

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta
Katedra fyzikální chemie



Příprava vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra a jejich využití, jakožto aditiv, v polymerních systémech

Bakalářská práce

Autor práce:	Matěj Fadler
Studijní program:	Chemie
Obor:	Nanomateriálová chemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí bakalářské práce:	RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.

Olomouc, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením RNDr. Jany Soukupové, Ph.D. Veškeré literární prameny a informace použité k vypracování této práce jsou v seznamu literatury, který je součástí této práce. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách.

V Olomouci dne.....

Podpis.....

Poděkování:

Rád bych poděkoval vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Janě Soukupové, Ph.D. za trpělivost, ochotu a odborné vedení práce. Nesmím zapomenout ani na ostatní zaměstnance katedry fyzikální chemie, kteří mi při bádání v laboratoři tu a tam poskytlí menší či větší pomoc. Dále bych rád poděkoval kamarádům, spolužákům, mé rodině, a především mé přítelkyni Kateřině Svobodové za obrovskou trpělivost a neutuchající podporu, bez které by tato práce vznikala jen velmi obtížně.

Bibliografická identifikace

Autor:	Matěj F Adler
Název práce:	Příprava vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra a jejich využití, jakožto aditiv, v polymerních systémech
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie UPOL
Vedoucí práce:	RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2020
Abstrakt:	<p>Cílem této bakalářské práce byla příprava vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra, jejich převedení do podoby prášku a následné využití při syntéze orientovaných polymerních vláken. Pro přípravu disperzí nanočástic stříbra byla zvolena metoda termálně indukované redukce dusičnanu stříbrného za přítomnosti polyethyleniminu, který v reakci plní roli jak redukčního činidla, tak i stabilizátoru. Následně byla otestována možnost vysušení disperzí za účelem získání nanočástic stříbra v podobě prášku. Disperze i prášky byly využity jakožto aditivum při výrobě orientovaných polymerních vláken z poly(D,L-laktid-ko-glykolidu) metodou elektrostatického zvlákňování. Tato vlákna byla následně podrobena testu antibakteriální aktivity.</p>
Klíčová slova:	Nanočástice stříbra, PEI, vysoce koncentrované disperze, PLGA, vlákna, elektrostatické zvlákňování
Počet stran:	63
Počet příloh:	0
Jazyk:	Český

Bibliographical identification

Author: Matěj F Adler

Title: Synthesis of Highly Concentrated Dispersions of Silver Nanoparticles and Their Application, in a Form of Additives, in Polymer Systems

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Physical Chemistry, Palacky University

Supervisor: RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.

Year of presentation: 2020

Abstract: The aim of this bachelor paper was the preparation of highly concentrated dispersions of silver nanoparticles, their transfer to a solid phase and their application, in a form of additives, in oriented polymer fibers. The dispersions of silver nanoparticles were synthesised by a hydrothermal method using silver nitrate as a silver precursor and polyethylenimine as a reducing and stabilizing agent. Consequentially, the dispersions were dried in order to obtain silver nanoparticles in a form of a powder. Both dispersions and powders were then used as additives in process of preparation of oriented poly(D,L-lactide-co-glycolide) fibers using an electrospinnig method. The antibacterial activity of these fibers was then tested.

Keywords: Silver nanoparticles, PEI, highly concentrated dispersions, PLGA, fibers, electrospinnig method

Number of pages: 63

Number of appendices: 0

Language: Czech

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Disperzní soustavy.....	8
2.2	Koloidní soustavy.....	8
2.2.1	Kinetické vlastnosti koloidních soustav.....	9
2.2.2	Optické vlastnosti koloidních soustav.....	10
2.2.3	Stabilita koloidních soustav.....	11
2.2.4	Metody přípravy lyofobních koloidních částic.....	15
2.3	Nanočástice stříbra.....	16
2.3.1	Příprava nanočástic stříbra.....	16
2.3.1.1	Obecná příprava nanočástic stříbra.....	17
2.3.1.2	Příprava vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra.....	20
2.3.2	Vlastnosti a využití nanočástic stříbra.....	21
2.3.2.1	Antibakteriální aktivita.....	21
2.3.2.2	Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie a další využití.....	24
2.3.3	Legislativa EU.....	24
2.3.3.1	Nařízení REACH a jeho úpravy.....	25
2.3.3.2	Nařízení CLP a nařízení PIC.....	26
2.3.3.3	Nařízení BPR a jeho úpravy.....	27
3	Experimentální část.....	29
3.1	Chemikálie.....	29
3.2	Přístrojové vybavení.....	29
3.3	Pracovní postupy.....	29
3.3.1	Příprava nanočástic stříbra.....	30
3.3.2	Sušení disperzí a příprava prášku.....	30
3.3.3	Příprava orientovaných vláken.....	31
3.3.4	Test antibakteriální aktivity.....	32
4	Výsledky a diskuse.....	33
4.1	Disperze a prášky nanočástic stříbra.....	33
4.1.1	Série 1 (1:4000).....	34
4.1.2	Série 2 (1:2000).....	39
4.1.3	Série 3 (1:3000).....	40
4.2	Orientovaná vlákna s nanočásticemi stříbra.....	46
5	Závěr.....	54
6	Summary.....	56
7	Literatura.....	58

1 Úvod

There's Plenty of Room at the Bottom. Tam dole je spousta místa. Dnes notoricky známá věta či název známé přednášky velmi známého vědce Richarda Feynmana. V roce 1959, kdy profesor Feynman s touto přednáškou o světě miniaturních částic a strojů přišel, ještě nezbudila mezi jeho kolegy vědci žádný rozruch. Na konci 20. století už ji ale znal skoro každý, kdo se ve vědeckých kruzích chemie nebo fyziky pohyboval. V té době totiž prožíval velký boom nový obor, jehož vznik právě Feynman ve své přednášce předpověděl. Tímto oborem byly nanotechnologie. A s nanotechnologiemi přišly i nanomateriály.

Jedním z patrně nejlépe prostudovaných materiálů využívaných v oblasti nanotechnologie je bezesporu stříbro. Aby také ne, když antimikrobiální účinky stříbra jsou známé po staletí. Říká se, že už staří Řekové věděli, že voda skladovaná ve stříbrných nádobách se jen tak nezkaží.¹ Navíc v nano měřítku jsou tyto antimikrobiální účinky ještě výraznější. Když k tomu přidáme ještě zajímavé optické a elektrické vlastnosti, dostaneme nanomateriál s velmi širokými možnostmi využití. S velkým využitím jde ale ruku v ruce nutnost výroby velkého množství nanočástic. Proto je důležité nalézt takovou metodu přípravy, která bude levná, snadno proveditelná, dobře ovladatelná a při které vznikne velké množství nanočástic v malé objemu disperzního prostředí. Mnoho vědců se tak v současné době věnuje přípravě vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra.

Jak už bylo zmíněno, díky významným antimikrobiálním účinkům nachází nanočástice stříbra široké využití v mnoha oblastech. Používají se při filtraci vody a vzduchu, najdeme je v kosmetice, prádle, nebo třeba v lékařských potřebách.^{2,3} Právě v lékařství mají potenciál využití v současnosti hojně studovaná polymerní nanovlákna. Testují se jejich aplikace v podobě obvazů nebo třeba v oblasti tkáňového inženýrství. Polymerní vlákna s přídavkem nanočástic stříbra by díky antimikrobiálním účinkům stříbra mohla být vhodným materiálem všude tam, kde je třeba zamezit nebezpečnému bujení bakterií a mikrobů.¹

2 Teoretická část

2.1 Disperzní soustavy

Svět nanomateriálů je neodmyslitelně spjat se světem disperzních soustav. Obzvlášť nanočástice kovů se velmi často připravují ve formě disperze, tento systém pak spadá do kategorie disperzních (konkrétně koloidních) soustav a lze u něj tedy pozorovat i příslušné fyzikálně-chemické jevy.

Disperzní soustava je systém složený ze dvou částí, a to disperzního prostředí (dispergens), ve kterém je rozptýlen disperzní podíl (dispersum) ve formě disperzních částic. Tento systém může být homogenní, pokud obsahuje dvě složky v jedné fázi (roztoky), nebo heterogenní, pokud obsahuje dvě fáze oddělené fázovým rozhraním. Soustavy lze také rozdělit na monodisperzní – obsahují stejně velké částice – a polydisperzní – obsahují částice různě velké.⁴⁻⁶

2.2 Koloidní soustavy

Koloidní soustavy jsou jednou ze tří kategorií, do kterých lze rozčlenit disperzní soustavy podle stupně disperzity, tedy velikosti disperzních částic. Hrubé disperze obsahují největší částice (přibližně nad 1 μm), analytické naopak nejmenší (přibližně pod 1 nm).⁵ Mezi těmito hodnotami (1 nm –1 μm) se pak pohybují velikosti částic koloidní disperze (obr. 1).⁵ Pro oblast nanomateriálů jsou nejdůležitější koloidní soustavy skládající se z kapalného disperzního prostředí a pevného disperzního podílu, ty nesou označení lyosoly. Lyosoly mohou být lyofobní a lyofilní. Lyofobní soustavy mají ostře vymezené fázové rozhraní mezi kapalnou a pevnou fází, protože pevná fáze se v té kapalně nerozpouští (nebo jen minimálně).⁷ Typickým příkladem jsou hydrosoly (to jsou lyosoly,



Obr. 1 Rozdělení disperzních soustav podle velikosti disperzních částic⁵

jejichž disperzní prostředí je voda)⁷ vzácných kovů, například stříbra. Naopak lyofilní soustavy mají fázové rozhraní širší a vznikají samovolným rozpouštěním pevného disperzního podílu v kapalném disperzním prostředí. Často jsou tvořeny vysokomolekulárními látkami.^{5,6}

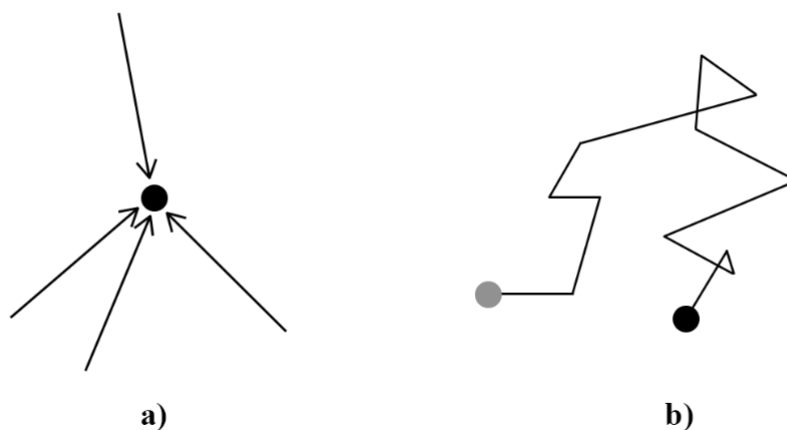
2.2.1 Kinetické vlastnosti koloidních soustav

Brownův pohyb

Molekuly disperzního prostředí podléhají tepelnému pohybu, díky kterému náhodně narážejí do koloidních částic (obr. 2a). Pokud je částice velká a hmotná (velikost v řádu mikrometrů), množství nárazů je větší a jejich působení se tak navzájem vyruší. Částice pak pouze vibruje, nebo u ní pohyb není vůbec pozorovatelný. V případě drobné koloidní částice je ale množství nárazů molekul disperzního prostředí menší a nárazy pak často působí na částici nerovnoměrně. Ta se v důsledku toho prostředím pohybuje ve směru výslednice sil těchto nárazů, dokud ji další nárazy molekul nevychýlí jiným směrem. V delším časovém horizontu se tak částice pohybuje prostředím po složité a nepravidelné dráze (obr. 2b). Brownův pohyb se projevuje především v difúzi a je též důležitý pro stabilitu koloidních soustav.^{5,7}

Difúze a osmóza

Projevem tepelného pohybu je samovolné vyrovnávání koncentračních rozdílů v různých částech systému. Toto vyrovnávání je realizováno přesunem disperzních (koloidních) částic do míst o nižší koncentraci, který se nazývá difúze. Rychlost difúze je nepřímo



Obr. 2 a) nárazy molekul rozpouštědla do koloidní částice, **b)** trajektorie pohybu koloidní částice ⁵

úměrná velikosti částice, v koloidních systémech je tedy nižší než například v analytických disperzích.^{6,7}

V případě, že jsou oblasti s rozdílnými koncentracemi odděleny polopropustnou membránou (membránou prostupnou pouze pro molekuly rozpouštědla), dochází k tzv. osmóze. Jde o samovolný tok molekul rozpouštědla z oblasti o nižší koncentraci přes polopropustnou membránu do oblasti o vyšší koncentraci částic. Stejně jako u difúze je i v případě osmózy výsledkem vyrovnávání rozdílných koncentrací roztoků, při difúzi ovšem cestují samotné disperzní částice, nikoliv molekuly rozpouštědla.^{5,6}

Sedimentace

Mají-li koloidní částice větší hustotu než dispergens, pohybují se vlivem působení gravitačního pole Země ve směru gravitační síly – klesají ke dnu například kádinky. Tento proces se nazývá sedimentace. Jak koloidní částice postupně sedimentují, zvyšuje se jejich koncentrace u dna nádoby, naopak u hladiny koncentrace klesá. Takto vzniklý koncentrační gradient ale vyvolává difúzi, která částice posunuje zpět do oblasti nízké koncentrace částic, tedy k hladině. Po určité době se tak v systému ustavuje sedimentační rovnováha, při které je rychlost sedimentace stejná jako rychlost difúze a rozložení koncentrací v soustavě se tak s časem nemění. Lépe sedimentují těžší částice, naopak menší (lehčí) částice často setrvávají díky difúzi v sedimentační rovnováze.⁴⁻⁶

Na částice může vedle gravitačního pole Země působit také odstředivé pole, které vytváří zařízení zvané odstředivka. Sedimentace je v tomto případě rychlejší, a to díky větším silám působícím na částice. Zároveň sedimentují i částice menších rozměrů. Toho lze využít při oddělování koloidních částic od disperzního prostředí nebo třeba při sedimentační analýze disperzí.^{4,5}

2.2.2 Optické vlastnosti koloidních soustav

Rozptyl záření

Světlo je elektromagnetické záření, vytváří kolem sebe elektromagnetické pole. Částice, na něž světlo dopadá, se tedy ocitají v elektromagnetickém poli, které v nich indukuje elektrický dipól. Tento indukovaný elektrický dipól pak emituje všemi směry záření o stejné vlnové délce, jakou mělo záření primární. Intenzitou takto rozptýleného záření se zabývá metoda zvaná nefelometrie, měřit lze také zeslabení intenzity záření prošlého vzorkem. Tato metoda se nazývá turbidimetrie. Detektor nefelometru bývá umístěn

kolmo k primárnímu záření, detektor turbidimetru naopak ve směru jeho paprsků (obr. 3).^{4,5,7}

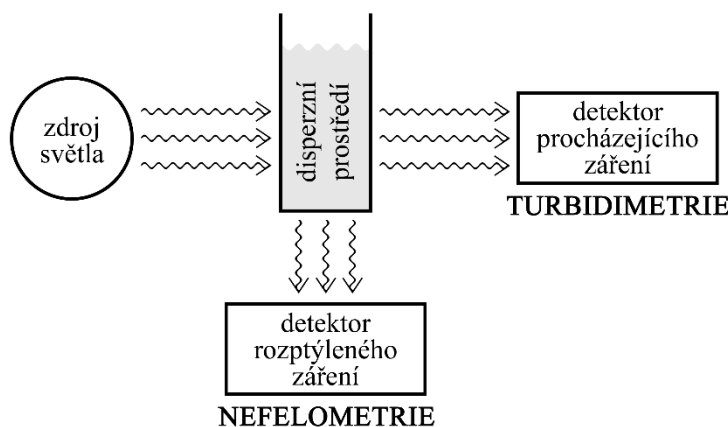
Pokud je primární záření koherentní (např. z laseru), dochází v systému k interferenci rozptýleného záření. A protože částice podléhají tepelnému pohybu, intenzita rozptýleného záření s časem kolísá. Z charakteru tohoto kolísání lze pak zjistit rychlost pohybujících se částic, a tedy jejich přibližnou velikost. Jedná se o tzv. dynamický rozptyl světla, ten je v chemii běžně využíván k charakterizaci koloidních částic.⁵

Absorpce záření

Kromě rozptýlení může být záření dopadající na částici také absorbováno. Dochází tak ke zvýšení vnitřní energie molekul, které fotony pohltily. Současně je zmenšena intenzita světla prošlého vzorkem. Absorpce je závislá na velikosti absorbujících částic – menší částice lépe pohlcují světlo o menší vlnové délce, větší částice zase světlo o větší vlnové délce.^{5,6}

2.2.3 Stabilita koloidních soustav

Vedle kinetické stability, která se týká chování koloidních částic v gravitačním poli, je pro stálost koloidních systémů v čase důležitá také stabilita agregátní, tedy tendence částic ke vzájemnému shlukování – agregaci. Nežádoucím spojování částic lze předejít stabilizací, typicky stabilizací elektrostatickou a stabilizací sterickou.⁷



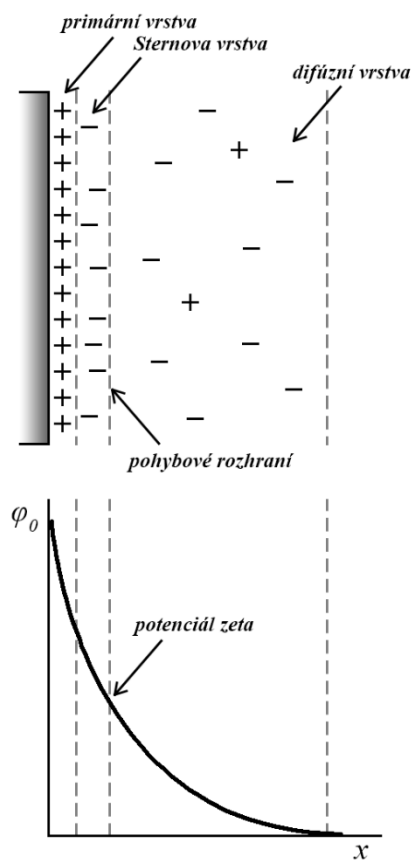
Obr. 3 Umístění turbidimetru a nefelometru vůči disperznímu prostředí a zdroji světla ⁷

Agregace částic

Agregace je jev, při němž se částice vlivem přitažlivých sil shlukují do větších a těžších celků, které pak mohou sedimentovat. Po prvotním přiblížení (způsobeném tepelným pohybem částic) na dostatečně malou vzdálenost se částice začínají vlivem přitažlivých sil přibližovat, až se nakonec spojí. Nejvýznamnějšími přitažlivými silami jsou zde Londonovy (neboli disperzní) síly, které lze popsat jako interakce mezi fluktuujícími dipóly indukovanými nerovnoměrným okamžitým rozmístěním elektronů v molekulách. Aby k agregaci částic nedocházelo, je třeba, aby síly repulzní převážily nad silami přitažlivými – částice je třeba stabilizovat.^{4,7}

Elektrostatická stabilizace

Lyofobní koloidní částice je možné stabilizovat pomocí tzv. elektrické dvojvrstvy (obr. 4).⁷ Ta je složená z nabitého povrchu koloidní částice (tzv. primární vrstva, vzniká buď adsorpcí iontů na částici, nebo ionizací funkčních skupin na povrchu částice)



