



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Biogenní syntéza oxidických nanočástic

Bakalářská práce

Studijní program: B3942 – Nanotechnologie
Studijní obor: 3942R002 – Nanomateriály

Autor práce: **Sabrin Abdallah**
Vedoucí práce: Ing. Jan Grégr
Konzultant: Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.





TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Biogenic Synthesis of Oxide Nanoparticles

Bachelor thesis

Study programme: B3942 – Nanotechnology
Study branch: 3942R002 – Nanomaterials

Author: **Sabrin Abdallah**
Supervisor: Ing. Jan Grégr
Consultant: Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.





Zadání bakalářské práce

Biogenní syntéza oxidických nanočástic

Jméno a příjmení: Sabrin Abdallah
Osobní číslo: M17000108
Studijní program: B3942 - Nanotechnologie
Studijní obor: 3942R002 - Nanomateriály
Zadávací katedra: Katedra chemie
Akademický rok: 2019/2020

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte odbornou literaturu k zadanému tématu
2. Vyberte z literatury nejméně 3 vhodné modelové postupy pro laboratorní experimenty a realizujte je
3. Sestavte alespoň 3 vlastní experimenty nezávisle na literatuře pro přípravu oxidických nanočástic
4. Všechny získané produkty charakterizujte metodami dostupnými na TUL

<i>Rozsah grafických prací:</i>	dle potřeby dokumentace
<i>Rozsah pracovní zprávy:</i>	50-70 stran
<i>Forma zpracování práce:</i>	tištěná/elektronická
<i>Jazyk práce:</i>	Čeština

Seznam odborné literatury:

1. Shakeel Ahmad Khan, et al. Biogenic Synthesis of CuO Nanoparticles and their Biomedical Applications: A Current Review, *Int. J. Adv. Res.* 2017, **5**(6), 925-946
2. Darroudi, M., et al, Green synthesis and evaluation of metabolic activity of starch mediated nanoceria. *Ceramics International.* 2014, **40**(1), 2041-2045
3. Yuvakkumar, R., S. I. Hong, Nd₂O₃: novel synthesis and characterization. *Journal of Sol-Gel Science and Technology.* 2015, **73**(2), 511-517 (2015).

<i>Vedoucí práce</i>	Ing. Jan Grégr Katedra chemie
<i>Konzultant práce:</i>	Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D. Katedra materiálu
<i>Datum zadání práce:</i>	7. října 2019
<i>Předpokládaný termín odevzdání:</i>	18. května 2020

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

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

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

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 1. června 2020

Podpis:

Poděkování

Ráda bych tímto věnovala poděkování všem lidem, kteří mi byli nápomocni při laboratorní práci a při zpracování samotného textu.

Velké poděkování věnuji zejména panu **Ing. Janu Grégrovi** v první řadě za vedení mé práce, ale navíc také za všechny cenné rady, které mi byly nápomocny při zpracování práce a usnadnily práci v laboratoři. Dále bych ráda poděkovala panu **Ing. Pavlu Kejzlarovi, Ph.D.** jednak za přínosné konzultace, které mi pomohly se orientovat v dané problematice, za charakterizaci všech produktů pomocí skenovacího elektronové mikroskopu, ale také za ochotu a pomoc při psaní bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala paní **Doc. Mgr. Ireně Lovětinské-Šlamborové, Ph.D.** za ochotu a umožnění provést antibakteriální testy na získaných produktech. Mé poděkování patří panu **Mgr. Martinu Slavíkovi, Ph.D.** za cenné rady při zpracování práce, ale i všem zaměstnancům KCH FP TUL, jmenovitě paní **Haně Šalovské** a paní **Marcele Krejčíkové**, za jejich přátelský přístup, maximální ochotu pomoci a usnadnění práce v laboratoři. Ráda bych také poděkovala panu **RNDr. Ottu Jarolímkovi, CSc.**, Crytur s.r.o. a **RNDr. Jaroslavu Maixnerovi, CSc.**, VŠCHT Praha za charakterizaci vzorků oxidů železa pomocí rentgenové difrakce. V neposlední řadě mé poděkování patří samozřejmě mé rodině a všem blízkým za neustálou podporu a motivaci po celou dobu studia.

Anotace

Tato práce se zabývá biogenní syntézou nanočástic oxidů železa, mědi a zinku pomocí extraktů z plodů černého bezu (*Sambucus nigra*), jablek (*Malus sylvestris*), černého čaje (*Camellia sinensis*) a listů rýmovníku citrónového (*Plectranthus amboinicus*). V práci byly také pro porovnání provedeny syntézy pomocí čistých chemikálií (glukózy, kyseliny askorbové, pyrogallolu a kyseliny tříslové). Výsledné produkty byly charakterizovány pomocí SEM, EDS a XRD. U částic oxidů železa syntetizované pomocí extraktu z černého bezu a jablek byly patrné krystalografické formy magnetitu. Částice oxidů mědi připravené pomocí extraktů a čistých látek měly sférický tvar. Naopak u oxidu zinku jevíly částice nehomogenní velikost a tvar. EDS spektra jednotlivých oxidů prokázaly přítomnost balastů (např. uhlík, draslík, hořčík, fosfor), které pocházely z extraktů. XRD analýza potvrdila výskyt balastů u oxidů železa hlavně ve formě hydrogenuhličitanu draselného a také přítomnost magnetických fází ve formě magnetitu a maghemitu. Byla testována antibakteriální aktivita nanočástic oxidů mědi a zinku na bakteriálních kmenech *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Oba oxidy vykazovaly baktericidní účinek.

Klíčová slova: biogenní syntéza, nanočástice oxidů, oxid železa, oxid mědi, oxid zinku, zelená syntéza, rostlinné extrakty, antibakteriální aktivita

Abstract

This thesis discusses plant mediated biogenic synthesis of iron, copper and zinc oxide nanoparticles using extracts from the fruit of elderberries (*Sambucus nigra*), apples (*Malus sylvestris*), black tea (*Camellia sinensis*) and the leaves of Mexican mint (*Plectranthus amboinicus*). For comparison, clean chemicals (glucose, ascorbic acid, pyrogallol and tannic acid) were also used to synthesize oxide nanoparticles. The resulting products were characterized using SEM, EDS and XRD. Iron oxide particles synthesized using the extracts from elderberries and apples had noticeable crystallographic forms of magnetite. Copper oxide particles synthesized using the extracts and the clean chemicals were spherical in shape. On the other hand zinc oxide particles appeared to be inhomogeneous both in shape and size. EDS spectrums of the individual oxides showed the presence of impurities (e.g. carbon, potassium, magnesium, phosphor), which originated from the extracts. XRD analysis of iron oxides confirmed the presence of impurities mainly in the form of potassium bicarbonate, as well as the presence of magnetic phases in the form of magnetite and maghemite. The antibacterial activity of the synthesized copper and zinc oxide nanoparticles was tested on bacterial colonies *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Both oxides proved to have bactericidal effect.

Key words: biogenic synthesis, oxide nanoparticles, iron oxide, copper oxide, zinc oxide, green synthesis, plant extracts, antibacterial activity

Obsah

1 ÚVOD	1
2 TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1 OXIDY	4
2.1.1 Oxid železitý Fe_2O_3	4
2.1.2 Oxid železnato-železitý Fe_3O_4	7
2.1.3 Oxid měďnatý CuO	9
2.1.4 Oxid zinečnatý ZnO	13
2.1.5 Oxid bismutitý Bi_2O_3	16
2.2 ZELENÁ SYNTÉZA	17
2.2.1 Složky rostlinných extraktů.....	17
2.2.2 Mechanismus reakce	19
3 PRAKTICKÁ ČÁST	21
3.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	21
3.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	21
3.3 PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ.....	21
3.4 VLASTNÍ SYNTÉZA NANOČÁSTIC	23
3.4.1 Černý bez.....	23
3.4.2 Jablka.....	24
3.4.3 Černý čaj.....	26
3.4.4 Rýmovník citrónový	27
3.4.5 Syntéza se složkami rostlinných extraktů.....	29
3.5 METODIKA MIKROBIOLOGICKÝCH TESTŮ	34
3.5.1 Kvalitativní metoda	34
3.5.2 Kvantitativní metoda	35
3.6 METODY CHARAKTERIZACE	36
4 VÝSLEDKY	37
4.1 SEM A EDS	37
4.1.1 Oxidy železa Fe-O.....	37
4.1.2 Oxidy mědi Cu-O.....	42

4.1.3 Oxid zinku ZnO.....	46
4.2 XRD	50
4.2.1 Magnetické oxidy železa	50
4.2.2 Nemagnetické oxidy železa.....	51
4.3 MIKROBIOLOGICKÉ TESTY	52
5 DISKUZE.....	56
6 ZÁVĚR	60
SEZNAM LITERATURY	61

Seznam obrázků

Obrázek 1: Ploché trigonální krystalové formy hematitu [8]	4
Obrázek 2: Antimykotická aktivita nanočástic oxidu železitého na <i>Mucor piriformis</i> (a) a <i>Aspergillus niger</i> (a) dle Devi et. al [6].....	5
Obrázek 3: Mechanismus syntézy nanočástic oxidu železa pomocí plantanu východního dle Devi et. al [6].....	6
Obrázek 4: Vybrané krystalografické formy magnetitu: vzácná kubická (vpravo), modifikována oktaedrická a forma spinelových dvojčat (vlevo) [10].....	7
Obrázek 5: TEM snímek (a) a EDS analýza nanočástic (b) dle [12].....	9
Obrázek 6: Krystalografické formy tenoritu [15]	9
Obrázek 7: Snímek ze SEM nanočástic CuO dle Prasad et. al [13]	10
Obrázek 8: Nanočástic CuO ze SEM (a), TEM (b), EDX (c) a HRTEM (d) dle Kumar et. al [19]	12
Obrázek 9: Syntéza nanočástic ZnO pomocí acetátu a dusičnanu z extraktu <i>Laurus nobilis</i> dle Fakhari et. al [24].....	15
Obrázek 10: Snímky ZnO ze SEM (a,b) a TEM (c,d) dle Maruthupandy et. al. [21]	15
Obrázek 11: Schematická ilustrace mechanismu tvorby magnetických nanočástic dle Awwad a Salem et. al [11]	20
Obrázek 12: Jablka v procesu přípravy extraktu, květy jabloně (a), suchá nakrájená jablka (b), výsledný extrakt z jablek (c).....	22
Obrázek 13: Příprava extraktu z čerstvých listů rýmovníku citronového (a), listy po rozmixování (b), výsledný extrakt (c)	23
Obrázek 14: Produkty po sušení použitím extraktu z černého bezu s dusičnanem měďnatým (a), železitým (b) a zinečnatým (c)	24
Obrázek 16: Produkty po sušení použitím extraktu z jablek s dusičnanem měďnatým (a), železitým (b) a zinečnatým (c)	25
Obrázek 17: Schéma syntéza nanočástic oxidu železa pomocí extraktu z jablek	26
Obrázek 18: Produkty po sušení použitím extraktu z černého čaje s dusičnanem měďnatým (a), železitým (b) a zinečnatým (c)	27

Obrázek 19: Roztoky s dusičnany (a, b, c) a roztoky po přidání extraktu z rýmovníku citrónového (d, e, f)	28
Obrázek 20: Nanočástice oxidů mědi (vlevo), zinku (uprostřed) a železa syntetizované pomocí extraktu z rýmovníku citrónového	29
Obrázek 21: Produkty po sušení připravené pomocí glukózy a dusičnanu železitého (a) a měďnatého (b)	30
Obrázek 22: Žihání produktu s glukózou pod lupou, produkt z dusičnanu měďnatého po sušení (a), žihání produktu (b), výsledná vrstva oxidu mědi po žihání (c)	30
Obrázek 23: Produkty po sušení připravené pomocí kyseliny askorbové a dusičnanu železitého (a) a měďnatého (b)	31
Obrázek 24: Produkty po sušení připravené pomocí kyseliny tříslové a dusičnanu železitého (a), měďnatého (b) a zinečnatého (c)	33
Obrázek 25: Snímek ze SEM nanočástic Fe-O připravené pomocí extraktu z plodů černého bezu a porovnání s krystalografickou formou magnetitu	38
Obrázek 26: SEM snímek aglomerovaných nanočástic Fe-O připravené pomocí extraktu z jablek tvořící krystaly	39
Obrázek 27: EDS spektrum oxidu železa připraveného pomocí rýmovníku citrónového	40
Obrázek 28: Snímky ze SEM oxidu železa připraveného pomocí glukózy (a), kyseliny askorbové (b) a pyrogallolu (c)	41
Obrázek 29: SEM snímek nanočástic Cu-O připravené pomocí extraktu z plodů černého bezu a nečistoty z extraktu	42
Obrázek 30: SEM snímek nanočástic Cu-O připravené extraktem z jablek	43
Obrázek 31: EDS spektrum oxidu mědi připraveného pomocí extraktu z rýmovníku citrónového	44
Obrázek 32: Snímky ze SEM oxidu mědi připravené z glukózy (a), kyseliny tříslové (b) a pyrogallolu (c)	45
Obrázek 33: SEM snímek spečených nanočástic ZnO připravené extraktem z plodů černého bezu	46
Obrázek 34: SEM snímek nanočástic ZnO ve dvou formách připravené extraktem z jablek	47
Obrázek 35: SEM snímek nanočástic ZnO připravené extraktem z rýmovníku citrónového	48

Obrázek 36: Snímek ze SEM pórovité struktury vzorku ZnO připravené pomocí extraktu z černého čaje	49
Obrázek 37: Snímek ze SEM (a) nanočástic ZnO připravené pomocí kyseliny tříslové a spektrum z EDS analýzy (b).....	49
Obrázek 38: XRD spektrum magnetických částic	50
Obrázek 39: XRD spektrum nemagnetických částic	51
Obrázek 40: Porovnání bakteriální inhibice E. coli na standardu (a, b) a na vzorku s obsahem Cu-O (c, d) modifikovanou metodou AATCC	52
Obrázek 41: Porovnání bakteriální inhibice S. aureus na standardu (a, b) a na vzorku s obsahem Cu-O (c, d) modifikovanou metodou AATCC	53
Obrázek 42: Nanočástice Fe-O připravené extraktem z černého bezu (a) a jablek (b) tvořící krystaly	57
Obrázek 43: Porovnání částic Cu-O připravené extraktem z jablek (a), kyselinou askorbovou (b) a glukózou (c).....	58

Všechna data jsou dostupná na: doi: [10.5281/zenodo.3844532](https://doi.org/10.5281/zenodo.3844532)

Seznam zkratk

CuO	oxid měďnatý
DLS	dynamický rozptyl světla
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDS	energiově-disperzní spektroskopie
Fe ₂ O ₃	oxid železitý
Fe ₃ O ₄	oxid železnato-železitý
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GAE	ekvivalent kyseliny gallové
HRTEM	transmisní elektronový mikroskop s vysokým rozlišením
NaOH	hydroxid sodný
RE	ekvivalent rutinu
SEM	skenovací elektronový mikroskop
TAE	ekvivalent kyseliny tříslové
TEM	transmisní elektronový mikroskop
UV-vis	ultrafialovo-viditelná spektroskopie
XRD	rentgenová difrakce
ZnO	oxid zinečnatý

1 Úvod

Prudký rozvoj průmyslu v posledních dekadách se významně projevil nejen na ubývajících zásobách nerostných surovin, ale také na stavu životního prostředí. V dnešní době je proto nezbytné přemýšlet nad ochranou našeho životního prostředí a nacházet nové způsoby, jak s materiály a chemikáliemi zacházet tak, abychom ho co nejméně, či nejlépe vůbec, neznečišťovali.

Chemici si proto v posledních letech dali za cíl navrhnout nové metody přípravy nanočástic za pomoci snadno dostupných surovin, které budou mít minimální dopad na životní prostředí.

Tato práce se zabývá problematikou biogenní syntézy nanočástic vybraných oxidů. Cílem práce je připravit nanočástice oxidů železa, mědi a zinku pomocí rostlinných extraktů, získat přehled o hlavních chemických složkách použitých rostlin, provést syntézy nanočástic pomocí daných složek a charakterizovat výsledné produkty metodami dostupnými na Technické univerzitě v Liberci.

2 Teoretická část

K jednomu z novějších přístupů ve snaze být šetrnější k naší planetě patří zelená chemie, která v posledních letech nabývá na významnosti. Zelená chemie je založena na principech, jež eliminují používání toxických či jinak nebezpečných látek při návrhu, výrobě a aplikaci chemických produktů. Principy zelené chemie zahrnují např. návrh bezpečnějších chemikálií, použití bezpečnějších činidel, méně hazardní chemické syntézy a předcházení vzniku odpadu. [1]

Chemické metody používané k průmyslové syntéze nanočástic jsou levné, ale chemické sloučeniny používané v reakcích mohou způsobovat kontaminaci životního prostředí, činidla jsou často toxická a může docházet ke vzniku nebezpečných vedlejších produktů. Bylo tudíž zapotřebí navrhnout nové šetrnější metody, jak nanočástice syntetizovat. Jednou z takovýchto metod, která je založena na principech zelené chemie, je biogenní syntéza. Pojem biogenní syntéza vychází z principu použití přírodních materiálů a netoxických chemikálií v procesech. Funkci biogenního činidla v zelených syntézách zastávají například bakterie, houby, viry a rostliny. Každá metoda má své výhody a nevýhody. Použitím mikroorganismů získáme částice s omezenými velikostmi. Tato metoda ale není lehce reprodukovatelná a je časově a finančně náročná. Při použití rostlin lze získat nanočástice o různých velikostech, syntéza je jednoduchá a probíhá i za pokojové teploty. Všechny části rostlin, které obsahují antioxidanty a cukry, včetně stonků, listů, zrn a plodů, jsou vhodné pro syntézu nanočástic, jelikož nahrazují škodlivá chemická činidla. Použití rostlin a jejich extraktů může tak být ekonomicky výhodné a šetrné pro životní prostředí. [2, 3]

Nanočástice mají díky své velikosti a specifické ploše výhody oproti jiným částicím. Termín „nano“ pochází z řeckého slova pro trpaslík a jako předpona v SI soustavě určuje mocninu 10^{-9} . Nanometr (nm) je tedy jedna miliardtina metru. Za nanočástici se považuje taková částice, u níž je alespoň jeden z rozměrů do 100 nm. Mezi struktury v řádech nanometrů řadíme například některé viry (okolo 100 nm), molekulu DNA (šířka 2,5 nm) a bílkoviny (přibližně 50 nm). Na rozdíl od

nanomateriálů, mají bulkové materiály konstantní fyzikální vlastnosti nezávisle na velikosti. Při studiu dobře charakterizovaných bulkových materiálů v nanoměřítku se prokázalo, že nanomateriály projevují odlišné vlastnosti. [4]

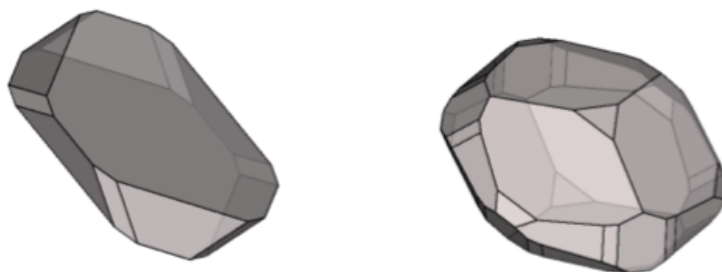
Rozlišujeme dva základní přístupy pro syntézu nanočástic – tzv. „bottom-up“ a „top-down“. Bottom-up metoda je založena na chemické syntéze, ve které dochází k sestavování stavebních jednotek (atomů, molekul) do větších struktur (např. atom po atomu, molekula po molekule). Výhodou této metody je dosažení homogenní velikosti nanočástic. U top-down syntézy se začíná s bulkovým materiálem, který je následně redukován pomocí litografických a mechanických metod na menší částice. Nevýhodou top-down syntézy je vznik defektů na povrchu materiálu, které mohou způsobit změny vlastností nanomateriálů. Bottom-up metoda se stala nejvhodnější k syntéze nanočástic, jelikož lze úpravou reakčních podmínek a koncentrací prekurzoru získat částice o určité velikosti a požadovaném tvaru. Nejrozšířenější chemickou metodou k syntéze kovových nanočástic je roztoková, kde k tvorbě částic dochází ve vodném prostředí za přítomnosti různých reaktantů, redukčních (např. tetrahydroboritan sodný, polyethylen glykol, hydrazin) a stabilizačních činidel, které brání aglomeraci nanočástic. [4, 5]

2.1 Oxidy

2.1.1 Oxid železitý Fe_2O_3

Oxidy železa jsou jedním ze značně studovaných oxidů přechodných kovů, jelikož se vyskytují ve více oxidačních stavech, mají různé krystalové struktury a mohou vykazovat magnetické vlastnosti. Nanočástice oxidů železa mají široké použití jako například anody v lithium-iontových bateriích, vysoce účinné senzory oxidu uhličitého, katalyzátory k rozkladu fenolů, pohlcovače mikrovln a k cílené dopravě léčiv díky svým magnetickým vlastnostem. [6]

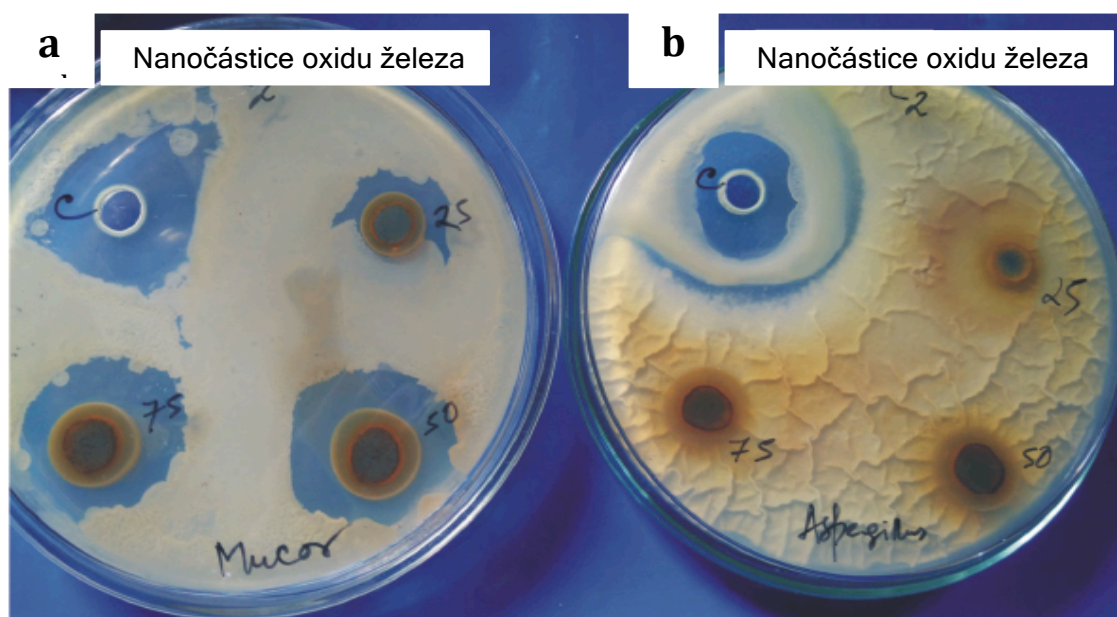
Oxid železitý se vyskytuje ve čtyřech krystalových strukturách ($\alpha, \beta, \gamma, \varepsilon$). Hematit (α -fáze) má rhomboedrickou strukturu (obr. 1), maghemit (γ -fáze) existuje za nízké teploty v kubické struktuře a za vyšší teploty přechází na hematit. Metastabilní β -fáze má hexagonální strukturu a za vyšší teploty, okolo 500 °C, přechází na α -fázi. Orthorhombickou strukturu má oxid železitý v ε -fázi, která za vyšší teploty také přechází na hematit. Oxid železitý v γ a ε fázi vykazuje ferromagnetické vlastnosti, v β -fázi vykazuje paramagnetické vlastnosti. [7]



