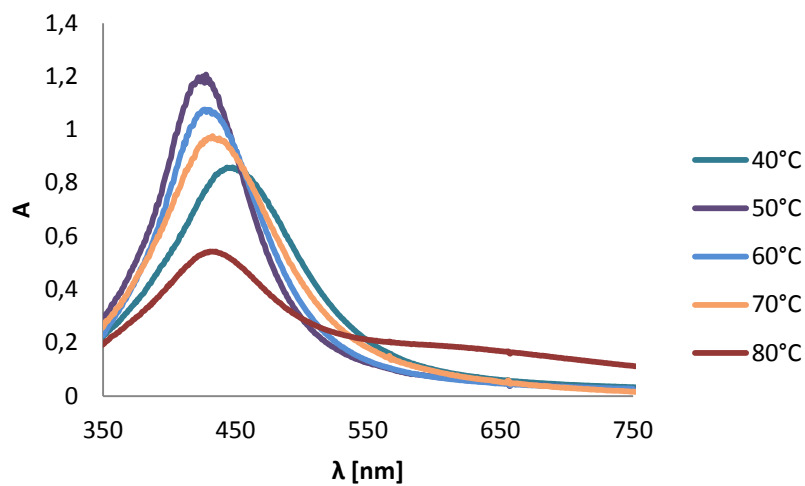


tách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené metodou DLS jsou uvedeny v Tabulce 5.

Teplota	Velikost částic [nm]
40°C	47,8
50°C	44,5
60°C	41,0
70°C	41,4
80°C	40,3

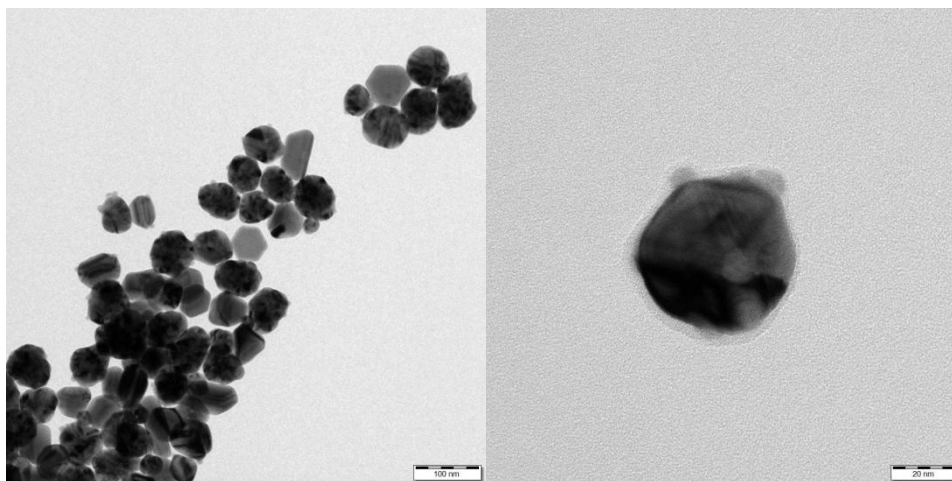
**Tabulka 5:** Velikost částic vzniklých termicky za daných teplot reakcí s D-manózou.

Tabulka 5 naznačuje, že se zvyšující teplotou nám vznikají menší nanočástice.

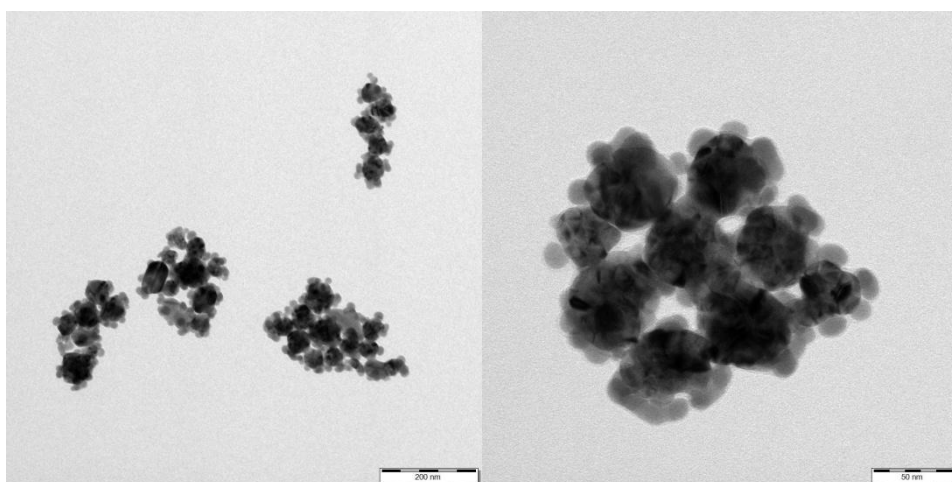


**Graf 2:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs s redukční látkou D-mannitem vzniklých termicky při různých teplotách reakce.

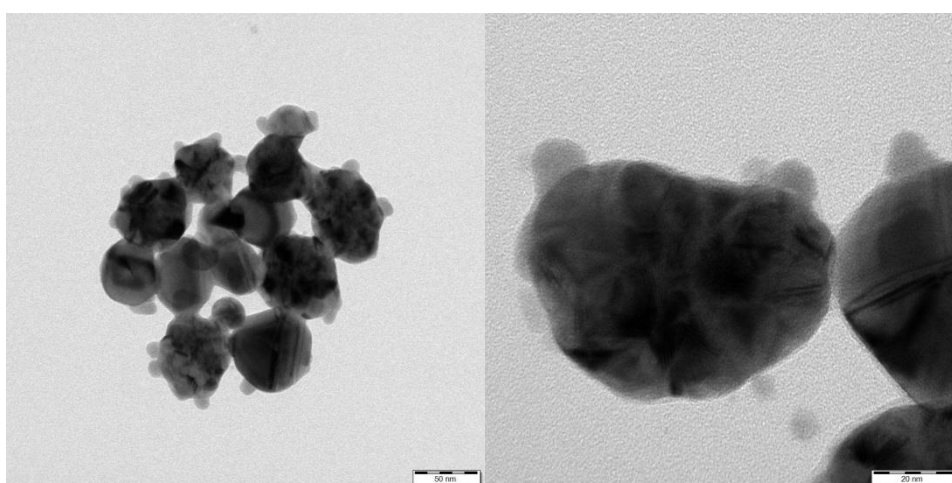




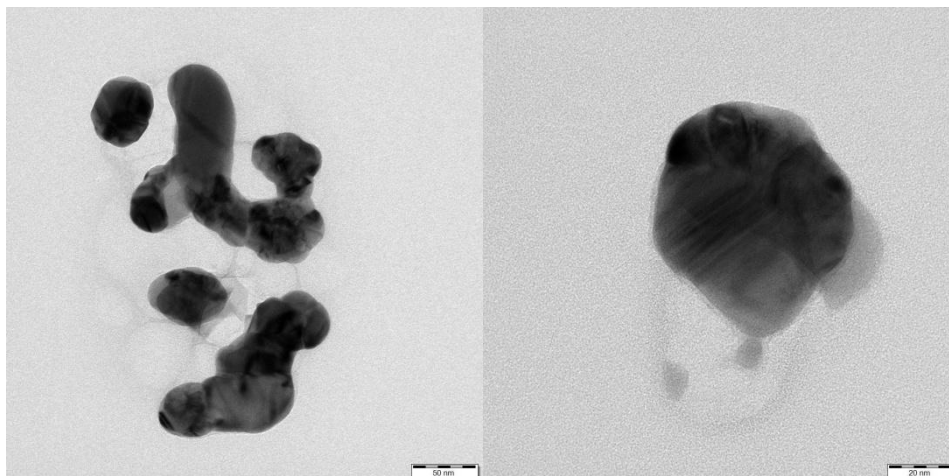
**Obr. 13:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky D-manózy při teplotě 40°C.



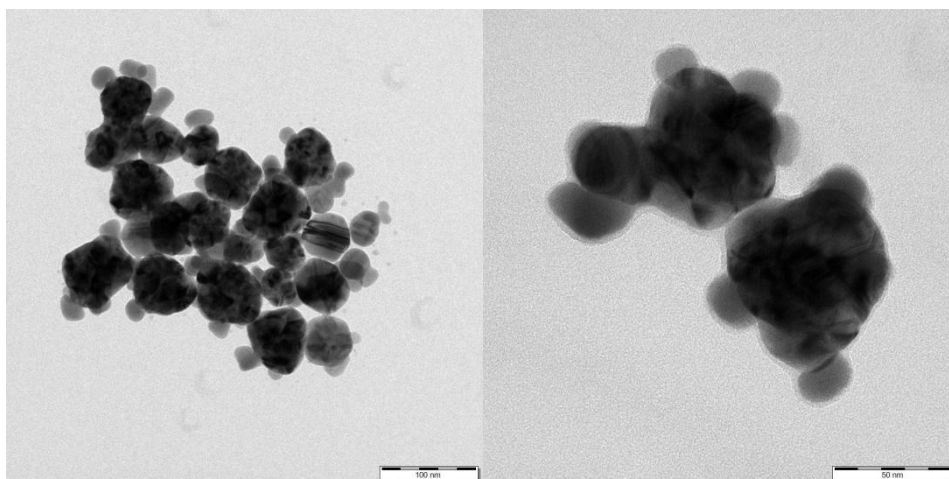
**Obr. 14:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky D-manózy při teplotě 50°C.