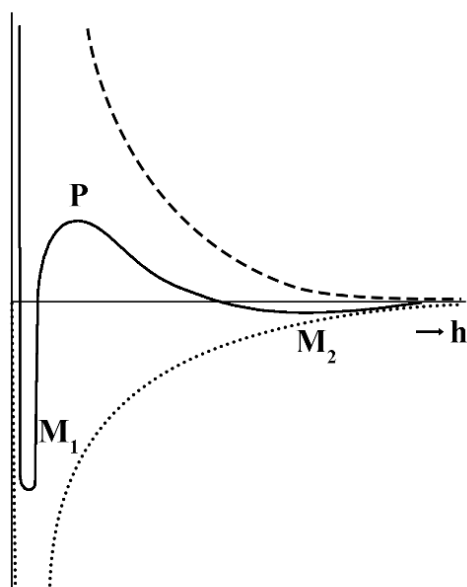
Obr. 4 Schéma elektrické dvojvrstvy a graf závislosti potenciálu na vzdálenosti od povrchu částice s vyznačením potenciálu zeta⁵

a k němu přilehlé vrstvy opačně nabitých iontů (tzv. Sternova vrstva). Tyto dvě vrstvy jsou vázány elektrostatickými a adsorpčními silami. Za Sternovou vrstvou se nachází tzv. difúzní vrstva. Ionty v difúzní vrstvě se při pohybu částice disperzním prostředím s částicí nepohybují, na rozdíl od silněji vázaných iontů Sternovy vrstvy. Tyto dvě vrstvy dělí tzv. pohybové rozhraní, v jehož vzdálenosti od povrchu částice existuje potenciál zeta. Jeho velikost je zásadní pro agregátní stabilitu částic a závisí především na charakteru absorbovaných iontů a iontové síle elektrolytu. S rostoucí koncentrací elektrolytu se elektrická dvojvrstva více a více stlačuje, čímž se zmenšuje i potenciál zeta. Menší elektrická dvojvrstva (a tedy menší potenciál zeta) znamená menší repulzi mezi částicemi, což může vést k jejich spojování a případné sedimentaci.^{4,5,7}

Při přiblížení dvou elektricky nabitých částic (koloidních částic s elektrickou dvojvrstvou) dochází k prostupování jejich difúzních vrstev a následně změně prostorového rozložení iontů. Při dalším přiblížení částic se zmenšuje prostor mezi nimi a ionty z jejich povrchu desorbují. Tento proces je energeticky náročný, proto se mu systém brání a částice se odpuzují. Odpuzování zároveň nastává také vlivem elektrostatické repulze mezi stejně nabitými protiionty difúzních vrstev. Pokud jsou odpudivé síly silnější než přitažlivé Londonovy síly, vzniká jakási energetická bariéra (maximum P, obr. 5), díky které se částice nespojí a vlivem tepelného pohybu se od sebe opět vzdálí. Pokud jsou ale odpudivé síly menší (například již zmíněným zvýšením koncentrace elektrolytu) než síly Londonovy, dochází ke spojování částic – koagulaci (minimum M₁, obr. 5). Minimální koncentrace elektrolytu, při níž již dochází ke koagulaci, se nazývá koagulační práh. V některých případech mohou být k sobě částice také vázány v poměrně velké vzdálenosti, vznikají flokuláty (mělké minimum M₂, obr. 5). Ty jsou spojeny jen velmi slabě a lze je od sebe opět oddělit – třeba jen intenzivním mícháním. „Soutěžení“ přitažlivých a odpudivých sil v závislosti na vzdálenosti částic ilustruje obrázek 5.^{4,5,7}

Sterická stabilizace

Vedle elektrostatické stabilizace lze koloidy stabilizovat i stericky, tedy přidávkem vhodné látky (typicky polymer), která se adsorbuje na povrch lyofobní koloidní částice. Zde je ale důležitá volba vhodného rozpouštědla. V případě, že je afinita polymeru

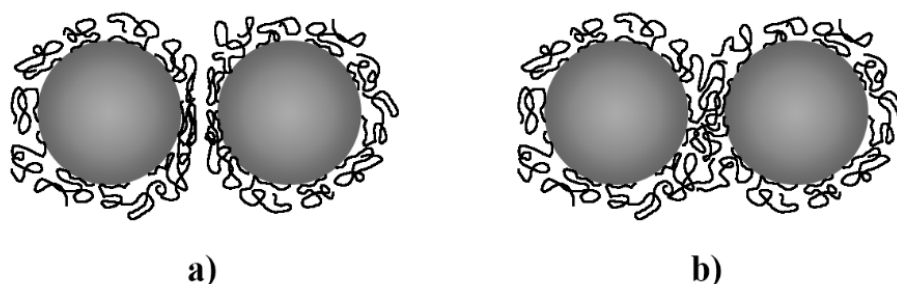


Obr. 5 Pro koloidní částice typický průběh závislosti interakční energie (plná čára) na vzdálenosti (h) mezi částicemi. Tečkovaná čára představuje přitažlivou energii, čárkovaná čára odpudivou energii.⁷

k rozpouštědлу větší než vzájemná afinita molekul polymeru, ochranné polymerní vrstvy na sousedních koloidních částicích se vzájemnému pronikání brání (obr. 6a). V takovém rozpouštědle mají navíc makromolekuly tendenci expandovat, což částice od sebe odpuzuje. Při použití nevhodného rozpouštědla naopak segmenty polymerů preferují vzájemný kontakt, proplétají se a částice se tak shlukují (obr. 6b). Rizikové je také použití polymeru o velmi vysoké molární hmotnosti, kdy může docházet k adsorpci více částic na jednu makromolekulu. Jedná se o tzv. můstkovou flokulaci.^{4,7}

V případě použití polymeru, který se na lyofobní částice neadsorbuje, existuje okolo těchto částic vrstva se sníženým obsahem makromolekul. Pokud se k sobě částice přiblíží, obsahuje mezera mezi nimi pouze molekuly disperzního prostředí. Takto vzniklý koncentrační gradient vyvolává jev podobný osmóze – rozpouštědlo uniká z mezery mezi částicemi a dochází tak k jejich přitahování. Jde o tzv. depleční flokulaci. V některých případech, zejména při použití vysokých koncentrací polymeru, může naopak docházet k depleční stabilizaci, kdy mezi částicemi vznikají odpudivé síly.^{4,7}

Sterická stabilizace je často využívána při přípravě disperzí nanočástic stříbra, zejména pokud jsou tyto disperze hodně koncentrované. V takovém případě už elektrostatická stabilizace nedokáže zabránit shlukování částic a na scénu musí přijít další látka, které se na částice přichytí a udrží je od sebe vzdálené. Těchto látek je celá řada,



Obr. 6 Vliv rozpouštědla na funkci makromolekul při sterické stabilizaci, **a)** vhodné rozpouštědlo, **b)** nevhodné rozpouštědlo, dochází ke shlukování částic ⁷

většinou jde o polymery a jejich deriváty. Jako příklad lze uvést kyselinu polyakrylovou (PAA), polyvinylpyrrolidon (PVP) nebo polyethylenimin (PEI), případně složitější kopolymery (např. PQ11). Mezi nepolymerní stabilizátory patří například kyselina dodecylbenzensulfonová (DBSA) nebo běžně používaný citrát sodný, který má zároveň i redukční účinky.⁸⁻¹³

2.2.4 Metody přípravy lyofobních koloidních částic

Koloidní částice, mezi které se řadí i nanočástice, je možné připravit mnoha metodami rozřazenými do dvou kategorií. První kategorie sdružuje *metody kondenzační* (neboli bottom-up metody), při kterých z menších entit (atomů a molekul) vznikají větší koloidní částice. Do druhé kategorie spadají *metody dispergační* (top-down), kdy koloidní částice vznikají z částic větších, makroskopických.^{5,14}

Metody kondenzační

Nanočástice (koloidní částice) připravené těmito metodami vznikají z atomů nebo molekul nacházejících se v roztocích (analytických disperzích). Z roztoku se mohou pevné částice vyloučit pouze tehdy, kdy je systém přesycený. Toho lze dosáhnout dvěma přístupy. Prvním z nich je *přeměna rozpuštěné látky*, čímž vzniká nová látka, která je v daném rozpouštědle nerozpustná a vysráží se v podobě koloidních částic. Jde většinou o srážecí reakce či (pro nanočástice kovů typické) redukce. Druhou možností je *změna vlastností prostředí*, tedy např. změna teploty nebo přidání rozpouštědla, v němž má daná látka menší rozpustnost.^{5,7}

Nejprve v přesyceném roztoku vznikají zárodky (během procesu zvaného nukleace), často náhodným shluknutím molekul látky. Pokud takový zárodek obsahuje dostatečný počet molekul, nerozpadne se a může začít růst. Protože růst zárodků je samovolný, při dostatku výchozí látky v systému by vznikaly velké částice. Proto je důležité buď omezit množství výchozí látky tak, aby zárodky narostly jen do velikosti koloidních částic, nebo využít sterického stabilizátoru, který zabrání dalším molekulám dostat se k částici. Možnost vhodné úpravy reakčních podmínek je konec konců velkou výhodou kondenzačních metod, lze tak měnit výsledný tvar, množství nebo velikost připravovaných nanočástic.^{4,7,14}

Metody dispergační

Jedná se o metody fyzikální, které jsou založeny na principu rozměňování makroskopického materiálu. Jednou z možností je jeho mechanické drcení v kulových mlýnech (mletí), při kterém ale dochází ke kontaminaci připravovaných částic otěrem materiálu použitých koulí. K rozmělnění materiálu lze využít i ultrazvuk, jehož působením se látka periodicky stlačuje a expanduje a dochází tak k jejímu roztrhání na kýžené částice. Další metodou je laserová ablace – energeticky bohaté fotony z laseru přehřívají úsek materiálu, což generuje vysoký tlak a dochází k vytrhávání drobných částic a atomů z daného materiálu. Ty se ovšem následně shlukují do podoby koloidních částic, laserovou ablaci tak lze zároveň zařadit i mezi metody kondenzační. I částice vzniklé dispergací jsou náchylné k agregaci a je tedy vhodné je stabilizovat.^{5,7,14}

2.3 Nanočástice stříbra

Nanočástice stříbra jsou významným členem nanosvěta. Globálně jsou využívány především pro své antibakteriální účinky, ve světě vědy a techniky pak nacházejí uplatnění jako látky modifikující povrch a přinášející antimikrobiální účinky, v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii, v oblasti elektroniky nebo biosenzorů. Stříbro a jeho nanočástice jsou mezi lidmi velmi populární a jejich přípravou a využitím se zabývá mnoho vědců a inženýrů po celém světě.^{15–19}

2.3.1 Příprava nanočástic stříbra

Se širokým využitím stříbrných nanočástic jde ruku v ruce snaha o nalezení vhodné metody přípravy samotných nanočástic tak, aby měly požadované a kontrolovatelné

vlastnosti, příprava nebyla nákladná a složitá a výtěžnost byla co největší. Postupů tedy vzniklo mnoho, drtivá většina z nich spadá do kategorie kondenzačních metod a spočívá v redukcí stříbrných iontů různými postupy.

2.3.1.1 Obecná příprava nanočástic stříbra

Tollensův proces

Tento proces byl dlouho používán jen k neelektrolytickému pokovování pevných objektů, na jejichž povrchu tak dochází ke vzniku charakteristického stříbrného zrcátka. Studie ale prokázala, že vhodnou úpravou reakčních podmínek je možné touto metodou syntetizovat i nanočástice. Lze k tomu použít i běžně dostupnou sadu určenou právě pro pokovování, která obsahuje tři již předpřipravené roztoky – roztok A (zdroj stříbra – AgNO_3 a NH_3), roztok B (aktivátor – NaOH a NH_3) a roztok C (redukční činidlo – formaldehyd se sorbitolem).²⁰

Roztok A je nutné nejprve aktivovat roztokem B, vzniklý roztok se smíchá s roztokem C a umístí se do ultrazvukové lázně. V průběhu několika jednotek až desítek minut vzniká disperze stabilních nanočástic stříbra o velikosti 20–50 nm. Reakci lze zjednodušeně popsat jako redukcí $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ roztokem RCHO za vzniku Ag a RCOOH. Reakční čas a velikost vzniklých nanočástic úzce souvisí s reakčními podmínkami, především s teplotou ultrazvukové lázně. S rostoucí teplotou je reakční čas kratší a nanočástice větší.²⁰

Místo aldehydu lze k redukcí stříbrné soli použít také redukující sacharidy. Komplex $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ je v takovém případě redukován například glukosou, galaktosou, maltosou nebo laktosou. Stejně jako při redukcí aldehydem je nutné použít aktivátor v podobě NaOH . Výsledkem je disperze nanočástic stříbra, jejichž velikost je v rozmezí 25–450 nm. Právě velikost nanočástic lze ovlivnit použitím různých sacharidů a různých koncentrací amoniaku – s rostoucí koncentrací amoniaku roste i průměrná velikost výsledných nanočástic.¹⁶

Turkevichova metoda

Citrátový ion k syntéze nanočástic poprvé použil John Turkevich se svým týmem. Tehdy využil jeho reduktivní schopnosti k přípravě sférických nanočástic zlata.²¹ Obdobným postupem je ale možné připravit i nanočástice stříbra. Roztok AgNO_3 se nejprve přivede k varu, následně se do něj po kapkách přidá roztok citrátu sodného. Roztok se poté zbarví

do žlutošeda a je vařen dalších 15 minut, aby redukce proběhla zcela. Citrátový ion zde působí nejen jako redukční činidlo, ale zároveň jako stabilizátor. Vzniklé nanočástice jsou relativně velké (50–100 nm).¹³

Borohydridová metoda

Tetrahydridoboritan sodný je silné redukční činidlo a je proto pro přípravu nanočástic kovů hojně využíván. Již v roce 1979 popsali Creighton, Blatchford a Albrecht ve své studii přípravu nanočástic stříbra právě redukcí touto anorganickou látkou.²² Roztok AgNO_3 se rychle smíchá s ledově studeným roztokem NaBH_4 a vzniklá směs je následně protřepána, tetrahydridoboritanu sodného je použito nadbytečné množství. Vzniká pro stříbro typická žlutá disperze s nanočásticemi velkými 1–50 nm, při některých pokusech bylo dokonce dosaženo velikosti 1–10 nm. Tato disperze je stabilní po dobu několika týdnů sama o sobě, lze ji ale také dodatečně stabilizovat – například citrátem sodným.^{22,23}

Redukce tetrahydridoboritanem sodným může posloužit pro přípravu zárodků nanočástic. V tomto případě je nutné použít nadbytek zdroje stříbra, molární poměr AgNO_3 ku NaBH_4 je 6:1. Roztok AgNO_3 se smíchá s ledově studeným roztokem NaBH_4 s NaOH , čímž vzniknou drobné zárodky nanočástic. Ty se poté společně s NaOH smíchají s dalším roztokem AgNO_3 a roztokem kyseliny askorbové v NaOH . Probíhá redukce Ag^+ iontů kyselinou askorbovou, vzniklé atomy Ag^0 se pak rovnoměrně nabalují na připravené zárodky a vznikají tak relativně monodisperzní nanočástice stříbra požadovaných rozměrů.²⁴

NaBH_4 využívá i Brustova metoda syntézy nanočástic. Brust se svým týmem představili nejprve syntézu ve dvoufázovém systému kapalina-kapalina, později vodnou fázi vynechali a přišli se syntézou přímo v organické fázi. Přestože obě syntézy byly poprvé demonstrovány na přípravě nanočástic zlata, lze jejich modifikovanou formou syntetizovat i nanočástice stříbra. AgNO_3 je v případě dvoufázové syntézy vytřepán z vodné fáze do organické fáze (toluen), k níž je poté přidán dodekanthiol, který systému zajišťuje stabilitu, a NaBH_4 jako redukční činidlo. V jednofázové syntéze vše probíhá v organické fázi, k ethanolickému roztoku AgNO_3 je přidán dodekanthiol a poté ethanolický roztok NaBH_4 . V obou případech je možné výslednou disperzi snadno vysušit a získat tak hnědý prášek nanočástic velkých asi 8 nm.^{25–27}

Polyolový proces

K přípravě nanočástic stříbra v organické fázi je možné využít také vícesytné alkoholy, polyoly. Například často používaný ethylenglykol v takové syntéze zastane roli jak rozpouštědla, tak i redukčního činidla. Polyolový proces lze využít pro přípravu sférických i krychlových nanočástic stříbra.^{9,28}

Sférické nanočástice připravil D. Kim se svým týmem pomocí dvou přístupů.⁹ V prvním z nich je dusičnan stříbrný, coby zdroj stříbrných iontů, rozpuštěn v ethylenglykolu společně s polyvinylpyrrolidonem (PVP), který má za úkol vzniklou disperzi stabilizovat. Za stálého míchání je tato reakční směs různou rychlostí zahřívána na teploty v rozmezí 100–150 °C po dobu 30 minut, čímž vznikají požadované nanočástice. Ty mohou být po přečištění ještě vysušeny. Velikost takto připravených nanočástic významně ovlivňuje zvolený teplotní program, nejmenší nanočástice (okolo 18 nm) vznikají při rychlém zahřívání (7,5 °C/min). Druhý přístup spočívá v postupném pumpování vodného roztoku AgNO₃ konstantní rychlostí do již předeřhátého ethylenglykolu s PVP. Vysoká reakční teplota v počátku syntézy znamená rychlou nukleaci, čímž je zajištěna úzká velikostní distribuce výsledných nanočástic.⁹

Dvojice vědců Y. Sun a Y. Xia připravila pomocí polyolového procesu nanočástice stříbra ve tvaru krychle. Opět jde o redukci AgNO₃ ethylenglykolem za přítomnosti PVP jako stabilizátoru. Výsledkem jsou stříbrné krychle s mírně zkosenými hranami a vrcholy, jejichž velikost je možné kontrolovat změnou reakčních podmínek (zejména reakčních časů) jednotlivých syntéz.²⁸

Laserová ablace

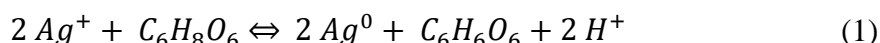
Nepříliš rozšířená, ovšem bezpochyby pozoruhodná, metoda přípravy nanočástic. Puls laserového paprsku způsobuje vytržení atomů z cílového materiálu (např. stříbrný plíšek), vzniká oblak těchto atomů a klastrů. V něm následně dochází k rychlému růstu nanočástic, dokud se tyto nerozptýlí do připraveného kapalného média. Tam se na nanočástice postupně nabalují připravené surfaktanty (např. SDS – dodecylsírán sodný) a růst se zpomaluje až zcela ustane. Takto připravené nanočástice jsou již stabilní, jejich velikost se pohybuje okolo 10 až 20 nm. Laserová ablace je jednou z fyzikálních metod přípravy nanočástic. Její širší uplatnění brání alespoň zčásti finanční zátěž v podobě nákladů na pořízení vhodného laseru, kterým chemické laboratoře běžně nedisponují.²⁹

2.3.1.2 Příprava vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra

Pro přípravu nanočástic ve větším množství, například pro průmyslové využití, je důležitá optimalizace tohoto výrobního procesu. Z ekonomických, ekologických i praktických důvodů je žádoucí, aby množství vstupních i odpadních látek (především rozpouštědla) bylo co nejnižší a množství vyrobených nanočástic bylo naopak co možná největší. Toho lze dosáhnout zvýšením koncentrací použitých reakčních činidel tak, aby i výsledná disperze nanočástic byla koncentrovaná. Vysoká koncentrace nanočástic v disperzi ale obvykle znamená tendenci k jejich shlukování, proto je nutné disperze vhodně stabilizovat.