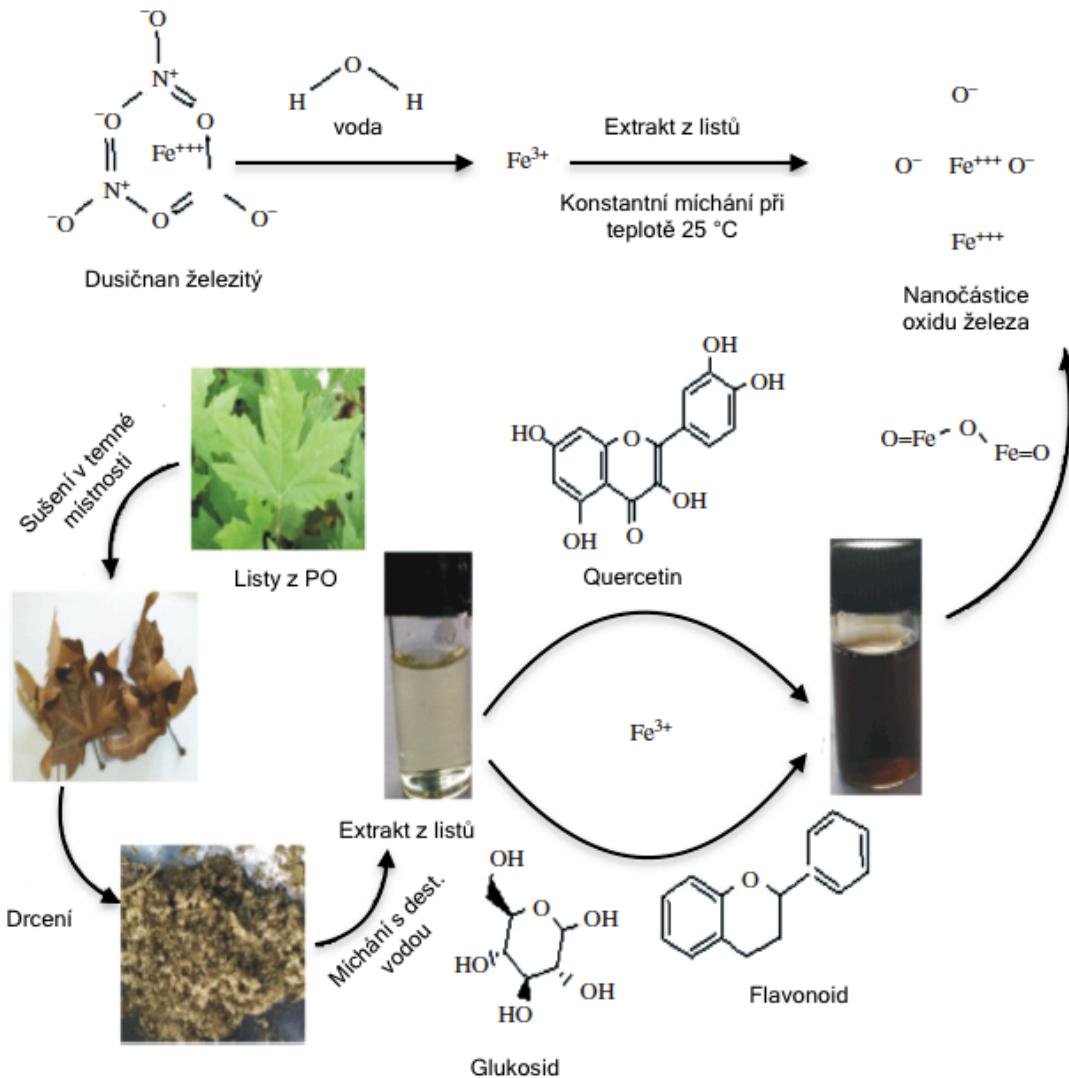
Obrázek 1: Ploché trigonální krystalové formy hematitu [8]

K syntéze nanočástic oxidu železitého použili H. S. Devi et al. [6] listy platanu východního (*Platanus orientalis*). Extrakt byl připraven tak, že do lahvičky naplněné 50 ml destilované vody bylo přidáno 5 g rozmělněných a vysušených listů platanu východního. Za stálého míchání byla celá směs zahřívána při 70 °C po dobu 30 minut. Vychlazený extrakt byl následně zfiltrován pomocí injekčního filtru k

odstranění zbývajících nečistot. Jeden gram $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ byl rozpuštěn v 10 ml rostlinného extraktu a míchán jednu hodinu při 25 °C. Byla pozorována změna barvy roztoku ze světle žluté na červeno-hnědou, což indikovalo formaci oxidu železitého. Dále byla reakční směs dána do centrifugy na 10 min a vymyta dvakrát alkoholem. Výsledný červeno-hnědý produkt byl vysušen při laboratorní teplotě. Nanočástice byly charakterizovány pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM), energiově disperzní rentgenové analýzy (EDX), metody dynamického rozptylu světla (DLS), transmisního elektronového mikroskopu (TEM), rentgenové difrakce (XRD), infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) a ultrafialovo-viditelné spektroskopie (UV-vis). Z DLS bylo zjištěno, že syntetizované nanočástice se pohybují v rozmezí 78 až 80 nm a neobsahují nečistoty. Ve své práci studovali Devi et al. také antimykotickou aktivitu získaných nanočástic na *Mucor piriformis* a *Aspergillus niger* pomocí agarové difúzní metody (obr. 2). Schematicky je použití princip syntézy zachycen na obr. 3.



Obrázek 2: Antimykotická aktivita nanočástic oxidu železitého na *Mucor piriformis* (a) a *Aspergillus niger* (a) dle Devi et. al [6]



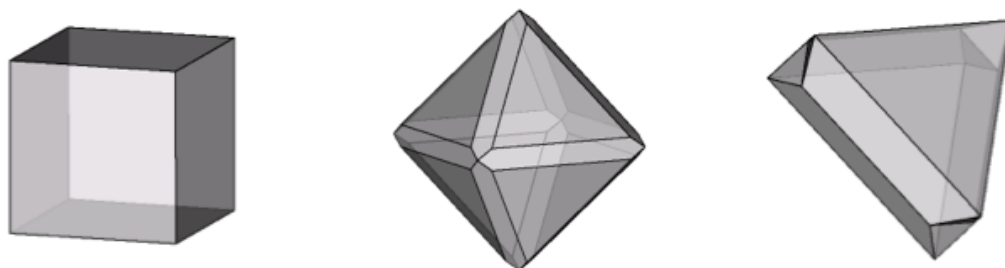
Obrázek 3: Mechanismus syntézy nanočástic oxidu železa pomocí plantanu východního dle Devi et. al [6]

Prasad [7] se také zabýval syntézou nanočástic oxidu železitého. Ve své metodě použil listy česneku révy kvetoucí (*Mansoa alliacea*), které byly umyty demineralizovanou vodou a vysušeny ve stínu. Suché listy byly následně rozdrceny pomocí hmoždíře. Dané množství listů přidal k demineralizované vodě a nechal ohřívát do bodu varu. Další den byl roztok zfiltrován a výsledný extrakt byl uložen pro další užití. K syntéze byl použit 1M roztok $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ a připravený rostlinný extrakt v poměru 2:3. K bio-precipitaci došlo zvýšením pH přidavkem 1M roztoku NaOH. Černé zbarvení roztoku znamenalo tvorbu nanočástic oxidu železitého

redukci dvojmocného železa. Směs byla dále filtrována pomocí Whatmanova filtračního papíru a získaný filtrát byl několikrát důkladně propláchnut demineralizovanou vodou. Následně byl produkt přes noc vysušen pod vakuem. Nanočástice Fe_2O_3 byly charakterizovány pomocí rentgenové difrakce, ultrafialovo-viditelné spektroskopie, infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací a dalších metod. Průměrná velikost krystalických nanočástic $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ je 18,22 nm.

2.1.2 Oxid železnato-železitý Fe_3O_4

Oxid železnato-železitý (magnetit) je magnetický oxid, který má strukturu kubického spinelu (obr. 4). Vyniká svými elektrickými a magnetickými vlastnostmi, které jsou důsledkem přechodu elektronů z Fe^{2+} a Fe^{3+} v oktaedrické struktuře. Magnetické nanočástice mají uplatnění v biomedicínských aplikacích, mimo jiné v buněčné terapii, transportu léčiv a magnetické rezonanci. Díky své specifické ploše a chemické stabilitě nesou nanočástice Fe_3O_4 také funkci katalyzátoru. Vystupují např. v reakci Friedel–Knorr, thiolýze epoxidů, dehydrogenaci ethylbenzenu a syntéze heterocyklů. [9]



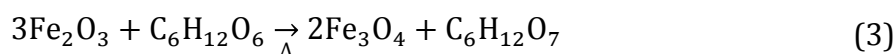
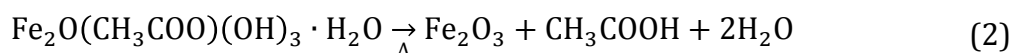
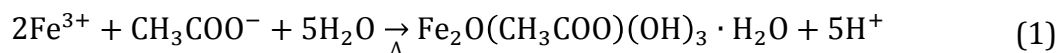
Obrázek 4: Vybrané krystalografické formy magnetitu: vzácná kubická (vpravo), modifikována oktaedrická a forma spinelových dvojčat (vlevo) [10]

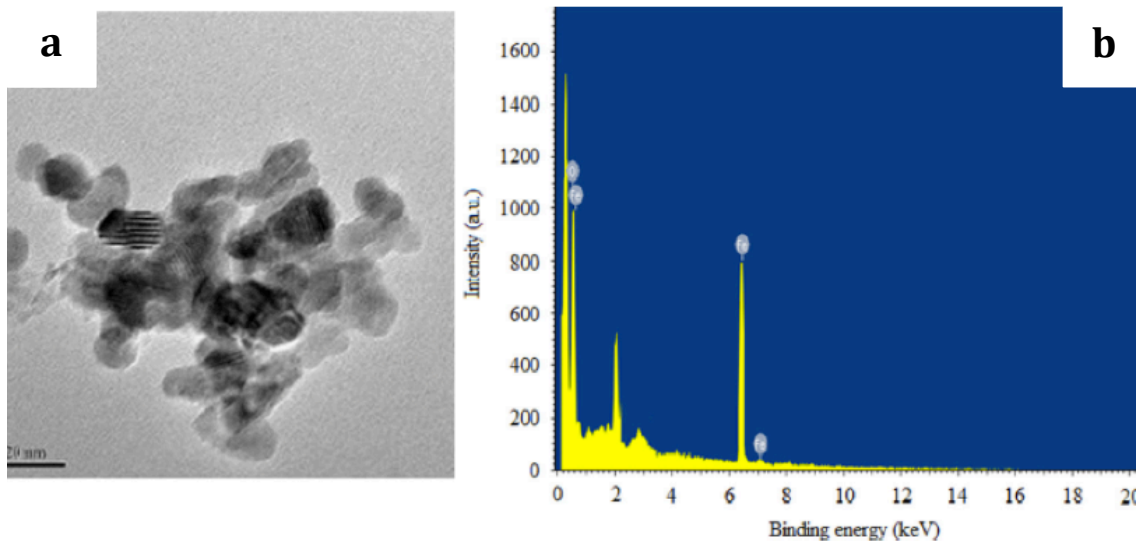
Pro svůj experiment připravili Awwad a Salem [11] magnetické nanočástice Fe_3O_4 pomocí extraktu z listů rohovníku obecného (*Ceratonia siliqua*). Listy byly nasbírány na kampusu Royal Scientific Society v Jordánsku, umyty několikrát

destilovanou vodou a dány uschnout na slunci. K získání extraktu byly suché listy rozdrceny a přidány do 200 ml destilované vody. Roztok byl přiveden k varu na 5 minut. Po vychladnutí byl roztok zfiltrován a následně dán do centrifugy na 1200 rpm na pět minut. Výsledný extrakt byl uložen při laboratorní teplotě na další použití. K syntéze nanočástic byly použity roztoky $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v poměru 1:2, které byly rozpuštěny v 100 ml destilované vody. Roztok byl ohříván při 80°C za konstantního míchání a po deseti minutách bylo přidáno 5 ml připraveného extraktu. Dále bylo do roztoku postupně přidáno 20 ml NaOH. Získané nanočástice Fe_3O_4 byly očištěny destilovanou vodou a centrifugovány. Část nanočástic byla nechána v roztoku a část byla vložena přes noc do sušárny.

S. Venkateswarlu et al. [12] použili ve svém experimentu zrna hřebíčkovce šabrejového (*Syzgium Cumini*). Nasbíraná zrna byla umyta destilovanou vodou, nakrájena a nechána uschnout. Přibližně 10 g namletých zrn bylo rozpuštěno ve 100 ml destilované vody a necháno ohřívát při 70°C . Roztok byl následně zfiltrován a získaný extrakt byl uložen na chladném místě. Nanočástice Fe_3O_4 byly připraveny pomocí $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a CH_3COONa , které byly rozpuštěny ve 40 ml rostlinného extraktu. Směs byla ohřívána po dobu 2 hodin při 65°C a byla sledována změna barvy roztoku na černou, indikující tvorbu nanočástic Fe_3O_4 . Magnetem izolované nanočástice byly umyty etanolem a vysušeny při 90°C přes noc. Nanočástice byly charakterizovány pomocí TEM, FTIR, XRD a Ramanovy spektroskopie. Ze snímků z TEM lze vidět sférický tvar feromagnetických nanočástic (obr. 5).

Následujícími rovnicemi byla popsána formace nanočástic Fe_3O_4 :





Obrázek 5: TEM snímek (a) a EDS analýza nanočástic (b) dle [12]

2.1.3 Oxid měďnatý CuO

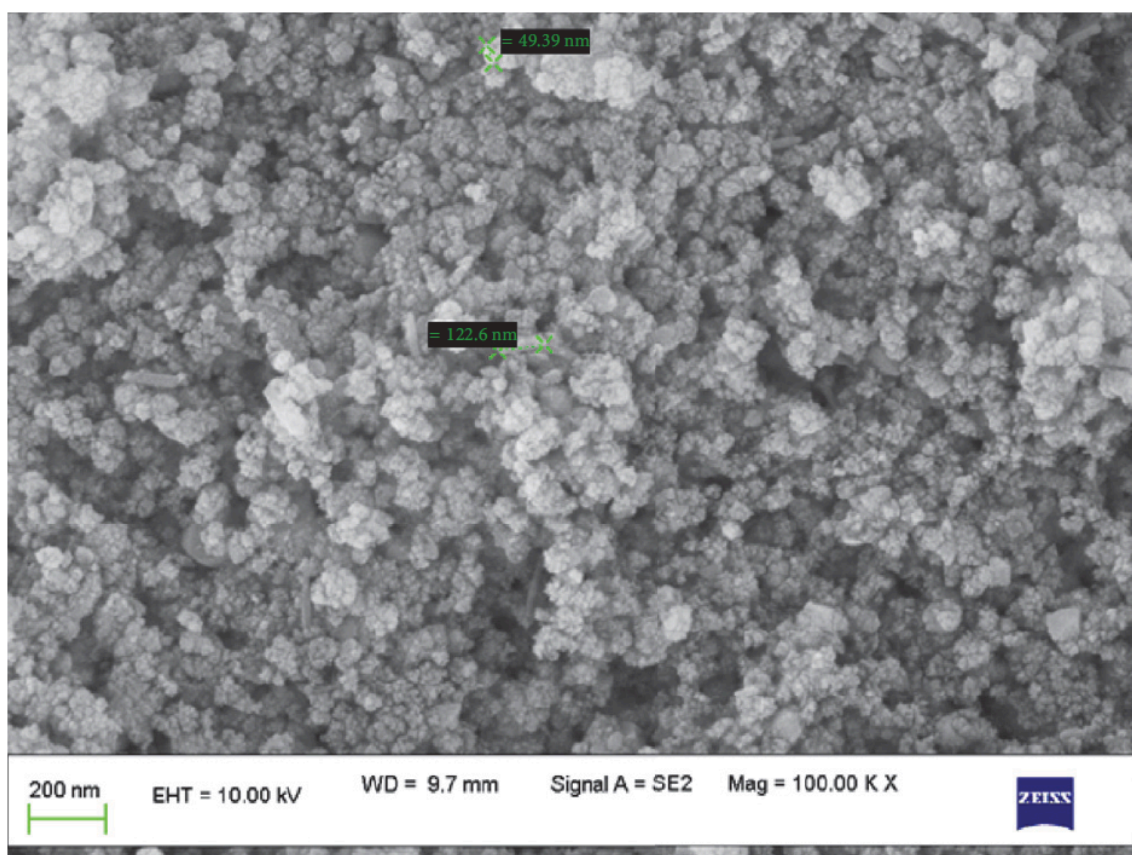
Oxid měďnatý je polovodič typu P a tvoří monoklinickou krystalovou strukturu (obr. 6). Díky své velikosti, specifické ploše a vysoké katalytické aktivitě mají nanočástice CuO řadu aplikací jako supravodiče, katalyzátory, bio-senzory, fotodetektory, baterie a při odstraňování nečistot z odpadních vod. Nacházejí také uplatnění jako antibakteriální činidla, jelikož jsou vysoce stabilní a mají oproti organickým činidlům delší dobu životnosti. [9, 13, 14]



Obrázek 6: Krystalografické formy tenoritu [15]

Prasad et al. [13] použili k přípravě nanočástic CuO extrakt z vysušených listů stromu ashoka (*Saraca indica*). Nasbírané listy byly řádně umyty a nechány uschnout při pokojové teplotě. Suché listy byly rozmělněny na jemný prášek

a extrahovány vodou při 60 °C. Jako prekurzor byl použit roztok $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Směs obsahující extrakt a prekurzor byla ohřívána po dobu jedné hodiny. Rubínové zbarvení roztoku indikovalo formaci CuO nanočástic. Roztok byl míchán další dvě hodiny do tmavě hnědého zbarvení k vytvoření stabilních nanočástic. Na závěr byl roztok zfiltrován, omyt a vložen na šest hodin do sušárny. Nanočástice CuO vyobrazeny na obr. 6, mající sférický tvar a velikost mezi 13–15 nm, byly charakterizovány pomocí SEM (obr. 7), TEM, EDX, FTIR, UV-Vis a dalších metod.



Obrázek 7: Snímek ze SEM nanočástic CuO dle Prasad et. al [13]

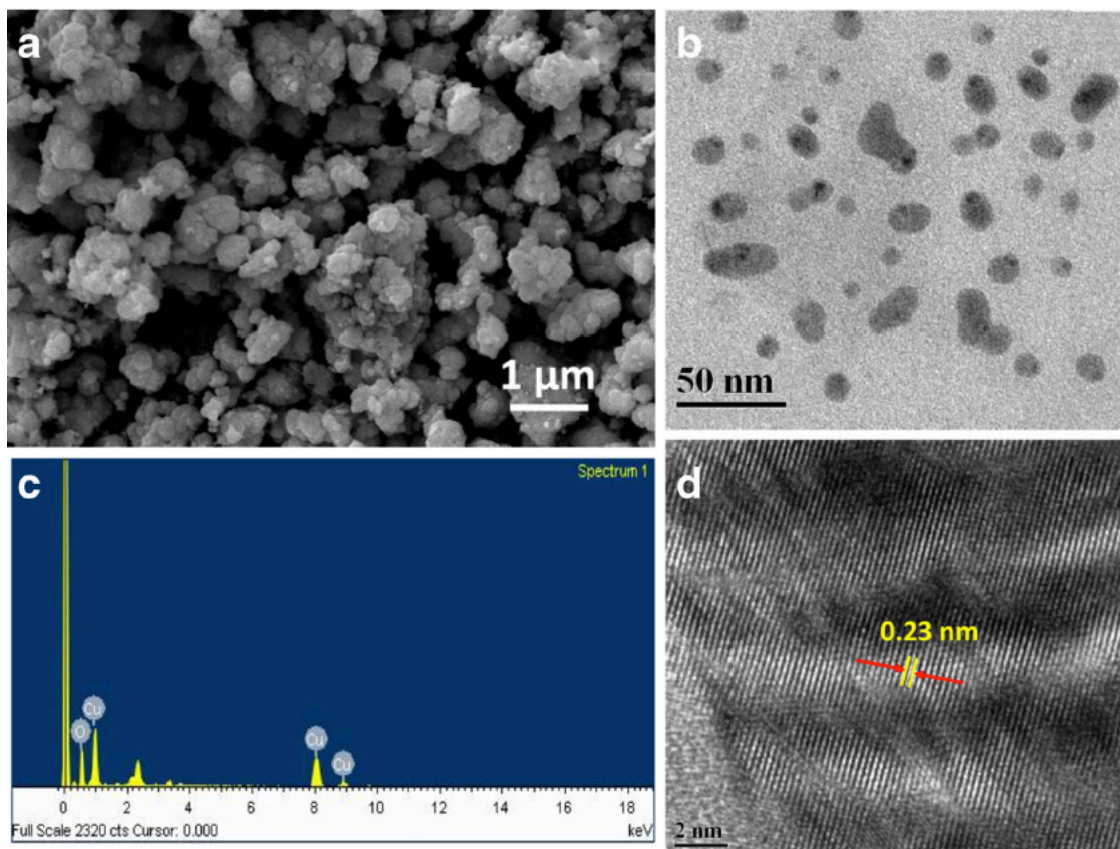
Ve své práci se Kumar et al. [16] zabývali syntézou CuO pomocí extraktu z čerstvých listů a plodů andských malin (*Rubus glaucus*). Nasbírané plody a listy byly řádně umyty vodou a následně ohřívány ve vodě při vyšší teplotě k získání extraktů. Extrakty o různých koncentracích byly zvlášť smíchány s roztokem $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a ohřívány při 75–80 °C po dobu 6 hodin. Získané nanočástice CuO o přibližné velikosti 43 nm (extrakt z plodů) a 53 nm (extrakt z listů) byly

charakterizovány pomocí UV-Vis, DLS, TEM a XRD a také byla hodnocena jejich antioxidační aktivita.

Zelenou syntézou připravili Abboud et al. [17] nanočástice CuO užitím extraktu z hnědých řas (*Bifurcaria bifurcata*). Umyté řasy byly vysušeny přes noc v sušárny a následně byly rozmělněny na prášek. Extrakt byl připraven tak, že 10 g prášku bylo smícháno v 50 ml destilované vody, směs byla přivedena k varu a poté byla zfiltrována. Za konstantního míchání byl extrakt přidán do roztoku síranu měďnatého a udržován při teplotě okolo 100 °C několik hodin. Roztok byl míchán dalších 24 hodin do tmavě hnědého zbarvení a poté byl několikrát odstředěn. U syntetizovaných nanočástic, jejichž velikost se pohybovala mezi 5 a 45 nm, byla vyhodnocena antibakteriální aktivita.

Duman et al. [18] syntetizovali nanočástice CuO extraktem z heřmánku pravého (*Matricaria chamomilla*) a studovali jejich antioxidační aktivitu. Květy byly nasbírány, umyty vodou a usušeny. Poté bylo 10 g rozemletých květů přidáno do 100 ml vody, necháno vařit a následně byl získán filtrát. Extrakt byl smíchán s roztokem $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a vložen do mikrovlnné trouby na 7 minut. Červeno-hnědý zbarvený roztok byl dán do centrifugy na 10 min k oddělení nanočástic, které byly následně několikrát omyty. Získané nanočástice o velikosti 140 nm byly charakterizovány pomocí XRD, SEM, FTIR, EDX a další.

Biosyntézu CuO nanočástic provedli Kumar et al. [19] využitím extraktu z listů aloe pravé (*Aloe vera*). Listy byly řádně umyty, usušeny a následně jemně rozemlety. K přípravě extraktu bylo 5 g listů přidáno do 100 ml vody a dáno ohřívat. Po vychladnutí byla směs přefiltrována a byl získán extrakt. Rostlinný extrakt byl přidán do roztoku dusičnanu měďnatého za konstantního míchání při teplotě 100–120 °C. Roztok byl intenzivně míchán dalších 24 hodin. Tmavě červený roztok byl vložen do centrifugy na 10 minut. Odstředěné nanočástice byly usušeny na hodinovém skle a následně rozdrceny k další charakterizaci. Z rentgenové difrakce a snímků z TEM (obr. 8) se ukázalo, že nanočástice mají monoklinickou krystalovou strukturu a jejich průměrná velikost je 20 nm.



Obrázek 8: Nanočástic CuO ze SEM (a), TEM (b), EDX (c) a HRTEM (d) dle Kumar et. al [19]

Sutradhar et al. [20] syntetizovali nanočástice CuO pomocí extraktů z čajových listů a prášku z kávových zrn. Extrakt byl připraven tak, že 20 g rozemletých čajových listů a kávových zrn bylo zvláště přidáno k 200 ml vody a ohříváno po dobu 3 hodin. Po vychlazení byly roztoky dány do centrifugy a zfiltróvány. K urychlení reakce roztoku dusičnanu měďnatého s extraktem byl použit mikrovlnný ohřev při 540 W. Po několika minutách ohřevu byl získán tmavě hnědý produkt, který byl odstředěn, filtrován a dán do sušárny na 4–5 hodin. Výsledné nanočástice vykazovaly skvělou antibakteriální aktivitu vůči *S. dysenteriae 1* a *Vibrio cholerae* non-0139.

Biogenní syntézu nanočástic CuO provedli také Maruthupandy et al. [21] užitím listů kamélie japonské (*Camellia japonica*). Suché listy byly umyty vodou, nakrájeny na malé kousky a dány ohřívat ve 100 ml vody. Extrakt byl získán následnou filtrací směsi. K ohřivanému extraktu bylo přidáno 10 g $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ za konstantního míchání. Po chvíli vaření byl získán černě zbarvený gel, který byl vložen do sušárny při 400°C. Získaný prášek tvořily nanočástic CuO o průměrné velikosti 17 nm, které byly v práci použity pro optické snímání iontů Ag^+ a Li^+ . Nanočástice byly charakterizovány pomocí SEM, TEM, EDX, FTIR a XRD.