**Obr. 15:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky D-manózy při teplotě 60°C.



**Obr. 16:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky D-manózy při teplotě 70°C.



**Obr. 17:** TEM snímky Ag-NPs připravených pomocí redukční látky D-manózy při teplotě 80°C.

Opět jako v případě D-mannitu s rostoucí teplotou klesá průměrná velikost připravených nanočástic, které jsou navíc menší, než v případě D-mannitu jako redukční látky. To je evidentně důsledek vyšší redukční síly D-manózy ve srovnání s D-mannitem. Uvedenou tendenci zmenšování částic s rostoucí teplotou přípravy stříbrné disperze posouvá absorpční maximum k nižším vlnovým délkám. Snímky z elektronové mikroskopie (Obr. 13 – 17) sice na jedné straně potvrzují existenci cca 40 nm částic stříbra v disperzi, ale vedle nich jsou na snímcích zřetelné i částice podstatně menší o velikosti cca 10 nm.

#### 4.1.3 Redukce Polyethylenglykolem 300

Jako i v předchozích případech, ještě před zahřátím celé směsi byla testována reaktivita při laboratorní teplotě, která byla cca 23°C. Reakce byla pozorována po dobu 2 hodin, kdy

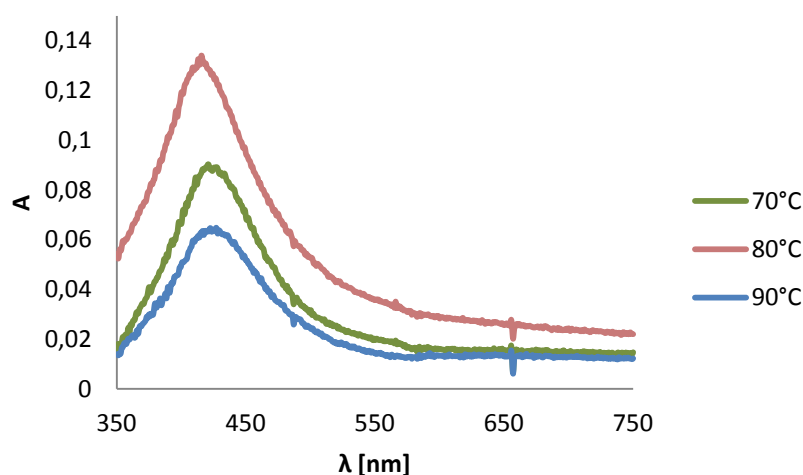
však viditelně neproběhla. Do druhého dne, kdy bylo měřeno absorpční spektrum a velikost případných částic pomocí DLS, však byl roztok mírně nažloutlý. Velikost částic pak činila 99,9 nm při velmi nízké intenzitě rozptýleného světla.

Termický vznik nanočástic stříbra pomocí PEGu 300 jako redukční látky byl zkoumán v rozsahu teplot 70 – 90°C. Při teplotě 70°C byl vzorek do 10 minut zbarven do sytě žluta, při 80°C do 2 minut došlo ke zbarvení do žluta a při 90°C se roztok také do 2 minut zbarvil do žluta. Absorpční spektrum bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené pomocí metody DLS jsou uvedeny v Tabulce 6.

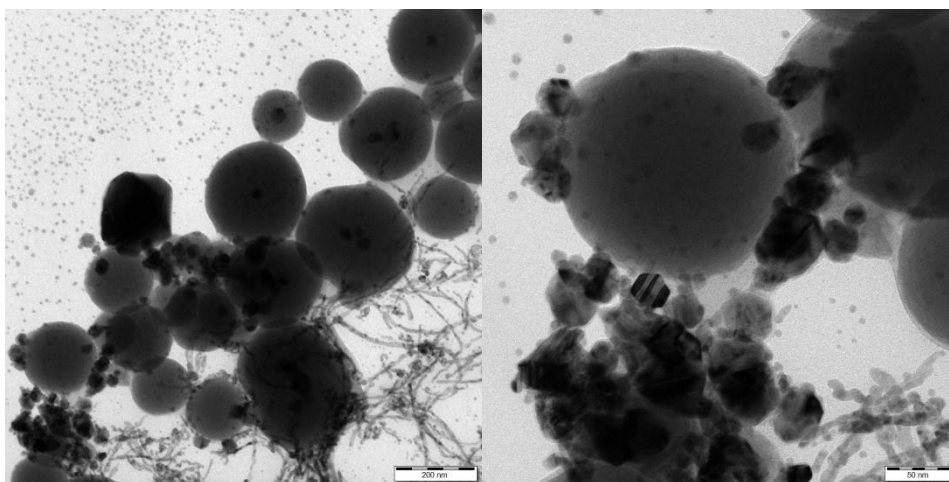
Teplota	Velikost částic [nm]
70°C	30,5
80°C	35,3
90°C	57,8

**Tabulka 6:** Velikost částic vzniklých termicky za daných teplot reakcí s PEGem 300.

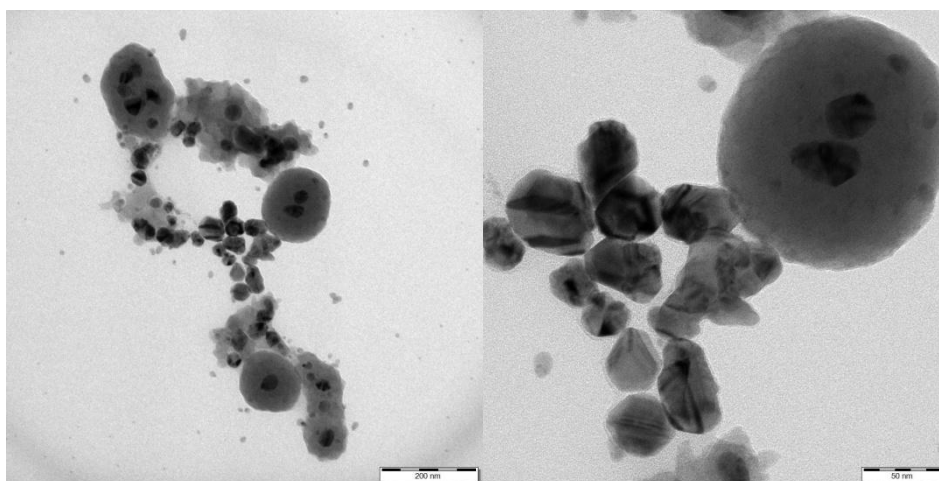
Tabulka 6 ukazuje, že čím vyšší teplota, tím jsou nanočástice větší. Není tomu tedy jako u předchozích případů, kdy při nejvyšší teplotě vznikaly nejmenší nanočástice.



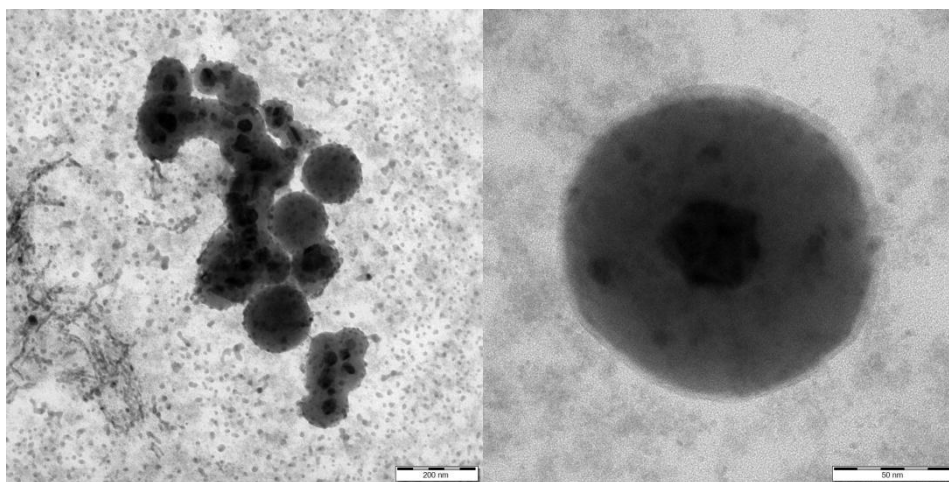
**Graf 3:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs s redukční látkou PEGem 300 vzniklých termicky při různých teplotách reakce.



**Obr. 18:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky PEG 300 při teplotě 70°C.



**Obr. 19:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky PEG 300 při teplotě 80°C.



**Obr. 20:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky PEG 300 při teplotě 90°C.

I posun maxima absorpčních spekter disperzí nanočástic stříbra připravených touto metodou potvrzují zvětšování částic s rostoucí teplotou. Elektronmikroskopické snímky (Obr. 18 – 20) ukázaly podstatně bohatší obraz připravených nanočástic. Připravené disperze jsou silně polydisperzní a přes tendenci zvětšování jedné frakce částic se při nejvyšší teplotě opět objevují velmi malé částice o velikostech 10 nm a menších.