Redukce kyselinou askorbovou

Kyselina askorbová je pro přípravu nanočástic stříbra běžně využívána. Její redukční schopnosti je možné využít k redukci AgNO_3 , jak ukazuje rovnice 1.



Zároveň je z rovnice zřejmé, že při reakci dochází k uvolňování protonů, a tedy snižování pH, což je pro správný průběh redukce důležité. Vznikají nanočástice velké asi 26 nm, jejichž shlukování zamezuje přidaný stabilizátor Daxad 19. Disperze je tak stálá i při vysoké koncentraci, ta při teoretické 100% výtěžnosti dosahuje hodnoty $0,3 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Disperzi lze ale i vysušit a následně redispersgovat v libovolném množství vody, je tak možné si výslednou koncentraci zvolit.³⁰

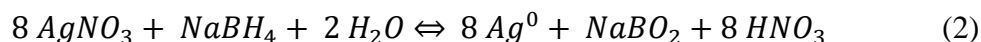
Hydrotermální syntéza s využitím PQ11

Touto metodou je možné připravit disperzi nanočástic stříbra o koncentraci až $5,88 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Zdrojem stříbra je zde dusičnan stříbrný, který se v podobě prášku přidává do vodného roztoku polyelektrolytu PQ11. Tato směs je následně zahřívána v autoklávu na teplotu $170 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut. Výsledné nanočástice jsou asi 10 nm velké, a i přes vysokou koncentraci nanočástice neagregují a disperze je stabilní i několik měsíců. Poly[(2-ethyl dimethylammonioethylmethakrylátethylsulfát)-ko-(1-vinylpyrrolidon)] PQ11 zde působí jako stabilizátor a zároveň jako redukční činidlo. Redukovat stříbrné ionty na kovové stříbro je schopná konkrétně jeho polyvinylpyrrolidonová část.¹¹

Redukce tetrahydridoboritanem sodným nebo hydrazinem s využitím PAA

Stříbrné ionty lze redukovat i tetrahydridoboritanem sodným (případně hydrazinem), v přítomnosti amonné soli kyseliny polyakrylové (amonná sůl PAA) je navíc možné

připravit i vysoce koncentrované disperze (až 40 hm%). Průběh reakce popisuje následující chemická rovnice:



Do ledově studeného roztoku AgNO_3 a amonné soli PAA se postupně přidává redukční činidlo, tedy NaBH_4 nebo NH_2NH_2 . V otázce stability takto připravených nanočástic hraje roli především molární hmotnost použitého polyelektrolytu (soli PAA) a jeho množství. Nejstabilnější nanočástice vychází z reakce, při níž je molární hmotnost polyelektrolytu 15 000 a poměr polyelektrolytu ku stříbrné soli je roven 1:2. Velikost takto připravených nanočástic nepřesahuje 10 nm.⁸

2.3.2 Vlastnosti a využití nanočástic stříbra

Stříbro má i v makroskopické podobě některé velmi užitečné vlastnosti, patří mezi ně bezpochyby antibakteriální účinky nebo třeba velmi dobrá vodivost. Ve světě nanočástic některé tyto vlastnosti stříbru zůstanou, některé se dokonce zvýrazní a jiné navíc přibudou. Výsledkem je všestranný materiál, který nachází využití v řadě oblastí vědy i každodenního života.

2.3.2.1 Antibakteriální aktivita

Přestože antimikrobiální účinky stříbra jsou známé už dlouhá staletí, je tato jeho vlastnost často skloňované téma zejména v posledních letech. Byla totiž prokázána rezistence některých druhů bakterií vůči antibiotikům, která jsou v současné medicíně hojně využívána. Pokud by trend vzrůstající rezistence přetrvával a antibiotika přestávala fungovat, bylo by nutné se poohlédnout po alternativních prostředcích, které by případně byly schopné antibiotika nahradit či doplnit. A zde by právě mohlo hrát významnou roli koloidní stříbro se svými antibakteriálními účinky. Nutno však dodat, že vedle rezistence bakterií vůči antibiotikům byla již pozorována také rezistence bakterií vůči nanočásticím stříbra.^{31,32}

Antimikrobiální aktivita nano stříbra se ovšem netýká jen bakterií, jako jsou dobře známé *Escherichia coli* nebo *Staphylococcus aureus*. Stříbro ve své nanoformě je také účinným biocidem virů a hub. Z virů jde například o HIV-1 způsobující onemocnění AIDS, nebo také HBV, který způsobuje hepatitidu B. Co se týče hub, jedná se například o *Aspergillus niger*, jenž má na svědomí černou plíseň na ovoci a zelenině, dále

o kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* používané v pekařství a pivovarnictví, nebo také kvasinky *Candida albicans* způsobující houbové infekce.^{16,33–36}

Přestože mikroorganismů podléhajících antimikrobiálním vlastnostem stříbra je nepřeberné množství, samotný mechanismus působení nanočástic stříbra na bakterie nebyl dosud zcela objasněn. Teorií je hned několik. První z nich je možnost uvolňování iontů Ag^+ z nanočástic stříbra v prostředí organismu, pravděpodobně reakcí s H_2O_2 , nebo oxidací kyslíkem. Vzniklé stříbrné ionty jsou toxické a jsou tak nejspíš zodpovědné za alespoň část antibakteriální aktivity stříbrných nanočástic. Mimo jiné interagují s proteiny dýchacího řetězce a transportními proteiny a ovlivňují životně důležité funkce buňky. Druhá teorie přisuzuje mechanismus toxicity vzniku reaktivní formy kyslíku (ROS, *Reactive Oxygen Species*), která může způsobit poškození buněčné membrány. Třetí teorie předpokládá přímé poškození buněčné membrány nanočásticemi, a tedy zvýšení její permeability, přičemž přesný mechanismus tohoto poškození není zcela jasný.^{37–42}

Antimikrobiální aktivitu nanočástic stříbra významně ovlivňuje mnoho faktorů. Jedná se především o vlastnosti samotných nanočástic, jako například velikost, tvar a použité surfaktanty, ale také o některé vlastnosti prostředí. Čím menší je velikost nanočástice, tím větší je podíl povrchových atomů k celkovému počtu atomů nanočástice a její toxicita je tak větší. Vedle velikosti ovlivňuje antimikrobiální aktivitu i tvar nanočástic. Při stejné ploše povrchu vykazují nanočástice trojúhelníkového tvaru vyšší toxicitu než nanočástice kulovitého, respektive podlouhlého tvaru. Dalším důležitým aspektem je stabilita nanočástic a s tím spojené použití surfaktantů. Nestabilní disperze agreguje a snižuje se tak její antibakteriální aktivita. Vhodné surfaktanty mohou systém stabilizovat a zajistit mu tak vysokou antibakteriální aktivitu, na druhé straně některé surfaktanty mohou bránit v uvolňování Ag^+ iontů z nanočástic a antibakteriální aktivitu tak utlumit. Velký vliv může mít také přítomnost halogenidových aniontů Cl^- , Br^- a I^- , které se stříbrnými ionty Ag^+ tvoří málo rozpustnou sůl AgX ($\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) čímž se snižuje jejich antibakteriální aktivita. Při vyšších koncentracích těchto halogenidových aniontů může ale docházet k tvorbě komplexních aniontů obecného složení AgCl_2^- a AgCl_3^{2-} , které opět toxicitu stříbra zvyšují.^{43–47}

Schopnost hubit bakterie a jiné mikroorganismy poskytuje nanočásticím stříbra obrovské možnosti využití. V databázích (Nanodatabase, Nanotechnology Products Database) lze v současné době nalézt stovky výrobků pocházejících z různých koutů světa, které obsahují nano stříbro. V oblasti medicíny jde například o dezinfekce, roušky,

respirátory, ortézy, zubní pasty a velmi rozšířené náplasti a obvazy, z textilních výrobků jsou to ponožky, spodní prádlo, ručníky, sportovní a podvlékačí oblečení nebo také povlaky na polštáře a deky. Nanočástice stříbra našly uplatnění i v kosmetice, najdeme je v šamponech, sprchových gelech, krémech a kondicionérech, ale i fénech, hřebenech nebo žehličkách na vlasy. Jako doplněk stravy se prodává stříbro koloidní, antimikrobiální schopnosti nano stříbra využívají také čističky vzduchu nebo vodní filtry. Nanočástice stříbra můžeme najít také v mycích a pracích prostředcích, nádobí, samočisticích a antibakteriálních nátěrových hmotách, ale i v pračkách nebo ledničkách.^{2,3}

S čím dál větším využitím nanočástic stříbra jdou ruku v ruce přibývající pochybnosti o jejich nezávadnosti ve vztahu k životnímu prostředí a lidskému zdraví. Podle studie E. Navarry jsou nanočástice stříbra toxické pro jednobuněčné sladkovodní řasy *Chlamydomonas reinhardtii*, výrazně totiž ovlivňují výnos jejich fotosyntézy. Do vody se mohou nanočástice dostat například praním běžně dostupného antibakteriálního prádla, které nanočástice obsahuje. Nanočástice v těchto výrobcích obvykle nejsou ukotvena silně a při každém praní se tak vymývají. Studie E. Navarry naznačuje, že obavy o životní prostředí jsou dozajista opodstatněné a nanočástice stříbra mohou být potenciálně toxické pro řadu jednoduchých vodních organismů.^{48,49}

Toxicita byla zkoumána i na savcích. Jedním ze vstupních kanálů nanočástic do těla jsou plíce, v podobě prachu je lze jednoduše vdechnout. Studie toxicity nanočástic přijatých touto cestou byla provedena na potkanech a ukázala, že inhalace nanočástic stříbra může být zdrojem zánětů v plicích a může mít vliv na jejich funkci. Na potkanech byla testována také toxicita nanočástic zpracovávaných trávicím traktem. Tento výzkum ruských vědců nepotvrdil toxické působení nanočástic stříbra na tkáně a orgány krys a ani změnu jejich chování či příjmu potravy, navíc bylo pozorováno i rychlé vyloučení nanočástic z organismu. Z dalších studií ale vyplývá, že při vyšších dávkách a delším časovém úseku expozice nanočástic se toxické působení objevuje – mohou ovlivňovat fungování jater a srdce a způsobovat záněty a úbytek tělesné hmotnosti. Zkoumána byla i toxicita stříbrných nanočástic vůči lidským pokožkovým keratinocytům, (HEK, nejběžnější pokožková buňka) a vůči prasečí pokožce. Samotné nanočástice stříbra nezpůsobily vyšší mortalitu pokožkových buněk v *in vitro* studii, toxická pro ně ale byla rezidua pocházející z přípravy disperze nanočástic. Prasečí pokožka při *in vivo* testu sice z makroskopického hlediska nejevila známky poškození nebo podráždění, mikroskopické

snímky ale ukázaly edémy buněk a ohniska perivaskulárních zánětů. Z výsledků *in vivo* studií toxicity na savcích lze odhadnout, jaký vliv mohou mít nanočástice stříbra i na lidský organismus a jakými cestami se do něj mohou dostat.^{50–54}

2.3.2.2 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie a další využití

Jedinečné optické vlastnosti nanočástic ušlechtilých kovů, mezi něž patří i stříbro, skýtají možnosti využití v oblasti analýzy vzorků a materiálů. Fotony z oblasti viditelného spektra excitují povrchové plazmony atomů stříbra, dochází k povrchové plasmonové rezonanci (rezonanci mezi zářením a povrchovými elektrony kovu). Nanočástice se polarizuje a na jejím povrchu a v blízkém okolí vzniká elektromagnetické pole. Toto pole výrazně zesiluje elektromagnetické pole primárního záření. Toho využívá povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS). Ramanův rozptyl, který je způsoben interakcí elektronů (v různých vibračních a rotačních hladinách) molekul zkoumaného vzorku s fotony záření, za běžných podmínek nastává jen zřídka. Pokud jsou ale tyto molekuly adsorbovány na povrchu nanočástic stříbra, jako je tomu v případě SERS, dochází k výše zmíněnému zesílení elektromagnetického pole a tím i častějšímu Ramanovu rozptylu. Intenzita vzniklého signálu je tak silnější až o 14 řádů. To je pro výzkum výhodné, výrazně se tak snižuje například minimální množství vzorku potřebné pro spolehlivou detekci Ramanova rozptylu.^{15,55}

Unikátní optické vlastnosti nanočástic stříbra našly kromě metody SERS uplatnění také v oblasti senzorů. Je možné například detekovat výpary organických látek (např. toluenu nebo chlorbenzenu). Jejich molekuly se adsorbují na připravené nanočástice stříbra nebo zlata, čímž se mění charakteristické UV/Vis spektrum těchto nanočástic. To lze detekovat jednoduše spektrofotometricky v reálném čase. Nanočástice stříbra lze také využít jako účinný katalyzátor. Díky velkému podílu povrchovým atomů jsou totiž částice s nano rozměry účinnější než stříbro makroskopické. Stříbro je také velmi dobrým vodičem. Z gumových vláken s nanočásticemi stříbra je možné zhotovit miniaturní elektrické obvody, které jsou navíc ohebné, a i při velké deformaci neztrácejí na vodivosti.^{17–19}

2.3.3 Legislativa EU

Nanočástice stříbra a výrobky je obsahující samozřejmě podléhají spoustě právních předpisů. V Evropském hospodářském prostoru, jenž zahrnuje Island, Lichtenštejnsko,

Norsko a všechny členské státy Evropské unie (EU), platí jednotné právní předpisy pro výrobu, dodávání a bezpečné používání chemických látek. Tyto předpisy, které vzešly z legislativního procesu Rady EU, Evropského parlamentu a Evropské komise, zastřešuje Evropská agentura pro chemické látky (ECHA). Ta má za úkol prosazovat bezpečné používání chemických látek, být nápomocna podnikům plnit platné právní předpisy v oblasti chemických látek a zajišťovat o nich informace. ECHA zastřešuje především čtyři nařízení EU.⁵⁶⁻⁵⁸

2.3.3.1 Nařízení REACH a jeho úpravy

Prvním z nich je nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 zvané REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, tedy registrace, hodnocení, povolování a omezování chemických látek). REACH stanovuje postupy pro shromažďování a hodnocení údajů o vlastnostech, a především rizicích chemických látek. Toto nařízení platí obecně pro všechny chemické látky, tedy nejen látky využívané v průmyslu nebo laboratořích, ale i látky používané ve výrobcích využívaných v každodenním životě. Proto se tímto nařízením musí řídit velká část podniků operujících v EU – jak výrobci a dovozci/vývozci, tak uživatelé chemických látek, kterých je celá řada. Společnost, která chce s určitou chemickou látkou nakládat, ji musí ve spolupráci s dalšími společnostmi registrovat u agentury ECHA. Ta po přijetí žádosti o registraci ohodnotí říditelnost rizik dané chemické látky. Na základě toho se poté rozhoduje o jejím povolení. Nanočástice stříbra jako jedny z mála nanomateriálů už prošly procesem hodnocení, konkrétně v roce 2015.^{59,60}

V lednu roku 2020 vstoupilo v platnost nařízení komise EU 2018/1881, kterým se nařízení REACH mění. Mimo jiné došlo k úpravě některých částí nařízení REACH tak, aby bylo možné zahrnout nanoformy do procesu registrace, hodnocení, povolování a omezování chemických látek. Jde především o úpravu procesů hodnocení s ohledem na některé specifické vlastnosti nanomateriálů a také zavedení definice samotné nanoformy. Podle nařízení 2018/1881 *...se nanoformou rozumí forma přírodní nebo vyrobené látky obsahující částice v nesloučeném stavu nebo jako agregát či aglomerát, ve kterém je u 50 % nebo více částic ve velikostním rozdělení jeden nebo více vnějších rozměrů v rozmezí velikosti 1 nm – 100 nm, odchylně rovněž včetně fullerenu, grafenových vloček a jedностěnných uhlíkových nanotrubic s jedním nebo více vnějšími rozměry pod 1 nm.*⁶¹ Tato definice (spolu s definicemi částice, aglomerátu a agregátu) vyplývá z doporučení

Evropské komise o definici nanomateriálů (2011/696/EU) z roku 2011, kde jsou definovány následující pojmy:

- Nanomateriál
„Nanomateriálem“ se rozumí přírodní materiál, materiál vzniklý jako vedlejší produkt nebo materiál vyrobený obsahující částice v nesloučeném stavu nebo jako agregát či aglomerát, ve kterém je u 50 % nebo více částic ve velikostním rozdělení jeden nebo více vnějších rozměrů v rozmezí velikosti 1 nm – 100 nm. Ve zvláštních případech a opravňují-li k tomu obavy týkající se životního prostředí, zdraví, bezpečnosti nebo konkurenceschopnosti, může být hranice 50 % ve velikostním rozdělení nahrazena hranicí mezi 1 a 50 %.⁶²
Příčemž fullereny, grafenové vločky a jednotěnné uhlíkové nanotrubičky s jedním nebo více rozměry pod 1 nm by měly být považovány za nanomateriály.⁶²
- Částice
„Částicí“ se rozumí malá část hmoty s definovanými fyzikálními hranicemi.⁶²
- Aglomerát
„Aglomerátem“ se rozumí shluk slabě vázaných částic nebo agregátů, jejichž výsledný vnější povrch je podobný součtu povrchů jednotlivých složek.⁶²
- Agregát
„Agregátem“ se rozumí částice složená z pevně vázaných nebo sloučených částic.⁶²

2.3.3.2 Nařízení CLP a nařízení PIC

Dalším nařízením spadajícím pod ECHA je nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1272/2008 CLP (Classification, Labelling and Packaging), které se zabývá jednotnou klasifikací, označováním a správným balením chemických látek za účelem ochrany zdraví a životního prostředí a zajištění jejich volného pohybu. Podle nařízení CLP mají být nebezpečné látky rozčleněny podle jejich nebezpečných vlastností do tříd a kategorií. S těmito vlastnostmi mají být poté seznámeni všichni ostatní aktéři v dodavatelském řetězci jasnou a srozumitelnou formou, například v podobě piktogramů nebo tzv. standardních vět.⁶³

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 649/2012 PIC (Prior Informed Consent, tedy nařízení o předchozím souhlasu) se zabývá dovozem a vývozem některých nebezpečných látek do a z EU. Nařízení se vztahuje jak na průmyslové chemické látky, pesticidy a biocidy, které lze za splnění podmínek vyvážet, tak i na chemické látky, jejichž

vývoz je zakázán. Nevztahuje se ovšem na chemické látky určené k výzkumu či analýze v zanedbatelném množství (maximálně 10 kg/rok) nebo na odpady, léčiva, radioaktivní materiály aj.⁶⁴