2.1.4 Oxid zinečnatý ZnO

Oxid zinečnatý je polovodičem typu N. Díky svým elektrickým a optickým vlastnostem nachází uplatnění v solárních panelech, světlo emitujících diodách, senzorech a katalyzátorech. Nanočástice ZnO mají také uplatnění v biomedicínských aplikacích jako antimikrobiální činidla. [9]

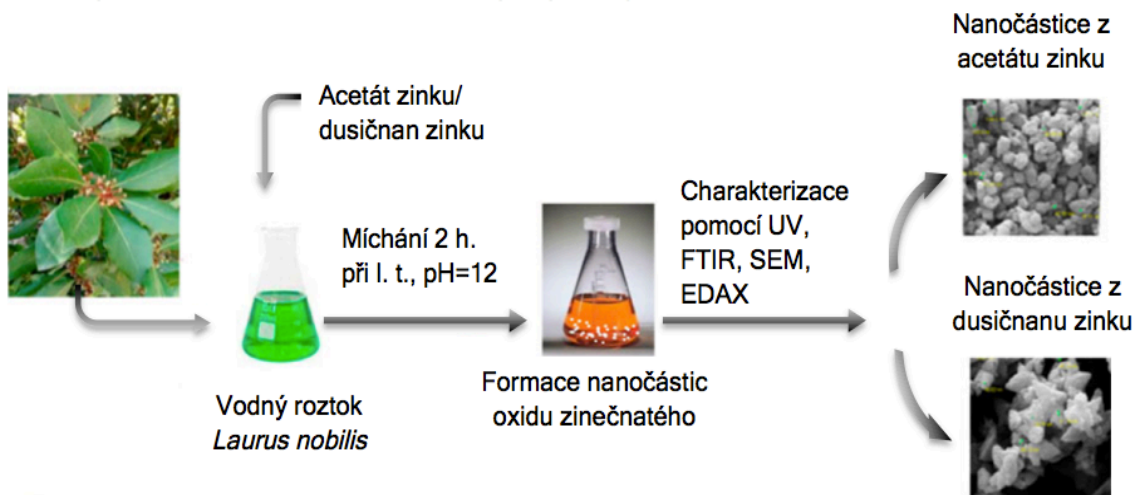
Sangeetha et al. [22] použili ve svém experimentu extrakt z aloe pravé (*Aloe barbadensis*). Extrakt z Aloe vera byl připraven dvěma různými způsoby. Prvním způsobem bylo nejprve 250 g listů nakrájeno a vařeno v destilované vodě. Výsledný produkt byl rozemlet, znovu vařen a následně filtrován. V druhém způsobu byla vytvořena pasta z vnitřní gelové části listů aloe přidáním dostatečného množství destilované vody. Následnou filtrací byl získán extrakt. K syntéze nanočástic o různých velikostech byly použity dvě metody. V první metodě (chemické) byl dusičnan zinečnatý rozpuštěn v destilované vodě za konstantního míchání a následně byl po kapkách přidáván roztok hydroxidu sodného do výchozího roztoku. Po skončení reakce byl roztok přes noc uložen a další den byla odstraněna kapalina nad usazeninou. Získaná bílá sraženina byla důkladně promyta destilovanou vodou, vložena do centrifugy při 3000 rpm na 10 minut a dána do sušárny na 80°C na 6 hodin. V druhé syntéze (biologické) byly použity připravené extrakty o různých koncentracích. Za konstantního míchání byl dusičnan zinečnatý rozpuštěn v extraktu. Po úplném rozpuštění byl roztok intenzivně míchán po dobu

5–6 hodin při 150°C. Roztok byl poté nechán vychladnout a kapalina byla odstraněna. Výsledná bílá sraženina byla dvakrát centrifugována na 15 minut, poté byla promyta a vložena do sušárny na 80°C na 7–8 hodin. Získaný produkt byl rozmělněn na prášek a uložen pro další analýzy. Velikost nanočástic ZnO charakterizované pomocí UV-Vis, FTIR, SEM a TEM se pohybovala v rozmezí 25–40 nm.

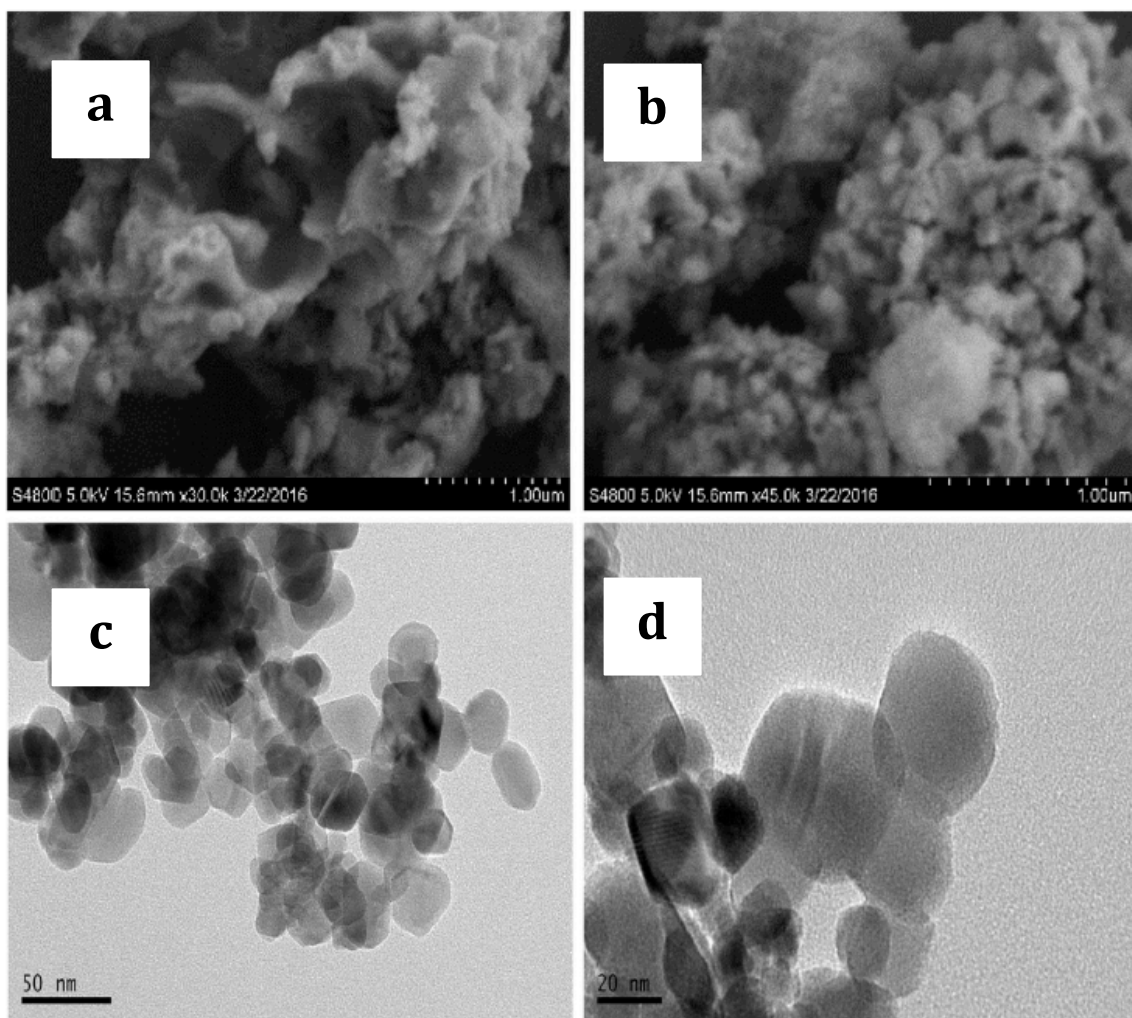
Nagajyothi et al. [23] připravili biogenní syntézou nanočástice ZnO pomocí extraktu z plodů citronečníku trojlistého (*Poncirus trifoliata*) podle Sangeetha et al. [12]. Vysušené plody byly nakrájeny na menší kousky a rozmixovány ve 250 ml destilované vodě. Do vzniklého extraktu byl přidán dusičnan zinečnatý za konstantního míchání a po úplném rozpuštění byl roztok míchán při 150°C dalších pět hodin. Poté byl roztok nechán vychladnout a kapalina nad usazeninou byla odstraněna. Nazelenalá bílá sraženina byla dvakrát centrifugována při 4500 rpm na 15 minut, následně byla umyta a vložena do sušárny na 80°C na 7–8 hodin. U získaných nanočástic o průměrné velikosti 21 nm byla studována jejich katalytická aktivita.

Nanočástice ZnO připravili dle schematického postupu na obr. 9 Fakhari et al. [24] užitím listů z vavřínu (*Laurus nobilis*). Jako první bylo 20 g suchých listů přidáno do 200 ml vody a ohříváno po dobu 10 minut. Směs byla zfiltrována a výsledný filtrát tvořil extrakt, který bylo vložen do centrifugy k odstranění rostlinných zbytků. Roztok 0,05M Zn(NO₃)₂·6H₂O a extrakt byly míchány dvě hodiny při laboratorní teplotě. K dosažení pH 12 byl poté po kapkách přidáván roztok NaOH. Roztok byl míchán další hodinu dokud se nevytvořila nažloutlá pevná látka, která byla několikrát promyta destilovanou vodou a následně centrifugována. Výsledný produkt byl přes noc vložen do sušárny na 60°C. Syntetizované nanočástice tvořily krystalky o velikosti 25 nm.

Maruthupandy et al. [21] provedli také syntézu nanočástic ZnO užitím listů kamélie japonské (*Camellia japonica*). K syntéze byl zvolen stejný postup přípravy jako u výše uvedené syntézy nanočástic CuO. Výsledné nanočástice byly charakterizovány mimo jiné pomocí SEM a TEM (obr. 10).



Obrázek 9: Syntéza nanočástic ZnO pomocí acetátu a dusičnanu z extraktu *Laurus nobilis* dle Fakhari et. al [24]



Obrázek 10: Snímky ZnO ze SEM (a,b) a TEM (c,d) dle Maruthupandy et. al. [21]

2.1.5 Oxid bismutitý Bi_2O_3

Oxid bismutitý, který se vykytuje v šesti různých krystalových strukturách, je polovodičem typu P. Při pokojové teplotě je přítomen v monoklinické α -fázi a za vyšší teploty může přecházet v kubickou δ -fázi. Díky skvělé fotovodivosti, úzkému zakázanému pásu (1,3–1,7 eV) a velkému indexu lomu, má oxid bismutitý řadu využití jako senzor, fotokatalyzátor, supravodič a další. [25, 26]

Ve své práci připravili La et al. [26] nanočástice Bi_2O_3 metodou samovznícení. Nejdříve byly rozpuštěny $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ v 10 ml HNO_3 . Poté byl přidán PEG-20000 a roztok byl intenzivně míchán po dobu pěti minut. Vzniklý průhledný roztok byl ohříván při 300°C dvě hodiny. Výsledný produkt tvořil žlutě zbarvený prášek Bi_2O_3 . Nanočástice Bi_2O_3 byly charakterizovány pomocí SEM, TEM, XRD a EDX.

Ramachandran et al. [27] uvádí ve své publikaci syntézu nanočástic Bi_2O_3 metodou samovznícení a studium fotokatalytické aktivity nanočástic při degradaci organických barviv. Ve zředěném roztoku kyseliny dusičné byl rozpuštěn dusičnan bismutitý a za konstantního míchání byla přidávána močovina po dobu třiceti minut. K odpaření vody byl výsledný průhledný roztok ohříván při 150°C . Zbylý bílý gel byl vložen do pece předehřátou na 550°C , v níž došlo k samovznícení gelu díky přítomné močovině. Reakcí vznikl žlutý prášek, který byl vložen do vakuové pece na 550°C na 2 hodiny. Získaný prášek byl rozmělněn a uložen na další použití. Nanočástice oxidu bismutitého, které se vyskytovaly v α - a β -fázi, vykazovaly fotokatalytickou aktivitu při degradaci azobarviva.

2.2 Zelená syntéza

V posledních letech byly vyvinuty nové šetrné metody syntézy oxidických nanočástic pomocí rostlinných extraktů. Použití rostlin se ukázalo jako finančně výhodné, jelikož lze extrakty připravit nejen z plodů, ale také z listů, stonků a slupek, které jsou součástí bio odpadu. Mezi další výhody použití rostlin patří to, že jsou dostupné, extrakty nevyžadují speciální podmínky skladování, jsou stabilní vůči změnám prostředí (např. změna teploty a pH) a představují menší riziko kontaminace. [1, 9]

Při syntézách se většinou používají suché rostliny, které se namelou pro zvětšení povrchu. Následně je extrakce provedena pomocí polárního či nepolárního rozpouštědla podle toho, které látky chceme extrahovat. Rostliny obsahují mnoho různých sloučenin s hydroxylovými a karboxylovými funkčními skupinami, které slouží jako redukční a současně stabilizační činidla (fenoly, terpenoidy). [9]

2.2.1 Složky rostlinných extraktů

Důležitou roli při biogenní syntéze nanočástic o určité velikosti hraje mimo jiné složení a koncentrace rostlinných extraktů. Studium chemického složení rostlin a jejich extraktů lze tedy lépe pochopit děje, které se odehrávají během syntézy.

Jednou z nejrozšířenějších skupin sekundárních metabolitů rostlin jsou fenolické sloučeniny, které se dělí na jednoduché fenoly a polyfenoly. Mezi jednoduché fenoly řadíme kyseliny hydroxybenzoové (např. gallová, vanilinová, protokatechová), hydroxyskořicové (např. kávová, ferulová) a kumariny. Polyfenoly tvoří flavonoidy (např. katechin, quercetin, delphinidin, kyanidin), třísloviny (např. gallotaniny, prokyanidiny), lignany a stilbeny. Polyfenoly dodávají rostlinám barvu, chuť a vůni a jejich koncentrace závisí na druhu, místu výskytu, vegetačním obdobím a způsobu skladování rostliny. [28, 29]

Třísloviny jsou přírodní, netoxické a biodegradabilní polyfenolické sloučeniny, které se v hojném množství vykytují v listech, plodech, dřevě a kůrách rostlin a podílí se na obraně proti plísním a patogenům. Molekuly tříslovin obsahují

mnoho hydroxylových skupin, které jim umožňují tvořit cheláty (komplexy) s kationty kovů. Kationty se vážou na polyfenoly přes *o*-dihydroxy či trihydroxy benzenové skupiny. [30]

Černý čaj (*Camellia sinensis*)

V černém čaji jsou dle Yashina et. al [31] přítomny katechiny, theaflaviny, flavonoly (quercetin), pigmenty (karotenoidy, chlorofyl), vitamíny (C, riboflavin, tocoferol), kationty (K^+ , Na^+ , Ca^+ , Mg^+ , Al^{3+}), kovy (např. Fe, Zn, Cu), aminokyseliny, cukry (glukóza, fruktóza, sacharóza), alkaloidy a další. Celkové množství polyfenolů se pohybuje v rozmezí 80,5–106,2 mg/g, z toho je celkové množství katechinů v intervalu 5,6–47,5 mg/g.

V další studii byl popsán vliv teploty rozpouštědla na extrakci katechinů a kofeinu. Celkové množství extrahovaných fenolů, katechinů a kofeinu se zvyšovalo se zvyšující se teplotou. Typ rozpouštědla měl na extrakci také vliv. Čaj byl extrahován pomocí vařící vody, 80% methanolu a 70% ethanolu. Nejlépe byly z čaje extrahovány katechiny a kofein pomocí vařící vody po dobu pěti minut. [32]

Jablka (*Malus sylvestris*)

Wojdyło et. al [33] uvádí, že jablka mají celkový obsah polyfenolů mezi 5230–27240 mg/kg (suché hmotnosti), z čehož 80–1660 mg/kg tvoří flavonoly, 10–551 mg/kg antokyany (přítomné ve slupce), 4622–25480 mg/kg prokyanidiny a 50–3000 mg/kg hydroxyskořicové kyseliny. Prokyanidiny tedy tvoří více než 80 % všech polyfenolů v jablkách. Nejméně zastoupenou skupinou polyfenolů v jablkách jsou flavonoly.

Černý bez (*Sambucus nigra*)

V své práci zkoumal Vulic et. al [34] chemické složení černého bezu srbského původu. Zkoumané plody obsahovaly vysoké množství proteinů a byla potvrzena přítomnost sedm esenciálních aminokyselin. Studie také prokázala přítomnost

vysokého množství antokyanů (863,89 mg/l), vitamínu C (34,1 mg/100 g), minerálů a pektinu (0,23 %). Minerály jsou přítomné ve formě organických či anorganických solí nebo ve formě komplexů. Ukázalo se, že největší zastoupení má draslík (391,33 mg/100 g). V menší míře byly přítomny fosfor (54 mg/100 g), vápník (28,06 mg/100 g), hořčík (25,99 mg/100 g) a stopy zinku, železa a mědi.

Rýmovník citrónový (*Plectranthus amboinicus*)

Vodný extrakt z listů rýmovníku citrónového obsahuje dle Asiimwe et. al. [35] saponiny, pektiny, steroidní glykosidy a v menší míře také flavonoidy a třísloviny. Mezi hlavní složky, které se podařilo izolovat z vodného extraktu, patří linalool (50,3 %), acetát nerolu (11.6), acetát geranylu (11.7 %) a karvakrol (14.34).

V další studii dle Bhatt et. al [36] bylo v extraktu rýmovníku citrónového přítomno mnoho antioxidantních sloučenin. Studie prokázala přítomnost fenolů (49,91 mg GAE¹ /g extraktu), flavonoidů (26,6 mg RE² /g extraktu) a proantokyanidinů (0,7 mg TAE³/g extraktu). Bioaktivní molekuly extraktu tvořily 6,16 mg/g kyseliny rozmarýnové, 0,77 mg/g kyseliny kávové, 0,324 mg/g rutinu, 0,260 mg/g kyseliny gallové, 0,15 mg/g quercetinu a 0,104 mg/g kyseliny kumarové.

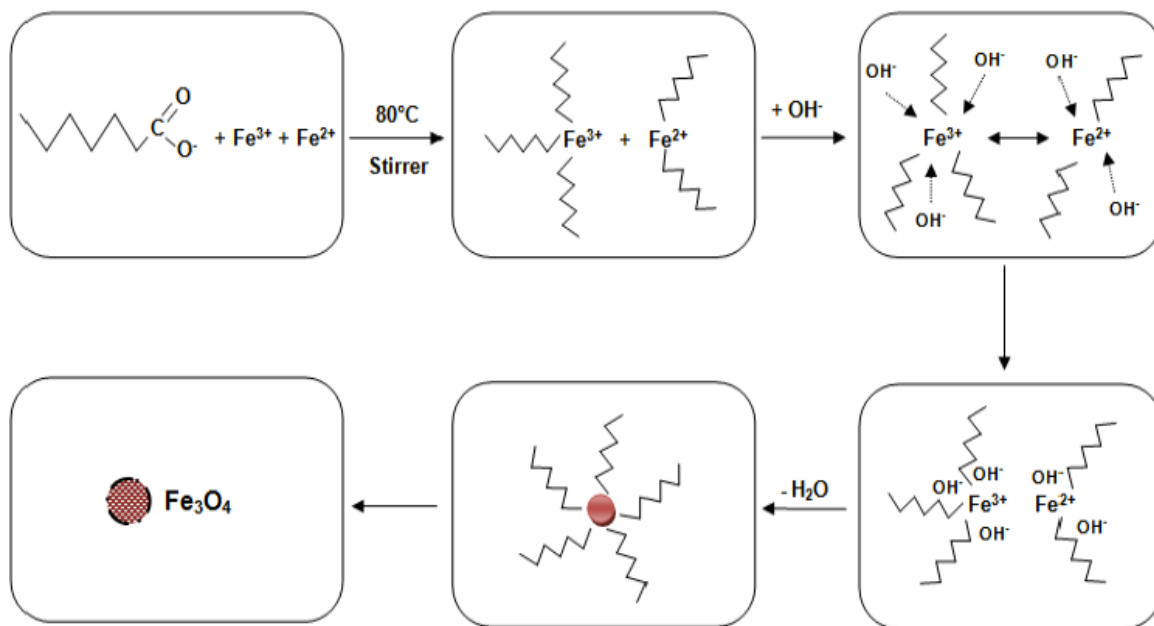
2.2.2 Mechanismus reakce

Ve své studii navrhli Awwad a Salem et. al [11] možný mechanismus formace magnetických nanočástic pomocí zelené syntézy (**Obrázek 11**). Ve vodném roztoku došlo k chelaci iontů Fe³⁺ a Fe²⁺ karboxylovými skupinami přítomnými v extraktu a navázáním proteinového řetězce. Po adici NaOH došlo k tvorbě hydroxidů Fe(OH)₂ a Fe(OH)₃, které vytvářely core-shell strukturu, kde hydroxidy tvořily jádro a látky přítomné v extraktu obal. Po dehydrataci hydroxidů vznikly magnetické nanočástice, které byly stabilizovány proteinovými řetězci.

¹ GAE = ekvivalent kyseliny gallové

² RE = ekvivalent rutinu

³ TAE = ekvivalent kyseliny tříslové



Obrázek 11: Schematická ilustrace mechanismu tvorby magnetických nanočástic dle Awwad a Salem et. al [11]

V další studii byl navržen mechanismus tvorby nanočástic ve formě komplexů železo–polyphenol pomocí eukalyptu. Polyfenoly obsažené v extraktu umožňují redukovat trojmocné železo na dvojmocné, které však není již dále redukováno na nulmocné. Dvojmocné železo je stabilizováno díky polyfenolovým ligandům, ale dokáže v přítomnosti kyslíku rychle oxidovat na trojmocné, které vytváří další komplexy s polyfenoly. Tento jev se nazývá autooxidace. Při reakci roztoku železa s rostlinným extraktem vzniká černý koloid (nanoželezo). [5]

3 Praktická část

3.1 Použité chemikálie

Dusičnan zinečnatý $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ od firmy Lachema s min. obsahem dusičnanu 98 %, dusičnan železitý $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ od firmy Penta s min. obsahem 98 %, dusičnan měďnatý $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ od Funchem, pyrogallol p.a. $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$ od LOBA Feinchemie, glukóza $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ byla poskytnuta ze skladu chemikálií na KCH FP TUL, kyselina askorbová $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ od firmy Lach-Ner, kyselina třísllová $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$ od Lachema.

Pro biogenní syntézu oxidických nanočástic byly použity rostlinné extrakty ze suchých plodů černého bezu (*Sambucus nigra*) zakoupeny u Léčivé rostliny Havlič, z nasbíraných jablek z jabloně lesní (*Malus sylvestris*), ze zakoupeného černého čaje (*Camellia sinensis*) od značky Jemča a nasbíraných listů rýmovníku citronového (*Plectranthus amboinicus*).

3.2 Použité přístroje

Analytické váhy, vařič, sušárna, UHR FE-SEM ZEISS Ultra Plus skenovací elektronový mikroskop

3.3 Příprava extraktů

K přípravě extraktu z černého bezu (*Sambucus nigra*) bylo v 500ml kádince naváženo přibližně 15 g suchých plodů a přidáno 400 ml destilované vody. Směs byla ohřívána na plotýnce po dobu několika minut. Poté byla kádinka překryta hodinovým sklem a vložena do sušárny na 80 °C do druhého dne. Další den byla kádinka vyjmuta ze sušárny a nechána vychladnout. Následně byla směs přefiltrována pomocí Büchnerovy nálevky a Whatmanova filtračního papíru. Výsledný extrakt byl uložen pro další použití.

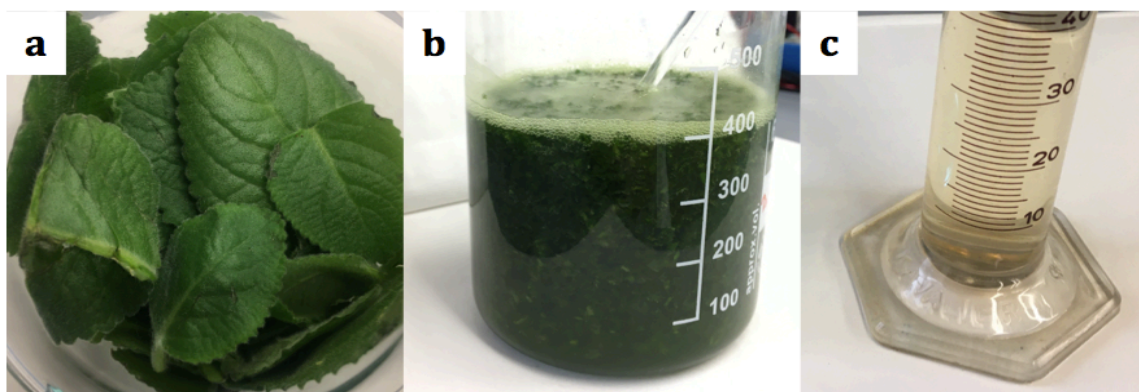
Čerstvá jablka nasbíraná z jabloně lesní (*Malus sylvestris*) byla nakrájena na malé kousky, které byly nechány vyschnout. Suchá jablka byla následně rozemleta na ještě menší kousky a 15 g bylo přidáno do kádinky s 400 ml destilované vody. Kádinka byla vložena do sušárny na 80 °C do dalšího dne. Směs byla přefiltrována pomocí Büchnerovy nálevky a Whatmanova filtračního papíru. Získaný červeně zbarvený extrakt (obr. 12) byl uložen do lednice na další použití.