#### 4.1.4 Redukce Polyethylenglykolem 35 000

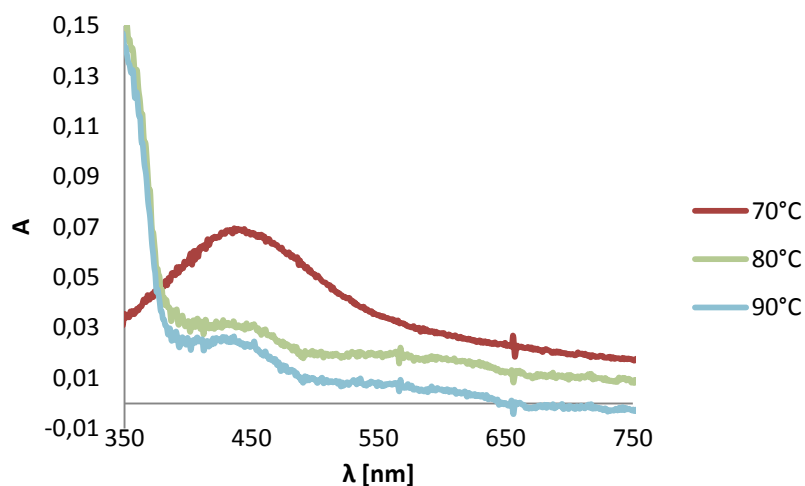
Nejdříve bylo prověřeno, zda vznikají s touto látkou nanočástice i při laboratorní teplotě. Teplota v tomto případě činila cca 24°C. Reakce byla pozorována 2 hodiny, kdy viditelně neproběhla. Ke změně zbarvení nedošlo ani následující den.

Termický vznik nanočástic stříbra byl zkoumán v teplotním rozmezí 70-90°C. Při teplotě 70°C se vzorek zbarvil až po 17 min do slabě žluta, při 80°C se do 5 minut zbarvil opět do slabě žluta a při 90°C do 5 minut do stejného zbarvení, jako předchozí. Absorpční spektrum bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené metodou DLS jsou uvedeny v Tabulce 7.

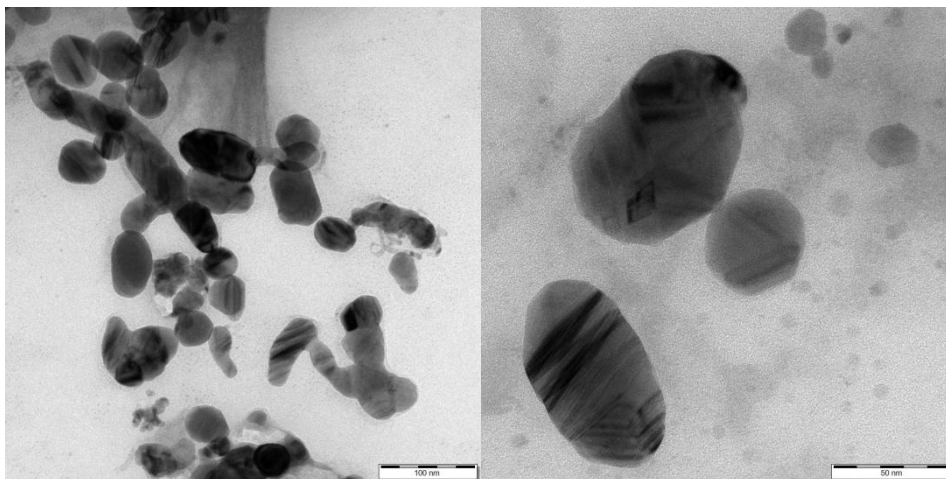
Teplota	Velikost částic [nm]
70°C	92,1
80°C	534,1
90°C	194,8

**Tabulka 7:** Velikost částic vzniklých termicky za daných teplot reakcí s PEGem 300.





**Graf 4:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs s redukční látkou PEGem 35 000 vzniklých termicky při různých teplotách reakce.



**Obr. 21:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky PEG 300 při teplotě 70°C.

Malá redukční síla PEG 35 000 evidentně nestačí na dokonalou redukci přítomných iontů stříbra na nanočástice, o čemž svědčí charakter UV/VIS spekter. Nízká absorpce a nevyvinuté absorpční maximum napovídají o malém stupni konverze redukční reakce. Elektronmikroskopické snímky ale ukázaly, že měření DLS neposkytuje dobrý obraz o skutečné velikosti nanočástic (pravděpodobně díky přítomnosti vysokomolekulárního polymeru), protože na nich jsou viditelné protáhlé nanočástice stříbra o rozměru cca 50 – 60 nm.

#### 4.2 Příprava nanočástic stříbra pomocí mikrovln

Jak už bylo výše (3.3 Příprava nanočástic stříbra) zmíněno, na vznik nanočástic stříbra byly využity 4 redukční látky, které v tomto případě byly přidány do směsi za laboratorní

teploty a zahřívány až v mikrovlnném reaktoru, kde celý ohřev probíhal podle reaktivity látky, minimálně však 5 min a maximálně 20 min.

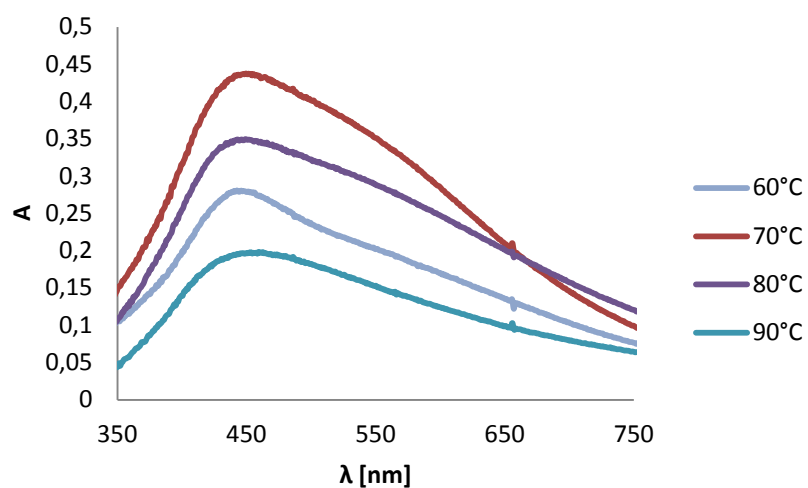
#### 4.2.1 Redukce D-mannitem

Reakční směs byla vložena do reaktoru a testována pro rozmezí teplot 40-90°C. Zpočátku byla látka ponechána v reaktoru jen po dobu 5 min, pokud nedošlo k reakci, byla tato doba prodloužena o 15 min při dané teplotě. Bylo zjištěno, že reakce s D-mannitem neprobíhá při teplotách 40 a 50°C, z čehož plyne, že nanočástice vznikají od teploty 60°C a výše.

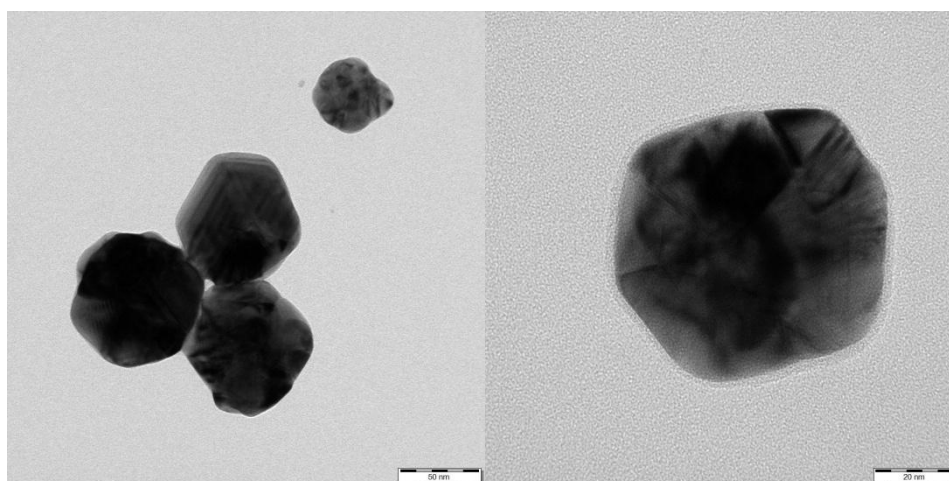
Při teplotě 60°C byl vzorek cca do 3 minut (zpozorováno díky sondě) zbarven do zelenohněda. Při teplotě 70°C byl vzorek do 15 minut zbarven opět do zelenohněda. Při teplotě 80°C byl vzorek zbarven do 2 minut opět do zelenohněda a při teplotě 90°C došlo k reakci do 1 minuty a vzniklý roztok nanočástic měl barvu zelenohnědou, ale mírně zelenější, než předchozí vzorky. Absorpční spektrum bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené pomocí metody DLS jsou uvedeny v Tabulce 8.

Teplota MR	Velikost částic [nm]
60°C	92,3
70°C	57,8
80°C	26,7
90°C	42,2

**Tabulka 8:** Velikost částic připravených při jednotlivých teplotách reakcí s D-mannitem v mikrovlnném reaktoru.

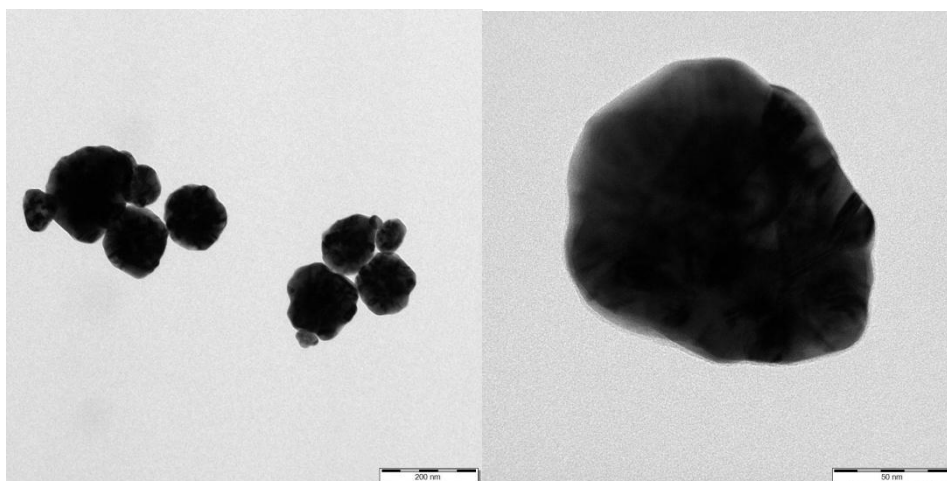


**Graf 5:** Porovnání absorpčních spekter dsiperzí Ag-NPs s redukční látkou D-mannitem zpracovaných v mikrovlnném reaktoru při různých teplotách reakce.