2.3.3.3 Nařízení BPR a jeho úpravy

Čtvrtým nařízením je nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 528/2012 o biocidních přípravcích (BPR, Biocidal Products Regulation). Toto nařízení se zaměřuje na ty přípravky, které obsahují účinné látky vykazující biocidní schopnosti. Biocidní přípravky mají za úkol chránit lidi, zvířata, materiály nebo předměty proti škůdcům a dalším škodlivým mikroorganismům. Před uvedením na trh musí být přípravky i účinné látky schváleny. Existují ale výjimky, biocidní přípravek lze uvést na trh například tehdy, kdy je účinná látka obsažená v tomto přípravku v programu přezkoumání. Dočasné povolení pak lze získat pro přípravek, jehož účinná látka je nová a její vlastnosti a rizika se teprve vyhodnocují. Podle nařízení BPR (příloha V) existuje 22 typů biocidních přípravků (product-type, PT), které jsou rozřazeny do čtyř hlavních oblastí (desinfekční prostředky, konzervanty, prostředky pro regulaci živočišných škůdců, jiné biocidní přípravky). Každá účinná látka může být použita v různých přípravcích, které pochopitelně spadají do různých hlavních oblastí a typů.^{57,65,66}

Mezi aktivní látky využitelné v biocidních přípravcích se řadí i stříbro, a to díky své antimikrobiální aktivitě. Stříbro bylo nařízením č. 1062/2014 zařazeno do programu přezkumu aktivních látek biocidních přípravků a aktuálně je ve stádiu hodnocení ve 4 typech biocidních přípravků, jak ukazuje Tabulka 1, sloupec „Ag makro“. Pod takto registrované aktivní látky ovšem nespádají jejich nanoformy, pokud to není výslovně uvedeno, a to kvůli možným odlišnostem ve fyzikálně-chemických vlastnostech mezi aktivní látkou a její nanoformou. Biocidní přípravky obsahující nanomateriály nejsou způsobilé pro zjednodušený postup schvalování a rizika pro zdraví lidí a zvířat a rizika pro životní prostředí takových přípravků se tak posuzují zvlášť. Rovněž zkoušky předkládané pro účel schválení přípravků obsahujících nanomateriály mohou být tomuto faktu přizpůsobeny, pokud jsou tato technická přizpůsobení řádně popsána a odůvodněna.^{66–70}

Stříbro ve formě nanomateriálu bylo do přezkumu účinných látek biocidních přípravků zařazeno až v roce 2019 prostřednictvím nařízení č. 2019/227. Oproti stříbru v makroformě ale nanoforma není přezkoumávána pro uplatnění v kategoriích PT05

(pitná voda) a PT11 (konzervační přípravky). Naopak pro nanoformu bylo nově zařazeno přezkoumání pro použití v kategorii PT09 (Konzervační přípravky pro vlákna, kůži, pryž a polymerní materiály), jedná se o *přípravky používané pro konzervaci vláknitých nebo polymerních materiálů, jako je kůže, pryž, papír nebo textilní výrobky potlačováním mikrobiální kontaminace. Tento typ přípravku zahrnuje biocidní přípravky, které působí proti usazování mikroorganismů na povrchu materiálů, čímž brání nebo předchází vzniku zápachu nebo přináší jiný užitek.*⁶⁶ Zároveň probíhá přezkoumání i v kategorii PT02, kam mimo jiné spadají i *přípravky používané jako součást textilií, tkanin, masek, nátěrů a dalších předmětů nebo materiálů, které dodávají ošetřeným předmětům dezinfekční vlastnosti.*⁶⁶ (viz tabulka 1).^{70,71}

V nařízení BPR je nanomateriál definován jako *přírodní nebo vyrobená účinná látka nebo jiná než účinná látka obsahující částice v nesloučeném stavu nebo jako agregát či aglomerát, ve kterém je u 50 % nebo více částic ve velikostním rozdělení jeden nebo více vnějších rozměrů v rozmezí velikosti 1 nm–100 nm.*⁷⁰ Tato definice nepochybně vychází z doporučení Evropské komise o definici nanomateriálů (2011/696/EU) z roku 2011, stejně jako definice nanoformy v nařízení komise 2018/1881 upravující REACH, která je uvedena výše.⁶²

Tabulka 1: Přehled vybraných typů biocidních přípravků (a jejich zařazení), ve kterých lze použít stříbro v „makro“ nebo „nano“ formě jako aktivní látku^{69,71}

Hlavní skupina	PT	Typ přípravku	Ag makro	Ag nano
1 - Desinfekční prostředky	PT02	Dezinfekční prostředky a algicidy, jež nejsou určeny k použití u člověka nebo zvířat	x	x
	PT04	Oblast potravin a krmiv	x	x
	PT05	Pitná voda	x	
2 - Konzervanty	PT09	Konzervační přípravky pro vlákna, kůži, pryž a polymerní materiály		x
	PT11	Konzervační přípravky pro chladírenské a zpracovatelské systémy používající kapaliny	x	

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie

K přípravě nanočástic stříbra byl použit dusičnan stříbrný (AgNO_3 , p.a., Fagron), polyethylenimin o molekulové hmotnosti 750 000 (PEI, Sigma-Aldrich, 50% vodný roztok) a deionizovaná voda. Při přípravě vzorků pro elektrostatické zvlákňování byl použit kopolymer poly(D,L-laktid-ko-glykolid) o molekulové hmotnosti 50 000 – 75 000 (PLGA, Sigma-Aldrich), tetrahydrofuran (THF, $\geq 99,9\%$, Sigma-Aldrich) a aceton ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich)

3.2 Přístrojové vybavení

Nedílnou součástí syntézy nanočástic stříbra byla magnetická míchačka s ohřevem (SI Analytics, Německo), vzorky byly sušeny v elektrické sušárně (Binder, USA). Velikost částic a polydisperzita byla měřena přístrojem Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK), který pracuje na principu dynamického rozptylu světla. UV-Vis spektra byla získána spektrofotometrem Specord S 600 (Analytik Jena AG, Německo), snímky byly pořízeny pomocí transmisního elektronového mikroskopu (TEM) na přístroji JEM 2010 (JEOL). TEM pracuje při urychlujícím napětí 80 až 200 kV a poskytuje zvětšení 1000x až 800000x a rozlišovací mez 0,19 nm. Jako zdroj elektronů je použit materiál LaB_6 . Z měření byly získány informace o velikosti, morfologii nanočástic. K přípravě vzorků pro elektrostatické zvlákňování byla použita třepačka MS 3 basic (IKA, Německo), v procesu samotného zvlákňování pak stříkačková pumpa NE-1000 (New Era Pump Systems, USA), rotátor SB3 (Stuart, UK) a zdroj vysokého napětí (Gamma High Voltage Research, USA). Charakterizovány byly skenovacím elektronovým mikroskopem typu HITACHU SU 6600.

Analýza transmisním elektronovým a skenovacím elektronovým mikroskopem byla provedena v Regionálním centru pokročilých technologií a materiálu pod záštitou Univerzity Palackého v Olomouci.

3.3 Pracovní postupy

3.3.1 Příprava nanočástic stříbra

Příprava nanočástic spočívala v termálně indukované redukci dusičnanu stříbrného (AgNO_3) za přítomnosti stabilizátoru polyethyleniminu (PEI). Zásobní roztok AgNO_3 o koncentraci $0,4 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ byl každý den připraven čerstvý, a to v množství 50 ml. Z tohoto zásobního roztoku byly následně ředěním připravovány roztoky pro jednotlivé syntézy. PEI byl dodán v podobě velmi viskózního 50% vodného roztoku. Z něj byl připraven zásobní roztok o koncentraci $5\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, se kterým už se pracovalo snáze a mohl tak být dále ředěn. Nejvyšší koncentrace PEI, při které viskozita roztoku polymeru ještě umožňovala úspěšnou syntézu za daných podmínek, byla experimentálně stanovena na $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Takto koncentrovaný roztok polymeru byl tedy použit pro jednotlivé syntézy disperzí.

Při samotné syntéze bylo nejprve zvolené množství vodného roztoku PEI o koncentraci $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ napipetováno do varné baňky s kulatým dnem, která byla umístěna na vodní lázni. Za stálého míchání byl roztok PEI pod zpětným chladičem temperován na teplotu $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Do vyhřátého roztoku PEI byl následně za stálého míchání rychlostí 800 rpm (800 otáček za minutu) mikropipetou přikapáván roztok AgNO_3 tak, aby výsledný objem disperze byl vždy 20 ml. Takto připravená směs byla následně za stálého míchání (800 rpm) 30 minut zahřívána pod zpětným chladičem. Přípravy všech vzorků byly opakovány třikrát, aby mohla být použita metoda považována za reprodukovatelnou.

3.3.2 Sušení disperzí a příprava prášku

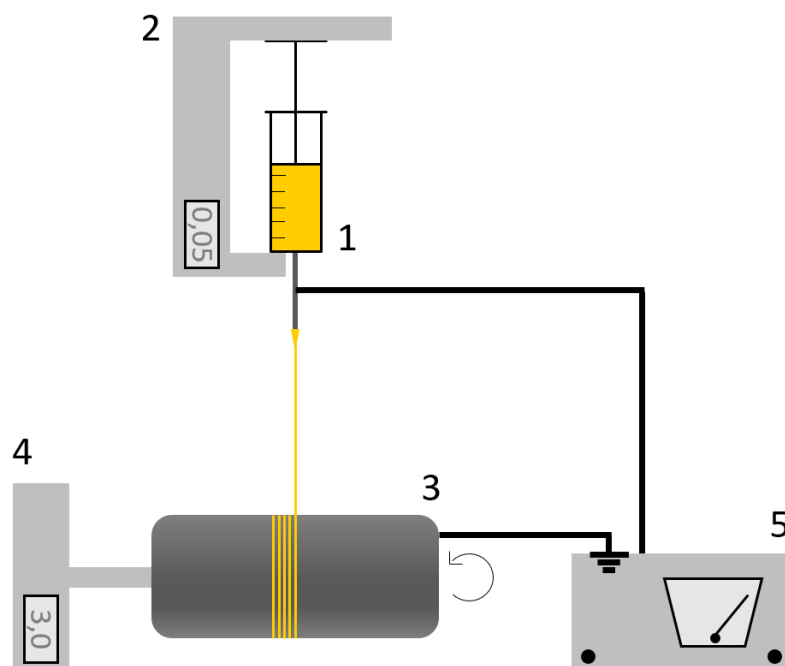
Vzorky disperzí byly nejprve naneseny na Petriho misky (4 ml disperze na jednu misku) tak, aby tvořily tenkou vrstvu. Misky se vzorky byly následně sušeny v elektrické sušárně po dobu 18 hodin při teplotě $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Takto vysušené vzorky byly poté z misek seškrabány skalpelovým ostřím, čímž vznikl hrubý prášek s nestejnými částčkami. Tento prášek byl proto ještě homogenizován v achátové třecí misce tak dlouho, dokud nebylo dosaženo jemné struktury.

3.3.3 Příprava orientovaných vláken

Vzorky pro přípravu orientovaných vláken elektrostatickým zvlákňováním byly připraveny následovně. Do směsi rozpouštědel THF a acetonu (v poměru 1:1) byly nejprve přidány nanočástice stříbra v podobě prášku, nebo disperze. V případě přidání disperze byl objem rozpouštědel zmenšen o objem přidané disperze, aby výsledná koncentrace PLGA byla vždy stejná (bez tohoto opatření by bylo kapalné složky příliš a polymerní roztok by nemusel být dobře zvlákňitelný). Pokud byly použity nanočástice v práškové podobě, byly tyto nejprve v rozpouštědlech rozvířeny pomocí ultrazvukové lázně. Do směsi nanočástic s rozpouštědly byly až poté přidány krystalky PLGA. Směs byla promíchávána třepačkou vždy do druhého dne, tedy alespoň 16 hodin, aby se krystalky PLGA zcela rozpustily a vzniklý viskózní roztok se dobře promíchal.

Schéma samotného elektrostatické zvlákňování je vyobrazeno na obr. 7. Roztok PLGA s nanočásticemi stříbra byl nejprve vpraven do injekční stříkačky, která byla následně opatřena kovovou jehlou. Stříkačka byla poté umístěna do pumpy, která zajišťuje rovnoměrné dávkování vzorku. Pod injekční stříkačkou se vzorkem se nacházel vlastnoručně vyrobený kolektor – válec obalený vodivou hliníkovou folií, který byl díky rotátoru schopen se otáčet. K jehle injekční stříkačky byl připojen kladný pól zdroje vysokého napětí, válcový kolektor byl uzemněn. Po zapnutí zdroje vysokého napětí vzniká elektrostatické pole, kapka polymerního roztoku na špičce jehly se díky tomu formuje do tvaru tzv. Taylorova kužele, ze kterého vychází vlákno. To putuje k uzemněnému otáčejícímu se kolektoru a navíjí se na něj.

Nejlépe příprava vláken probíhala při konkrétních parametrech – použité napětí bylo 10 kV, polymerní roztok byl dávkován rychlostí 0,05 ml/hod. Válcový kolektor o průměru 4 cm se otočil třikrát za minutu. Tyto parametry byly tedy použity při přípravě vláken pro testování antibakteriální aktivity a pro charakterizaci pomocí SEM.



Obr. 7 Schéma přípravy orientovaných vláken elektrostatickým zvlákňováním.
 1 – injekční stříkačka se vzorkem a jehlou, 2 – pumpa, 3 – otočný kolektor,
 4 – rotátor, 5 – zdroj vysokého napětí

3.3.4 Test antibakteriální aktivity

Test antibakteriální aktivity orientovaných vláken z PLGA byl proveden v laboratořích Oddělení mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc pomocí modifikované agarové difúzní metody (ISO 20645), která se používá ke stanovení antibakteriálního účinku tkanin. Použity byly kmeny gramnegativních bakterií *Escherichia coli* CCM 3954 a grampozitivních bakterií *Staphylococcus aureus* CCM 4223.

Vzorky vláken v podobě čtverečků velkých 3x3 cm byly nejprve omyty 70% ethanolem a přiloženy na Mueller-Hintonův agar inokulovaný bakteriální suspenzí o hustotě inokula odpovídající 0,5 MFU (McFarland unit). Kultivace bakterií probíhala 24 hodin při teplotě 35 °C. Poté byly odečteny inhibiční zóny kolem vzorků a byl vyhodnocen bakteriální růst pod vzorkem.

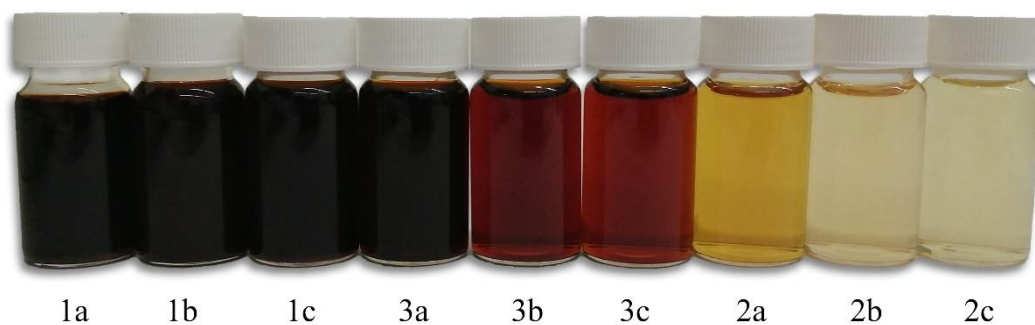
4 Výsledky a diskuse

V rámci této bakalářské práce byly syntetizovány disperze a prášky nanočástic stříbra, které byly charakterizovány pomocí DLS a UV-Vis spektrofotometrie, snímky nanočástic byly pořízeny transmisním elektronovým mikroskopem. Připravená orientovaná polymerní vlákna byla podrobena testu antibakteriální aktivity a jejich snímky pořízeny skenovacím elektronovým mikroskopem.

4.1 Disperze a prášky nanočástic stříbra

Prvním cílem výzkumu bylo připravit disperzi, která je *vysoce koncentrovaná* (v malém objemu disperze je velké množství nanočástic), ale zároveň *stabilní* (nedochází ke shlukování částic nebo jiné přeměně systému), a kterou lze *snadno převést do podoby prášku* (tzn. lze snadno vysušit, seškrábat, homogenizovat). Tyto tři vlastnosti přímo závisí na poměru látkových množství stabilizátoru PEI a zdroje stříbra, tedy množství AgNO_3 . Pro syntézu nanočástic stříbra v této bakalářské práci byly zvoleny poměry 1:4000, 1:2000 a dodatečně 1:3000 (PEI: AgNO_3), podle kterých jsou připravené disperze rozřazeny do příslušných sérií 1, 2, 3.

A protože při přikapávání roztoků AgNO_3 o velké koncentraci do reakční směsi docházelo k lokálnímu přesycování tohoto roztoku a vzniku bílé sraženiny AgNO_3 , byla otestována i možnost přidat raději méně koncentrovaný roztok AgNO_3 , ale ve větším objemu. Tyto disperze jsou v jednotlivých sériích označeny písmeny *a* (obj. poměr 1:1), *b* (1:3), *c* (1:4). Výsledkem je tedy devět disperzí – v každé ze tří sérií (lišících se poměrem látkových množství PEI a AgNO_3) jsou tři různé vzorky (vzájemně se lišící poměrem objemů roztoků PEI a AgNO_3). Fotografie těchto devíti disperzí je na obr. 8. Stálíci napříč všemi syntézami disperzí byla počáteční koncentrace roztoku PEI ($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), která nebyla zvolena náhodně. Jde o nejvyšší koncentraci PEI, při které se s tímto roztokem ještě dobře pracuje – při vyšších koncentracích je velmi viskózní. Vše o připravených disperzích, včetně informací o výsledných hmotnostních koncentracích nanočástic stříbra a informací o koncentracích zásobních roztoků PEI a AgNO_3 , je shrnuto v tabulce 2.



Obr. 8 Připravené disperze nanočástic stříbra

Tabulka 2: Seznam připravených disperzí a jejich charakteristika

Vzorek	$c(\text{PEI})$ ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)	$c(\text{AgNO}_3)$ ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)	Molární poměr PEI:AgNO ₃	Objemový poměr roztoků PEI:AgNO ₃	$c_m(\text{AgNPs})$ ($\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$)
1	a	10^{-4}	1:4000	1:1	21,57
	b	10^{-4}		1:3	10,79
	c	10^{-4}		1:4	8,63
2	a	10^{-4}	1:2000	1:1	10,79
	b	10^{-4}		1:3	5,39
	c	10^{-4}		1:4	4,31
3	a	10^{-4}	1:3000	1:1	16,18
	b	10^{-4}		1:3	8,09
	c	10^{-4}		1:4	6,47

Prášky nanočástic stříbra byly připraveny podle postupu uvedeného výše, k vysušení byla použita sušárna. Pokus o vysušení disperzí v exsíkátoru nebyl úspěšný. Vzniklé prášky byly redispergovány v deionizované vodě a podrobeny charakterizaci pomocí UV-Vis spektrofotometrie, DLS a TEM. Cílem bylo zjistit, jak dobře je možné prášky redispergovat a jestli vysoušením nedošlo k nežádoucím strukturním změnám ve vzorku.

4.1.1 Série 1 (1:4000)

Vzorky této série dobře splňovaly podmínku vysoké koncentrace. Vzorek 1a by při stoprocentní výtěžnosti redukce Ag⁺ iontů obsahoval 21,57 g/dm⁻³ nanočástic stříbra. Jak se ale ukázalo, u všech vzorků této série (tedy 1a, 1b a 1c) docházelo k vysrážení určitého množství přidaného dusičnanu stříbrného, který poté sedimentoval. To může být

způsobeno vysokým podílem AgNO_3 :PEI (4000:1), příliš malé množství PEI pravděpodobně nedostačuje ke zredukování veškerého AgNO_3 .