Obrázek 12: Jablka v procesu přípravy extraktu, květy jabloně (a), suchá nakrájená jablka (b), výsledný extrakt z jablek (c)

Extrakt z černého čaje (*Camellia sinensis*) byl připraven tak, že 10 čajových pytlíčků, každý o hmotnosti 1,5 g, bylo přidáno do 400 ml destilované vody. Kádinka se směsí byla překryta hodinovým sklem a vložena do sušárny na 80 °C přes noc. Druhý den byla koncentrovaná směs přefiltrována pomocí Büchnerovy nálevky a Whatmanova filtračního papíru. Hnědo-červeně zbarvený extrakt byl uložen pro následnou syntézu nanočástic.

Nasbírané listy rýmovníku citronového (*Plectranthus amboinicus*) byly nejprve umyty destilovanou vodou a osušeny. Přibližně 93 g čerstvých listů bylo rozmixováno a přidáno do kádinky s 300 ml destilované vody. Směs byla ohřívána po dobu 10 minut na plotýnce. Následně byla směs přefiltrována na Büchnerově nálevce. Filtrační papír byl několikrát během filtrace měněn kvůli rychlému ucpávání. Získaný nažloutlý extrakt (obr. 13) byl uložen do lednice na další použití.

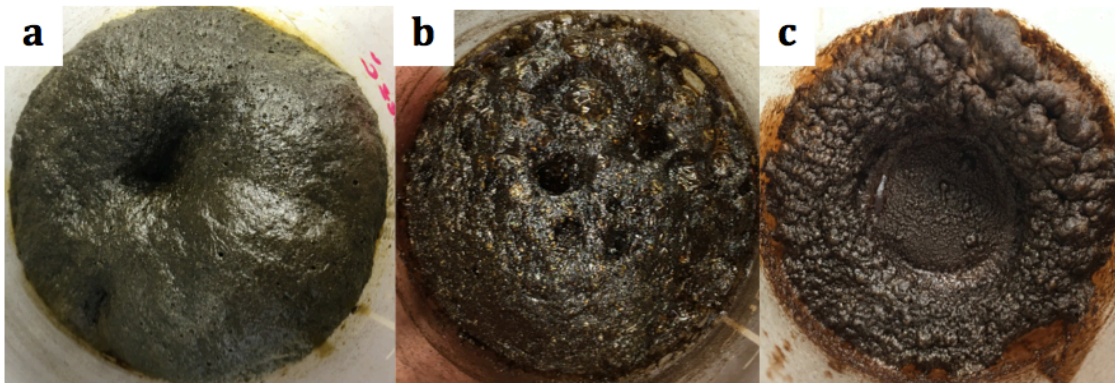


Obrázek 13: Příprava extraktu z čerstvých listů rýmovníku citronového (a), listy po rozmixování (b), výsledný extrakt (c)

3.4 Vlastní syntéza nanočástic

3.4.1 Černý bez

V 250ml kádince byl navážen přibližně 1 g příslušného dusičnanu, který byl rozpuštěn v 10 ml destilované vody. Po úplném rozpuštění bylo do roztoku přidáno 60 ml připraveného extraktu. Po přidání extraktu byla již při laboratorní teplotě pozorována tvorba a aglomerace částic. Následně byly kádinky přemístěny na plotýnku, kde byly roztoky za stálého míchání po dobu jedné hodiny ohřívány. Při přípravě bylo také 60 ml extraktu ohříváno spolu s roztoky k zjištění množství sušiny v produktech. Po odpaření většiny vody byly roztoky a extrakt vloženy do sušárny na 100 °C přes noc. Po sušení byly získány nadýchané produkty ve formě pěny (obr. 14), které bylo možné pomocí skleněné tyčinky rozmělnit na prášek.



Obrázek 14: Produkty po sušení použitím extraktu z černého bezu s dusičnanem měďnatým (a), železitým (b) a zinečnatým (c)

Následně byly sušiny přemístěny do keramických kelímků pro pálení v peci. První teplota pálení byla nastavena na 200 °C a držena byla 30 minut. Teplota byla dále zvýšena na 400 °C s držením také po dobu půl hodiny. Poslední teplota byla nastavena na 650 °C a držena ještě 1 hodinu. Vypálené produkty tvořily oxidy železa (červenohnědý prášek), zinku (bílý prášek) a mědi (černý prášek). Prášek z oxidů železa projevoval magnetické vlastnosti.

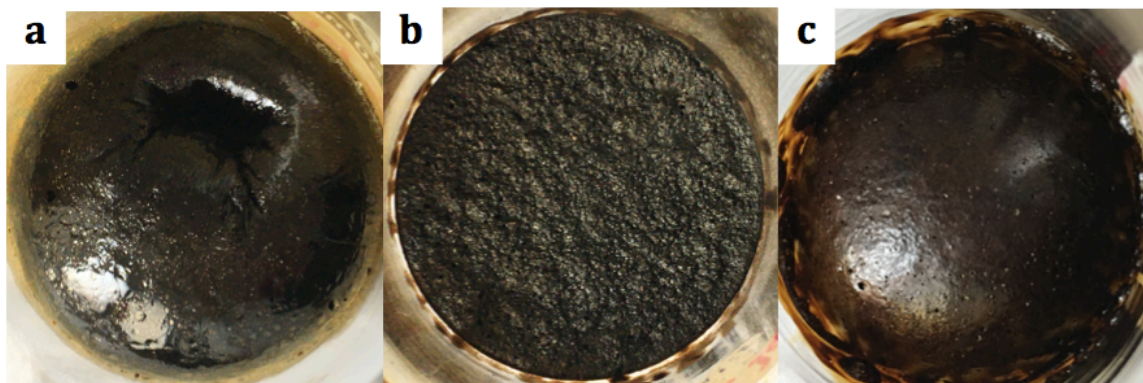
3.4.2 Jablka

V tomto experimentu bylo použito ekvimolární množství kationtů obsažených v dusičnanů, což odpovídá 1,672 g nonahydrátu dusičnanu železitého, 1,23 g hexahydrátu dusičnanu zinečnatého a 1 g trihydrátu dusičnanu měďnatého. Do tří kádinek bylo naváženo vypočítané množství daných dusičnanů, které bylo rozpuštěno v 10 ml destilované vody. Do roztoku bylo přidáno 60 ml extraktu z jablek a kádinky byly přemístěny na plotýnku (obr. 15). Ihned po smíchání se roztok s dusičnanem železitým zbarvil ze světlé do tmavě hnědé barvy a po chvilce ohřívání byla pozorovatelná tvorba částic. Roztok s dusičnanem



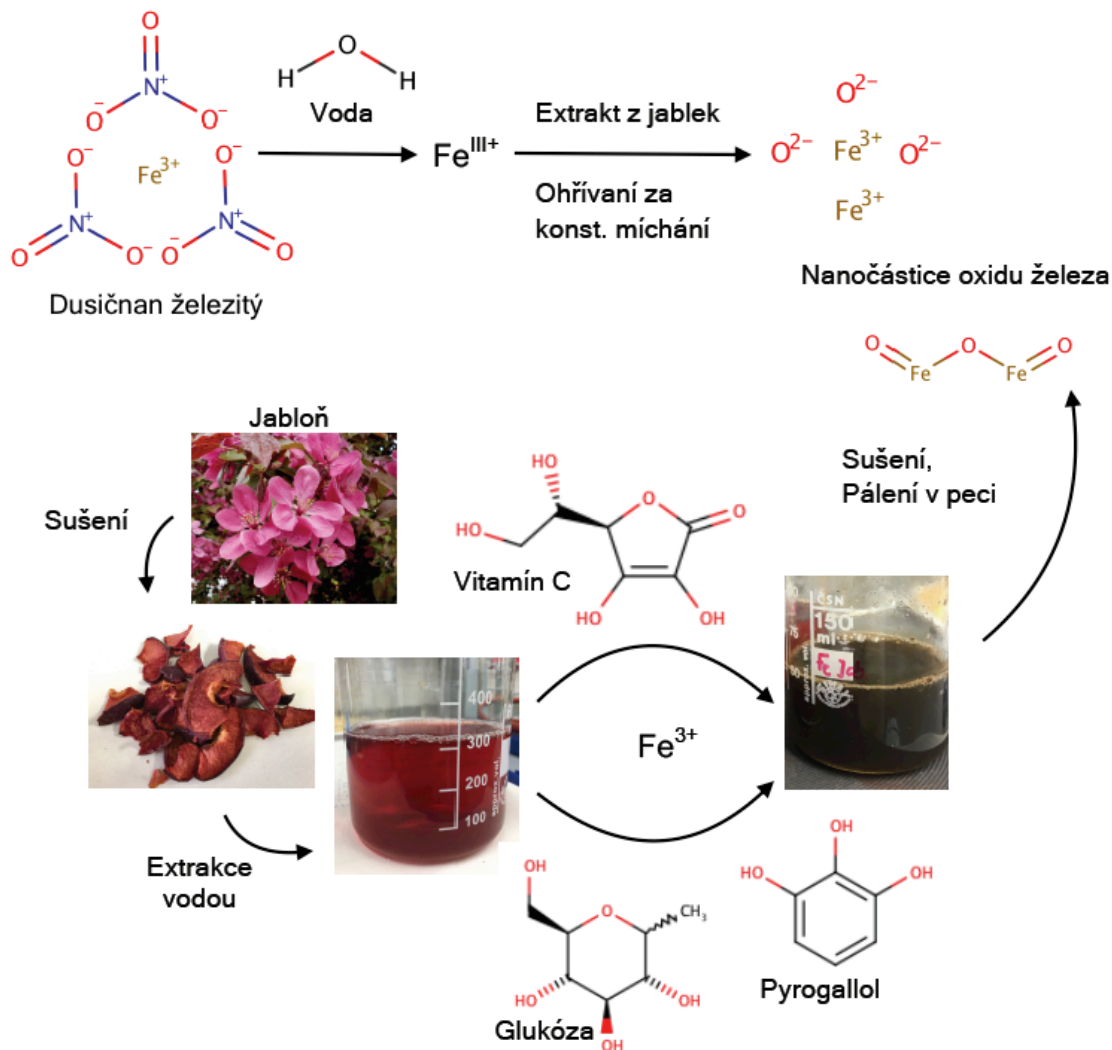
Obrázek 15: Ohřívání roztoků dusičnanů s jablečným extraktem

měďnatým se zbarvil z modrozelené do tmavě hnědé a po ohřívání zůstal čirý. Naopak po adici extraktu u roztoku s dusičnanem zinečnatým nebyla pozorována výrazná změna. Po vypaření většiny vody byly kádinky přemístěny do sušárny na 100 °C do dalšího dne. Nadýchané produkty s obsahem iontů mědi a zinku tvořily v tomto případě lesklou krustu (obr. 16). Naopak u sušiny s obsahem iontů železa nedošlo k nadýchání.



Obrázek 16: Produkty po sušení použitím extraktu z jablek s dusičnanem měďnatým (a), železitým (b) a zinečnatým (c)

Sušiny byly upraveny na prášek a přemístěny do keramických kelímků. Posledním krokem v syntéze nanočástic bylo pálení produktů v peci při teplotě 200 °C, 400 °C a 650 °C. První nastavená teplota byla držena po dobu 30 minut. Teplota byla dále zvýšena na 400 °C s držením také po dobu půl hodiny. Nejvyšší teplota byla držena ještě 1 hodinu. Vypálené produkty tvořili oxidy železa, zinku a mědi. Celé schéma postupu je uvedeno na obr. 17.

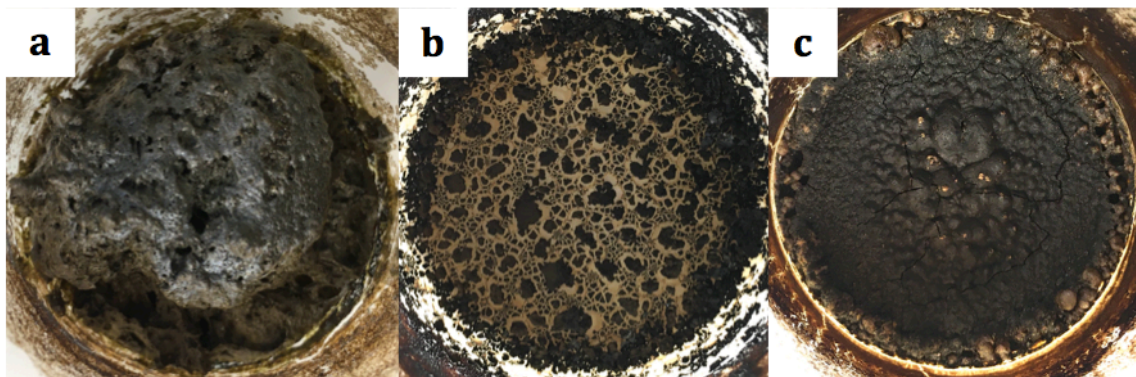


Obrázek 17: Schéma syntéza nanočástic oxidu železa pomocí extraktu z jablek

3.4.3 Černý čaj

K přípravě nanočástic pomocí extraktu z černého čaje bylo použito 1,683 g nonahydrátu dusičnanu železitého, 1,236 g hexahydrátu dusičnanu zinečnatého a 1 g trihydrátu dusičnanu měďnatého. Dusičnany byly rozpuštěny v 10 ml destilované vody. K roztokům bylo při laboratorní teplotě přidáno 60 ml připraveného extraktu. Okamžitě byla pozorována výrazná změna zbarvení roztoků a tvorba částic. Kádinky s roztoky byly vloženy do sušárny na 100 °C do dalšího dne. Po sušení vznikl z dusičnanu měďnatého nadýchaný produkt ve formě

pěny (obr. 18a). Produkt z dusičnanu železitého tvořil nejednotnou průsvitnou vrstvu se shluky částic (obr. 18b) a z dusičnanu zinečnatého tvořil silnější méně nadýchanou vrstvu (obr. 18c).

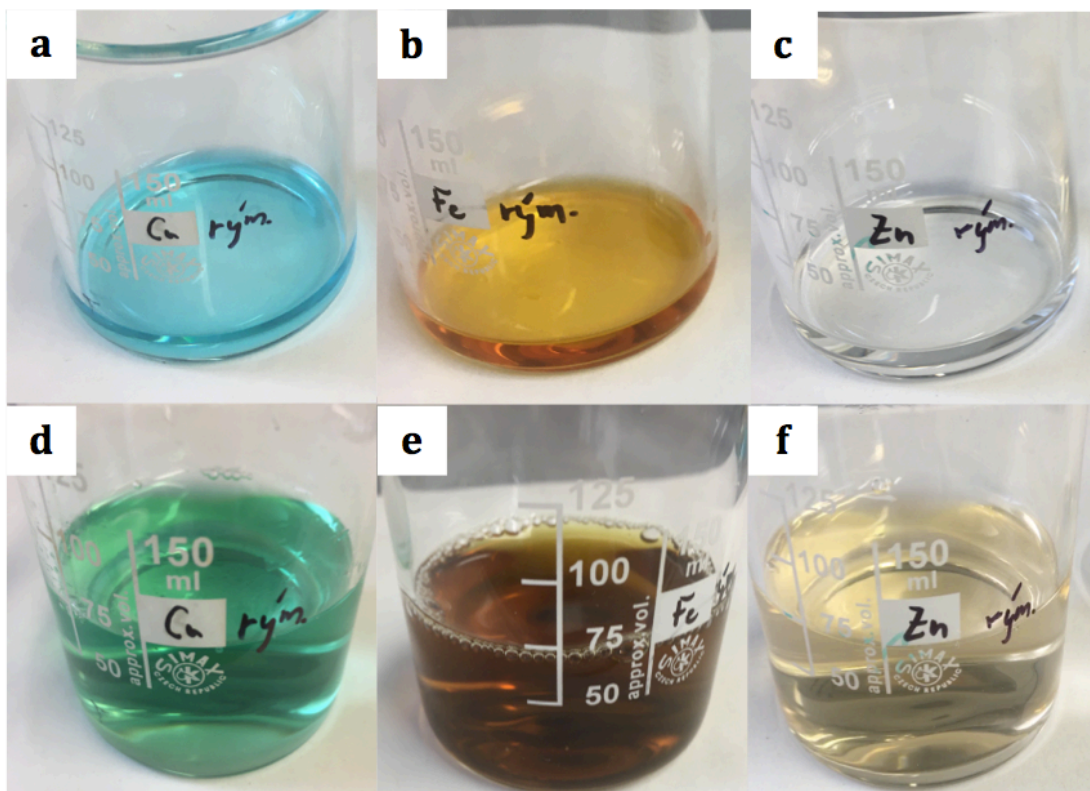


Obrázek 18: Produkty po sušení použitím extraktu z černého čaje s dusičnanem měďnatým (a), železitým (b) a zinečnatým (c)

Produkty ze sušárny byly zpracovány na prášek a v posledním kroku umístěny do pece. Pec byla nastavena na 170 °C s půl hodinovým náběhem a držení na teplotě další půl hodinu. Již při této teplotě reagoval vzorek s obsahem zinku výbušně a znečistil tak okolní vzorky. Teplota byla dále nastavena na 250 °C a 650 °C vždy s náběhem půl hodiny a výdrží další půl hodiny. Při vyšší teplotě reagoval vzorek s obsahem mědi výbušně. Výsledné nanočástice oxidů železa vyšly magnetické.

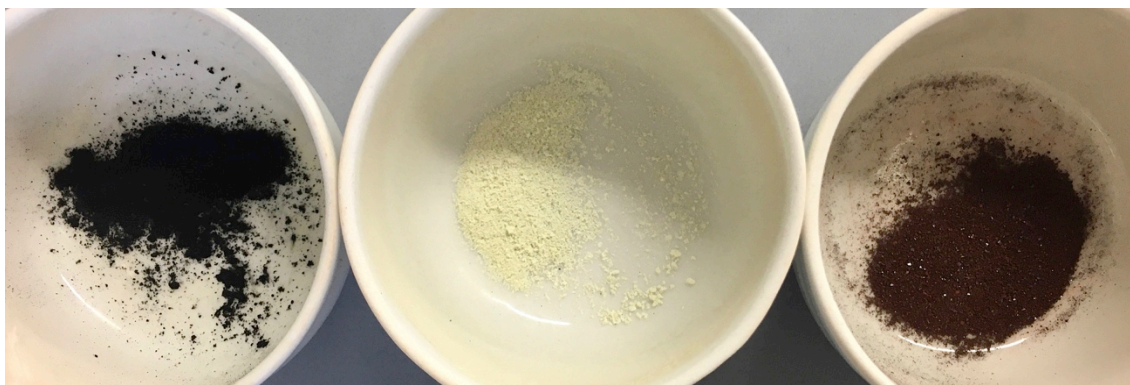
3.4.4 Rýmovník citrónový

V 250ml kádinkách bylo naváženo 1,671 g nonahydrátu dusičnanu železitého, 1,232 g hexahydrátu dusičnanu zinečnatého, respektive 1,013 g trihydrátu dusičnanu měďnatého. Dusičnany byly následně rozpuštěny v 10 ml destilované vody. Přidáním připraveného extraktu při laboratorní teplotě došlo ke změně barvy roztoků s dusičnanem železitým a měďnatým (obr. 19). Roztok s dusičnanem zinečnatým byl zbarven stejně jako extrakt.



Obrázek 19: Roztoky s dusičnany (a, b, c) a roztoky po přidání extraktu z rýmovníku citrónového (d, e, f)

Poté byly kádinky přemístěny na plotýnku a za stálého míchání byly chvilku ohřívány. Roztok s dusičnanem zinečnatým se po chvíli ohřívání zakalil a byla pozorována tvorba částic. Kádinky byly vloženy do sušárny na 100 °C přes noc. Další den byly sušiny rozmělněny na prášek a vloženy do pece v keramických kelímcích. Pec byla nastavena na 170 °C, 250 °C a 650 °C s náběhem a výdrží na dané teplotě vždy po dobu půl hodiny. Výsledné produkty tvořily černý prášek oxidu mědi, červeno-hnědý prášek oxidu železa a bílý prášek oxidu zinku (obr. 20).



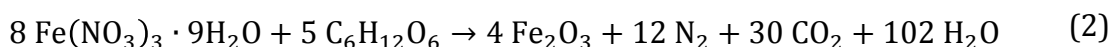
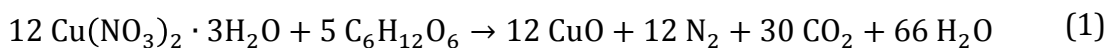
Obrázek 20: Nanočástice oxidů mědi (vlevo), zinku (uprostřed) a železa syntetizované pomocí extraktu z rýmovníku citrónového

3.4.5 Syntéza se složkami rostlinných extraktů

Jako výchozí látky pro syntézu nanočástic oxidů byly zvoleny glukóza, kyselina askorbová, pyrogallol a kyselina tříslová. Tyto látky jsou součástí chemického složení rostlin a tudíž se mohou podílet na tvorbě nanočástic při zelené syntéze. V postupu bylo použito stejné množství dusičnanů jako u syntézy z rostlinných extraktů. Ze známého množství dusičnanů bylo zjištěno potřebné množství přírodní látky podle uvedených rovnic.

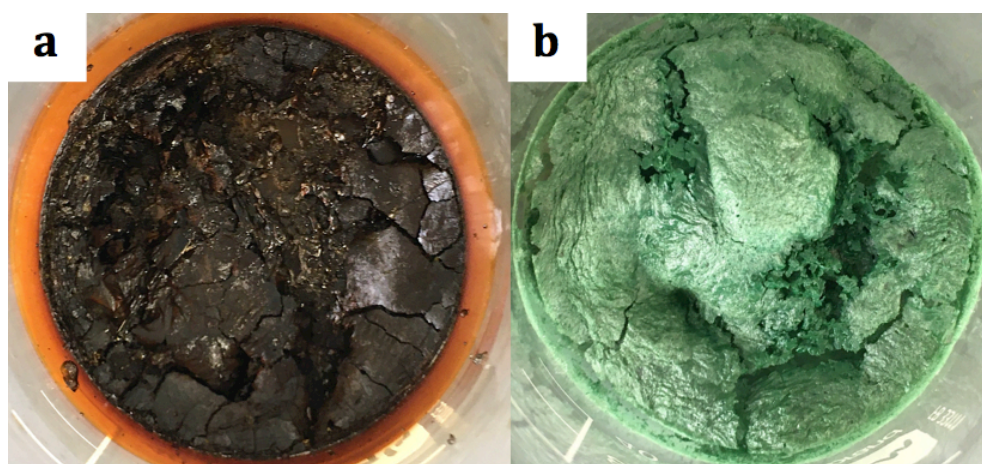
Glukóza

Ve 150ml kádinkách bylo naváženo 1,673 g nonahydrátu dusičnanu železitého a 1,004 g trihydrátu dusičnanu měďnatého. Dusičnany byly rozpuštěny v 10 ml destilované vody. Z rovnic 1 a 2 bylo zjištěno potřebné množství glukózy. Pro přípravu oxidu měďnatého bylo naváženo 0,311 g glukózy a pro přípravu oxidu železitého 0,466 g glukózy.

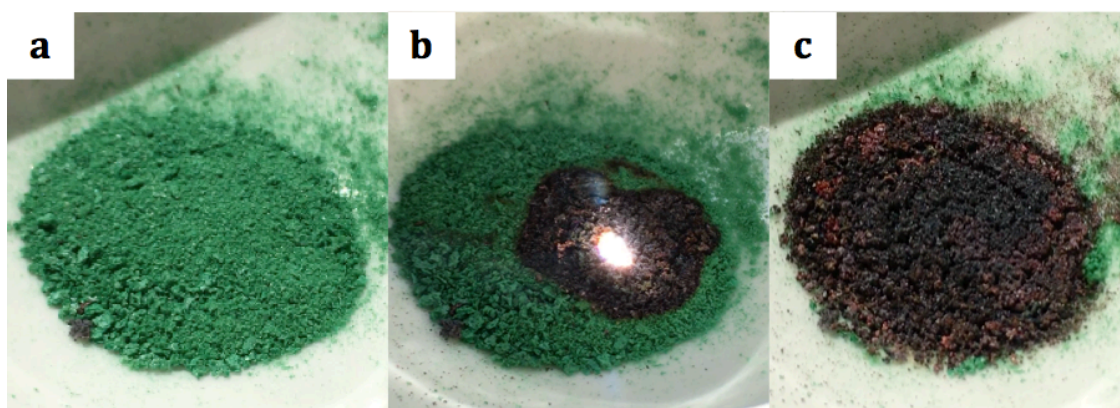


Glukóza byla zcela rozpuštěna v 60 ml destilované vody. Po úplném rozpuštění všech látek byly roztoky glukózy pomalu přilévány k roztokům dusičnanů za laboratorní teploty a intenzivně míchány. Kádinky byly přemístěny na plotnu, kde

po dobu několika minut byly roztoky ohřívány za konstantního míchání. Při ohřívání se roztok s dusičnanem železitým zakalil a došlo ke změně zbarvení ze světlé oranžovohnědé na tmavou červenohnědou barvu. Následně byly kádinky vloženy do sušárny na 90 °C do dalšího dne. Sušený produkt z dusičnanu měďnatého byl nadýchaný a produkt z dusičnanu železitého tvořil tvrdou vrstvu na dně kádinky (obr. 21). Část produktu z dusičnanu měďnatého bylo žíháno pod lupou pomocí slunečního svitu (obr. 22).