**Obr. 22:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky D-mannit připraveny v mikrovlnném reaktoru při teplotě 70°C.





**Obr. 23:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky D-mannit připraveny v mikrovlnném reaktoru při teplotě 90°C.

UV/VIS spektra i elektronová mikroskopie (Obr. 22 – 23) v tomto případě potvrzují výsledky získané metodou DLS. Na rozdíl od termické iniciace reakce klasickým ohřevem, není s touto redukční látkou při mikrovlnném ohřevu pozorován jednoznačný trend ve vývoji velikosti nanočástic stříbra s teplotou.

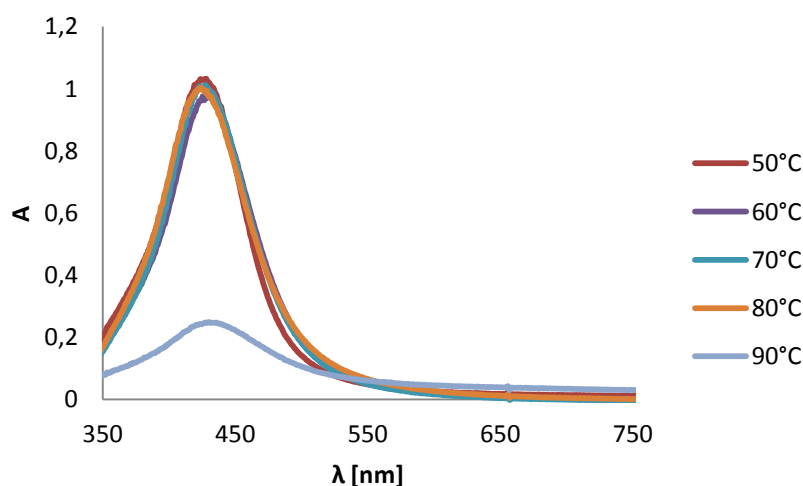
#### 4.2.2 Redukce D-manózou

Reakční směs byla opět vložena do reaktoru a testována pro rozmezí teplot 50-90°C. Bohužel nemohla být otestována nižší teplota než 50°C, a to z důvodu problematického chlazení reaktoru. D-manóza se ukázala jako nejlepší redukční látka ze všech použitých i při mikrovlnné syntéze. Reakce při všech teplotách proběhly do 5 minut.

Při teplotě 50°C byl vzorek cca do 3 minut (zpozorováno díky sondě) zbarven do zelenohněda s nádechem do oranžova. Při teplotě 70°C byl vzorek do 2 minut zbarven opět do zelenohněda se slabým oranžovým nádechem. Při teplotě 70°C byl vzorek zbarven do 13 vteřin opět do stejného zbarvení jako předchozí roztoky, při teplotě 80°C došlo k reakci téměř okamžitě a vzniklý roztok nanočástic měl tutéž barvu a poslední vzorek Ag-NPs, jež vznikl při teplotě 90°C byl opět okamžitě zbarven. Absorpční spektrum roztoků bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené pomocí metody DLS jsou uvedeny v Tabulce 9.

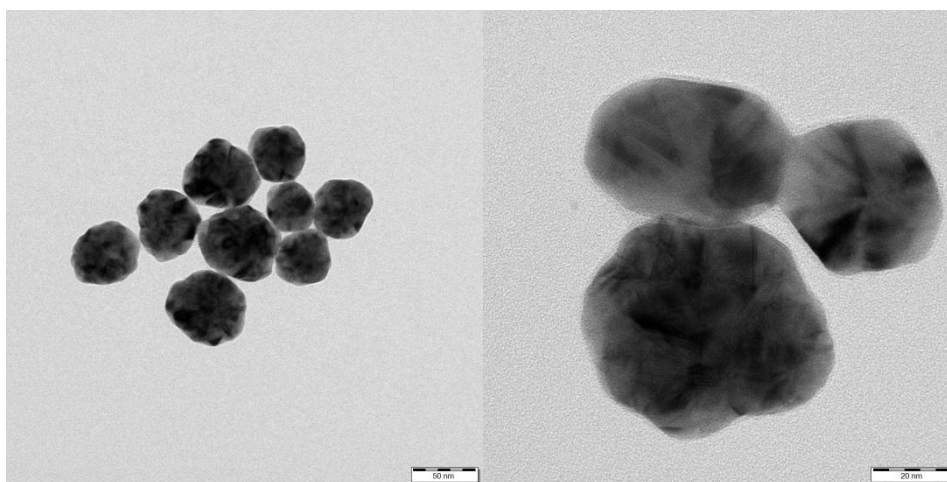
Teplota MR	Velikost částic [nm]
50°C	46,6
60°C	53,2
70°C	52,4
80°C	52,9
90°C	63,4

**Tabulka 9:** Velikost částic při jednotlivých teplotách reakcí D-manózu v mikrovlnném reaktoru.

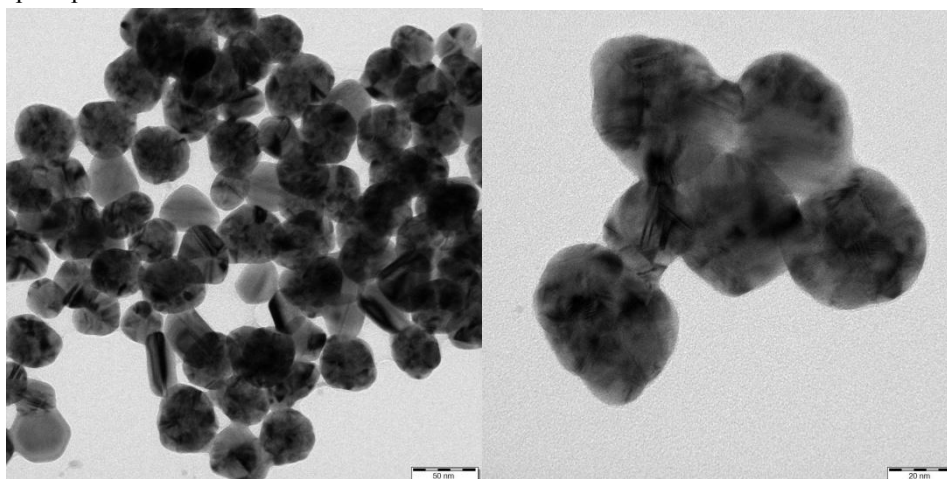


**Graf 6:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs s redukční látkou D-manózou zpracovaných v mikrovlnném reaktoru při různých teplotách reakce.

Použitá redukční látka poskytuje prakticky ve všech případech nanočástice stříbra o přibližně stejné velikosti. Rozdíly ve velikostech nejsou příliš významné, ale velmi překvapivý je průběh UV/VIS spekter se změnou teploty. Pro všechny teploty mimo 90°C jsou absorpční křivky prakticky totožné. Ovšem pro 90°C byl pozorován prudký pokles absorpance koloidu, což může být spojeno s částečnou agregací nanočástic při tak vysoké teplotě.



**Obr. 24:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky D-manózy připraveny v mikrovlnném reaktoru při teplotě 50°C.



**Obr. 25:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky D-manózy připraveny v mikrovlnném reaktoru při teplotě 70°C.

### 4.2.3 Redukce Polyethylenglykolem 300

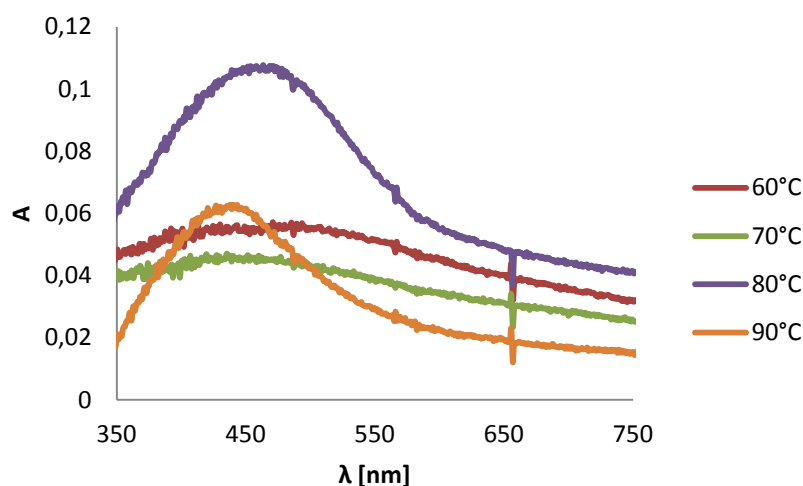
Reakční směs byla vložena do reaktoru a testována pro rozmezí teplot 50-90°C. Zpočátku byla látka ponechána v reaktoru jen po dobu 5 min, pokud nedošlo k reakci, byla tato doba prodloužena o 15 min při dané teplotě. Bylo zjištěno, že při reakci s PEGem 300 vznikají nanočástice stříbra až od teploty 60°C.