Ve věci převodu disperzí do podoby prášku se ovšem menší podíl PEI jevil jako výhoda. Doba sušení disperzí série 1 byla ze všech vzorků nejkratší, z Petriho misek bylo možné vygenerovaný film snadno seškrábnout a jejich krystalická podoba dovovala velmi dobré rozetření v achátové třecí misce. Výsledné prášky pak bylo možné zcela rozdispergovat v deionizované vodě a opět tak získat plnohodnotné disperze nanočástic stříbra. To dokazují i snímky z TEM, UV-Vis spektra a měření velikosti částic pomocí DLS. Nanočástice z prášku redispergované ve vodě mají obdobnou strukturu a velikost, jako ty v původní disperzi.

Po vizuální stránce byly disperze 1a, 1b a 1c prakticky nerozlišitelné, všechny měly ve výsledné koncentraci velmi tmavou hnědou barvu, po zředění pak barvu medově žlutou. Po vysušení byly tyto disperze hnědé, jak je vidět na obr. 9.

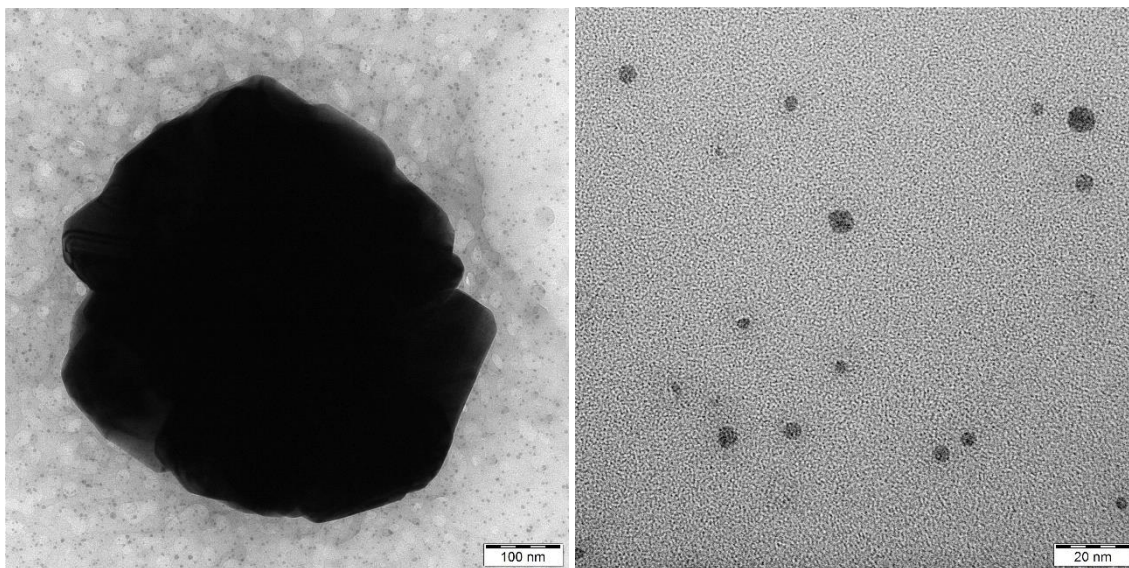
Měření velikosti částic pomocí DLS ukázala hodnoty shrnuté v tabulce 3. Tato metoda měření ovšem mnohdy vykazuje nepřesnosti, a i v tomto případě tomu nebylo jinak. Tyto nepřesnosti mohou mít na svědomí rozměrné nanočástice o velikosti stovek nanometrů, které ve všech disperzích objevilo snímkování TEM (obr. 10), přestože ve velmi malé míře. Převažují nanočástice výrazně menší, jejichž velikost je asi 5 nm.



Obr. 9 Vysušené nanočástice stříbra z disperzí série 1 na Petriho miskách

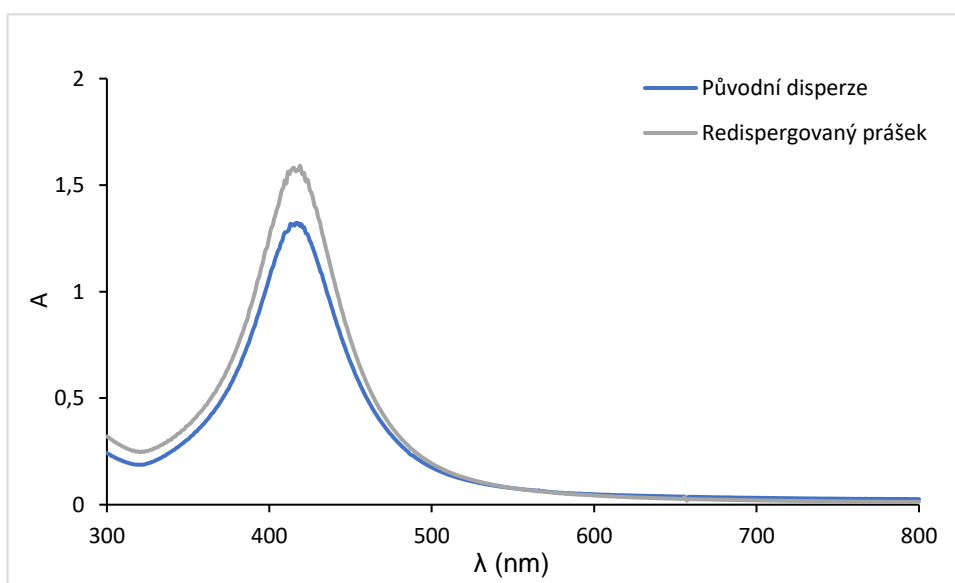
Tabulka 3: Modus velikostní distribuce částic v disperzích série 1 podle DLS

Vzorek	Velikost částic (nm)		
	původní disperze	redispergovaného prášku	
1	a	18,4	18,3
	b	9,5	33,1
	c	8,7	13,6

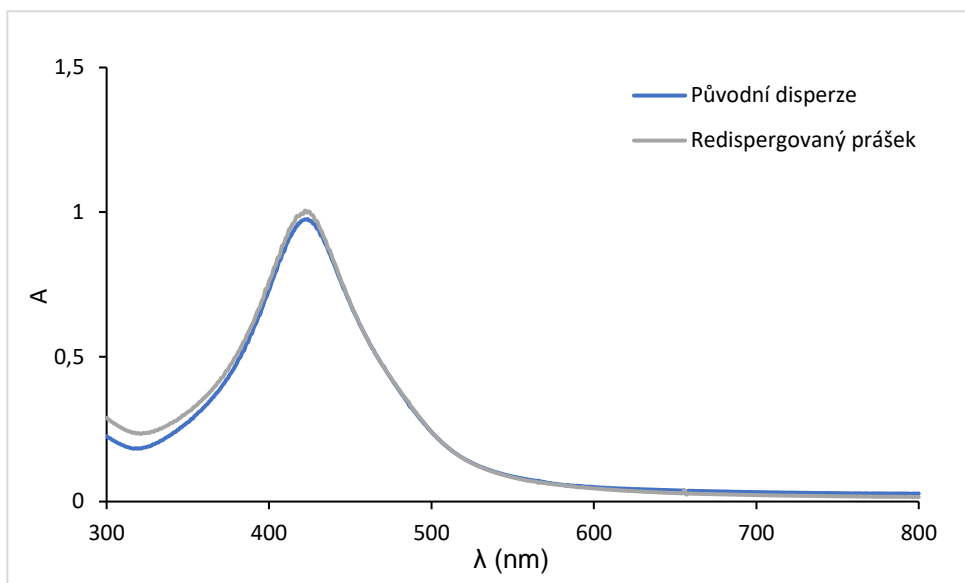


Obr. 10 TEM snímky nanočástic stříbra z disperze 1a. Vlevo rozměrná částice o velikosti stovek nm, vpravo pak detail malých nanočástic.

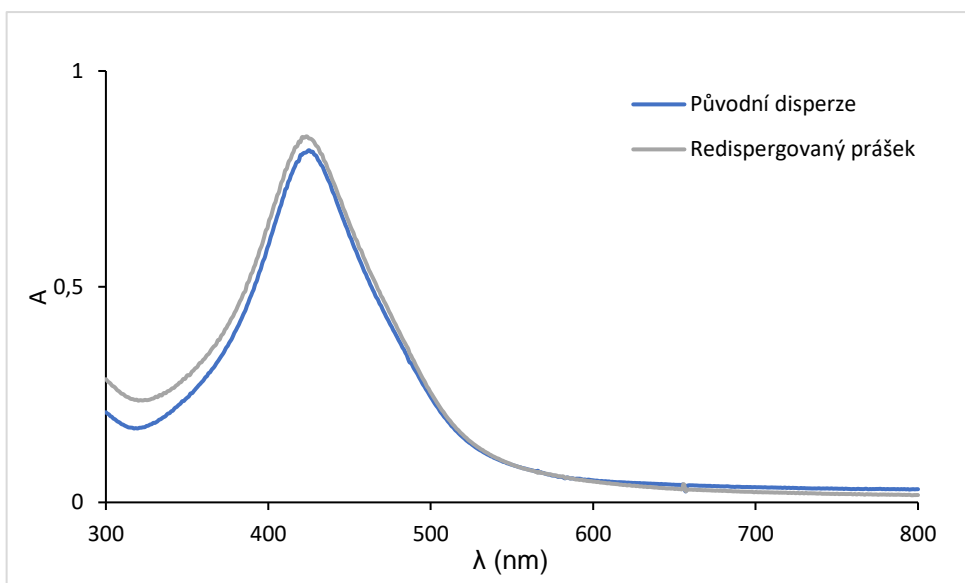
Jak už bylo zmíněno, nanočástice z prášku redispergované v deionizované vodě měly obdobnou strukturu a velikost jako nanočástice z disperze původní. To, že se velikost výrazně nezměnila, dokazují jak už zmíněné výsledky z DLS shrnuté v tabulce 3, tak také změřená UV-Vis spektra (obr. 11, 12 a 13). Na nich lze vidět, že vlnové délky absorpčních maxim obou křivek jsou stejné a na křivce redispergovaných prášků nevznikají ani sekundární peaky v oblasti vyšších vlnových délek, což by naznačovalo shlukování nanočástic. I snímky z TEM (obr. 14) potvrzují, že k tvorbě shluků nedocházelo a že malé nanočástice o velikosti okolo 5 nm se vyskytují i v disperzích z prášků. To platí pro všechny tři vzorky série 1.



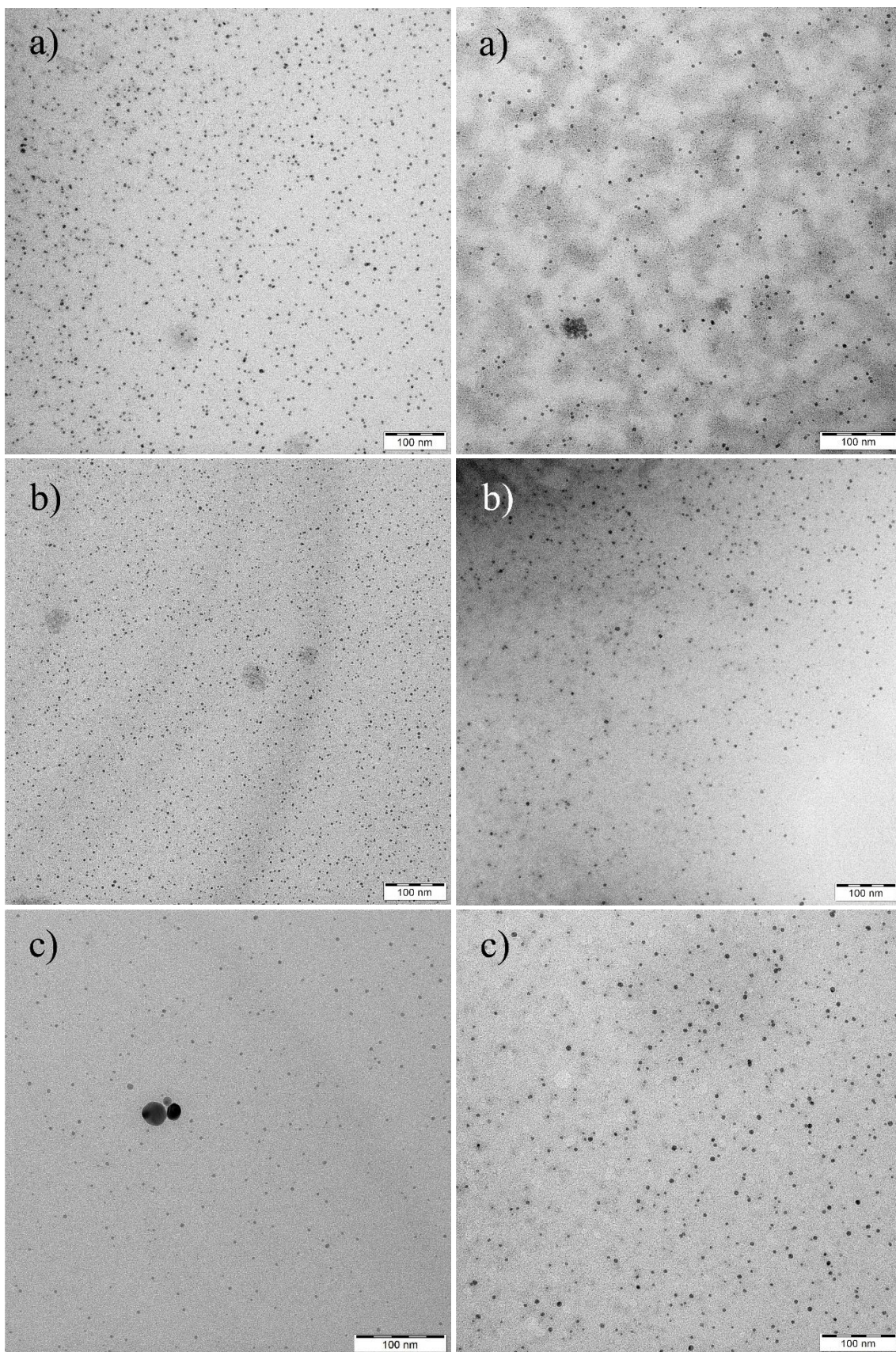
Obr. 11 UV-Vis spektrum vzorku 1a



Obr. 12 UV-Vis spektrum vzorku 1b



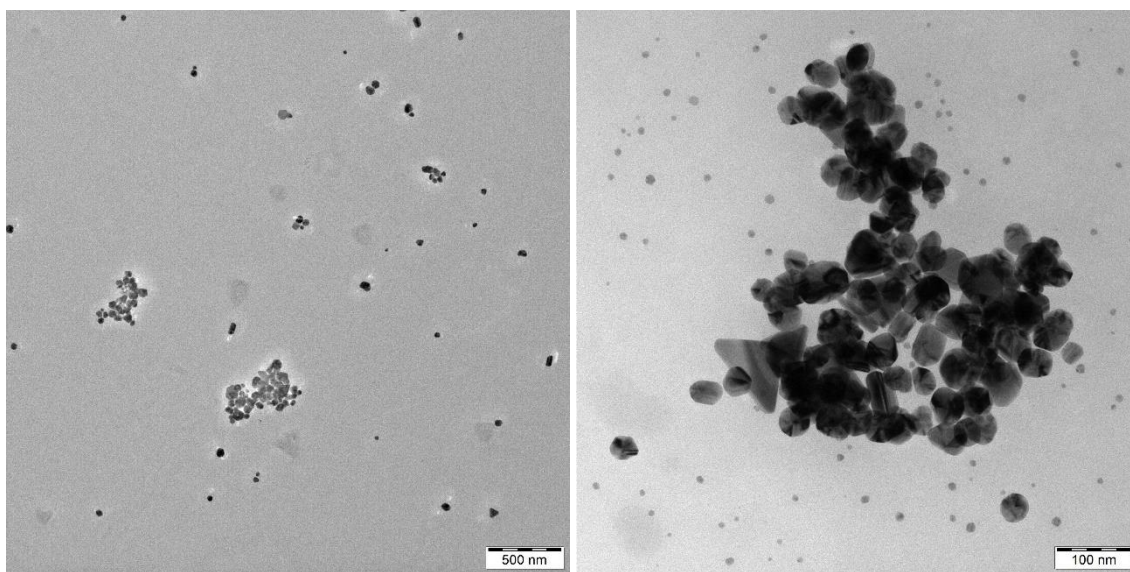
Obr. 13 UV-Vis spektrum vzorku 1c



Obr. 14 TEM snímky nanočástic stříbra **a)** vzorku 1a, **b)** vzorku 1b, **c)** vzorku 1c. V levém sloupci jsou snímky nanočástic z původních disperzí, v pravém pak snímky nanočástic z redispergovaných prášků

4.1.2 Série 2 (1:2000)

Tato série se díky vyššímu podílu PEI měla vyznačovat kompletním zredukováním Ag^+ iontů (ke kterému v případě série 1 nedošlo) a výbornou stabilitou. K vysrážení a sedimentaci nezreagovaného AgNO_3 zde skutečně nedocházelo, předpoklad stability se ovšem nepotvrdil. Přestože podíl PEI, který zde funguje jako stabilizátor, byl větší než v případě série 1 a výsledná koncentrace nanočástic stříbra byla ve srovnání se sérií 1 poloviční, nebyly vzorky série 2 stabilní. Všechny vzorky, tedy 2a, 2b a 2c, vykazovaly po měsíci od přípravy výraznou opalescenci – původně světle žluté disperze se zbarvily kovově šedým nádechem. Na snímcích z TEM (obr. 15) je vidět, že nanočástice stříbra v disperzích této série jsou často větších rozměrů a vytvářejí shluky. Oproti disperzím série 1 nebo i série 3 neobsahují disperze této série, soudě podle snímků z TEM, tak velké množství malých nanočástic o velikosti kolem 5 nm. Měření velikosti částic metodou DLS (tabulka 4) ovšem zásadní odchylky od disperzí jiných sérií neodhalilo.



Obr. 15 TEM snímky nanočástic stříbra ve vzorku 2c

Tabulka 4 Modus velikostní distribuce částic v disperzích série 2 podle DLS

Vzorek		Velikost částic v disperzi (nm)
2	a	5,3
	b	5,8
	c	7,9

Vedle nestability a poměrně nízké koncentraci disperzí této série je dalším problémem nemožnost převodu těchto disperzí do podoby prášku. Po vysušení byly vzorky 2a, 2b a 2c světle žluté (obr. 16), jejich struktura ovšem oproti vzorkům série 1 nebyla krystalická, ale plastická – připomínala spíše silikon či přírodní pryskyřici. Po seškrábnutí z Petriho misky tvořily vzorky dlouhé elastické pásky, které nebylo možné převést do podoby prášku. Příprava vzorků ze série 2 byla poté ještě dvakrát zopakována za účelem verifikace výsledku. I další dvě nově připravené várky vzorků vykazovaly identickou plasticitu připravených a vysušených vzorků, a tudíž vykazovaly nevhodné vlastnosti pro převod do podoby prášku.