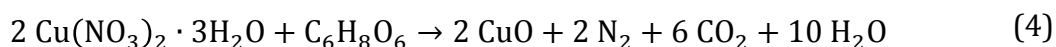
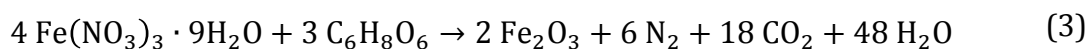
Obrázek 21: Produkty po sušení připravené pomocí glukózy a dusičnanu železitého (a) a měďnatého (b)



Obrázek 22: Žíhání produktu s glukózou pod lupou, produkt z dusičnanu měďnatého po sušení (a), žíhání produktu (b), výsledná vrstva oxidu mědi po žíhání (c)

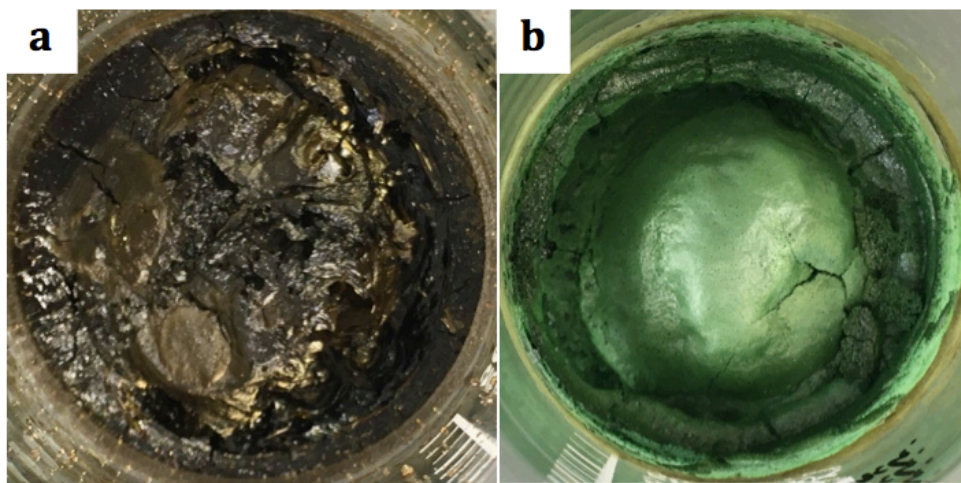
Kyselina askorbová

Přibližně 1,673 g nonahydrátu dusičnanu železitého bylo rozpuštěno v 10 ml destilované vody. Z rovnice 3 byla vypočtena hmotnost kyseliny askorbové. K přípravě bylo použito 0,685 g kyseliny, které bylo rozpuštěno v 60 ml destilované vody.



V další kádince byl rozpuštěn 1 g trihydrátu dusičnanu měďnatého v 10 ml destilované vody. Potřebné množství kyseliny askorbové bylo vypočteno z rovnice 4. Přibližně 0,456 g kyseliny bylo rozpuštěno v 60 ml destilované vody.

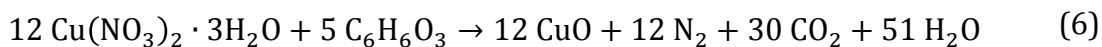
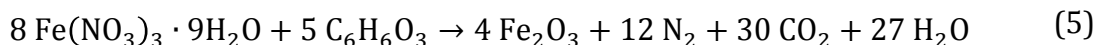
Všechny roztoky byly řádně promíchány. Při pokojové teplotě byl roztok kyseliny pomalu přiléván do roztoků dusičnanů. Okamžitě byla pozorována změna zbarvení roztoků. Modrozelený roztok dusičnanu měďnatého se zbarvil do zelena. Oranžovohnědý roztok dusičnanu železitého se po přidání několik mililitrů kyseliny askorbové zbarvoval do černa a následně se roztok vyčeřil. Po řádném promíchání roztoků byly kádinky vloženy do sušárny na 90 °C přes noc. Produkty po sušení byly nadýchané, hlavně produkt z dusičnanu měďnatého (obr. 23).



Obrázek 23: Produkty po sušení připravené pomocí kyseliny askorbové a dusičnanu železitého (a) a měďnatého (b)

Pyrogallol

V kádince bylo rozpuštěno 1,672 g nonahydrátu dusičnanu železitého v 10 ml destilované vody. Množství pyrogallolu bylo vypočteno z rovnice 5 a navážka o hmotnosti 0,409 g byla rozpuštěna v 60 ml destilované vody.

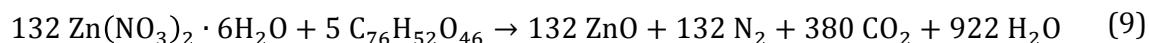
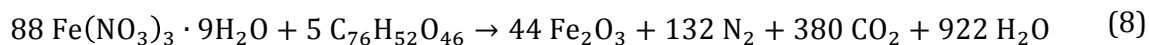
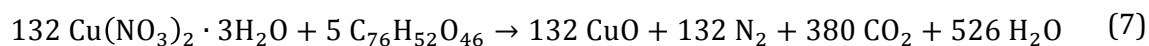


V další kádince byl přibližně 1 g trihydrátu dusičnanu měďnatého rozpuštěn v 10 ml destilované vody. Z rovnice 6 bylo vypočteno potřebné množství pyrogallolu pro provedení reakce. Navážka o hmotnosti 0,272 g byla rozpuštěna v 60 ml destilované vody. Roztok pyrogallolu měl hnědé zbarvení.

Po řádném promíchání všech roztoků byly roztoky pyrogallolu pomalu přidávány k roztokům dusičnanů. Roztok dusičnanu měďnatého změnil barvu z modrozelené do tmavě zelené. Oranžovohnědý roztok dusičnanu železitého se okamžitě zbarvil do tmavě hnědé až černé barvy. Po chvilce míchání byly kádinky vloženy do sušárny na 90 °C přes noc.

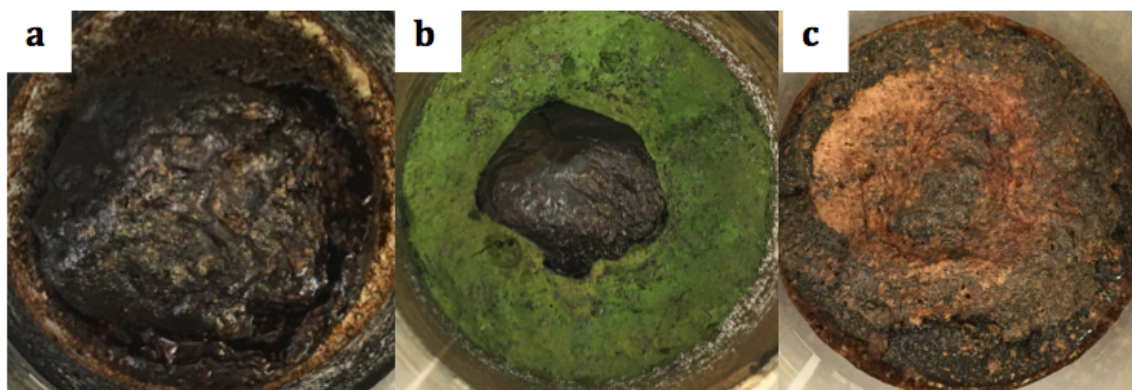
Kyselina tříslová

Bylo naváženo 1,677 g nonahydrátu dusičnanu železitého, 1,233 g hexahydrátu dusičnanu zinečnatého a 1 g trihydrátu dusičnanu měďnatého. Navážky byly následně rozpuštěny v 10 ml destilované vody. Dle níže uvedených rovnic byly vypočteny hmotnosti kyseliny tříslové.



K přípravě oxidu měďnatého bylo použito 0,336 g kyseliny tříslové, k přípravě oxidu železitého 0,507 g a oxidu zinečnatého 0,344 g kyseliny. Navážky byly rozpuštěny v 60 ml destilované vody. Kyseliny tříslová s vodou tvořila nažloutlý roztok.

Poté byly k dusičnanům pomalu přidány roztoky kyseliny tříslové za laboratorní teploty. Ihned došlo ke změně barvy modrozeleného roztoku dusičnanu měďnatého na zelenožlutou a oranžovohnědého roztoku dusičnanu železitého na černou naznačující tvorbu částic. Roztoky byly chvíli míchány skleněnou tyčinkou a poté přemístěny na plotnu. Po několika minutách ohřívání byly kádinky přemístěny do sušárny na 90 °C do dalšího dne. Produkty po sušení byly nadýchané a barevné (obr. 24). U produktu z dusičnanu měďnatého vznikly různě barevná místa. Část produktu z dusičnanu zinečnatého byla žhána lupou pomocí slunečního svitu.



Obrázek 24: Produkty po sušení připravené pomocí kyseliny tříslové a dusičnanu železitého (a), měďnatého (b) a zinečnatého (c)

Získané produkty po sušení z glukózy, pyrogallolu, kyseliny askorbové a tříslové byly upraveny na prášek, převedeny do keramických kelímků a vloženy do pece. Teplota byla nejprve nastavena na 170 °C s náběhem a výdrží 30 minut, dále na 220 °C a 300 °C vždy s náběhem 1 hodinu a držením 30 minut a na závěr na 650 °C s náběhem 2 hodiny a výdrží 30 minut. Získané produkty tvořily částice oxidů železa, mědi a zinku.

3.5 Metodika mikrobiologických testů

K vyhodnocení mikrobiologické aktivity připravených částic oxidů mědi a zinku byly použity modifikované metody AATCC 147 a AATCC 100. K testování byly použity 1% roztoky Cu-O a ZnO a sterilizovaná 100% bavlna.

Testované bakteriální kmeny

Bakteriální kmeny byly zakoupeny z České sbírky mikroorganismů, Masarykova univerzita Brno.

- *Escherichia coli* (E.C.) – CCM 2024 (ATCC 9637), jedná se o gramnegativní tyčinkovitou bakterii.
- *Staphylococcus aureus* (S.A.) – CCM 2260 (ATCC 1260), jedná se o grampozitivní kokovitou bakterii.

Použitá kultivační média a agarové půdy

- fyziologický roztok (8,5 g/l)
- krevní agar (Colombia) zakoupen od firmy Bio-Rad spol. s.r.o.

3.5.1 Kvalitativní metoda

Kvalitativní vyhodnocení antibakteriální aktivity na textilním materiálu bylo provedeno na základě modifikované metody AATCC 147 (Antibacterial Activity Assessment of Textile materials: Parallel Streak Method) [37]. V této metodě je antibakteriálně ošetřený vzorek umístěn na agar, na kterém je v několika pruzích inokulována bakterie. Po 24 hodinách inkubace je hodnocen růst bakterií pod vzorkem a inhibiční zóna. V této práci byla pro testy zvolena modifikace metody, kde se inokulovala bakterie v celé ploše.

Postup

Vzorky 100% bavlny o rozměrech 5×5 cm byly na pět minut namáčeny v připravených 1% roztocích Cu-O a ZnO. Vzorky byly nechány volně uschnout a následně byly vloženy do sušárny na 150 °C po dobu 1 hodiny.

Ze suchých vzorků byly vystřiženy čtverce o rozměrech 18×18 mm. Na krevní agar byl přidán 1 ml bakteriálního inokula o koncentraci 10⁸ CFU/ml a opatrně rozetřen. Testovaný vzorek byl položen doprostřed misky a pevně přitisknut k agaru. Inkubace bakterií probíhala v termostatu při 37 °C po dobu 24 hodin. Následně byla hodnocena halo zóna a inhibice bakterií pod vzorkem.

3.5.2 Kvantitativní metoda

Ke kvantitativní analýze byla zvolena metoda AATCC 100 (Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of) [38]. U této metody je hodnocen faktor redukce, který udává, o kolik procent došlo ke snížení inokulované koncentrace bakterií. Výsledkem je počet přeživších bakteriálních kolonií (CFU) a faktor redukce R (%). Výsledek je porovnán s neošetřeným vzorkem (standardem).

$$R = \frac{(B - A)}{B} \cdot 100,$$

kde *A* je množství obnovených buněk bakterií u upraveného vzorku s násobkem inokula a po požadované době inkubace, *B* je množství obnovených buněk bakterií u neupraveného vzorku s násobkem inokula a po požadované době inkubace

Postup

Stejný vzorek jako u předešlé metody, o rozměrech 18×18 mm, byl vložen do sterilního kontejneru. Na vzorek bylo aplikováno 100 μl daného bakteriálního kmene o koncentraci 10⁵ CFU/ml tak, aby byl celý vzorek smočen bakteriálním inokulem. Následovala inkubace vzorků v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Po inkubaci bylo do kontejneru přidáno 10 ml fyziologického roztoku a zvortexováno. Poté byl z každého vzorku odpipetován 1 ml a byly vyočkovány triplety na Petriho misky s krevním agarem. Na závěr byl vypočten počet CFU, počet zprůměrován a výsledek byl porovnán se standardem.

3.6 Metody charakterizace

Nanočástice byly charakterizovány pomocí skenovacího elektronového mikroskopu UHR FE-SEM ZEISS Ultra Plus vybaveném energiově-disperzním detektorem Oxford X-Max20 pro lokální chemickou analýzu. Vzorky před pozorováním byly zafixovány na hliníkové terčíky pomocí oboustranné lepící uhlíkové pásky. Vzorky byly snímkovány při nízkém urychlovacím napětí 1–2 kV; EDS analýza proběhla při urychlovacím napětí 10 kV. Nabíjení vzorků bylo při EDS analýze kompenzováno pomocí lokální injektace dusíku. Pro akvizici a zpracování EDS dat byl použit SW AZtec 3.3.

Oxidy železa byly také charakterizované pomocí rentgenové difrakce na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze. K analýze byla použita anoda z kobaltu, systém difraktometru X'Pert PRO a měření bylo vyhodnoceno v programu PANalytical X'Pert PRO + High Score Plus.

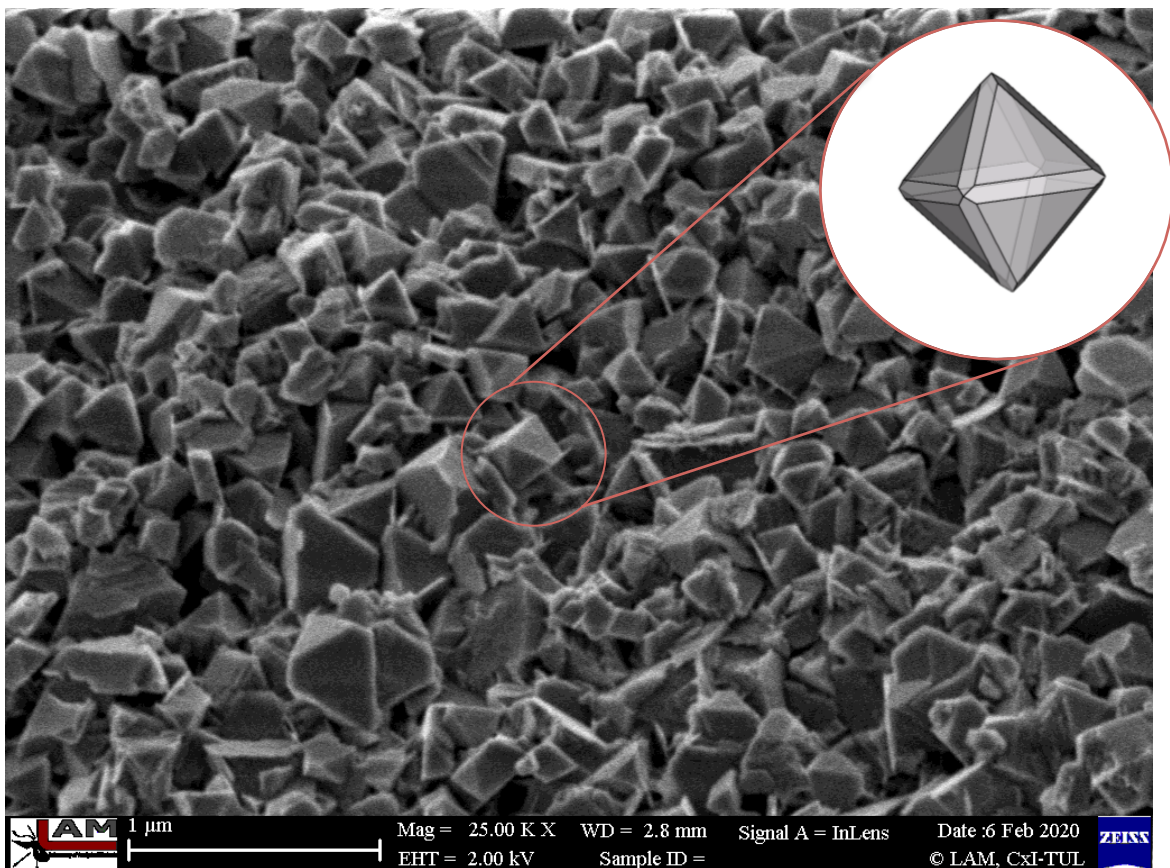
4 Výsledky

4.1 SEM a EDS

V této podkapitole bylo cílem zdokumentovat strukturu a ověřit složení připravených částic pomocí skenovacího elektronové mikroskopu a energiově-disperzní spektroskopie.

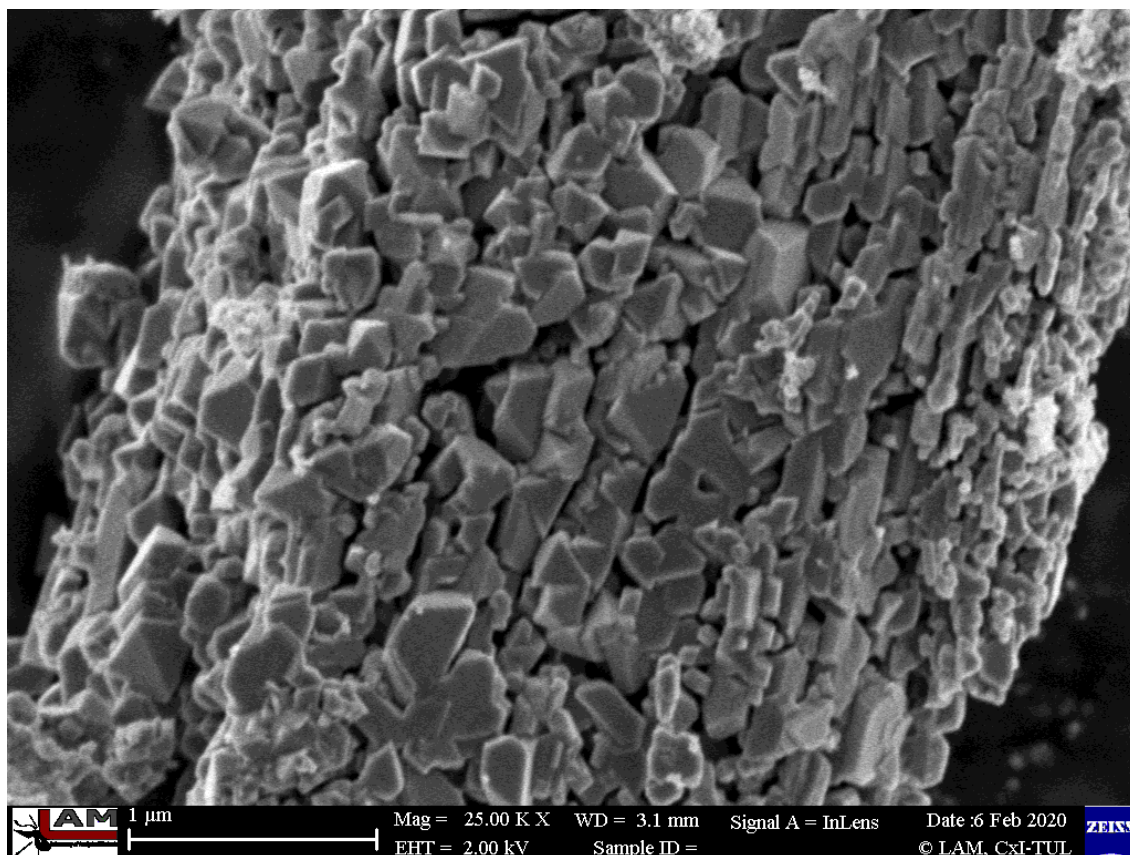
4.1.1 Oxidy železa Fe-O

Nanočástice oxidu železa připravené pomocí extraktu z plodů černého bezu tvořily krásné krystalové struktury. Z níže uvedeného snímku ze SEM (obr. 25) lze vidět oktaedrickou strukturu krystalů typickou pro magnetit (Fe_3O_4). Bylo vyzorováno, že částice jsou silně magnetické. Velikost částic se pohybovala v řádech desítek až stovek nanometrů. Z EDS bylo zjištěno, které prvky jsou obsažené ve vzorku a v jakém množství. Největší zastoupení měli atomy kyslíku (54 at. %) a železa (27 at. %). Ve vzorku byl přítomen také uhlík (10 at. %) a tudíž lze předpokládat, že některé kyslíky mohou být součástí zbytků organických látek, které byly přítomné v extraktu. Nanočástice připravené pomocí extraktu z černého bezu obsahují také draslík (7 %at), hořčík (1 %at), hliník (1 %at) a stopy fosforu a síry. Přítomnost těchto prvků v extraktu z černého bezu potvrzuje studie Vulic et. al [34].



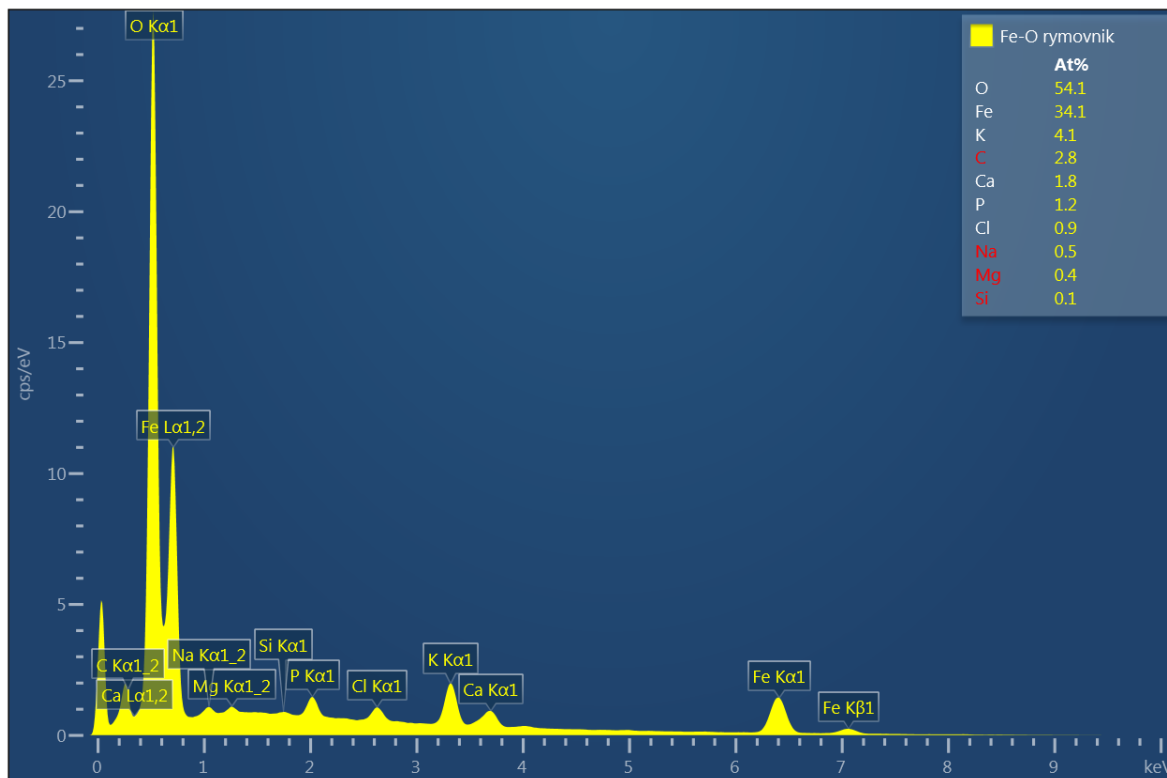
Obrázek 25: Snímek ze SEM nanočástic Fe-O připravené pomocí extraktu z plodů černého bezu a porovnání s krystalografickou formou magnetitu

Nanočástice oxidu železa připravené pomocí extraktu z jablek tvořily nehomogenní strukturu. Na snímcích ze SEM byly vidět spečené nanočástice oxidu železa tvořící krustu, která měla ale ve své struktuře praskliny. To tedy dává možnost částice rozdispergovat na menší o velikosti přibližně pod 100 nm. Naopak na jiném snímku (obr. 26) tvoří nanočástice krystalové struktury podobné předchozímu vzorku (ve formě oktaedru). I výsledky EDS poukazují na podobné množství látek ve vzorcích, kde kyslík tvoří 54 at. % a železo 26 at. %. Ve vzorku byl obsažen také draslík (10 at. %), uhlík (10 at. %) a stopy fosforu, hořčíku a hliníku.