Při teplotě 60°C byl vzorek cca do 15 minut (zpozorováno díky sondě) zbarven do hněda. Při teplotě 70°C vznikl do 2 minut vzorek, který měl slabý nádech hnědé. Při teplotě 80°C byl vzorek zbarven do minuty do oranžovohněda a při teplotě 90°C došlo k reakci opět do 1 minuty a vzniklý roztok nanočástic měl barvu žlutozelenou. Absorpční spektrum

bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené pomocí metody DLS jsou uvedeny v Tabulce 10.

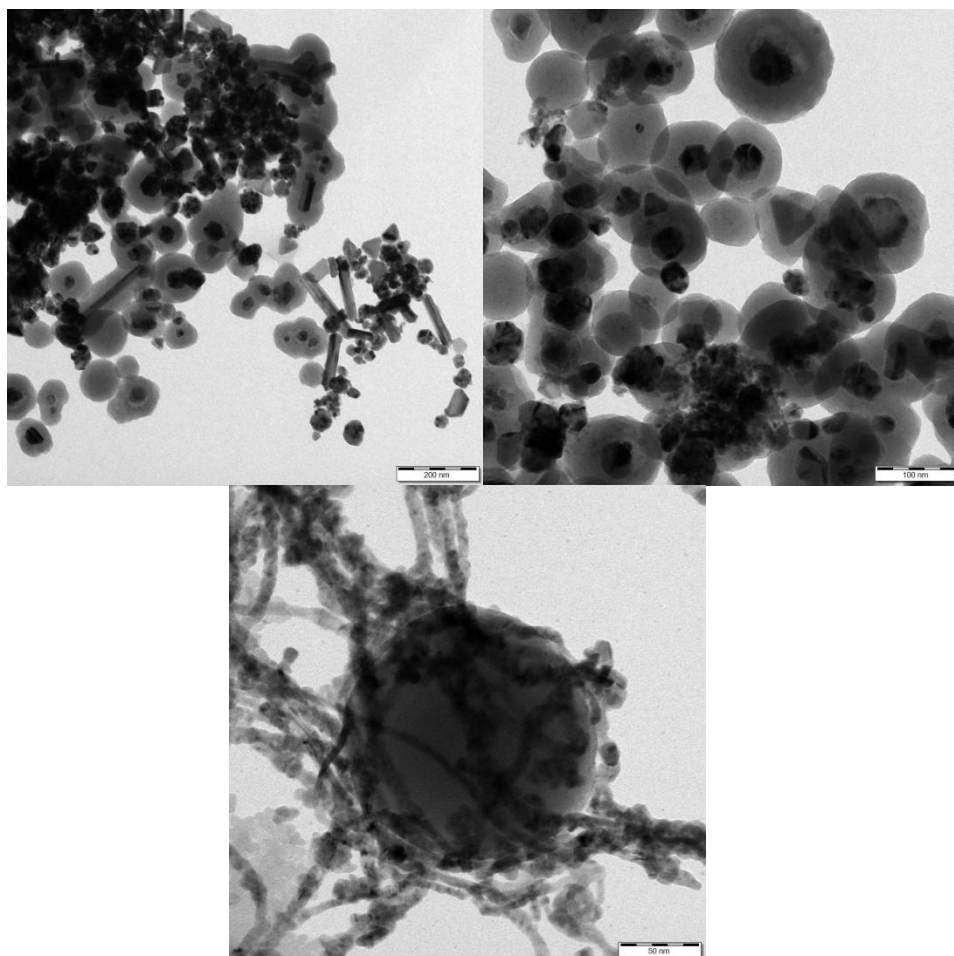
Teplota MR	Velikost částic [nm]
60°C	96,0
70°C	166,6
80°C	44,0
90°C	29,0

**Tabulka 10:** Velikost částic při jednotlivých teplotách reakcí PEGem 300 v mikrovlnném reaktoru.



**Graf 7:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs s redukční látkou PEG 300 zpracovaných v mikrovlnném reaktoru při různých teplotách reakce.

Získané velikosti DLS i absorpční spektra ukazují podobný trend jako byl pozorován u této redukční látky v případě klasické termické iniciace. S rostoucí teplotou se nanočástice zmenšují, ovšem konverze vzhledem k hodnotám absorpce není příliš vysoká, dokonce nižší než při klasické termické iniciaci.



**Obr. 26:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky PEG 300 připraveny v mikrovlnném reaktoru při teplotě 90°C.

Na elektronmikroskopických snímcích jsou ale oproti jiným případům patrné protáhlé útvary jako tyčinky či vlákna. S rostoucí teplotou se tyto útvary protahují a jsou četnější.

#### 4.2.4 Redukce Polyethylenglykolem 35 000

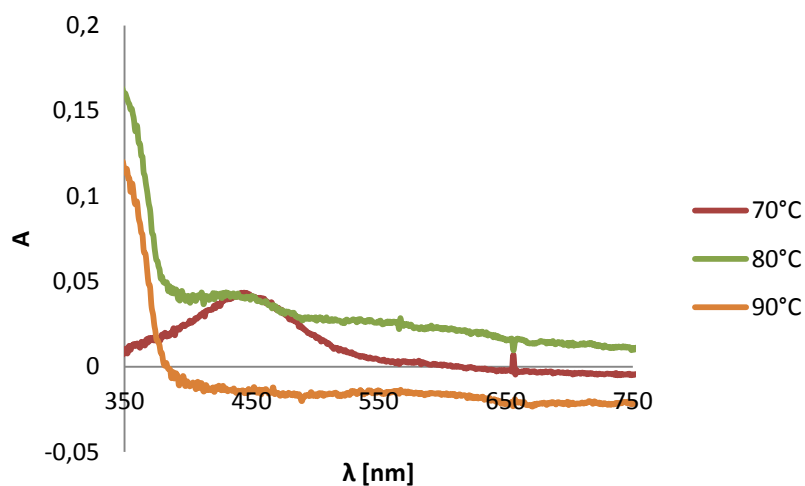
Reakce s PEG o molekulové hmotnosti 35 000 byly složitější, než s předchozími redukčními látkami, a to nejen z důvodu jeho  $M_r$ , ale také proto, že tato látka působí jako redukční, ale i výrazně jako stabilizační činidlo.

Reakce, indukovaná změnou zbarvení vzorku, probíhá pouze od 70°C. Při této teplotě došlo ke zbarvení vzorku do 15 min, kdy výsledný roztok Ag-NPs nesl žlutý nádech. Při teplotě 80°C vznikla do 15 min disperze zbarvená mírně do hněda s patrnými malými hnědými útvary a při teplotě 90°C po dobu 15 minut vznikala disperze, jejíž výsledné zbarvení bylo do slabě hněda. Absorpční spektrum bylo měřeno v rozmezí 350 – 750 nm. Reakce

při daných teplotách byly zopakovány minimálně 3x. Průměrné velikosti částic určené pomocí metody DLS jsou uvedeny v Tabulce 11.

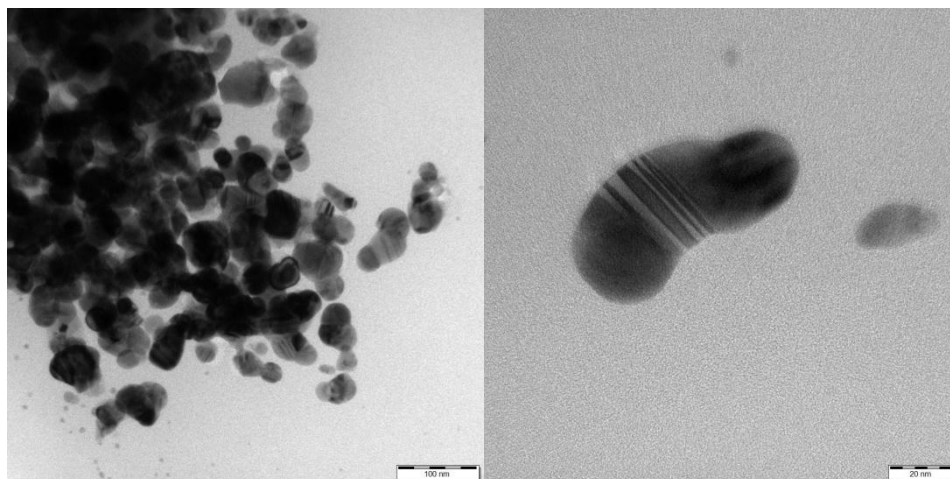
Teplota MR	Velikost částic [nm]
70°C	40,8
80°C	109,1
90°C	54,8

**Tabulka 11:** Velikost částic při jednotlivých teplotách reakcí PEGem 35 000 v mikrovlnném reaktoru.



**Graf 8:** Porovnání absorpčních spekter disperzí Ag-NPs s redukční látkou PEG 35 000 zpracovaných v mikrovlnném reaktoru při různých teplotách reakce.

UV/VIS spektra připravených disperzí prokazují přítomnost nanočástic jednoznačně jen v případě reakce za teploty 70°C. Ale i v tomto případě je absorpce velmi nízká a rovněž svědčí o nízké konverzi redukční reakce.



**Obr. 27:** TEM snímky Ag-NPs připravené pomocí redukční látky PEG 35 000 připraveny v mikrovlnném reaktoru při teplotě 70°C.