4.1.3 Série 3 (1:3000)

Vzhledem k nedostatkům série 1 a série 2 bylo nutné připravit disperze v sérii třetí, které by byly stabilní, vysoce koncentrované a které by bylo možné snadno převést do podoby prášku. Pro tyto účely byl zvolen totožný postup jako při přípravě předešlých dvou sérií, jen poměr látkových množství PEI:AgNO₃ byl upraven na hodnotu 1:3000. Tento poměr, jak se ukázalo, byl pro přípravu disperzí opravdu nejvhodnější. Při přípravě vzorků této série (3a, 3b, 3c) nedocházelo k vysrážení a sedimentaci nadbytečného AgNO₃. Zároveň byly všechny disperze této série stabilní, ani po třech měsících se u nich neobjevily známky shlukování nanočástic nebo tvorby stříbrného zrcátka na stěnách vialek. Splněn byl i požadavek na vysokou koncentraci nanočástic stříbra v disperzích, a to zejména v případě vzorku 3a. V něm dosahovala hmotnostní koncentrace nanočástic stříbra



Obr. 16 Vysušené nanočástice stříbra z disperzí série 2 na Petriho miskách

hodnoty $16,18 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Tato disperze byla také vybrána jako nejvhodnější aditivum pro přípravu orientovaných polymerních vláken.

Také převedení do podoby prášku bylo snadno proveditelné, přestože vzorky série 1 byly k tomuto účelu ještě vhodnější. Je zřejmé, že s rostoucím podílem AgNO_3 v reakční směsi je vysušení, a především homogenizace vzorku snazší a je možné dosáhnout (v běžných laboratorních podmínkách) menších zrníček prášku. Vzorky série 3 byly po vysušení hnědé, v tenké vrstvě spíše žluté, (obr. 17) a bylo možné je seškrábnout skalpelovým ostrím. Vznikaly tak nestejně velké částice a šupinky, které bylo nutné homogenizovat v achátové třecí misce. Výsledný prášek měl světle hnědou barvu (obr. 18). Všechny připravené prášky (v sériích 1 a 3) byly velmi náchylné ke vzdušné vlhkosti (byly hyroskopické), už po několika dnech od přípravy docházelo i v uzavřené vialce ke slepování zrněk prášku a tvorbě lepkavé měkké hmoty. Proto bylo nutné připravit prášky vždy čerstvé.

Disperze 3a byla po vizuální stránce nerozeznatelná od disperzí série 1, v koncentrované podobě měla velmi tmavou hnědou barvu, zředěná byla medově žlutá. Disperze 3b a 3c byly světlejší, měly hnědou barvu. To souvisí pravděpodobně s nižšími koncentracemi vzorků 3b a 3c.

Ve všech vzorcích série 3 se, stejně jako v případě vzorků série 1, objevily jak nanočástice větší velikosti (okolo 500 nm), tak i velké množství nanočástic drobných, jejichž velikost se pohybovala okolo 5 nm (obr. 19).^{*} Výskyt rozměrných nanočástic ve vzorcích opět způsoboval nepřesnosti při měření velikosti částic pomocí DLS. Při opakovaných měřeních jediného vzorku bezprostředně po sobě se hodnoty velikosti částic



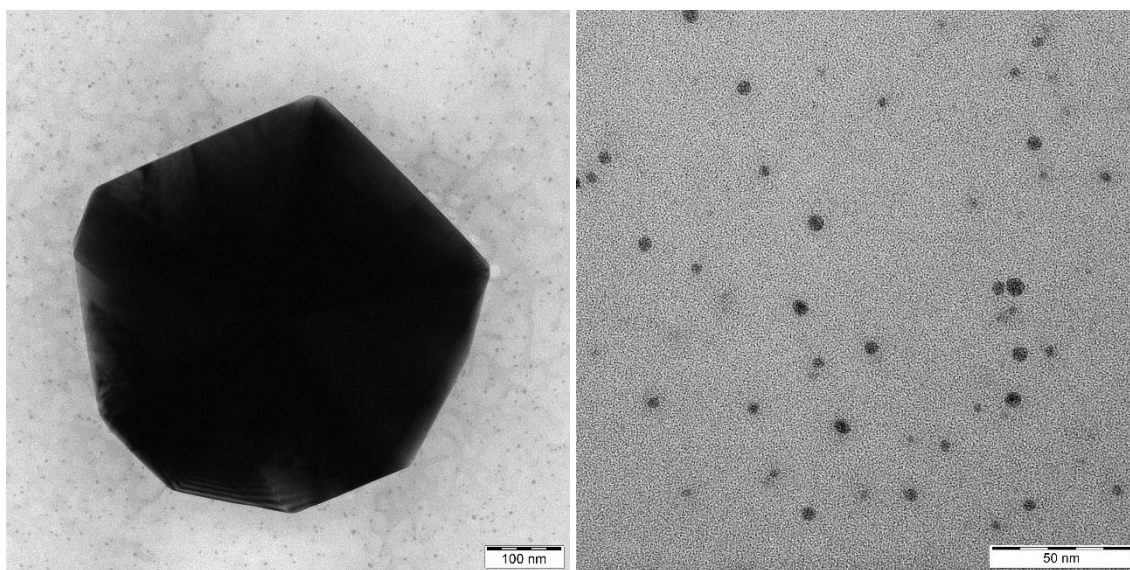
Obr. 17 Vysušené nanočástice stříbra z disperzí série 3 na Petriho miskách



Obr. 18 Výsledný prášek vzorku 3a v achátové třecí misce

mnohdy významně lišily. Výsledky z DLS je tak nutné považovat jen za orientační. Velikosti částic ve vzorcích série 3 naměřené pomocí DLS jsou shrnuty v tabulce 5.

**Tyto drobné nanočástice bohužel nebyly v případě disperze 3b zachyceny žádným snímkem TEM (proto je na obr. 20b vlevo snímek velké nanočástice). Ovšem vzhledem k tomu, že hodnoty velikosti částic naměřené pomocí DLS nebyly v případě tohoto vzorku výrazně odchylné od výsledků ostatních vzorků a že na snímcích TEM redispersovaného prášku vzorku 3b se tyto drobné nanočástice objevily, lze usoudit, že se tyto drobné nanočástice v původní disperzi vzorku 3b nacházejí.*

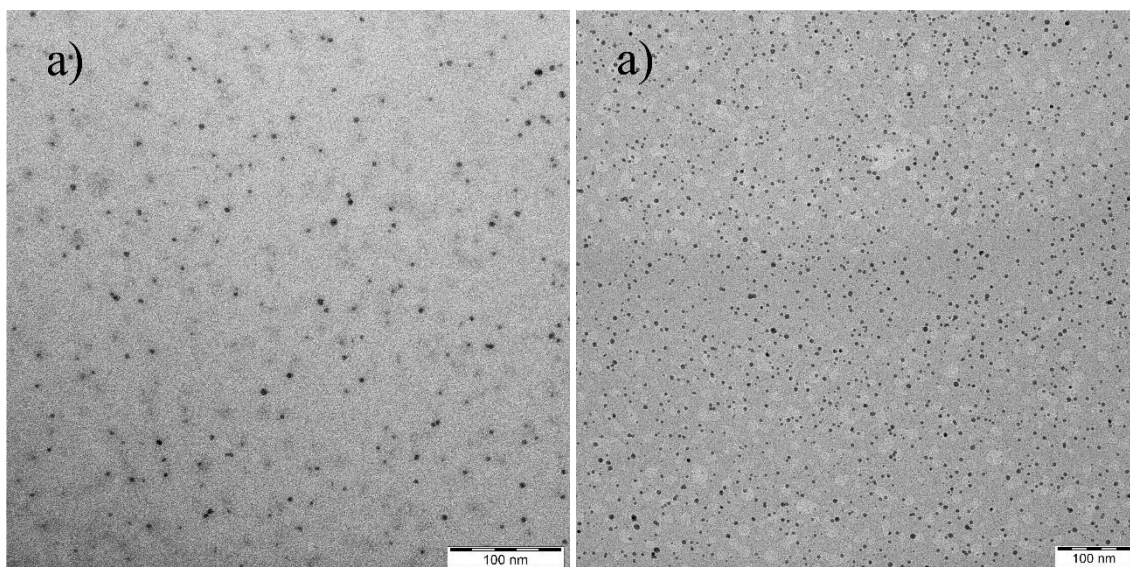


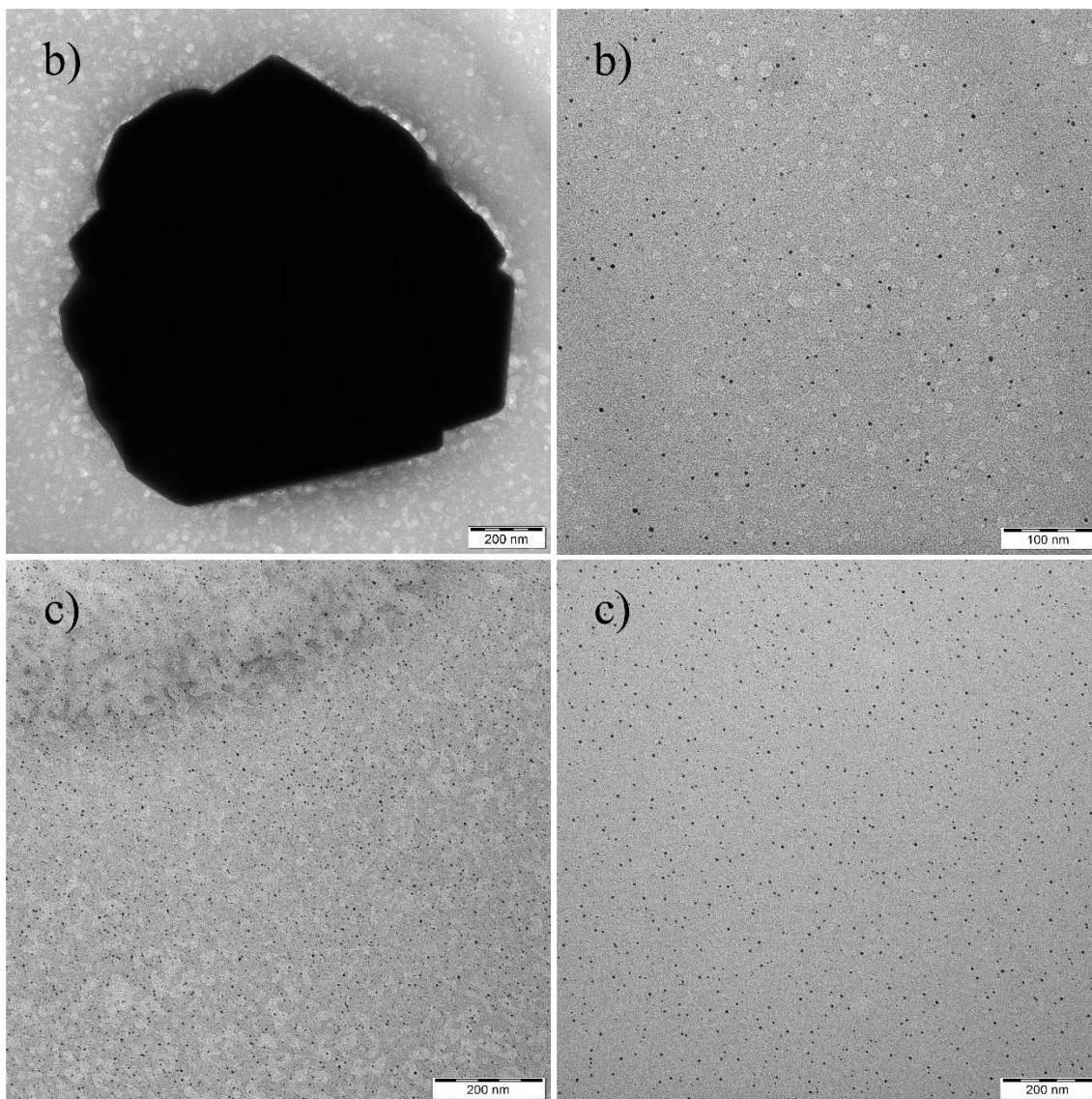
Obr. 19 TEM snímky nanočástic stříbra z disperze 3a. Vlevo rozměrná nanočástice, v jejímž okolí jsou patrné i drobné nanočástice o velikosti okolo 5 nm, vpravo pak detail drobných nanočástic

Tabulka 5 Modus velikostní distribuce částic v disperzích série 3 podle DLS

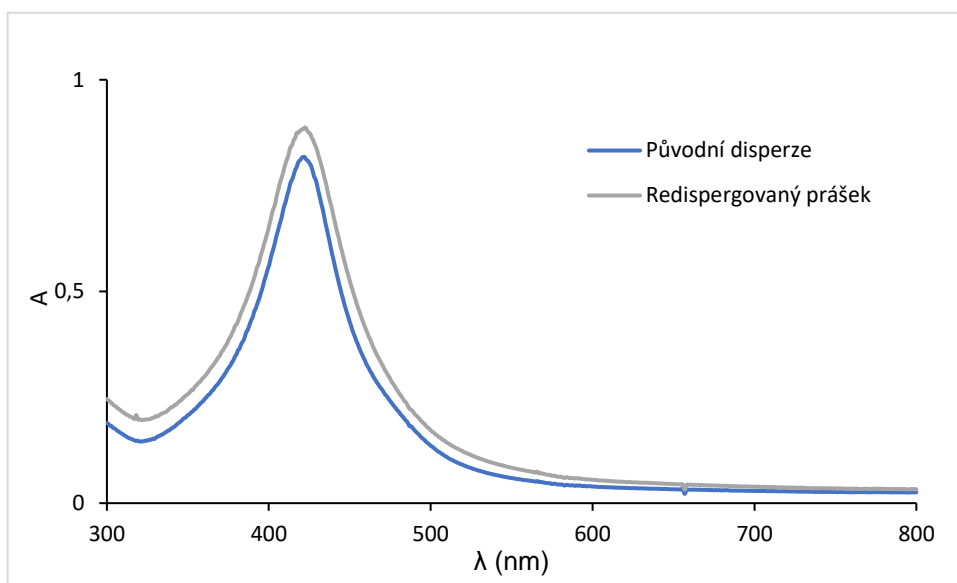
Vzorek	Velikost částic (nm)		
	původní disperze	redispergovaného prášku	
3	a	25,4	9,5
	b	15,4	6,9
	c	21,2	17,2

Podobnost vzorků série 3 se vzorky série 1 se projevila i v případě prášků. Prášky série 3 bylo totiž také možno opět rozdispergovat v deionizované vodě a získat tak plnohodnotnou disperzi nanočástic stříbra. Velikost nanočástic i jejich struktura v takto získaných disperzích byla obdobná jako velikost a struktura nanočástic v původních disperzích, ze kterých se dané prášky připravovaly. To opět dokládají snímky z TEM (obr. 20), obdobné výsledky poskytuje i srovnání UV-Vis spekter původních disperzí se spektry redispergovaných prášků (obr. 21, 22 a 23). Shlukování nanočástic nebo jiná změna velikostní distribuce nanočástic by se projevila posunem absorpčního maxima k větším vlnovým délkám, případně by se ve spektrech objevil sekundární absorpční peak, což se nestalo.

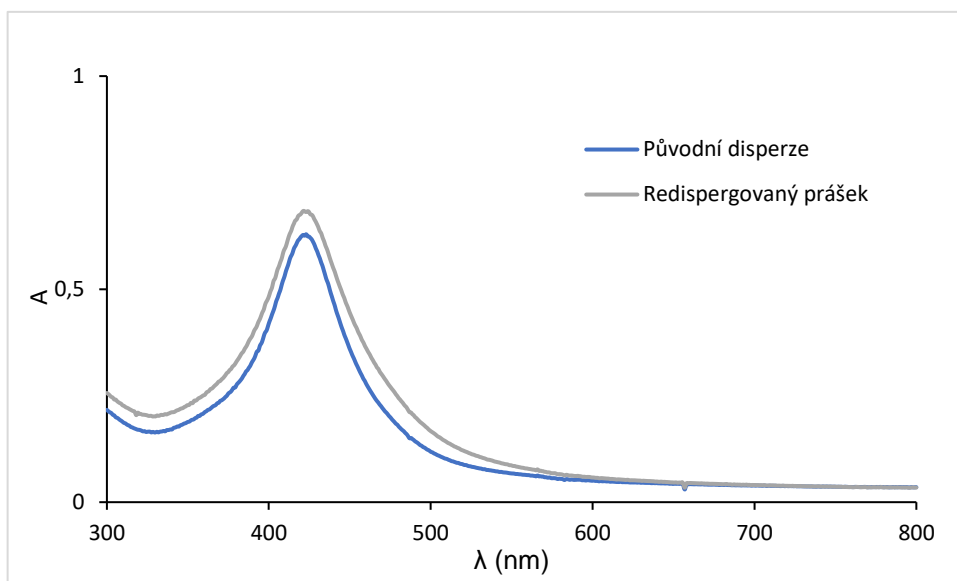




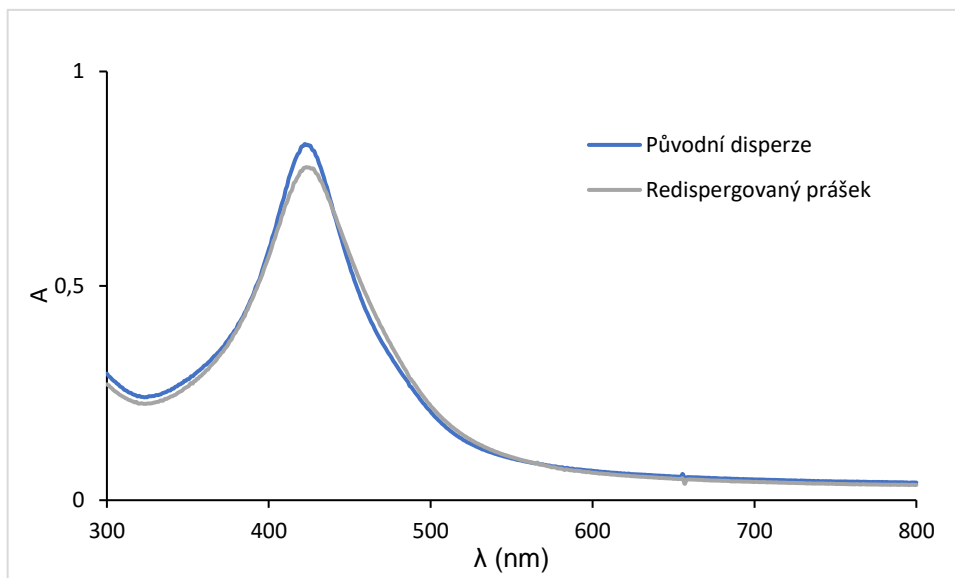
Obr. 20 TEM snímky nanočástic stříbra **a)** vzorku 3a, **b)** vzorku 3b, **c)** vzorku 3c. V levém sloupci vždy snímky nanočástic z původní disperze, v pravém pak snímky nanočástic z redispergovaných prášků



Obr. 21 UV-Vis spektrum vzorku 3a



Obr. 22 UV-Vis spektrum vzorku 3b



Obr. 23 UV-Vis spektrum vzorku 3c

4.2 Orientovaná vlákna s nanočásticemi stříbra

Pro správný průběh přípravy orientovaných vláken z PLGA elektrostatickým zvlákňováním, jehož postup je popsán v kapitole 3.3.3, bylo nutné nejprve vyladit některé parametry. Šlo především o rychlost dávkování reakční směsi stříkačkovou pupou, rychlost otáčení kolektoru, na který se vlákno navíjelo, a také hodnotu vloženého elektrického napětí. Tyto parametry jsou (spolu s vhodným výchozím materiálem) rozhodující pro hladký průběh přípravy, homogenitu připravených vláken, jejich morfologii a základní parametr, kterým je jejich průměr.