Obrázek 26: SEM snímek aglomerovaných nanočástic Fe-O připravené pomocí extraktu z jablek tvořící krystaly

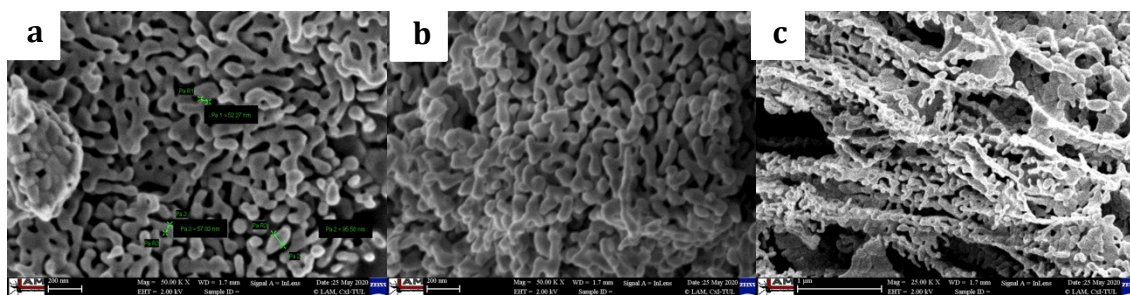
U oxidu železa připraveného pomocí extraktu z rýmovníku citrónového nebyly pozorovatelné jednotlivé částice, ale spíše větší shluky částic, jež tvořily nepravidelné útvary. Podle EDS analýzy (obr. 27) bylo v produktu přítomno 54 at. % kyslíku a 34 at. % železa. Nečistoty tvořily draslík (4 at. %), uhlík (3 at. %), vápník a fosfor. V menší míře byly v produktu přítomny také chlor, sodík, hořčík a křemík.



Obrázek 27: EDS spektrum oxidu železa připraveného pomocí rýmovníku citrónového

Nanočástice oxidu železa připravené z čajového extraktu se vyskytovaly v aglomerátech o velikosti řádově stovek mikrometrů. Samostatné částice, u nichž nebyly pozorovatelné pravidelné tvary, dosahovaly průměru až desítek nanometrů. Shluky nanočástic byly nadýchané a tvořily jakési “trhliny”. Vzorek obsahoval 53 at. % kyslíku, 29 at. % železa, 7 at. % draslíku, 7 at. % uhlíku a 2 at. % hořčíku a stopy hliníku, chloru, fosforu a síry.

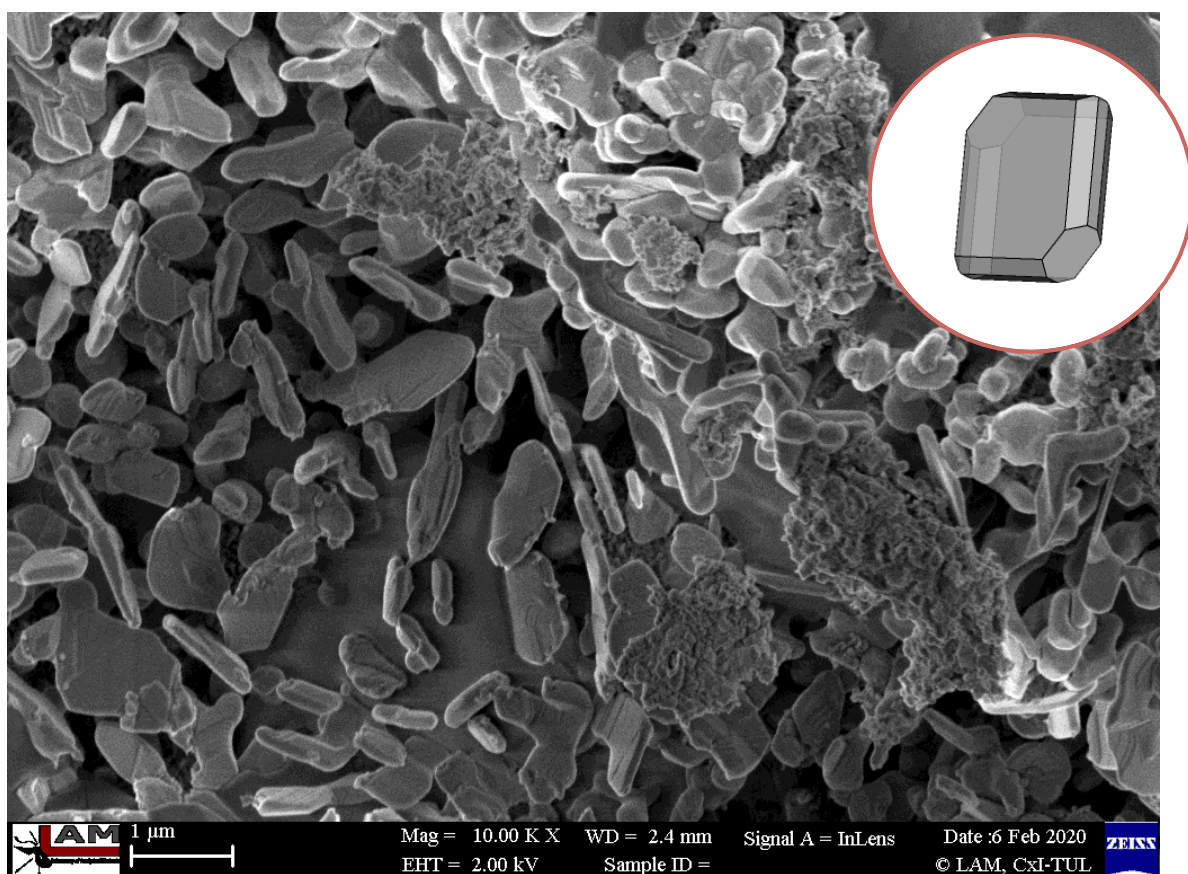
Použitím čistých látek (tj. glukózu, kyselinu askorbovou, pyrogallol a kyselinu tříslovou) k syntéze nanočástic oxidu železa, bylo dosaženo jiných výsledků. Získané částice se nepochybili částicím připravených pomocí extraktů. Vnější vrstva byla u většiny vzorků spečená. Vnitřní struktura se u každého vzorku lišila a částice tvořily různé útvary. U oxidu železa připraveného pomocí kyseliny askorbové a glukózy byly částice spečené tak, že vytvářely útvary podobající se korálovým útesům (obr. 28). Velikost těchto částic dosahovala průměru pod 100 nm. Za pomoci pyrogallolu byly syntetizovány částice Fe-O, které byly zčásti spečené do takových linií připomínající tvarově větvičky. U vzorku Fe-O připraveného pomocí kyseliny tříslové nebyly pozorovatelné jednotlivé částice, ale jen jednolitý spečený povrch.



Obrázek 28: Snímky ze SEM oxidu železa připraveného pomocí glukózy (a), kyseliny askorbové (b) a pyrogallolu (c)

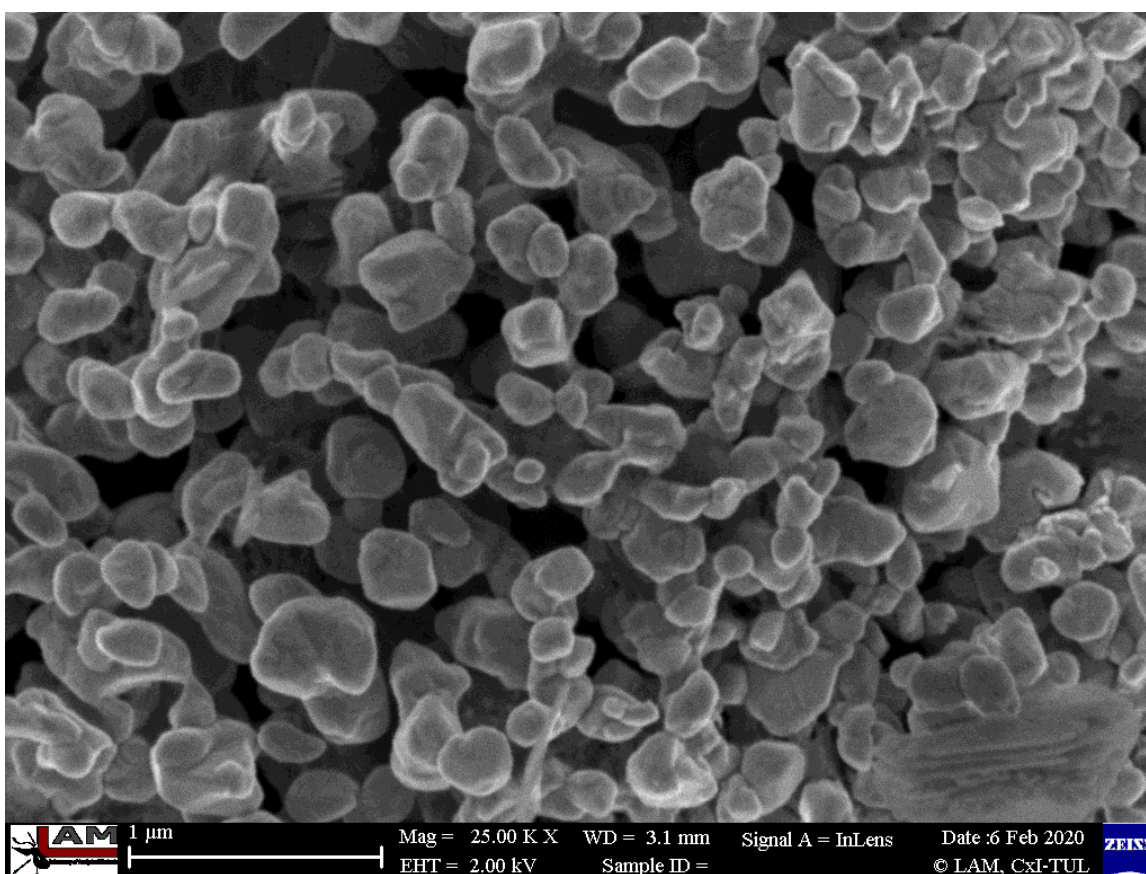
4.1.2 Oxidy mědi Cu-O

Částice oxidu mědi připravené extraktem z černého bezu tvořily ploché krystalky (obr. 29) podobné krystalové struktuře tenoritu (minerál CuO). Na snímku ze SEM jsou vidět i zbytky organických látek, jež mají nepravidelný tvar. Na jiném snímku měly částice sférický tvar a dosahovaly sub-mikronové velikosti. Částice byly ve vzorku rovnoměrně rozložené. Vzorek obsahoval 47 at. % kyslíku, 26 at. % mědi a poměrně velké množství draslíku (13 at. %) a uhlíku (10 at. %). Menší množství tvořilo hořčík, fosfor, síra a hliník.



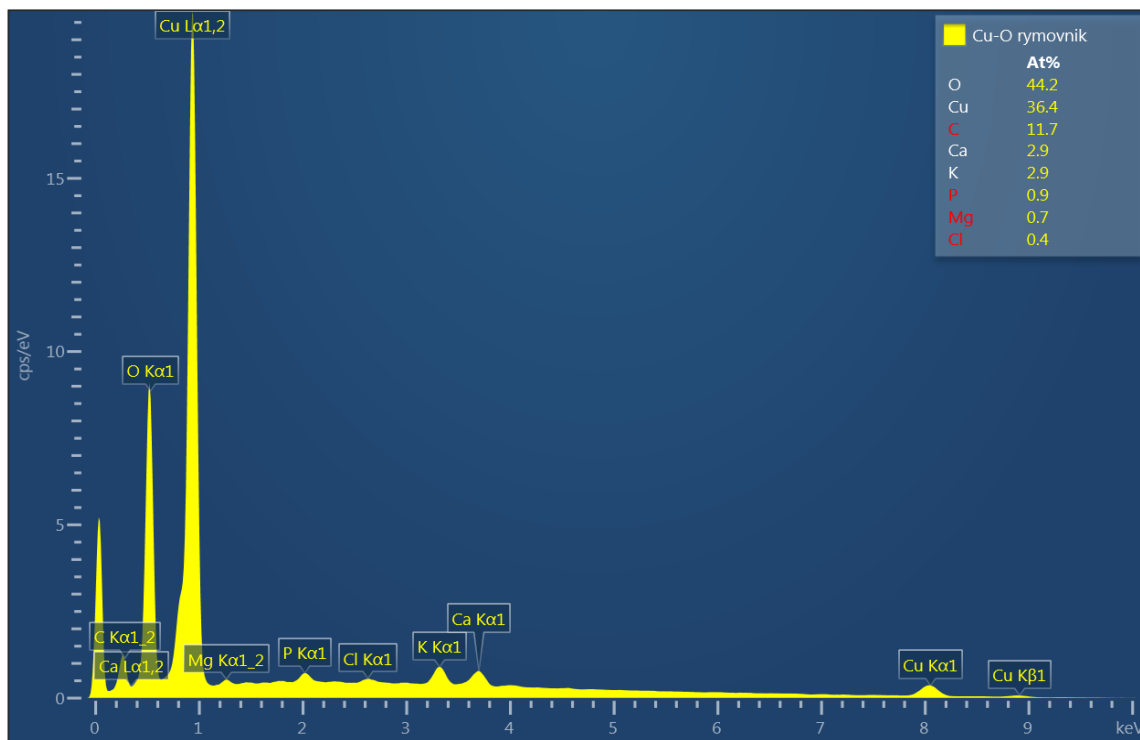
Obrázek 29: SEM snímek nanočástic Cu-O připravené pomocí extraktu z plodů černého bezu a nečistoty z extraktu

Syntéza pomocí extraktu z jablek vynesla zaoblené částice oxidu mědi (obr. 30). U větších částic byly pozorovatelné náznaky krystalových ploch. Malé částice dosahovaly průměru okolo 100 nm. Z obrázku je patrné, že mezi nespečenými částicemi existují mezery. To dává možnost rozbití částic na ještě menší. Mezi částicemi lze vidět zbytky organických látek po žihání. Tento vzorek byl tvořen hlavně z 47 at. % kyslíkem, 25 at. % mědí, 17 at. % uhlíkem a z 10 at. % draslíkem. V menší míře byly ve vzorku přítomny také fosfor a hořčík.



Obrázek 30: SEM snímek nanočástic Cu-O připravené extraktem z jablek

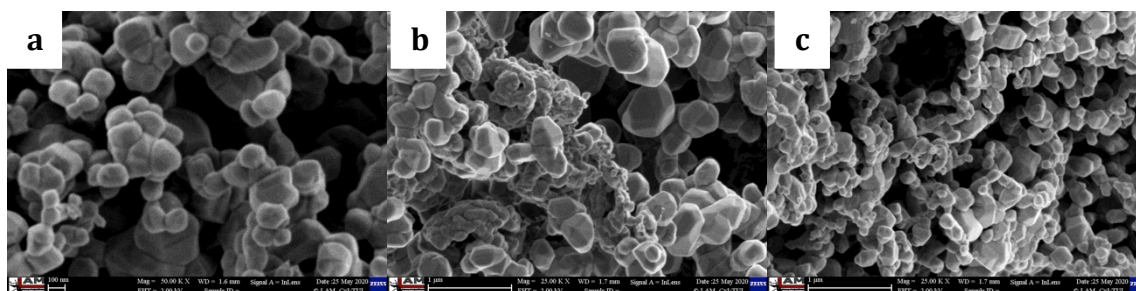
Částice oxidu mědi připravené pomocí extraktu z rýmovníku citrónového byly poměrně malé (pod 100 nm), ale byly spečené a vytvářely velké shluky. Vzorek obsahoval dle EDS analýzy (obr. 31) 44 at. % kyslíku a 36 at. % mědi. Nečistoty tvořily především uhlík (12 at. %), vápník (3 at. %), draslík (3 at. %) a v menším množství byl ve vzorku přítomen také fosfor, hořčík a chlor.



Obrázek 31: EDS spektrum oxidu mědi připraveného pomocí extraktu z rýmovníku citrónového

Oxid mědi připravený extraktem z černého čaje tvořil velice pórovitou strukturu. Nanočástice, jejichž velikost se pohybuje okolo 100 nm, dosahují podobného tvaru a velikosti. Díky výskytu mezer mezi částicemi, je možné prášek dále upravit na jemnější a docílit lepší dispergovatelnosti. Dle EDS vzorek obsahoval 46 at. % kyslíku a 30 at. % mědi. Součástí nečistot byly draslík (11 at. %), uhlík (10 at. %) a malé množství fosforu, hliníku, síry, hořčíku a chloru.

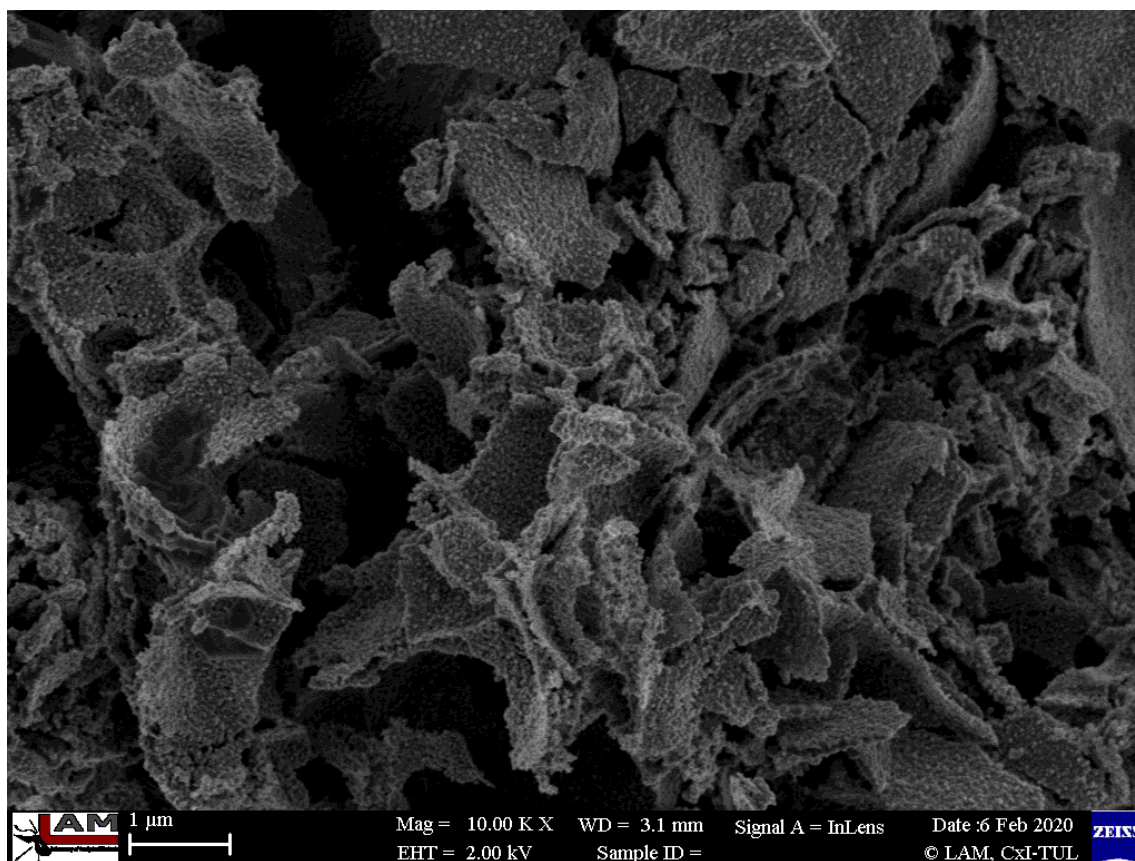
Částice Cu-O připravené pomocí glukózy a kyseliny askorbové se tvarově i velikostně podobaly částicím připravených z jablečného extraktů. Za pomoci glukózy byly připraveny zaoblené částice, u nichž byly pozorovatelné krystalové plochy. Částice připravené pomocí kyseliny askorbové byly ale více spečené. U vzorků oxidu mědi, připravené za pomoci pyrogallolu a kyseliny tříslové, byly vyzporovány sférické nanočástice o průměru pod 100 nm. Obecně částice oxidu mědi vykazovaly ve všech vzorcích konzistentní tvar a velikost (obr. 32). Z EDS analýzy bylo zjištěno, že atomy kyslíku a mědi jsou přítomné ve stejném poměru ve všech vzorcích.



Obrázek 32: Snímky ze SEM oxidu mědi připravené z glukózy (a), kyseliny tříslové (b) a pyrogallolu (c)

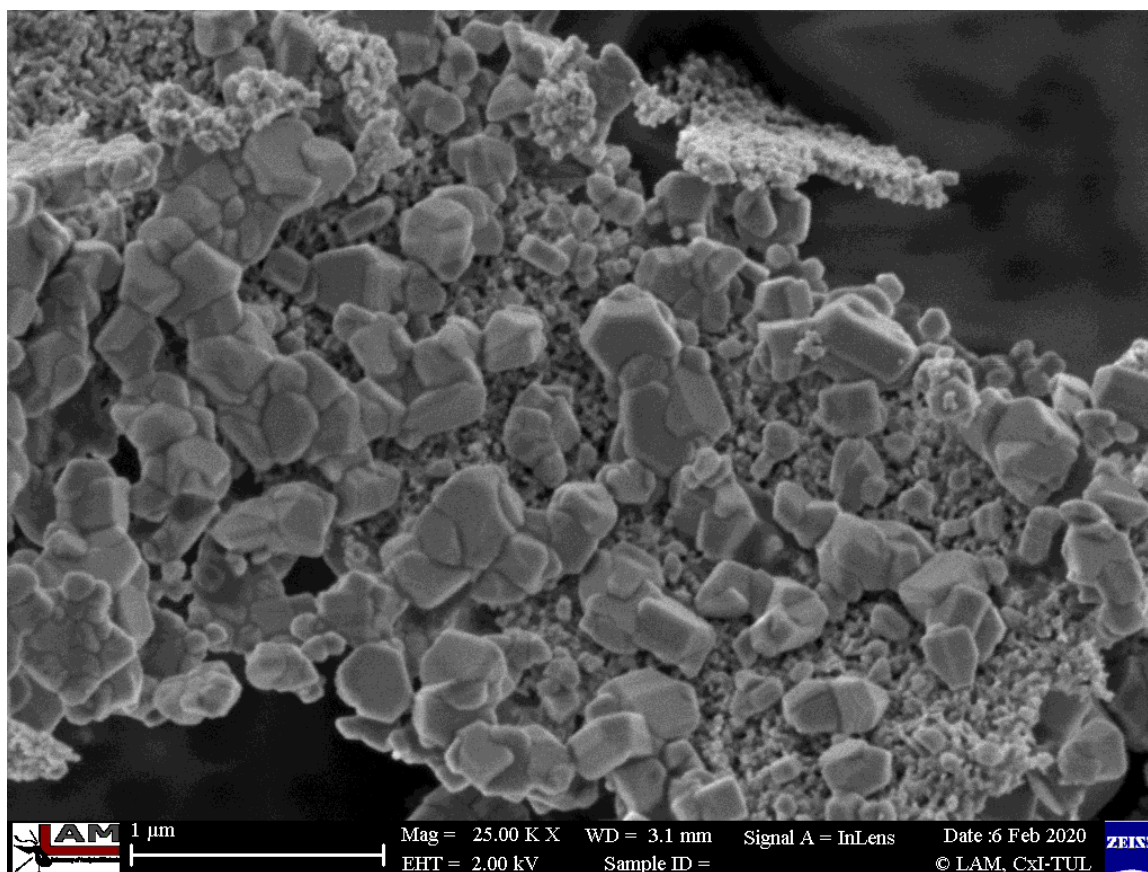
4.1.3 Oxid zinku ZnO

Nanočástice ZnO připravené extraktem z plodů černého bezu tvořily tenkou krustu, jež byla v mnoha místech nalomena. Na snímcích (obr. 33) struktura připomíná papír rozlámaný na malé kousky. Sférické nanočástice spečené v krustě dosahovaly velikosti až desítek nanometrů a po celém objemu byly homogenní. Nanočástice tvořily z 41 at. % kyslík a 30 at. % zinek. Nečistoty obsažené ve vzorku tvořily hlavně uhlík (19 at. %), draslík (9 at. %), hořčík (1 at. %) a fosfor (1 at. %).