Z elektronmikroskopického snímku disperze připravené při teplotě 70°C (Obr. 27) je patrné, že vzniká polydisperzní systém nanočástic stříbra, které mají často oválný tvar.

### 4.3 Porovnání vzniku Ag-NPs klasickým ohřevem a v mikrovlnném reaktoru

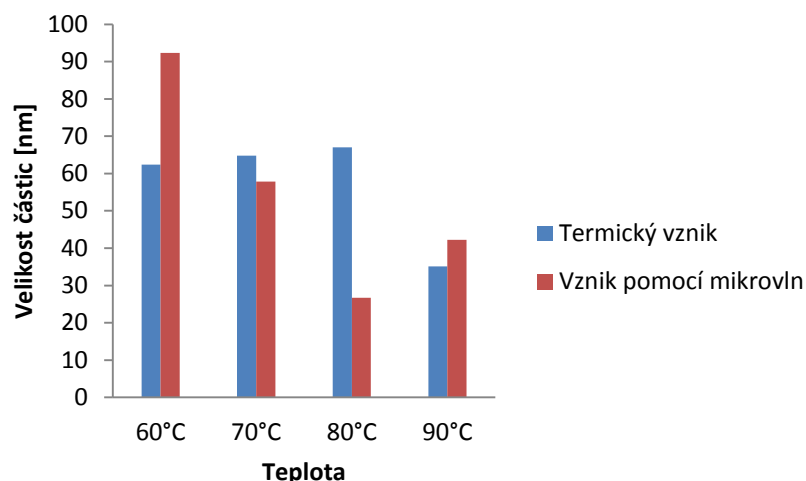
V literatuře se v poslední době objevují stále častěji publikace, které prokazují výhodnost mikrovlnného ohřevu při přípravě nanočástic ve srovnání s klasickými postupy termické iniciace. Proto je zde porovnáno, zda je pro vznik nanočástic stříbra za využití přírodních látek a jejich analogů (obvykle slabá redukční činidla) výhodnější klasický ohřev, či mikrovlny.

#### 4.3.1 Redukce D-mannitem

Teplota	Velikost částic [nm]	
	Termický vznik	Mikrovlnný reaktor
60°C	62,4	92,3
70°C	64,8	57,8
80°C	67,0	26,7
90°C	35,1	42,2

**Tabulka 13:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou D-mannitem.





**Graf 9:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou D-mannitem.

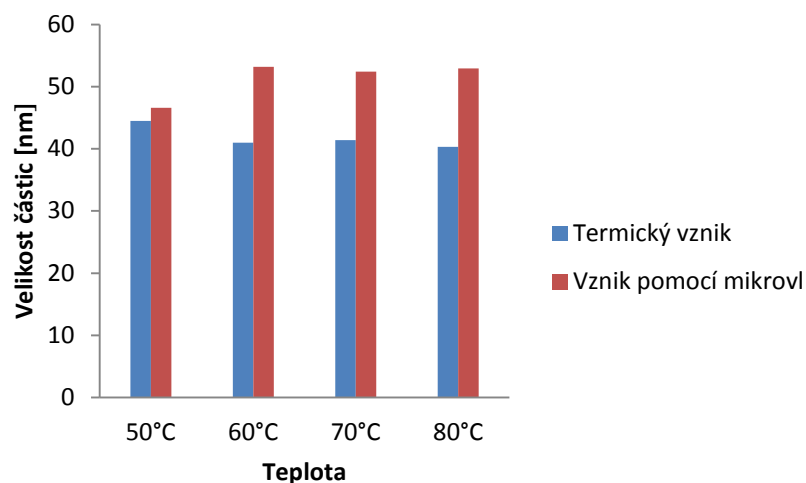
Z Tabulky 13 a Grafu 9 je patrné, že velikost připravených nanočástic stříbra silně závisí na zvolené teplotě. Při teplotách 60 a 90°C vznikají v mikrovlnném reaktoru částice větší (v případě 60°C mnohem větší), než při klasickém termickém vzniku. Zato při teplotách 70 a 80°C vznikají menší částice v mikrovlnném reaktoru. Výhodnější tak vypadá příprava Ag-NPs v mikrovlnném reaktoru při teplotě 80°C. Tímto způsobem dosáhneme vzniku nejmenších nanočástic stříbra. V průměru však vychází výsledky klasické termické iniciace v tomto případě příznivěji.

#### 4.3.2 Redukce D-manózou

Teplota	Velikost částic [nm]	
	Termický vznik	Mikrovlnný reaktor
50°C	44,5	46,6
60°C	41,0	53,2
70°C	41,4	52,4
80°C	40,3	52,9

**Tabulka 14:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou D-manózou.





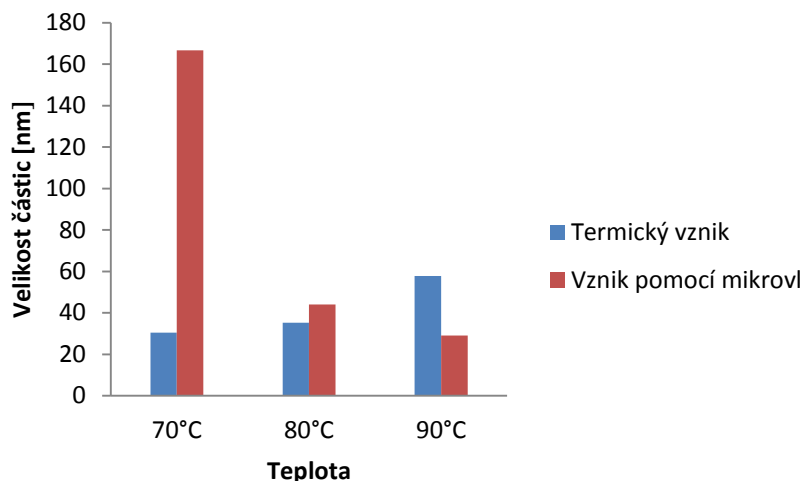
**Graf 10:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou D-manózou.

Z Tabulky 14 a Grafu 10 je patrné, že menší nanočástice nám vznikají pomocí klasického ohřevu.

#### 4.3.3 Redukce Polyethylenglykolem 300

Teplota	Velikost částic [nm]	
	Termický vznik	Mikrovlnný reaktor
70°C	30,5	166,6
80°C	35,3	44,0
90°C	57,8	29,0

**Tabulka 15:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou PEGem 300.



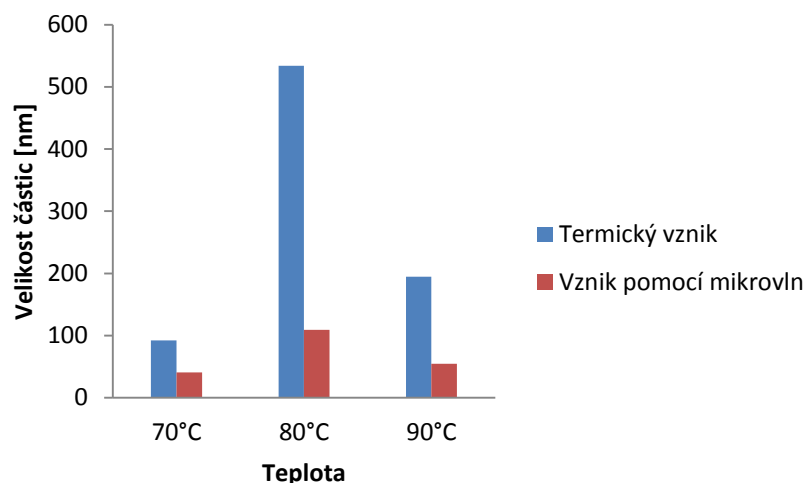
**Graf 11:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou PEGem 300.

Z Tabulky 15 a Grafu 11 plyne, že opět závisí na použité teplotě při přípravě nanočástic stříbra. V případě potřeby vzniku nejmenších nanočástic při teplotě 70°C by měl být zvolený termický vznik. Velmi zajímavý je však průběh závislosti velikosti připravených nanočástic s teplotou. U mikrovlnné metody přípravy velikost nanočástic exponenciálně klesá s rostoucí teplotou, u termické metody naopak velikost částic roste. Evidentně jsou za těmito závislostmi jiné mechanismy vzniku nanočástic stříbra, ovšem jejich studium přesahuje možnosti této práce.

#### 4.3.4 Redukce PEGem 35 000

Teplota	Velikost částic [nm]	
	Termický vznik	Mikrovlnný reaktor
70°C	92,1	40,8
80°C	534,1	109,1
90°C	194,8	54,8

**Tabulka 16:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou PEGem 35 000.



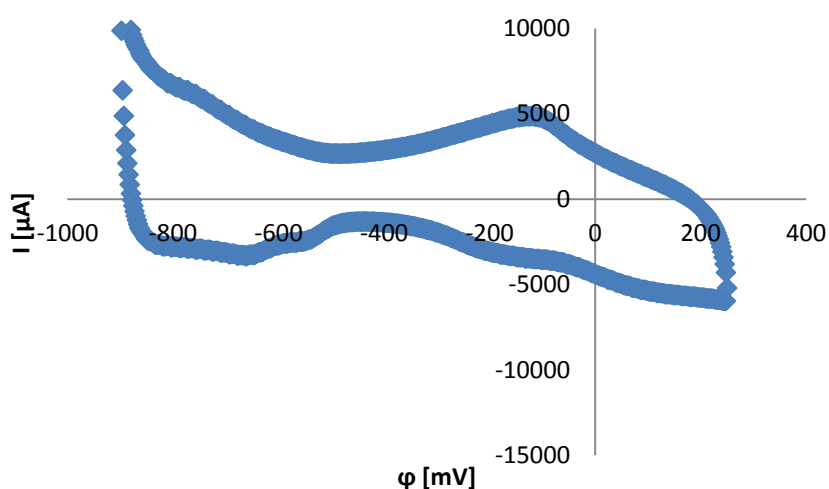
**Graf 12:** Porovnání velikosti částic, změřených pomocí DLS, vzniklých dvěma cestami: termicky a pomocí mikrovln s redukční látkou PEGem 35 000.