Rychlost dávkování reakční směsi úzce souvisí s rychlostí otáčení kolektoru. Pokud je rychlost dávkování reakční směsi příliš vysoká (příp. rychlost otáčení kolektoru příliš nízká), všechnen materiál se nestíhá rovnoměrně navíjet na kolektor, hromadí se na špičce jehly, až je nakonec stažen na kolektor v podobě velké protažené kapky. Pokud je naopak rychlost dávkování příliš nízká (příp. rychlost otáčení kolektoru příliš vysoká), vlákno se často trhá.

Hodnota použitého vysokého napětí má pak vliv na přitahování vlákna ke kolektoru, což je rozhodující zejména při zakládání vlákna. Čím vyšší napětí je, tím lépe je vlákno k uzemněnému kolektoru přitahováno. Příliš vysoké napětí ovšem způsobuje

roztřepení vlákna u špičky jehly, což je samozřejmě strukturální vada. V důsledku roztřepení vlákna navíc často dochází k jeho následnému přetržení.

Nejvhodnější parametry pro přípravu polymerních vláken z PLGA, které byly použity pro přípravu všech vláken popsaných níže, jsou:

- Rychlost dávkování směsi PLGA: **0,05 ml/h**
- Rychlost otáčení kolektoru o průměru 4 cm: **3 ot/min**
- Hodnota vloženého vysokého napětí: **10 kV**

Rychlost otáčení musela být navíc upravena kvůli změně poloměru (a tedy i obvodu) kolektoru. Není totiž rozhodující rychlost otáčení jako taková, ale vlastně rychlost navíjení vlákna na kolektor. A ta je dána vedle rychlosti otáčení kolektoru také jeho obvodem. A protože obvod kolektoru vzrostl z původních 7,9 cm na 12,6 cm, musela být adekvátně upravena rychlost otáčení. Z původních 5 ot/min byla rychlost snížena právě na uvedené 3 ot/min. Z těchto údajů lze navíc snadno vypočítat, že za hodinu je možné připravit přes 22,5 m vlákna.

Velikost kolektoru byla upravena za účelem rychlejší a efektivnější přípravy polymerních vláken pro test antibakteriální aktivity. Pro něj bylo nutné pokrýt vlákny obdélníčky parafilmu o rozměrech 3x5 cm, které byly na otočný kolektor připevněny (obr. 24a). Z těchto obdélníčků 3x5 cm byly po nanesení vláken vystřiženy čtverečky 3x3 cm, které byly poté podrobeny testu antibakteriální aktivity. Bylo třeba připravit 6 těchto čtverečků s vlákny s příměsí práškových nanočástic a 6 čtverečků s vlákny s příměsí disperze nanočástic. Větší obvod upraveného kolektoru umožňoval umístění tří obdélníčků parafilmu o velikosti 3x5 cm na jeden kolektor, zatímco kolektor původní velikosti mohl nést pouze obdélníčky dva. Průměr kolektoru byl zvětšen obalením původního kolektoru vrstvou pěnového materiálu (obr. 24b)



Obr. 24 a) Upravený kolektor s obdélníčky z parafilmu a s připravenými polymerními vlákny, **b)** kolektor s vrstvou pěnového materiálu pro větší obvod

Jak už bylo naznačeno výše, byly připraveny tři různé typy vláken lišící se složením. V první řadě to byla vlákna připravená z roztoku PLGA v acetonu a THF bez přídavku nanočástic stříbra. Ta byla určena pro srovnání s vlákny obohacenými o nanočástice stříbra, a to jak v případě snímků SEM, tak i v případě antibakteriálních testů. Druhým typem byla vlákna z PLGA s přídavkem prášku nanočástic stříbra, třetí typ tvořila vlákna z PLGA s přídavkem disperze nanočástic stříbra.

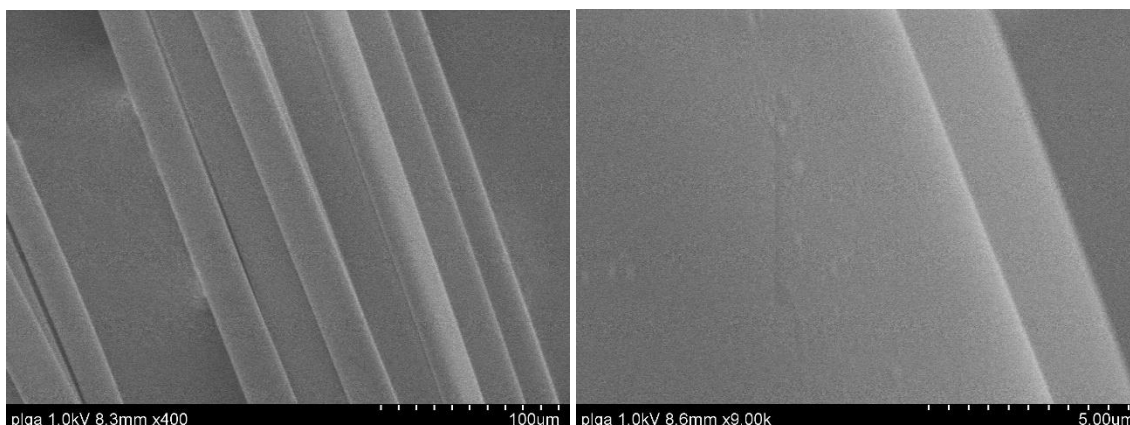
Vlákna z PLGA bez aditiv

Jak bylo zmíněno výše, tato vlákna byla připravena především za účelem srovnání s vlákny obsahující nanočástice stříbra. Roztok určený ke zvlákňování byl tvořen pouze PLGA rozpuštěným v acetonu a THF, parametry přípravy jsou popsány v bodě 4.2. Samotný proces zvlákňování probíhal velmi dobře, tato vlákna se netrhala ani netřepila a na pohled byla uniformní. Fotografie již zmíněného parafilmového čtverečku s těmito vlákny je na obr. 25.

Snímky ze SEM (obr. 26) ukazují, že připravená orientovaná vlákna byla široká asi 25 μm a byla kruhového průřezu. Z těchto snímků se vlákna jeví poměrně uniformní a jejich povrch vesměs hladký. U těchto vláken se nepředpokládá žádná antibakteriální aktivita.



Obr. 25 Orientovaná vlákna z PLGA bez aditiv nanosená na parafilmovém čtverci velikosti 3x3 cm



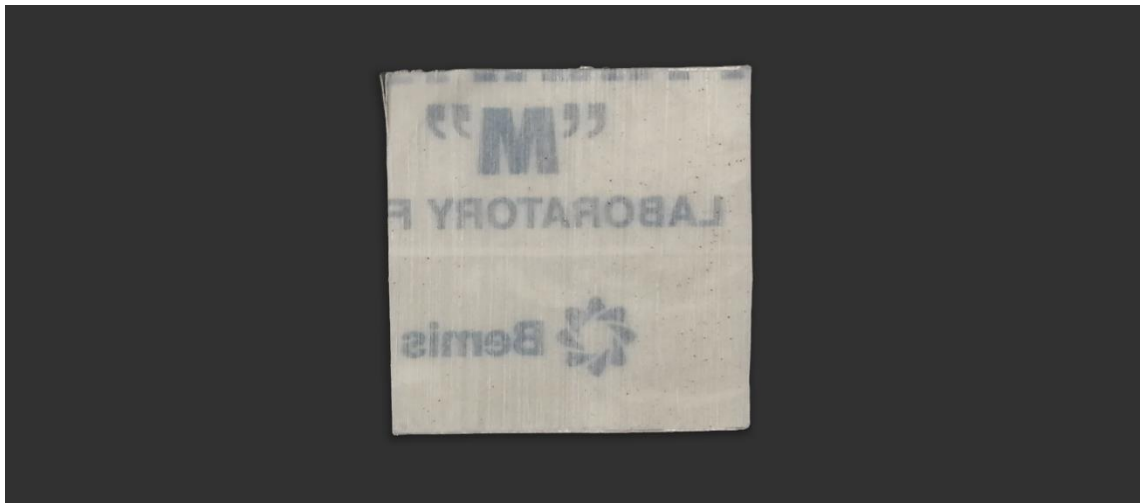
Obr. 26 SEM snímky připravených orientovaných vláken z PLGA bez aditiv

Vlákna z PLGA s práškem nanočástic

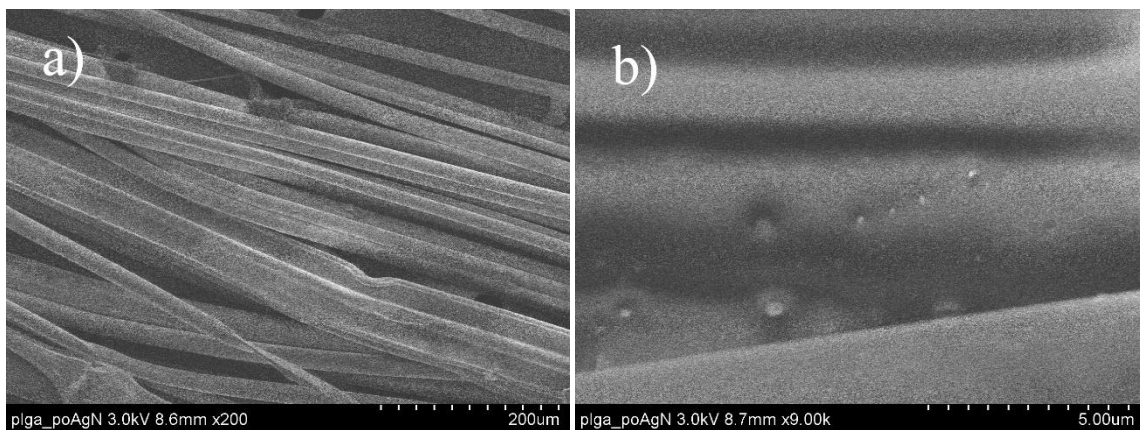
Tato orientovaná vlákna byla připravena ze směsi obsahující PLGA rozpuštěné v acetonu a THF a prášek nanočástic stříbra. Hmotnost přidaného prášku byla 2,5 % hmotnosti použitého PLGA (5 mg prášku na 200 mg PLGA). Parametry přípravy zůstaly identické jako parametry použité pro přípravu vláken samotné PLGA.

Proces zvlákňování byl v tomto případě náročnější. Větší zrníčka prášku nanočástic ve zvlákňované směsi způsobovala především v první hodině zvlákňování časté přetržení vláken. Po uplynutí hodiny se už tato větší zrníčka, která poměrně rychle sedimentovala a dostávala se tak do jehly injekční stříkačky zejména zpočátku zvlákňování, ve směsi nenacházela v takové míře a k přetrhávání tak docházelo jen zřídka. Tento fakt sice pomohl plynulosti zvlákňování, výsledná vlákna ale kvůli tomu nemají rovnoměrný obsah nanočástic. Vhodnější by tedy bylo použít prášek nanočástic stříbra, který by byl lépe homogenizovaný a měl menší zrníčka. Fotografie těchto vláken na parafilmovém čtverečku je na obr. 27

Snímky SEM (obr. 28) ukazují podobnou šířku vláken, jako měla vlákna bez aditiv, tedy okolo 25 µm. Vlákna se také zdají být poměrně uniformní. Je zde ovšem patrný výskyt defektů, některé z nich (vlevo dole na obr. 28a) pravděpodobně způsobila právě rozměrnější zrníčka prášku nanočástic. Některé defekty mohly být ovšem způsobeny manipulací se vzorkem vláken. Na detailnějším snímku (obr. 28b) lze vidět světlé tečky o velikosti stovek nanometrů, to mohou být nanočástice stříbra.



Obr. 27 Orientovaná vlákna z PLGA s příměsí prášku nanočástic stříbra nanesená na parafilmovém čtverci velikosti 3x3 cm



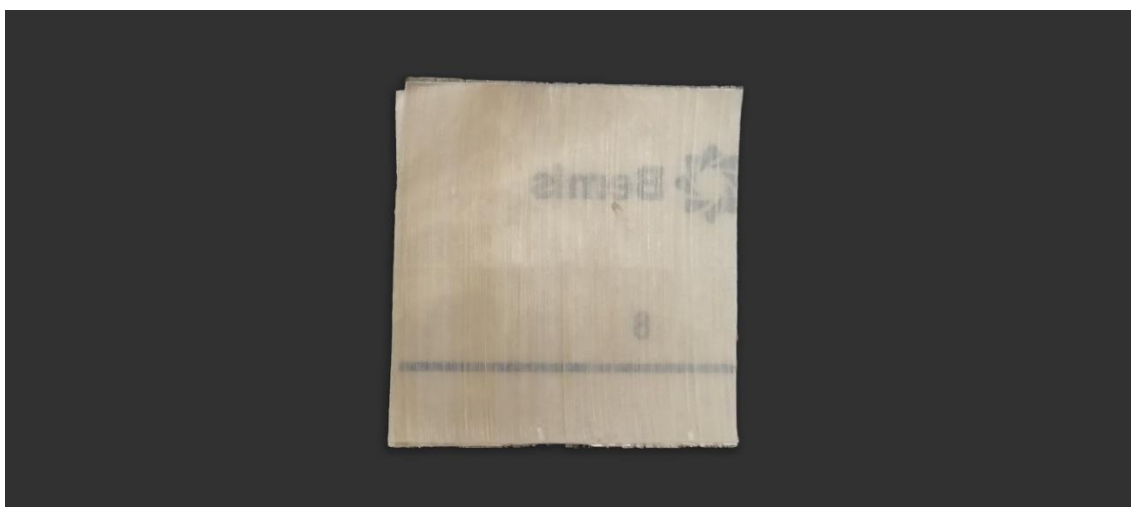
Obr. 28 SEM snímky orientovaných vláken z PLGA s příměsí prášku nanočástic stříbra; a) vlákna s patrnými deformacemi a defekty, b) detail se zrnky prášku nanočástic

Vlákna z PLGA s disperzí nanočástic

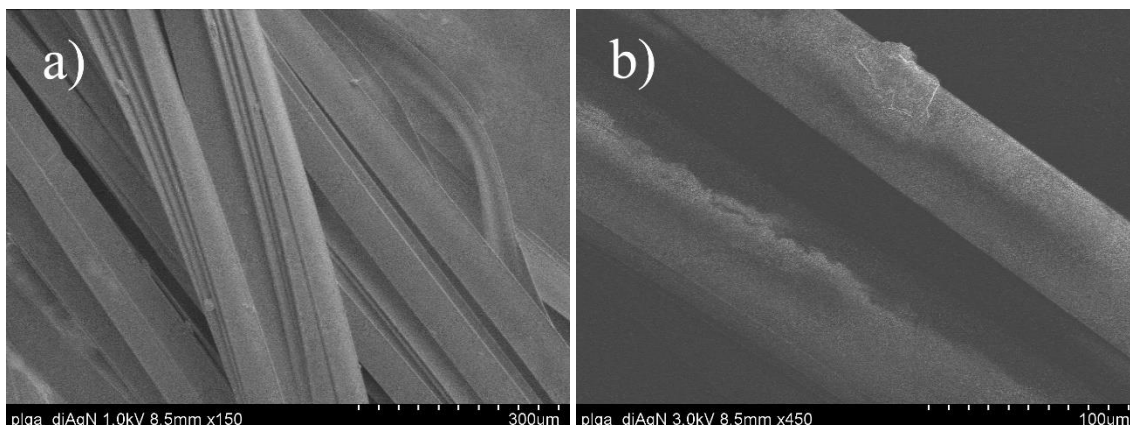
Kromě prášku byly nanočástice stříbra do vláken přidány i v podobě disperze. Kromě PLGA a rozpouštědel tak obsahovala směs ke zvláknění ještě disperzi nanočástic stříbra připravenou pod označením 3a. Na 200 mg PLGA bylo přidáno 20 μ l disperze. Objem rozpouštědel byl pak vždy o tuto hodnotu snížen. Směs pro zvláknění ovšem nesměla být připravena déle než den předem. Směs starší jednoho dne totiž měnila zbarvení z charakteristické žluté na bílou a zakalila se sraženinou. Parametry přípravy jinak zůstaly opět zachovány tak, jak jsou uvedeny v kapitole 4.2.

Proces zvlákňování byl v případě orientovaných vláken s příměsí disperze bezproblémový, vlákno se netrhlo ani netřepilo. Snadnost přípravy byla obdobná, jako u vláken z PLGA bez aditiv. Oproti směsi pro přípravu vláken s příměsí prášku nanočástic měla tato směs tu výhodu, že byla homogenní a nanočástice tak mohly být ve vláknech roz distribuovány rovnoměrně. Stejně jako výchozí směs, i výsledná vlákna byla nažloutlé barvy, jak je vidět na obr. 29.

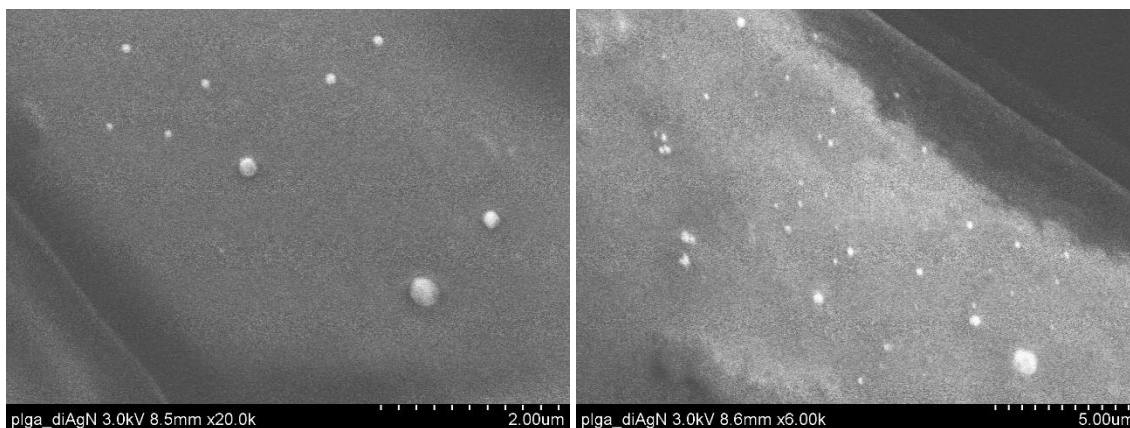
Snímky SEM odhalily, že ve vzorku se vedle vláken kruhového průřezu (obr. 30b) objevovaly i vlákna v podobě pásků (obr. 30a). To může být způsobeno právě příměsí disperze nanočástic, tedy příměsí vody. Ta mohla ovlivnit hustotu nebo třeba viskozitu výchozí zvlákňované směsi a změnit tak i podobu výchozích vláken. Tyto pásky navíc nebyly příliš uniformní, jejich šířka se pohybovala mezi 30 a 60 μm . I vlákna kruhového průřezu byla rozměrnější, jejich šířka byla asi 40 μm . Na detailnějších snímcích SEM lze opět vidět nanočástice stříbra ve velikostech desítek až stovek nanometrů (obr. 31).