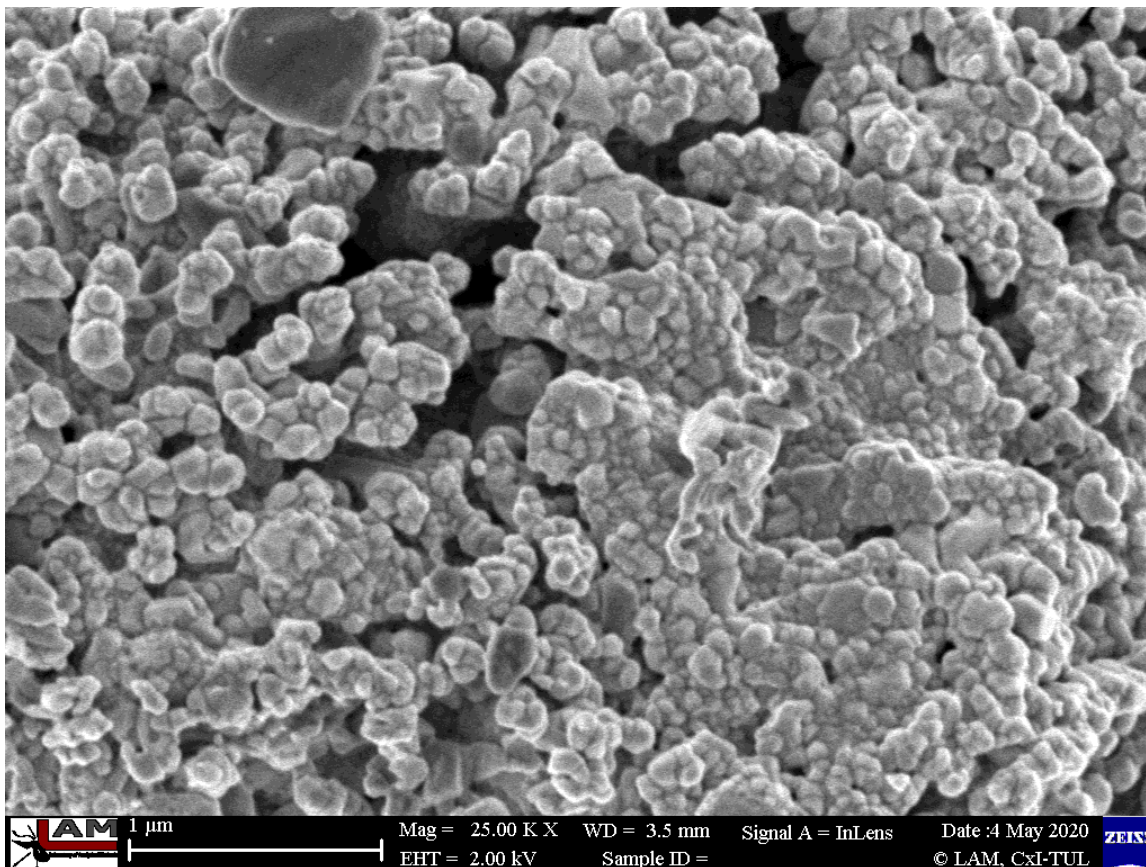
Obrázek 33: SEM snímek spečených nanočástic ZnO připravené extraktem z plodů černého bezu

Z jablečného extraktu byly syntetizovány poměrně homogenní částice. Částice se vyskytovaly ve dvou formách (obr. 34). První tvořily jemné spečené nanočástice, které byly rovnoměrně rozložené po celé ploše. Druhá forma představovala větší částice, u nichž byly pozorovatelné krystalové struktury. Ve vzorku byly patrné krystaly zinkitu. Toto je první vzorek, jež obsahoval větší množství kovu (44 at. % zinku) než kyslíku (39 at. %). Nečistoty tvořily hlavně uhlík (15 at. %) a stopy vápníku, hořčíku, fosforu, draslíku, křemíku a hliníku.



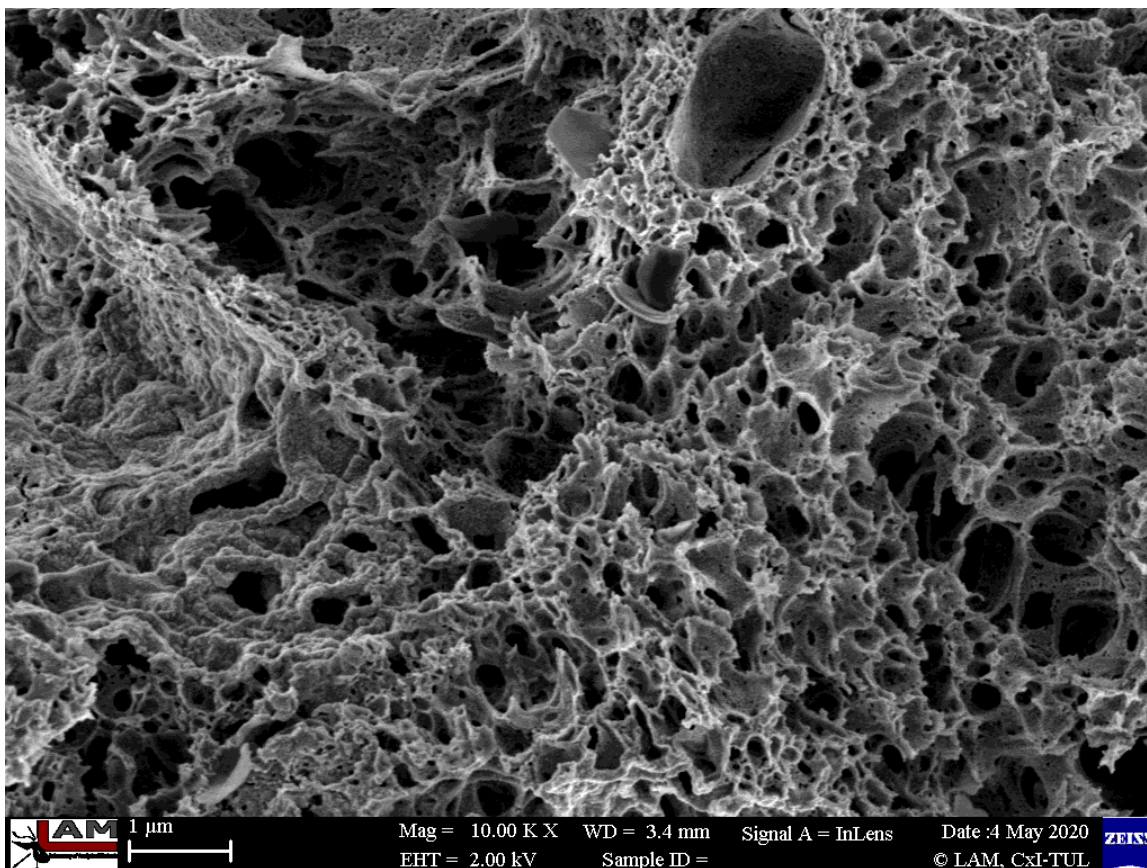
Obrázek 34: SEM snímek nanočástic ZnO ve dvou formách připravené extraktem z jablek

Pomocí extraktu z rýmovníku citrónového byly syntetizovány nehomogenní nanočástice ZnO. V některých snímcích byly viditelné částice, jež dosahovaly desítek nanometrů (obr. 35). V jiných byly naopak pozorovány spečené vrstvy s minimálním prostorem mezi částicemi. Dle EDS analýzy bylo v tomto vzorku přítomno 47 at. % zinku, 42 at. % kyslíku, 8 at. % uhlíku a v menším množství také vápník, draslík a chlor.



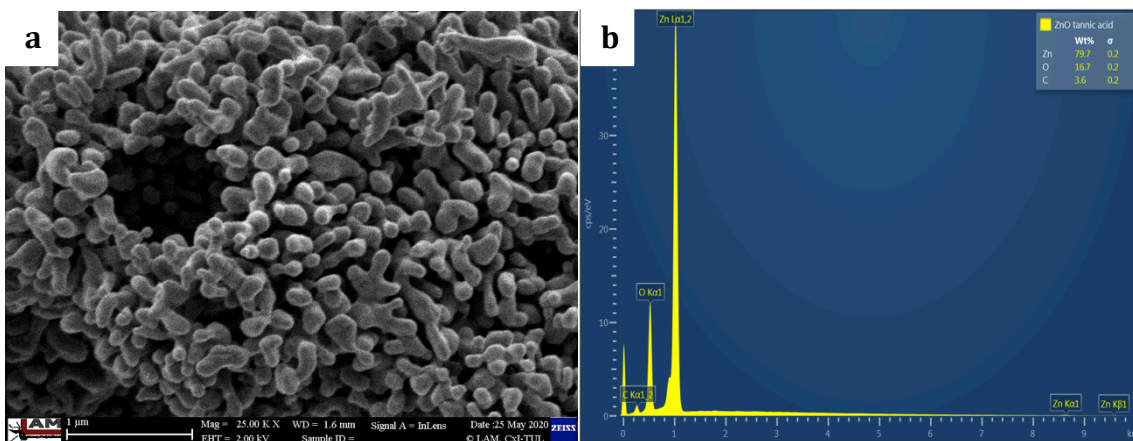
Obrázek 35: SEM snímek nanočástic ZnO připravené extraktem z rýmovníku citrónového

Nanočástice ZnO připravené pomocí extraktu z černého čaje dosahovaly průměru až desítek nanometrů a tvořily velice pórovitou strukturu (obr. 36). Takováto struktura nebyla pozorována u jiných vzorků. Díky výskytu prostoru mezi částicemi, je možné vzorek dále rozdispergovat. Vzorek obsahoval 44 at. % kyslíku a 29 at. % zinku. Nečistoty tvořily hlavně uhlík (15 at. %), draslík (9 at. %) a méně již hořčík, fosfor, hliník, síra a chlor.



Obrázek 36: Snímek ze SEM pórovité struktury vzorku ZnO připravené pomocí extraktu z černého čaje

Nanočástice ZnO připravené za pomoci kyseliny tříslvé tvořily pórovitou strukturu s kulovitými částicemi, které byly spečené do takového tvaru připomínajícího korály (obr. 37). Atomární poměr Zn a O je roven přibližně 1.



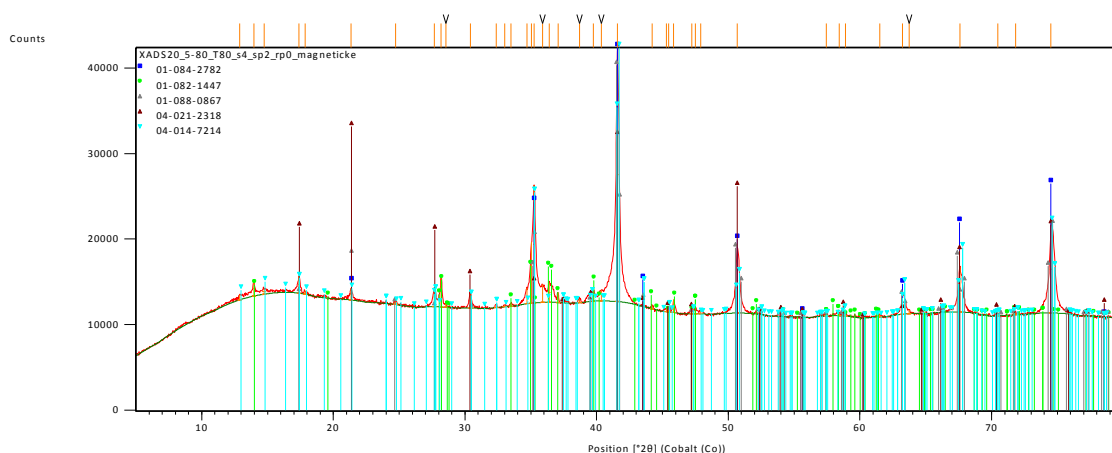
Obrázek 37: Snímek ze SEM (a) nanočástic ZnO připravené pomocí kyseliny tříslvé a spektrum z EDS analýzy (b)

4.2 XRD

Za účelem identifikace krystalových struktur vyskytujících se fází byly vybrány reprezentativní vzorky, které byly zaslány na XRD analýzu.

4.2.1 Magnetické oxidy železa

Výrazné magnetické vlastnosti projevovaly částice připravené za pomoci extraktu z černého bezu. V XDR spektru uvedeném na obr. 38 jsou dobře patrné píky magnetitu. Dále zde byl potvrzen výskyt hydrogenuhličitanu draselného. V zanedbatelném množství se zde vyskytovaly další fáze, viz tab. 1.



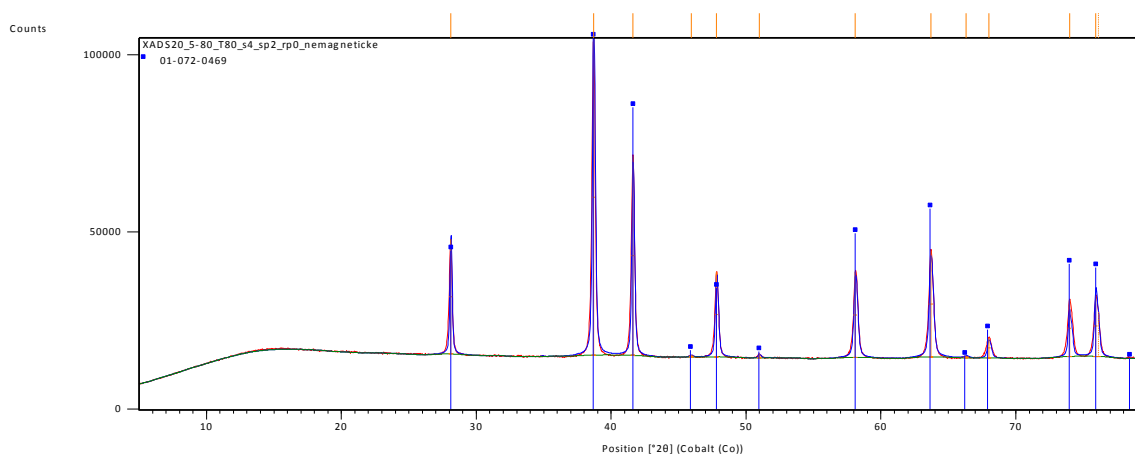
Obrázek 38: XRD spektrum magnetických částic

Tabulka 1: Výsledky XRD magnetických částic

Ref. kód	Počet	Název sloučeniny	Název minerálu	Chem. vzorec	SemiQuant[%]
01-084-2782	51	Iron oxide	Magnetit, syn	Fe_3O_4	Silně
01-082-1447	26	Potassium Hydrogen Carbonate		$\text{K}(\text{HCO}_3)$	Středně
01-088-0867	39	Magnesium Aluminum Iron Oxide	Magnesian aluminian	$(\text{MgAl}_{0.74}\text{Fe}_{1.26})\text{O}_4$	Slabě
04-021-2318	47	Lithium Iron Titanium Oxide		$\text{Li}_{2.5}\text{Ti}_3\text{Fe}_{0.5}\text{O}_8$	Slabě
04-014-7214	36	Iron oxide	Maghemit	Fe_2O_3	Velmi slabě

4.2.2 Nemagnetické oxidy železa

Vzhledem k výskytu řady fází, na nichž se podílely prvky pocházející z rostlinných extraktů, byly připraveny i vzorky, kde rostlinné extrakty byly nahrazeny čistými látkami. Částice připravené pomocí čistých látek nevykazovaly magnetické vlastnosti. V XDR spektru částic Fe-O připravených za pomoci kyseliny tříslové (obr. 39) jsou patrné jen píky hematitu.

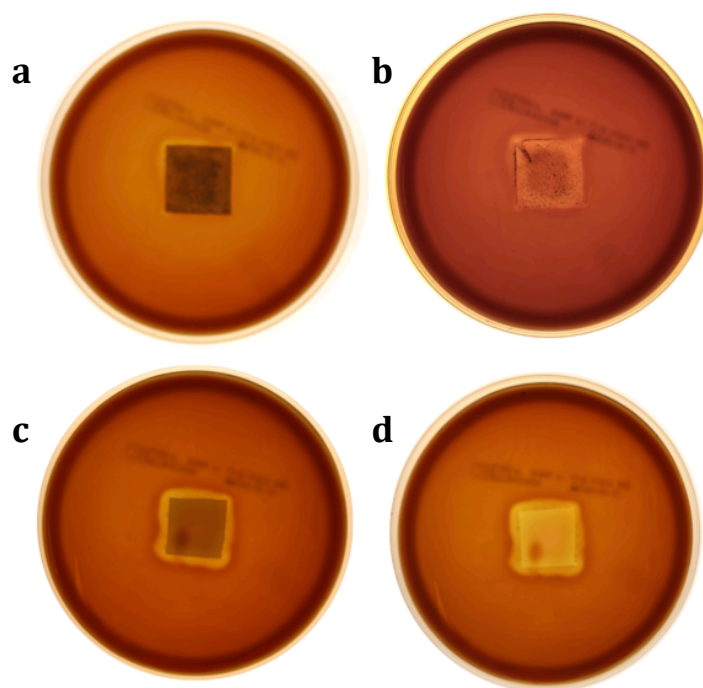


Obrázek 39: XRD spektrum nemagnetických částic

4.3 Mikrobiologické testy

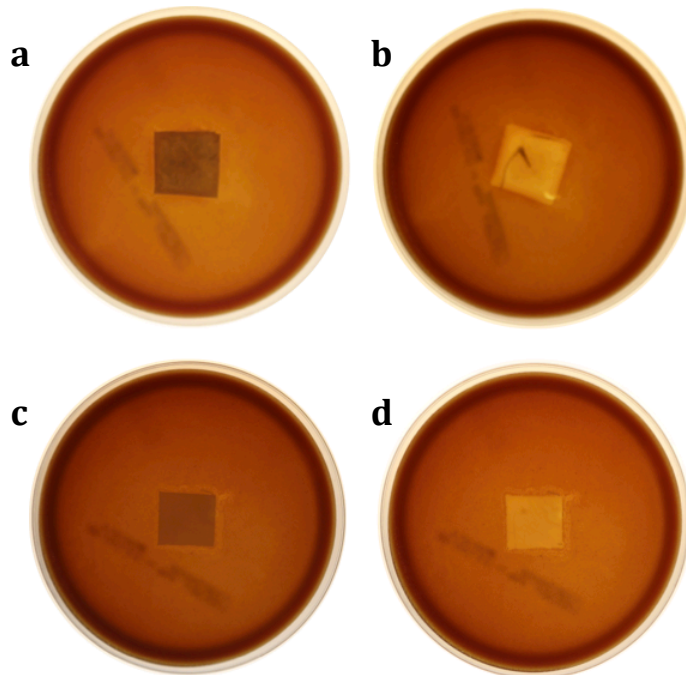
Vyhodnocení kvalitativní metody

Modifikovanou metodou AATCC 147 lze ověřit, zda se účinná látka ze vzorku uvolňuje do okolí, nebo je účinná látka vázána ve vzorku a efekt se projeví pouze pod vzorkem. Na obr. 40 lze pozorovat poměrně homogenní distribuci halo zóny o průměru 3 mm okolo vzorku s nanočásticemi Cu-O a 90% inhibici pod vzorkem (obr. 40d). Vzorky s nanočásticemi ZnO nejsou vyobrazeny, jelikož se u nich neprojevil žádný efekt.



Obrázek 40: Porovnání bakteriální inhibice *E. coli* na standardu (a, b) a na vzorku s obsahem Cu-O (c, d) modifikovanou metodou AATCC

Na obr. 41 jsou vidět výsledky bakteriální inhibice *S. aureus* u vzorků ze 100% bavlny a s nanočásticemi Cu-O. U standardu a vzorku s nanočásticemi ZnO nebyl pozorován žádný efekt. U vzorku s nanočásticemi Cu-O byl náznak halo zóny a pod vzorkem byla 80% bakteriální inhibice (obr. 41d).



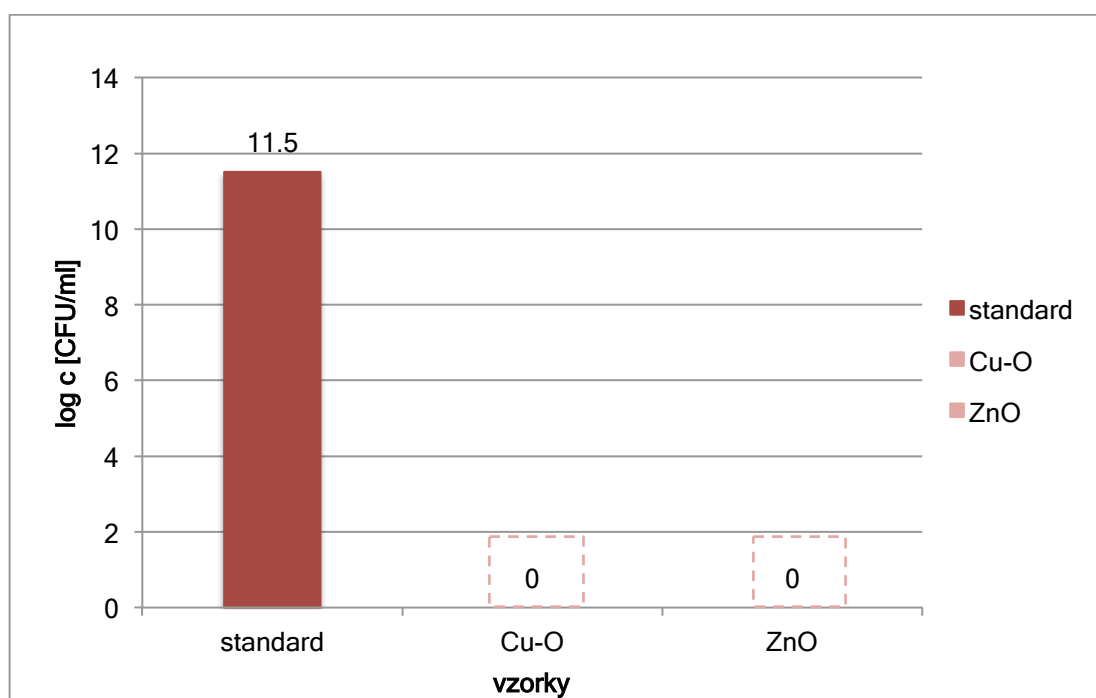
Obrázek 41: Porovnání bakteriální inhibice *S. aureus* na standardu (a, b) a na vzorku s obsahem Cu-O (c, d) modifikovanou metodou AATCC

Důvodem, proč nebyla u druhého vzorku viditelná halo zóna je ten, že vzorek nebyl připraven správně a nedošlo tedy k rovnoměrné distribuci Cu-O po celém objemu vzorku. Při přípravě roztoků byly nanočástice rozpuštěny ve vodě, ale, jak se ukázalo, nanočástice Cu-O a ZnO nejsou ve vodě dobře rozpustné. Při přípravě roztoků by bylo nutné nanočástice rozpustit v jiném rozpouštědle (např. alkohol, okyselený vodný roztok apod.). Z kvalitativního testu bylo zjištěno, že nanočástice Cu-O jsou vhodnými antibakteriálními činidly s bakteriostatickým účinkem na bakteriální kmeny *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, ale zvolenou metodu přípravy vzorků je třeba lépe modifikovat, aby došlo také k uvolnění nanočástic do okolí.

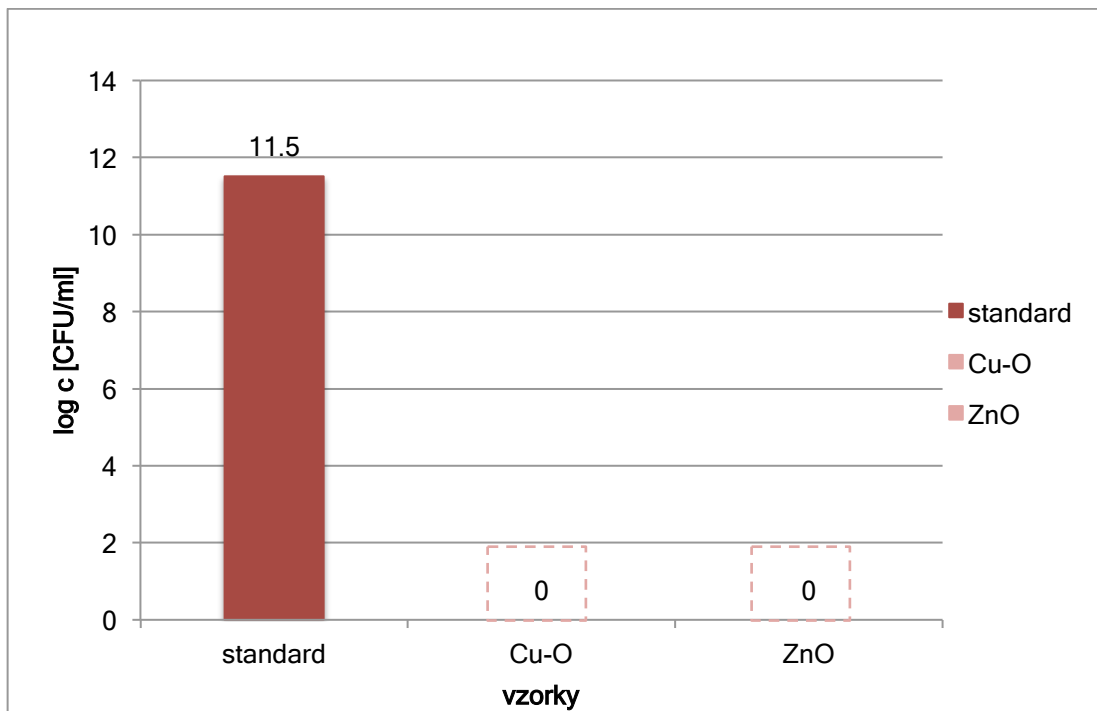
Vyhodnocení kvantitativní metody

Z kvantitativního testu byl zjištěn počet bakteriálních kolonií a redukční faktor. U všech vzorků s nanočásticemi činí CFU = 1 a R = 99,99 %. Z výsledků je patrné, že jsou nanočástice účinnými činidly proti bakteriálním kmenům *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* a vykazují tedy baktericidní efekt.