Z Tabulky 16 a Grafu 12 jasně vyplývá, že v případě redukční látky PEGu 35 000 je při přípravě nanočástic stříbra, jednoznačně nejlepší využít mikrovlnného reaktoru. V případě klasického ohřevu totiž vznikají nanočástice jen při 70°C.

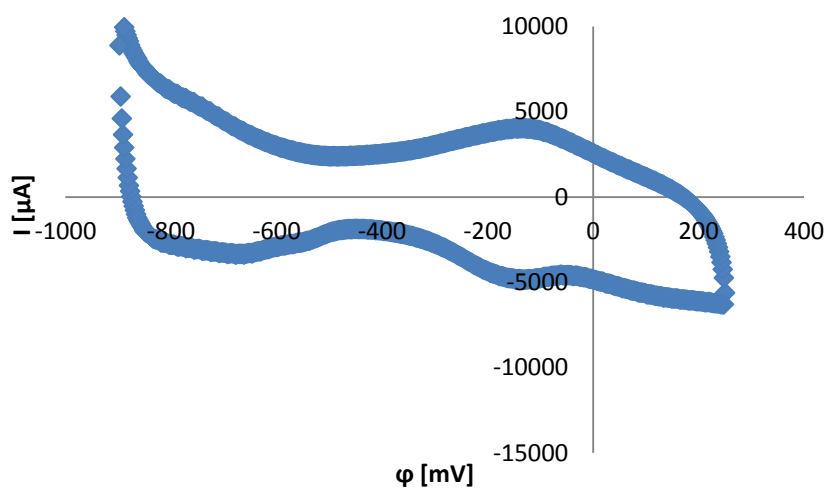
#### 4.4 Elektrochemické studium redukční síly použitých látek

Pro kvalifikovanější posouzení vlivu typu termické iniciace pro přípravu nanočástic stříbra redukcí slabými redukčními látkami přírodního původu resp. jejich analog byla provedená jednoduchá voltametrická studie elektrochemického chování použitých redukčních látek. Na přístroji EcoTribo polarograf (Polaro Sensors, ČR) byla provedena cyklická voltametrie roztoků použitých redukčních látek v tříelektrodovém zapojení s Au pracovní elektrodou a Ag/AgCl referenční elektrodou. Voltamogramy 5 mM roztoků testovaných redukčních látek, pořízených při rychlosti scanu 100 mV/s v 0,1 M KNO<sub>3</sub> a 0,01 M NaOH jsou uvedeny na Grafu 13. Na základě srovnání s voltamogramem použitého základního elektrolytu je zřejmé, že nejslabší redukční látkou z použité čtveřice je PEG 35 000, jehož cyklický voltamogram se neliší od cyklického voltamogramu základního elektrolytu. Na cyklickém voltamogramu látky PEG 300 je málo zřetelný anodický pík při potenciálu -115 mV (oxidace hydroxylových skupin v molekule polymeru), což svědčí o jen velmi mírné redukční síle této látky. Na cyklickém voltamogramu D-mannitu je jasně viditelný mohutný anodický pík u potenciálu -125 mV, svědčí o schopnosti této látky působit jako slabé redukční činidlo. A nakonec v případě D-manózy lze na cyklickém voltamogramu pozorovat celkem tři anodické oxidační píky při -560, -350 a -145 mV, které prokazují, že tato látka je v celé skupině jednoznačně nejsilnějším redukčním činidlem. Zjištěné elektrochemické vlastnosti

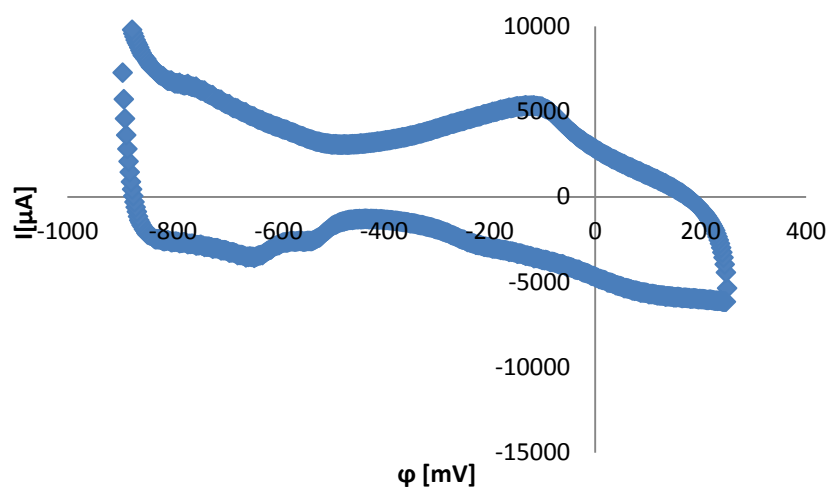
použitých redukčních látek velmi dobře korespondují s pozorovanými trendy při přípravě nanočástic stříbra, kde D-manóza jednoznačně nejnadhěji redukovala stříbrné ionty v reakční směsi. Z tohoto pohledu je zajímavé porovnání výhodnosti klasické termické a mikrovlonné iniciace redukční reakce. V případě použitých silnějších redukčních látek odvozených od cukrů (D-manóza a D-mannit) se jeví jako výhodnější využití klasické termické iniciace, v případě slabších redukčních látek typu PEG se jako výhodnější jeví naopak mikrovlonná iniciace redukční reakce.



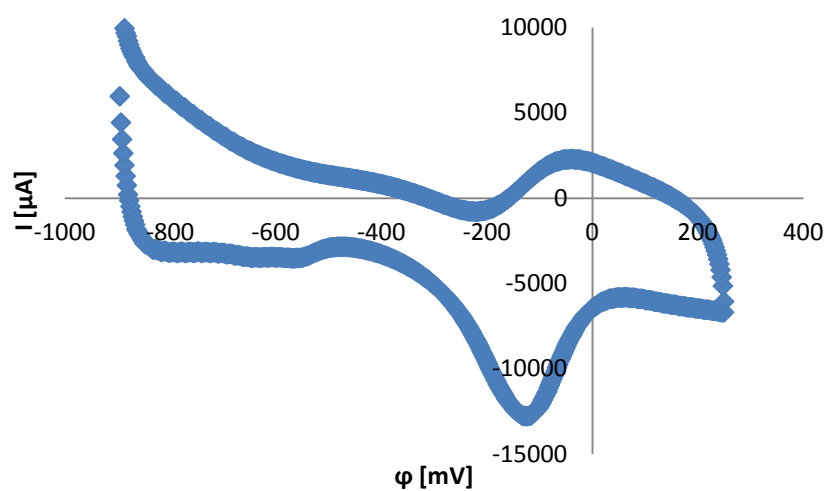
**Graf 13:** Cyklický voltamogram základního elektrolytu na Au elektrodě.



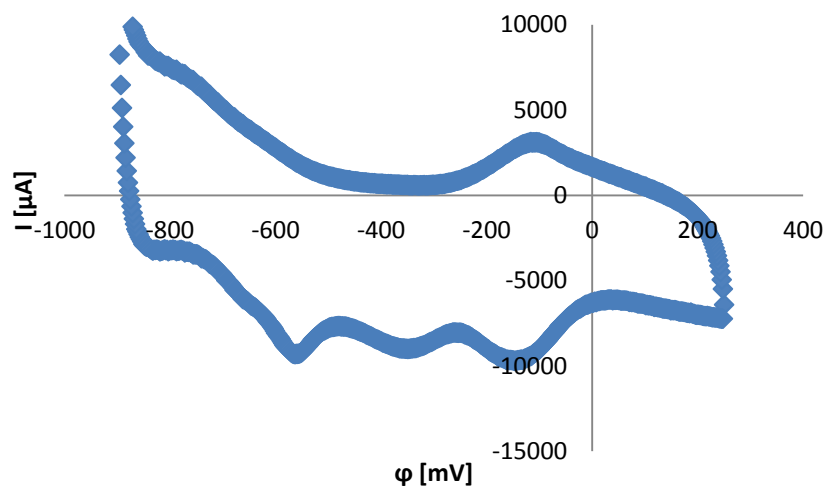
**Graf 14:** Cyklický voltamogram látky PEG 300 na Au elektrodě.



**Graf 15:** Cyklický voltamogram látky PEG 35 000 na Au elektrodě.



**Graf 16:** Cyklický voltamogram látky D-mannit na Au elektrodě.



Graf 17: Cyklický voltamogram látky D-mannoza na Au elektrodě.