Obr. 29 Orientovaná vlákna z PLGA s příměsí disperze nanočástic stříbra na parafilmovém čtverci velikosti 3x3 cm



Obr. 30 SEM snímky orientovaných vláken z PLGA s příměsí disperze nanočástic stříbra;
a) vlákna ve tvaru páseků, **b)** vlákna kruhového průřezu



Obr. 31 SEM snímky orientovaných vláken z PLGA s příměsí disperze nanočástic stříbra, patrné jsou právě nanočástice stříbra

Test antibakteriální aktivity

Test antibakteriální aktivity orientovaných vláken z PLGA byl proveden na vzorku s příměsí prášku nanočástic stříbra i na vzorku s příměsí disperze nanočástic stříbra. Jako kontrolní byl test proveden také na vláknech z PLGA bez příměsí nanočástic stříbra. Zvolena byla modifikovaná agarová difúzní metoda (ISO 20645) s bakteriálními kmeny *Escherichia coli* CCM 3954 (gramnegativní bakterie) a *Staphylococcus aureus* CCM 4223 (grampozitivní bakterie).

Výsledky ukázaly, že kolem všech tří vzorků nevzniká inhibiční zóna a nanočástice stříbra se tak ze vzorků neuvolňují do okolí. V místě přiložení vzorků vláken docházelo k inhibici růstu bakterií obou dvou použitých kmenů, a to včetně vzorku

s čistými vlákny z PLGA bez příměsí nanočástic stříbra. Počet vykultivovaných bakterií v místě přiložení vzorků byl u všech tří vzorků prakticky stejný. Inhibici růstu tak nemohly způsobovat nanočástice stříbra, ale samotná vlákna PLGA. To může být dáno přítomností reziduí rozpouštědel (THF a aceton) z přípravy vláken nebo s ohledem na porozitu testované struktury i residua 70% ethanolu, který byl použit ke sterilizaci vzorku. Z tohoto důvodu by bylo vhodné řádně otestovat samotnou PLGA strukturu. Literatura uvádí, že vlákna PLGA jsou vůči bakteriím netoxická. Teprve na základě zvládnutého testování samotných PLGA vláken by měla být testována vlákna s aditivou. Aktuálně je ale nutné konstatovat, že na základě provedeného testování nebyl prokázán rozdíl v antibakteriální aktivitě mezi vzorkem vláken z PLGA bez příměsí nanočástic a vzorky vláken obohacených o nanočástice stříbra.

5 Závěr

Cílem práce byla příprava vysoce koncentrovaných disperzí nanočástic stříbra, vysušení a převedení těchto disperzí do podoby prášků a jejich využití, jakožto aditiv, při přípravě orientovaných vláken z PLGA. Připravené nanočástice byly charakterizovány transmisním elektronovým mikroskopem a UV-Vis spektrofotometrem, modus velikosti částic byl změřen přístrojem DLS. Orientovaná polymerní vlákna byla charakterizována skenovacím elektronovým mikroskopem a byla otestována jejich antibakteriální aktivita vůči kmenům *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

Disperze nanočástic stříbra byly připraveny metodou hydrotermální redukce dusičnanu stříbrného polyethyleniminem, který zároveň plnil roli stabilizátoru. Výsledkem bylo 9 disperzí rozčleněných do tří sérií (1, 2 a 3), které se lišily poměrem látkových množství použitých prekurzorů. Nejlepší vlastnosti měl vzorek s označením 3a. Litr této disperze obsahoval 16,18 g nanočástic stříbra. Většina nanočástic měla velikost okolo 5 nm, objevovaly se i větší nanočástice o velikosti v řádu stovek nm. Disperze v sérii 2 nebyly stabilní, v disperzích série 3 docházelo k vysrážení přebytečného AgNO_3 a jeho sedimentaci.

Prášky nanočástic stříbra byly připraveny vysušením disperzí sérií 1 a 3, sérii 2 nebylo možné vysušit. Prášky z disperzí série 1 měly více krystalický charakter, byly snadno homogenizovatelné. Prášky z disperzí série 3 už bylo obtížnější homogenizovat. Všechny prášky nanočástic stříbra bylo ale možné bezezbytku redispergovat v deionizované vodě a připravit tak disperze s obdobnými vlastnostmi, jako měly disperze původní.

Orientovaná vlákna z PLGA byla připravena metodou elektrostatického zvlákňování, při němž byl použit i vlastnoručně vyrobený kolektor. Byla připravena jak vlákna bez aditiv, tak vlákna s přidanými nanočásticemi stříbra v podobě disperze a prášku. Vlákna bez aditiv a vlákna s příměsí prášku nanočástic stříbra měla kruhový průřez a jejich šířka byla asi 25 μm . Některá vlákna s příměsí disperze měla také tvar pásku, který byl široký 30-60 μm .

Vzorky vláken byly podrobeny testům antibakteriální aktivity vůči gram pozitivním a gram negativním bakteriím. Výsledky ukázaly, že příměs nanočástic neměla na antibakteriální aktivitu vzorků žádný vliv, růst kolonií bakterií v místě

přiložení vzorků vláken inhibovala samotná PLGA vlákna. Pozitivním výsledkem nicméně je, že nedošlo k vytvoření inhibiční zóny kolem čtvercových vzorků.

6 Summary

The submitted bachelor paper was focused on the preparation of highly concentrated dispersion of silver nanoparticles, a process of their drying and conversion into a powder and their application as an additive into oriented polymer fibers made of poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA. These synthesised nanoparticles were characterized with a transmission electron microscope and a UV-Vis spectrophotometer. The particle size was measured with particle analyzer working on the principle of dynamic light scattering (DLS). The oriented polymer fibers were characterized with a scanning electron microscope and antibacterial activity of these fibers were then tested on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

The dispersions of silver nanoparticles were synthesized by a hydrothermal method using silver nitrate and polyethylenimine, which served as a reducing and stabilizing agent. The prepared dispersions were divided into three categories (1, 2 and 3), which varied in ratio of amount of substances of the used reduction precursors. The dispersion labeled as 3a exhibited the best properties of all of the prepared samples. One liter of this dispersion contained 16,18 g of silver nanoparticles. Majority of the particles, in this dispersion, were 5 nm in diameter, however, some of them were about the size of hundreds of nanometers. The dispersion labeled as 2 were unstable. The particles in the dispersion labeled as 1 proved to undergo the process of precipitation and sedimentation of surplus AgNO_3 .

The prepared powders of silver nanoparticles were prepared using in the first step a drying procedure, in the second one scratching of the dried structures from Petri dishes and its homogenization. In the case of the dispersions labeled as 1 and 3, we were able to prepare powders. The dispersion labeled as 2 formed a kind of a jelly structure on the Petri dishes, which disabled the powder preparation. The powders prepared from dispersion labeled as 1 could be easily homogenized. The powder samples labeled as 3 were more difficult to homogenize. All of the powders could be easily redispersed in deionized water. The thus prepared dispersions had similar properties to the original dispersion.

The PLGA oriented fibers were prepared using an electrospinning method in which a hand-made collector was used. Three types of fibers were prepared. There were fibers with no additives, fibers with added powder of silver nanoparticles and fibers with added

dispersion of silver nanoparticles. The cross section of the first two named was circular in shape and their diameter was about 25 μm . Fibers with added dispersions of silver nanoparticles were mostly in the shape of a belt with a width of 40 μm .

The antibacterial activity of these fibers was then tested on gram-positive and gram-negative bacteria. The results did not prove any significant effect of the added silver nanoparticles on the bacteria growth. Already pure PLGA fibers did not let bacteria to grow under the tested squares of fibers. What is rather positive, is the fact that there was not formed any inhibition zone around the tested squares and the bacterial growth was suppressed just under the sample.

7 Literatura

1. Prucek, R. & Kiliánová, M. *Cvičení ze základů nanomateriálové chemie*. (Univerzita Palackého v Olomouci, 2013).
2. The Nanodatabase. <http://nanodb.dk/>.
3. Nanotechnology Product Database. <https://product.statnano.com/>.
4. Pouchlý, J. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. (Vydavatelství VŠCHT, 2008).
5. Kvítek, L. & Panáček, A. *Základy koloidní chemie*. (Univerzita Palackého v Olomouci, 2007).
6. Šimek, L. & Hrnčířík, J. *Fyzikální chemie II*. (Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005).
7. Bartovská, L. & Šišková, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. (Vydavatelství VŠCHT, 2010).
8. Ryu, B. H. *et al.* Synthesis of highly concentrated silver nanosol and its application to inkjet printing. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **270–271**, 345–351 (2005).
9. Kim, D., Jeong, S. & Moon, J. Synthesis of silver nanoparticles using the polyol process and the influence of precursor injection. *Nanotechnology* **17**, 4019–4024 (2006).
10. Liu, Z. *et al.* Synthesis of polyethylenimine (PEI) functionalized silver nanoparticles by a hydrothermal method and their antibacterial activity study. *Mater. Sci. Eng. C* **42**, 31–37 (2014).
11. Chang, G., Luo, Y., Lu, W., Liao, F. & Sun, X. Hydrothermal synthesis of ultra-highly concentrated, well-stable Ag nanoparticles and their application for enzymeless hydrogen peroxide detection. *J. Nanoparticle Res.* **13**, 2689–2695 (2011).
12. Yang, J., Yin, H., Jia, J. & Wei, Y. Facile synthesis of high-concentration, stable aqueous dispersions of uniform silver nanoparticles using aniline as a reductant. *Langmuir* **27**, 5047–5053 (2011).
13. Pillai, Z. S. & Kamat, P. V. What factors control the size and shape of silver nanoparticles in the citrate ion reduction method? *J. Phys. Chem. B* **108**, 945–951 (2004).

14. Hošek, J. *Úvod do nanotechnologie*. (České vysoké učení technické v Praze, 2010).
15. Kneipp, K. Surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Today* **60**, 40–46 (2007).
16. Panáček, A. *et al.* Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J. Phys. Chem. B* **110**, 16248–16253 (2006).
17. Cheng, C. S., Chen, Y. Q. & Lu, C. J. Organic vapour sensing using localized surface plasmon resonance spectrum of metallic nanoparticles self assemble monolayer. *Talanta* **73**, 358–365 (2007).
18. Köhler, J. M., Abahmane, L., Wagner, J., Albert, J. & Mayer, G. Preparation of metal nanoparticles with varied composition for catalytical applications in microreactors. *Chem. Eng. Sci.* **63**, 5048–5055 (2008).
19. Park, M. *et al.* Highly stretchable electric circuits from a composite material of silver nanoparticles and elastomeric fibres. *Nat. Nanotechnol.* **7**, 803–809 (2012).
20. Yin, Y. *et al.* Synthesis and characterization of stable aqueous dispersions of silver nanoparticles through the Tollens process. *J. Mater. Chem.* **12**, 522–527 (2002).
21. Turkevich, J., Stevenson, P. C. & Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 55–75 (1951).
22. Creighton, J. A., Blatchford, C. G. & Albrecht, M. G. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2 Mol. Chem. Phys.* **75**, 790–798 (1979).
23. Lok, C. N. *et al.* Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities. *J. Biol. Inorg. Chem.* **12**, 527–534 (2007).
24. Schneider, S., Halbig, P., Grau, H. & Nickel, U. Reproducible preparation of silver sols with uniform particle size for application in surface-enhanced Raman spectroscopy. *Photochem. Photobiol.* **60**, 605–610 (1994).
25. Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J. & Whyman, R. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid–Liquid system. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 801–802 (1994) doi:10.1039/C39940000801.
26. Brust, M., Fink, J., Bethell, D., Schiffrin, D. J. & Kiely, C. Synthesis and reactions of functionalised gold nanoparticles. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1655–1656 (1995) doi:10.1039/C39950001655.
27. Kang, S. Y. & Kim, K. Comparative study of dodecanethiol-derivatized silver

- nanoparticles prepared in one-phase and two-phase systems. *Langmuir* **14**, 226–230 (1998).
28. Sun, Y. & Xia, Y. Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science (80-.)*. **298**, 2176–2179 (2002).
 29. Mafuné, F., Kohno, J. Y., Takeda, Y., Kondow, T. & Sawabe, H. Formation and size control of silver nanoparticles by laser ablation in aqueous solution. *J. Phys. Chem. B* **104**, 9111–9117 (2000).
 30. Sondi, I., Goia, D. V. & Matijević, E. Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* **260**, 75–81 (2003).
 31. Kolář, M., Urbánek, K. & Látal, T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents* **17**, 357–363 (2001).
 32. Panáček, A. *et al.* Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nat. Nanotechnol.* **13**, 65–71 (2018).
 33. Elechiguerra, J. L. *et al.* Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J. Nanobiotechnology* **3**, 1–10 (2005).
 34. Lu, L. *et al.* Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antivir. Ther.* **13**, 252–262 (2008).
 35. Vertelov, G. K., Krutyakov, Y. A., Efremenkova, O. V., Olenin, A. Y. & Lisichkin, G. V. A versatile synthesis of highly bactericidal Myramistin® stabilized silver nanoparticles. *Nanotechnology* **19**, 1–7 (2008).
 36. Kim, K. J. *et al.* Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *BioMetals* **22**, 235–242 (2009).
 37. AshaRani, P. V., Mun, G. L. K., Hande, M. P. & Valiyaveetil, S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano* **3**, 279–290 (2009).
 38. Choi, O. *et al.* The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res.* **42**, 3066–3074 (2008).
 39. Schreurs, W. J. A. & Rosenberg, H. Effect of silver ions on transport and retention of phosphate by *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **152**, 7–13 (1982).
 40. Holt, K. B. & Bard, A. J. Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: An electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag. *Biochemistry* **44**, 13214–13223 (2005).

41. Kim, J. S. *et al.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **3**, 95–101 (2007).
42. Sondi, I. & Salopek-Sondi, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* **275**, 177–182 (2004).
43. Carlson, C. *et al.* Unique cellular interaction of silver nanoparticles: Size-dependent generation of reactive oxygen species. *J. Phys. Chem. B* **112**, 13608–13619 (2008).
44. Pal, S., Tak, Y. K. & Song, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 1712–1720 (2007).
45. Kvítek, L. *et al.* Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). *J. Phys. Chem. C* **112**, 5825–5834 (2008).
46. Smetana, A. B., Klabunde, K. J., Marchin, G. R. & Sorensen, C. M. Biocidal activity of nanocrystalline silver powders and particles. *Langmuir* **24**, 7457–7464 (2008).
47. Gupta, A., Maynes, M. & Silver, S. Effects of halides on plasmid-mediated silver resistance in Escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 5042–5045 (1998).
48. Navarro, E. *et al.* Toxicity of silver nanoparticles to Chlamydomonas reinhardtii. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 8959–8964 (2008).
49. Benn, T. M. & Westerhoff, P. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 4133–4139 (2008).
50. Sung, J. H. *et al.* Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles. *Inhal. Toxicol.* **20**, 567–574 (2008).
51. Hendrickson, O. D. *et al.* Toxicity of nanosilver in intragastric studies: Biodistribution and metabolic effects. *Toxicol. Lett.* **241**, 184–192 (2016).
52. Ebabe Elle, R. *et al.* Dietary exposure to silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats: Effects on oxidative stress and inflammation. *Food Chem. Toxicol.* **60**, 297–301 (2013).
53. Kim, Y. S. *et al.* Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part. Fibre Toxicol.* **7**, 1–11 (2010).
54. Samberg, M. E., Oldenburg, S. J. & Monteiro-Riviere, N. A. Evaluation of silver

- nanoparticle toxicity in skin in vivo and keratinocytes in vitro. *Environ. Health Perspect.* **118**, 407–413 (2010).
55. Garrell, R. L. Surface-enhanced Raman spectroscopy. *Anal. Chem.* **61**, 401A–411A (1989).
 56. Začínáme - ECHA. *echa.europa.eu* <https://echa.europa.eu/cs/support/getting-started>.
 57. Evropská agentura pro chemické látky. *echa.europa.eu* https://echa.europa.eu/documents/10162/13556/echa_general_leaflet_cs.pdf/62666989-d8ae-47ae-aae8-2b28126afb1e (2013) doi:10.2823/33894.
 58. Orgány, instituce a ostatní subjekty EU | Evropská unie. *europa.eu* https://europa.eu/european-union/about-eu/institutions-bodies_cs (2020).
 59. Porozumět nařízení REACH - ECHA. *echa.europa.eu* <https://echa.europa.eu/cs/regulations/reach/understanding-reach>.
 60. Completed and planned REACH substance evaluations on nanomaterials - European Observatory for Nanomaterials. *euon.echa.europa.eu* <https://euon.echa.europa.eu/completed-and-planned-reach-substance-evaluations-on-nanomaterials>.
 61. NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2018/1881 ze dne 3. prosince 2018, kterým se mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH), pokud jde o přílohy I, III, VI, VII, VIII, IX, X, XI a. *Úřední věstník Evropské unie* <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1881&from=en> (2018).
 62. DOPORUČENÍ KOMISE ze dne 18. října 2011 o definici nanomateriálu (2011/696/EU). *Úřední věstník Evropské unie* <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:CS:PDF> (2011).
 63. Porozumět nařízení CLP - ECHA. *echa.europa.eu* <https://echa.europa.eu/cs/regulations/clp/understanding-clp>.
 64. Porozumění nařízení o předchozím souhlasu (PIC) - ECHA. *echa.europa.eu* <https://echa.europa.eu/cs/regulations/prior-informed-consent/understanding-pic>.
 65. Porozumění nařízení o biocidních přípravcích (BPR) - ECHA. *echa.europa.eu* <https://echa.europa.eu/cs/regulations/biocidal-products-regulation/understanding->

- bpr.
66. Typy přípravků - ECHA. [echa.europa.eu
https://echa.europa.eu/cs/regulations/biocidal-products-regulation/product-types.](https://echa.europa.eu/cs/regulations/biocidal-products-regulation/product-types)
 67. Information on biocides - ECHA. [echa.europa.eu
https://echa.europa.eu/cs/information-on-chemicals/biocidal-active-substances?p_p_id=dissactivesubstances_WAR_dissactivesubstancesportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_pos=2&p_p_col_count=3&_dissactivesubstances_WAR_dissactivesubstancesportlet_javax.portlet.action=dissActiveSubstancesSummaryAction.](https://echa.europa.eu/cs/information-on-chemicals/biocidal-active-substances?p_p_id=dissactivesubstances_WAR_dissactivesubstancesportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_pos=2&p_p_col_count=3&_dissactivesubstances_WAR_dissactivesubstancesportlet_javax.portlet.action=dissActiveSubstancesSummaryAction)
 68. Nanomateriály podle nařízení o biocidních přípravcích - ECHA. [echa.europa.eu
https://echa.europa.eu/cs/regulations/nanomaterials-under-bpr.](https://echa.europa.eu/cs/regulations/nanomaterials-under-bpr)
 69. NAŘÍZENÍ KOMISE V PŘENESENÉ PRAVOMOCI (EU) č. 1062/2014 ze dne 4. srpna 2014, týkající se pracovního programu systematického přezkumu všech stávajících účinných látek obsažených v biocidních přípravcích, které jsou uvedeny v nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 528/2012. *Úřední věstník Evropské unie* <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32014R1062> (2014).
 70. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 528/2012 ze dne 22. května 2012 o dodávání biocidních přípravků na trh a jejich používání. *Úřední věstník Evropské unie* <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32012R0528> (2012).
 71. NAŘÍZENÍ KOMISE V PŘENESENÉ PRAVOMOCI (EU) 2019/227 ze dne 28. listopadu 2018, kterým se mění nařízení v přenesené pravomoci (EU) č. 1062/2014, pokud jde o určité kombinace účinné látky a typu přípravku, pro něž byl jako hodnotící příslušný orgán určen příslušný orgán Spojeného království. *Úřední věstník Evropské unie* <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32019R0227> (2019).