Závislost koncentrace bakterií na obsahu oxidu mědi a zinku ve vzorcích je vyobrazena v níže uvedených sloupcových grafech (graf 1,2).



Graf 1: Závislost koncentrace bakterie *E. coli* na obsahu oxidu mědi a zinku ve vzorcích



Graf 2: Závislost koncentrace bakterie *S. aureus* na obsahu oxidu mědi a zinku ve vzorcích

5 Diskuze

Pomocí postupů biogenní syntézy byly úspěšně syntetizovány částice oxidů železa, mědi a zinku. Pro syntézu byly zvoleny rostlinné extrakty připravené z plodů černého bezu, jablek, rýmovníku citrónového a černého čaje.

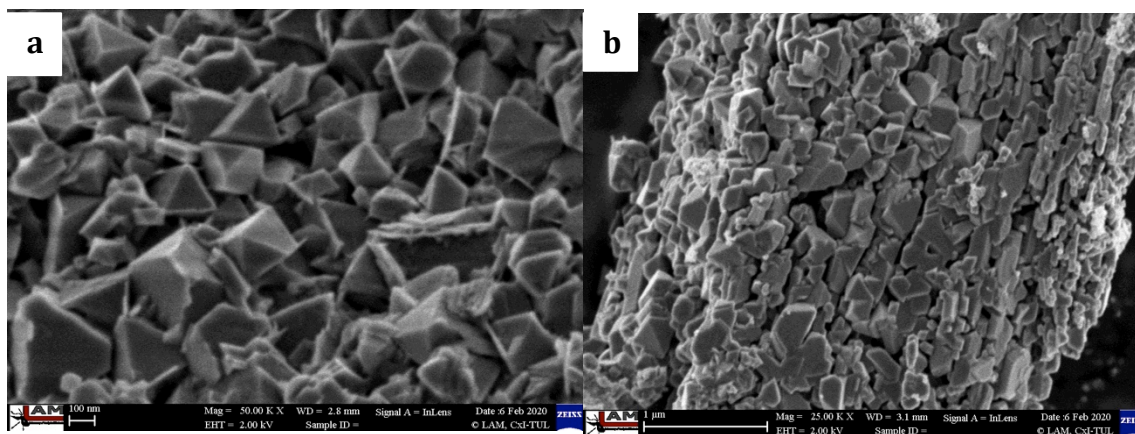
Ve výsledných produktech byly obsaženy různé oxidy příslušných kovů. Z EDS lze vidět, že vzniklé produkty obsahují také prvky jako K, Si, Al, P, S, C a další. Většina těchto prvků, které pochází z extraktů, tvoří sloučeniny (křemičitany, fosforečnany, sírany, uhličitany aj.). Některé fosforečnany jsou ve vodě rozpustné (např. fosforečnan sodný, draselný) a tudíž lze předpokládat, že došlo k jejich extrakci při promývání vodou. Největší množství draslíku obsahoval extrakt z černého čaje, což se projevilo výskytem částic hydrogenuhličitanu draselného (prokázané pomocí XRD). Z důvodu výskytu takovýchto balastních fází byly provedeny i syntézy, kde jako redukční/stabilizační činidla byly použity „čisté“ chemikálie, konkrétně glukóza, pyrogallol, kyselina askorbová a kyselina tříslová. Při nahrazení rostlinných extraktů „čistými“ chemikáliemi již balastní produkty nevznikaly. Je však třeba zdůraznit, že při použití čistých látek se lišila morfologie a výsledné vlastnosti (např. magnetické) získaných částic. XRD analýza prokázala, že při přípravě oxidů železa čistými látkami vznikl nemagnetický hematit. Je zřejmé, že každý z použitých rostlinných extraktů je díky své komplexnosti jedinečný a nelze jej proto jednoduše substituovat jednoduchou chemikálií. Na druhou stranu je nutno přiznat, že právě komplexnost složení jednotlivých extraktů může zapříčinit neopakovatelnost dosažených výsledků. Složení extraktů bude vždy závislé na místě sběru, konkrétní části rostliny, množství a dalších proměnných faktorech.

Při přípravě oxidů železa pomocí extraktu z černého bezu vznikly pravidelné oktaedry, které vykazovaly magnetické vlastnosti. Velikost připravených částic se pohybovala v řádu desítek až stovek nanometrů. Provedená XRD analýza potvrdila přítomnost magnetitu. Vznik magnetitu (oproti očekávanému hematitu) lze vysvětlit redukčními vlastnostmi látek přítomných v použitém extraktu.

Použití extraktu z jablek vedlo k formaci morfologicky i magneticky obdobných částic, jako tomu bylo v případě černého bezu (obr. 42).

Extrakty z rýmovníku a černého čaje vedly ke vzniku spečených shluků částic oxidů železa. Částice vytvořené pomocí extraktu z rýmovníku byly nejméně magnetické. Lze usuzovat, že rýmovník má z použitých rostlinných extraktů nejslabší antioxidační účinky.

Jedním z možných vysvětlení, proč došlo ke vzniku magnetických částic u jablek, černého čaje a černého bezu a ne u čistých látek, je obsah antokyanů (např. quercetin a jiná barviva) v jejich extraktech. Antokyaniny mají silnější antioxidační schopnost a také dokáží ochotněji tvořit komplexy s kovovými ionty, než např. glukóza. Antioxidační činidla byly schopny tedy částečně zredukovat železité ionty a umožnily vzniku magnetických částic oxidu železa.



Obrázek 42: Nanočástice Fe-O připravené extraktem z černého bezu (a) a jablek (b) tvořící krystaly

Připravené částice oxidu mědi syntetizované pomocí extraktu z černého bezu tvořily ploché a rovnoměrně rozložené krystaly. Tloušťka těchto destiček se pohybovala okolo 100 nm.

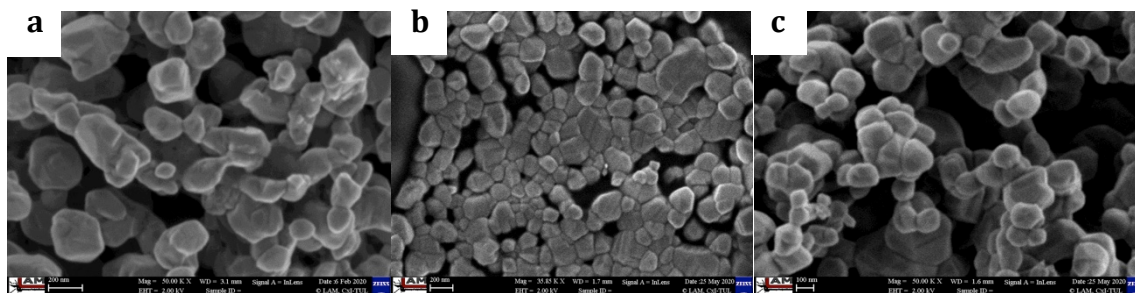
Při použití extraktu z jablek byly syntetizovány zakulacené částice oxidu mědi. Ve vzorku byly pozorovatelné malé částice (okolo 100 nm) a větší částice, na kterých byly dobře patrné krystalové plochy. U těchto částic byla vyhodnocena

antibakteriální aktivita kvalitativní i kvantitativní metodou na bakteriálních kmenech *E. coli* a *S. aureus*. Nanočástice Cu-O prokázaly skvělý baktericidní efekt.

Pomocí extraktu z rýmovníku byl připraven oxid mědi, který vytvářel nanočástice spečené do velkých aglomerátů. Naopak při přípravě oxidu mědi pomocí extraktu z černého čaje vznikly homogenní nanočástice, které tvořily pórovitou strukturu.

Pro posouzení vhodnosti jednotlivých extraktů, je třeba uvažovat, a posoudit vlastnosti s ohledem na konkrétní aplikaci (např. katalytické, antimikrobiální, senzorické).

Částice oxidů mědi připravené pomocí kyseliny askorbové a glukózy se tvarově i velikostně podobají částicím připraveným extraktem z jablek (obr. 43). Je možné, že tyto látky byly z jablek extrahované vodou (glukóza i vitamin C jsou ve vodě rozpustné) a podílely se na stabilizaci a komplexaci iontů mědi.



Obrázek 43: Porovnání částic Cu-O připravené extraktem z jablek (a), kyselinou askorbovou (b) a glukózou (c)

Oxid zinku syntetizovaný pomocí extraktu z černého bezu vytvořil spečenou krustu, ve které byly přítomné uniformní sférické nanočástice o velikosti desítek nanometrů.

U oxidu zinku připraveného za pomoci extraktu z jablek byly pozorovány dvě formy nanočástic - větší krystalické a menší spečené. Větší částice vykazovaly krystalografickou formu morfologicky se podobající krystalům zinkitu. Oxid zinku byl podroben mikrobiologickým testům stejně jako výše zmíněný oxid mědi.

Připravené částice ZnO taktéž vykazovaly vysokou baktericidní účinnost na bakteriálních kmenech *E. coli* a *S. aureus*.

Při přípravě oxidu zinku pomocí extraktu z rýmovníku vznikly zaoblené nanočástice (okolo 100 nm), které vytvářely velké spečené plochy. Vzorek obsahoval nejméně nečistot oproti všem ostatním vzorkům. Z EDS je patrné, že ve zkoumaném vzorku je atomární poměr zinku a kyslíku roven přibližně jedné. Tvorbu sférických nanočástic je možné vysvětlit přítomností slizovitých látek, které byly schopné zakomplexovat kovové ionty tak, že došlo ke vzniku koloidních roztoků.

Nanočástice oxidu zinku připravené pomocí extraktu z černého čaje tvořily velice pórovitou strukturu. Velikost nanočástic dosahovala až desítek nanometrů.

U částic oxidu zinečnatého by bylo vhodné se dále zabývat vztahem mezi jeho strukturou a signifikantními vlastnostmi, jako například fotokatalytickou či algicidní aktivitou.

Získané pilotní výsledky přinesly zajímavé informace a současně otevřely řadu dalších otázek, kterými by bylo vhodné se zabývat v dalším výzkumu, např.:

- Magnetické × nemagnetické oxidy železa
- Výhody × nevýhody použitých metod
- Modifikace reakčních podmínek k dosažení lepších výsledků (homogenní nanočástice)
- Toxicita nanočástic
- Možné aplikace
- Separace částic od balastu
- Možnosti dispergace/rozbití
- Optimalizace tepelného zpracování (termogravimetrie) a další.

6 Závěr

Pomocí principů metod zelené syntézy byly úspěšně připraveny a následně mikroskopicky charakterizovány oxidy železa, mědi a zinku.

U oxidů železa připravených pomocí extraktů byly identifikovány magnetické fáze magnetit a maghemit. Substituce rostlinných extraktů čistými chemikáliemi (glukóza, pyrogallol, kyselina askorbová a tříslová) vedla ke tvorbě hematitu. Je možné, že antioxidační látky (např. antokyany) obsažené v extraktech černého bezu, jablek a černého čaje, se podílely na redukci kovových iontů a tvorbě magnetických fází oxidu železa.

Připravené oxidy mědi a zinku vykazovaly vysokou baktericidní efektivitu na bakteriální kmeny *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

Experimenty potvrdily jednoduchost a finanční nenáročnost zelených syntéz. Během procesu nebyla použita chemická činidla a nedošlo k tvorbě nebezpečných vedlejších produktů. Ukázalo se, že nanočástice je možné syntetizovat pomocí extraktů z různých rostlin, ale právě jejich složení a koncentrace mají podstatně velký vliv na výsledném tvaru a velikosti částic.

Provedením experimentů s čistými látkami byla potvrzena komplexnost dějů. I přes snahu blíže popsat chemické děje odehrávající se během chelace, lze stěží identifikovat látky, které se těchto reakcí účastní. Jelikož rostliny obsahují nespočetně mnoho chemických látek, ať už polyfenolů, alkaloidů, aminokyselin, minerálů a řadu dalších, nelze přesně určit, které látky nahrazují redukční a stabilizační činidla.

Nevýhodou biogenní syntézy pomocí rostlinných extraktů je tedy v první řadě její neopakovatelnost, jelikož koncentrace jednotlivých látek jsou pro každou rostlinu specifické. Další nevýhodou je nehomogenita výsledných částic a výskyt nečistot ve formě solí. V některých aplikacích čistota produktu nemusí hrát velkou roli, ale je důležité brát tento fakt na vědomí a rozlišit, kdy je nutné mít zcela čistý produkt a případně, jak takové čistoty docílit.

Seznam literatury

- [1] DAHL, Jennifer A., Bettye L. S. MADDUX a James E. HUTCHISON. Toward Greener Nanosynthesis. *Chemical Reviews* [online]. 2007, **107**(6), 2228–2269. ISSN 0009-2665, 1520-6890. Dostupné z: doi:10.1021/cr050943k
- [2] KHARISSOVA, Oxana V., H.V. Rasika DIAS, Boris I. KHARISOV, Betsabee Olvera PÉREZ a Victor M. Jiménez PÉREZ. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology* [online]. 2013, **31**(4), 240–248. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibtech.2013.01.003
- [3] HEBBALALU, Deepika, Jacob LALLEY, Mallikarjuna N. NADAGOUDA a Rajender S. VARMA. Greener Techniques for the Synthesis of Silver Nanoparticles Using Plant Extracts, Enzymes, Bacteria, Biodegradable Polymers, and Microwaves. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. 2013, **1**(7), 703–712. ISSN 2168-0485, 2168-0485. Dostupné z: doi:10.1021/sc4000362
- [4] THAKKAR, Kaushik N., Snehit S. MHATRE a Rasesh Y. PARIKH. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* [online]. 2010, **6**(2), 257–262. ISSN 15499634. Dostupné z: doi:10.1016/j.nano.2009.07.002
- [5] SAIF, Sadia, Arifa TAHIR a Yongsheng CHEN. Green Synthesis of Iron Nanoparticles and Their Environmental Applications and Implications. *Nanomaterials* [online]. 2016, **6**(11), 209. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano6110209
- [6] DEVI, Henam Sylvia, Muzaffar Ahmad BODA, Mohammad Ashraf SHAH, Shazia PARVEEN a Abdul Hamid WANI. Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Platanus orientalis leaf extract for antifungal activity. *Green Processing and Synthesis* [online]. 2019, **8**(1), 38–45. ISSN 2191-9550. Dostupné z: doi:10.1515/gps-2017-0145
- [7] PRASAD, Arun S. Iron oxide nanoparticles synthesized by controlled bio-precipitation using leaf extract of Garlic Vine (*Mansoa alliacea*). *Materials Science in Semiconductor Processing* [online]. 2016, **53**, 79–83. ISSN 13698001. Dostupné z: doi:10.1016/j.mssp.2016.06.009
- [8] Hematite. *mindat.org* [online]. Dostupné z: <https://www.mindat.org/min-1856.html>
- [9] JOSE VARGHESE, R., Nkosingiphile ZIKALALA, El Hadji Mamour SAKHO a Oluwatobi S. OLUWAFEMI. Green synthesis protocol on metal oxide nanoparticles using plant extracts. In: *Colloidal Metal Oxide Nanoparticles* [online]. B.m.: Elsevier, 2020 [vid. 2019-11-02], s. 67–82. ISBN 978-0-12-813357-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813357-6.00006-1
- [10] Magnetite. *mindat.org* [online]. Dostupné z: <https://www.mindat.org/min-2538.html>

- [11] AWWAD, Akl M. a Nidá M. SALEM. A Green and Facile Approach for Synthesis of Magnetite Nanoparticles. *Nanoscience and Nanotechnology*. 2012, **2**(6), 208–213. ISSN 2163-2588.
- [12] VENKATESWARLU, Sada, B. NATESH KUMAR, C.H. PRASAD, P. VENKATESWARLU a N.V.V. JYOTHI. Bio-inspired green synthesis of Fe₃O₄ spherical magnetic nanoparticles using *Syzygium cumini* seed extract. *Physica B: Condensed Matter* [online]. 2014, **449**, 67–71. ISSN 09214526. Dostupné z: doi:10.1016/j.physb.2014.04.031
- [13] PRASAD, Kollur Shiva, Alakananda PATRA, Govindaraju SHRUTHI a Shivamallu CHANDAN. Aqueous Extract of *Saraca indica* Leaves in the Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles: Finding a Way towards Going Green. *Journal of Nanotechnology* [online]. 2017, **2017**, 1–6. ISSN 1687-9503, 1687-9511. Dostupné z: doi:10.1155/2017/7502610
- [14] ALLAKER, Robert Patrick. Nanoparticles and the Control of Oral Biofilms. In: *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry* [online]. B.m.: Elsevier, 2013 [vid. 2020-05-06], s. 203–227. ISBN 978-1-4557-3127-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-4557-3127-5.00010-6
- [15] Tenorite. *mindat.org* [online]. Dostupné z: <https://www.mindat.org/min-3912.html>
- [16] KUMAR, Brajesh, Kumari SMITA, Luis CUMBAL, Alexis DEBUT a Yolanda ANGULO. Biofabrication of copper oxide nanoparticles using Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) fruit and leaf. *Journal of Saudi Chemical Society* [online]. 2017, **21**, S475–S480. ISSN 13196103. Dostupné z: doi:10.1016/j.jscs.2015.01.009
- [17] ABBOUD, Y., T. SAFFAJ, A. CHAGRAOUI, A. EL BOUARI, K. BROUZI, O. TANANE a B. IHSSANE. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONPs) produced using brown alga extract (*Bifurcaria bifurcata*). *Applied Nanoscience* [online]. 2014, **4**(5), 571–576. ISSN 2190-5509, 2190-5517. Dostupné z: doi:10.1007/s13204-013-0233-x
- [18] DUMAN, Fatih, Ismail OCSOY a Fatma Ozturk KUP. Chamomile flower extract-directed CuO nanoparticle formation for its antioxidant and DNA cleavage properties. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2016, **60**, 333–338. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2015.11.052
- [19] KUMAR, P. P. N. Vijay, U. SHAMEEM, Pratap KOLLU, R. L. KALYANI a S. V. N. PAMMI. Green Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using Aloe vera Leaf Extract and Its Antibacterial Activity Against Fish Bacterial Pathogens. *BioNanoScience* [online]. 2015, **5**(3), 135–139. ISSN 2191-1630, 2191-1649. Dostupné z: doi:10.1007/s12668-015-0171-z
- [20] SUTRADHAR, Prasanta, Mitali SAHA a Debasish MAITI. Microwave synthesis of copper oxide nanoparticles using tea leaf and coffee powder extracts and its antibacterial activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry* [online]. 2014, **4**(1), 86. ISSN 2008-9244, 2193-8865. Dostupné z: doi:10.1007/s40097-014-0086-1

- [21] MARUTHUPANDY, Muthuchamy, Yong ZUO, Jing-Shuai CHEN, Ji-Ming SONG, He-Lin NIU, Chang-Jie MAO, Sheng-Yi ZHANG a Yu-Hua SHEN. Synthesis of metal oxide nanoparticles (CuO and ZnO NPs) via biological template and their optical sensor applications. *Applied Surface Science* [online]. 2017, **397**, 167–174. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2016.11.118
- [22] SANGEETHA, Gunalan, Sivaraj RAJESHWARI a Rajendran VENCKATESH. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin* [online]. 2011, **46**(12), 2560–2566. ISSN 00255408. Dostupné z: doi:10.1016/j.materresbull.2011.07.046
- [23] NAGAJYOTHI, P.C., T.N. MINH AN, T.V.M. SREEKANTH, Jae-il LEE, Dong JOO LEE a K.D. LEE. Green route biosynthesis: Characterization and catalytic activity of ZnO nanoparticles. *Materials Letters* [online]. 2013, **108**, 160–163. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2013.06.095
- [24] FAKHARI, Shabnam, Mina JAMZAD a Hassan KABIRI FARD. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison. *Green Chemistry Letters and Reviews* [online]. 2019, **12**(1), 19–24. ISSN 1751-8253, 1751-7192. Dostupné z: doi:10.1080/17518253.2018.1547925
- [25] ANKU, William W., Samuel O.B. OPPONG a Penny P. GOVENDER. Bismuth-Based Nanoparticles as Photocatalytic Materials. In: Ying ZHOU, Fan DONG a Shengming JIN, ed. *Bismuth - Advanced Applications and Defects Characterization* [online]. B.m.: InTech, 2018 [vid. 2019-11-12]. ISBN 978-1-78923-262-2. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.75104
- [26] LA, Jing, Ying HUANG, Genxiang LUO, Junling LAI, Chunsheng LIU a Gang CHU. Synthesis of Bismuth Oxide Nanoparticles by Solution Combustion Method. *Particulate Science and Technology* [online]. 2013, **31**(3), 287–290. ISSN 0272-6351, 1548-0046. Dostupné z: doi:10.1080/02726351.2012.727525
- [27] RAMACHANDRAN, Saranya a Arumugam SIVASAMY. Synthesis of nanocrystalline bismuth oxide and its visible photocatalytic activity in the degradation of an organic dye. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry* [online]. 2018, **48**(4–5), 225–232. ISSN 2470-1556, 2470-1564. Dostupné z: doi:10.1080/24701556.2018.1504071
- [28] VARDHAN, P. Vivek a Lata I. SHUKLA. Gamma irradiation of medicinally important plants and the enhancement of secondary metabolite production. *International Journal of Radiation Biology* [online]. 2017, **93**(9), 967–979. ISSN 0955-3002, 1362-3095. Dostupné z: doi:10.1080/09553002.2017.1344788
- [29] HYSON, Dianne A. A Comprehensive Review of Apples and Apple Components and Their Relationship to Human Health. *Advances in Nutrition* [online]. 2011, **2**(5), 408–420. ISSN 2161-8313, 2156-5376. Dostupné z: doi:10.3945/an.111.000513
- [30] HERRERA-BECERRA, R., J. L. RIUS a C. ZORRILLA. Tannin biosynthesis of iron oxide nanoparticles. *Applied Physics A* [online]. 2010, **100**(2), 453–459. ISSN 0947-8396, 1432-0630. Dostupné z: doi:10.1007/s00339-010-5903-x

- [31] YASHIN, Alexandr Ya, Boris V. NEMZER, Emilie COMBET a Yakov I. YASHIN. Determination of the Chemical Composition of Tea by Chromatographic Methods: A Review. *Journal of Food Research* [online]. 2015, **4**(3), 56. ISSN 1927-0895, 1927-0887. Dostupné z: doi:10.5539/jfr.v4n3p56
- [32] KHOKHAR, S. a S. G. M. MAGNUSDOTTIR. Total Phenol, Catechin, and Caffeine Contents of Teas Commonly Consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2002, **50**(3), 565–570. ISSN 0021-8561, 1520-5118. Dostupné z: doi:10.1021/jf010153l
- [33] WOJDYŁO, Aneta, Jan OSZMIAŃSKI a Piotr LASKOWSKI. Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of New and Old Apple Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2008, **56**(15), 6520–6530. ISSN 0021-8561, 1520-5118. Dostupné z: doi:10.1021/jf800510j
- [34] VULIC, Jelena, Ljubo VRACAR a Zdravko SUMIC. Chemical characteristics of cultivated elderberry fruit. *Acta periodica technologica* [online]. 2008, (39), 85–90. ISSN 1450-7188. Dostupné z: doi:10.2298/APT0839085V
- [35] ASIIMWE, Savina, Anna-Karin Borg- KARLSSON, Muhammad AZEEM, Kamatenesi Maud MUGISHA, Agnes NAMUTEBI a Ndukui James GAKUNGA. Chemical composition and Toxicological evaluation of the aqueous leaf extracts of *Plectranthus amboinicus* Lour. Spreng. nedatováno, 10.
- [36] BHATT, Praveena, Gilbert Stanley JOSEPH, Pradeep Singh NEGI a Mandyam Chakravarthy VARADARAJ. Chemical Composition and Nutraceutical Potential of Indian Borage (*Plectranthus amboinicus*) Stem Extract. *Journal of Chemistry* [online]. 2013, **2013**, 1–7. ISSN 2090-9063, 2090-9071. Dostupné z: doi:10.1155/2013/320329
- [37] *Test method for Antibacterial Activity of Textile Materials: Parallel Streak*. B.m.: American Association of Textile Chemists and Colorists (AATCC). 2016
- [38] *Test method for Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of*. B.m.: American Association of Textile Chemists and Colorists (AATCC). 2012