## ZÁVĚR

Cílem této práce byla příprava nanočástic stříbra ve slabě alkalickém prostředí pomocí různých přírodních sloučenin a jejich analogů jako redukčních látek. Vzniklé nanočástice byly připravovány modifikovanou Tollensovou metodou klasickou termickou iniciací a iniciací pomocí mikrovln. Tyto dvě cesty následně byly porovnány, a to v ohledu na velikost částic stříbra vznikajících při jednotlivých teplotách. Charakteristika nanočástic proběhla pomocí dynamického rozptylu světla (DLS), UV/VIS absorpčních spekter a transmisního elektronového mikroskopu (TEM). Na základě elektrochemických vlastností (redukční potenciál použitých látek) byla testovaná čtveřice látek – D-manóza, D-mannit, PEG 300 a PEG 35 000 rozděleny do dvou skupin z hlediska výhodnosti využití daného typu termické iniciace.

Pro silnější redukční látky z testované čtveřice (D- manóza a D-mannit) je výhodnější využití klasické termické iniciace (ohřev horkou plochou), kdy vznikají oproti mikrovlnnému ohřevu menší a méně polydisperzní částice. Naopak pro slabší, resp. velmi slabá redukční činidla jako je PEG 300 a PEG 35 000 je jednoznačně výhodnější využití mikrovlnného ohřevu, který je schopen iniciovat reakci i v případě tak slabých redukčních látek.

Na základě dosažených výsledků v této práci tak lze konstatovat, že výběr nejvhodnější metody termické iniciace je závislý na typu použité redukční látky. I přes mnohá doporučení z literatury svědčící o univerzální vhodnosti mikrovlnného ohřevu při syntéze nanočástic je tak žádoucí nejprve otestovat vedle mikrovlnného ohřevu i efekt klasického ohřevu reakční směsi a teprve na základě tohoto testu rozhodnout o výhodnějším způsobu termické iniciace redukční reakce.

## SUMMARY

The aim of this study was to prepare silver nanoparticles in a slightly alkaline environment using different natural compounds and their analogues as reducing agents. The resulting nanoparticles were prepared by a modified Tollens method conventional thermal initiation and initiation using microwaves. The two methods were then compared with regard to particle size at various temperatures. Characteristics of the nanoparticles were obtained by means of dynamic light scattering (DLS), the absorption spectra measured with a UV/VIS spectrometer and a transmission electron microscope (TEM). Based on the electrochemical properties (reduction potential of substances used) was tested four substances – D-mannose, D-mannitol, PEG 300 and PEG 35,000 were divided into two groups for convenience use of the type of thermal initiation.

For a stronger reducing agent from a test four (D-mannose and D-mannitol) are preferable to use classical thermal initiation (heating hot surfaces) where by comparison with the microwave heating is smaller and less polydisperse particles. Conversely, the weaker respectively very weak reducing agents such as PEG 300 and PEG 35000 are clearly preferable to use microwave heating, that is able to initiate the reaction even in case of weak and reducing substances.

Based on the results of this work it can be stated that the selection of the most appropriate methods of thermal initiation is dependent on the type of reducing agent. Despite of many recommendations in the literature indicating the universal suitability of microwave heating for the synthesis of nanoparticles it is thus desirable to first test in addition to the microwave heating and the heating effect of the classical reaction and only on the basis of this test to decide on the preferred method for thermal reduction reaction initiation.



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Helago cz: *Monowave 300 - Vysokoučinný mikrovlnný reaktor* [online]. Hradec Králové [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://www.helago-cz.cz/pdf.php?product=160703>
- [2] KVÍTEK, Libor. *Metody studia koloidních soustav: Prozatimní učební text*. Katedra fyzikální chemie PŘF UP Olomouc, 2006.
- [3] PAL, Angshuman, Sunil SHAH a Surekha DEVI. Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using ethanol as a reducing agent: note II. *Materials Chemistry and Physics*. 2009, **114**(2-3), 530-532. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2008.11.056. ISSN 02540584.
- [4] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. UP v Olomouci. Olomouc, 2007.
- [5] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008, 205 s. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [6] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠÍŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 6., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010, 262 s. ISBN 978-80-7080-745-3.
- [7] NOVÁKOVÁ, Tereza, Marek ŠVÁB a Martina ŠVÁBOVÁ. VYUŽITÍ NANOČÁSTIC V DEKONTAMINAČNÍCH TECHNOLOGIÍCH: SOUČASNÝ STAV. *Chem. Listy*. **2009**(103), 524 - 532.
- [8] KUBÍNEK, Roman a Vendula STRÁNSKÁ. *Úvod do problematiky nanotechnologií* [online].
- [9] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008, 2 sv. (260 s., s. 264-506). ISBN 978-80-7080-675-3.
- [10] KVÍTEK, Libor, Robert PRUCEK, Aleš PANÁČEK a Jana SOUKUPOVÁ. Nanočástice stříbra - příprava, vlastnosti a aplikace. *Nanocon 2009*. Rožnov pod Radhoštěm: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2009, , 1-9.
- [11] PANÁČEK, Aleš, Libor KVÍTEK, Robert PRUCEK, et al. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006, **110**(33), 16248-16253. DOI: 10.1021/jp063826h. ISSN 1520-6106.

- [12] KVÍTEK, Libor a Robert PRUCEK. The preparation and application of silver nanoparticles. *Journal of Material Science 2005*. 2005. DOI: 10.1007/s10853-005-0789-2.
- [13] PRUCEK, Robert, Libor KVÍTEK a Jan HRBÁČ. SILVER COLLOIDS - METHODS OF PREPARATION AND UTILIZATION. *ACTA UNIVERSITATIS PALACKIANAE OLOMUCENSIS FACULTAS RERUM NATURALIUM 2004, CHEMICA 43*.
- [14] KHAYDAROV, Rashid A., Renat R. KHAYDAROV, Olga GAPUROVA, Yuri ESTRIN a Thomas SCHEPER. Electrochemical method for the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 2009,**11**(5), 1193-1200. DOI: 10.1007/s11051-008-9513-x. ISSN 1388-0764.
- [15] SIVERA, Martin. *VLIV POLYMERNÍCH LÁTEK NA PŘÍPRAVU A VLASTNOSTI NANOČÁSTIC STRĚBRA*. Olomouc, 2011. Diplomová práce. Univerzita Palackého Olomouc.
- [16] SHARMA, Virender K., Ria A. YNGARD a Yekaterina LIN. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2009, **145**(1-2), 83-96. DOI: 10.1016/j.cis.2008.09.002. ISSN 00018686.
- [17] PANÁČEK, Aleš, Libor KVÍTEK, Robert PRUCEK, et al. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006, **110**(33), 16248-16253. DOI: 10.1021/jp063826h. ISSN 1520-6106.
- [18] JIANG, Hongjin, Kyoung-sik MOON, Zhuqing ZHANG, Suresh POTHUKUCHI a C. P. WONG. Variable Frequency Microwave Synthesis of Silver Nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 2006, **8**(1), 117-124. DOI: 10.1007/s11051-005-7522-6. ISSN 1388-0764.
- [19] TSUJI, M. Synthesis of gold nanorods and nanowires by a microwave/polyol method. *Materials Letters*. 2004, **58**(17-18), 2326-2330. DOI: 10.1016/j.matlet.2004.02.020. ISSN 0167577x.
- [20] TRAN, Quang Huy, Van Quy NGUYEN a Anh-Tuan LE. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 2013, **4**(3), 033001-. DOI: 10.1088/2043-6262/4/3/033001.
- [21] CHALOUPKA, Karla, Yogeshkumar MALAM a Alexander M. SEIFALIAN. Nano-silver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends in Bio-*

- technology*. 2010, **28**(11), 580-588. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.07.006. ISSN 01677799.
- [22] FARRÉ, Marinella, Krisztina GAJDA-SCHRANTZ, Lina KANTIANI a Damià BARCELÓ. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009, **393**(1), 81-95. DOI: 10.1007/s00216-008-2458-1.
- [23] ŠEVČÍKOVÁ, Petra, Věra KAŠPÁRKOVÁ, Jiří KREJČÍ a Pavlína VLTAVSKÁ. DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA V ANALÝZE KOLOIDNÍCH SYSTÉMŮ. *Chem. Listy*. 2014, (108), 479-482.
- [24] ŠÍPAL, Zdeněk. *Biochemie: Celostát.vysokoškol.učeb.pro stud.pedag.a přírodověd.fak.stud.oboru 76-12-8 učitelství všeobecněvzdělávacích předmětů*. 1.vyd. Praha: SPN, 1992. Učebnice pro vysoké školy (Státní pedagogické nakladatelství). ISBN 80-042-1736-2.
- [25] Biochemie: Sacharidy. In: *Moje Chemie* [online]. [cit. 2016-04-14]. Dostupné z: <http://www.mojechemie.cz/images/D-manoza.png>
- [26] Polyethylene glycol. *CHEMINDUSTRY.ru* [online]. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: [http://chemindustry.ru/Polyethylene\\_Glycol.php](http://chemindustry.ru/Polyethylene_Glycol.php)
- [27] D-mannitol. *PubChem Compound Database: National Center for Biotechnology Information* [online]. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6251>
- [28] EDITED BY KAY O'DONNELL, Malcolm W. *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*. 2nd ed. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 04-706-5968-8.
- [29] OPRŠAL, Jakub, Petr KNOTEK, Miloslav POUZAR, Jiří PALARČÍK a Ladislav NOVOTNÝ. VLIV AGLOMERACE STŘÍBRNÝCH NANOČÁSTIC NA VÝSLEDKY TESTŮ EKOTOXICITY NA VODNÍCH ORGANISMECH. *Chem. Listy*. 2013, (107), 386-392.