

U n i v e r z i t a P a l a c k é h o v O l o m o u c i

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



**PŘÍPRAVA KOMPOZITNÍHO MATERIÁLU NA BÁZI
MONTMORILONIT@NANOČÁSTICE STŘÍBRA**

Bakalářská práce

Autor:
Školitel:

Emil Řemeslníček
RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.

Studijní program:
Studijní obor:
Forma studia:

B 1407 Chemie
Nanomateriálová chemie
Prezenční

Olomouc 2016

Prohlašuji, že jsem celou bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením paní RNDr. Jany Soukupové, Ph.D. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou v seznamu použité literatury. Práce byla vypracována na Katedře fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

Emil Řemeslníček

.....

Poděkování:

Tímto bych chtěl poděkovat své vedoucí bakalářské práce, paní RNDr. Janě Soukupové, Ph.D., za cenné rady, připomínky a hlavně za přátelský a ochotný přístup při vedení mé bakalářské práce. Dále bych rád poděkoval Katedře fyzikální chemie za možnost vypracování mé práce v jejich laboratořích. Díky ovšem samozřejmě patří i Regionálnímu centru pokročilých technologií a materiálů. Jmenovitě mikroskopické skupině za veškerou pomoc při charakterizaci připravených materiálů a Mgr. Janu Kolaříkovi za vyhodnocení vzorků nanokompozitních materiálů metodou AAS. V neposlední řadě bych pak rád poděkoval mé rodině za podporu, pomoc a trpělivost.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení:	Emil Řemeslníček
Název práce:	Příprava kompozitního materiálu na bázi montmorillonit@nanočástice stříbra
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce:	RNDr. Jana Soukupová, Ph.D
Rok obhajoby práce:	2016
Abstrakt:	<p>V předložené bakalářské práci byl připravován nanokompozitní materiál obsahující nanočástice stříbra jedнокrokovou a dvoukrokovou metodou. Jílový minerál, montmorillonit (MMT), byl funkcionalizován nanočásticemi stříbra (AgNPs). Polyethylenimin (PEI) byl v této syntéze použit jako linker mezi vlastními nanočásticemi a substrátem a zároveň sloužil jako redukční činidlo. Kinetika uvolňování nanočástic stříbra z připraveného nanokompozitního materiálu byla studována metodou absorpční spektroskopie (AAS), díky které se rovněž stanovilo přesné množství stříbra ve vzorcích nanokompozitu. K identifikaci AgNPs na povrchu MMT byla využita skenovací elektronová mikroskopie (SEM).</p>
Klíčová slova:	Nanokompozitní materiál, montmorillonit, nanočástice stříbra, polyethylenimin
Počet stran:	39
Počet příloh:	0
Jazyk:	čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Emil Řemeslníček

Title: Synthesis of Composite Nanomaterial on the Basis of Montmorillonite@Silver Nanoparticles

Department: Department of Physical Chemistry

Type of thesis: Bachelor

Supervisor: RNDr. Jana Soukupová, Ph.D

The year of presentation: 2016

Abstract: In this bachelor paper nanocomposite material based on montmorillonite functionalized with silver nanoparticles (AgNPs) was prepared. In the synthesis, a hyperbranched polyethylenimine (PEI) was used as a linker connecting AgNPs with the surface of MMT and as a reducing agent at the same time. Kinetics of AgNP release was monitored with atomic absorption spectroscopy (AAS). AgNPs on the surface of MMT was identified using scanning electron microscopy (SEM).

Keywords: Nanocomposite, silver nanoparticle, montmorillonite, polyethylenimine

Number of pages: 39

Number of appendices: 0

Language: Czech

OBSAH

Úvod	7
TEORETICKÁ ČÁST	9
1. Nanotechnologie.....	10
2. Nanočástice	11
3. Nanočástice stříbra	12
3.1 Příprava nanočástic stříbra.....	14
3.1.1 Příprava nanočástic stříbra kondenzační syntézou	14
3.1.2 Fyzikální metody přípravy nanočástic stříbra	15
3.1.3 Biologicky šetrná syntéza nanočástic stříbra.....	16
4. Jílové minerály	17
4.1 Fylosilikáty	17
4.1.1 Montmorillonit	18
5. Nanokompozitní materiály	19
5.1 Příprava nanokompozitů	19
5.1 Nanokompozitní materiály s nanočásticemi stříbra.....	20
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
6. Použité chemikálie a vybavení.....	23
6.1 Chemikálie	23
6.2 Přístrojové vybavení	23
7. Pracovní postup.....	24
7.1 Jednokroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs	24
7.2 Dvoukroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs	24
7.3 Uvolňování stříbra z nanokompozitu MMT@AgNPs.....	25
7.4 Stanovení množství stříbra metodou AAS.....	25
8. Výsledky.....	26
8.1 Jednokroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs	26
8.2 Dvoukroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs	27
8.3 Uvolňování nanočástic stříbra z připraveného nanokompozitu.....	28
9. Diskuze výsledků	29
10. Závěr.....	32
11. Summary.....	34
12. Citovaná literatura	36

ÚVOD

O nanotechnologiích se hovoří již od šedesátých let dvacátého století. Jedná se o vědně technologický obor zabývající se popisem, definicí a manipulací s objekty, jejichž alespoň jeden rozměr je ve velikostním rozmezí 1–100 nanometrů. [1] Rozvoj nanotechnologií jde ruku v ruce s technickým rozvojem mikroskopických zařízení, díky nimž vědci mohou charakterizovat a studovat materiály, a to např. SEM (skenovací elektronovou mikroskopií), TEM (transmisní elektronovou mikroskopií) či AFM (mikroskopií atomárních sil). [2] Důvodem dnešního velkého zájmu o materiály v nanometrickém měřítku, jsou jejich unikátní fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti. S rostoucími možnostmi příprav a stabilizací nanomateriálů se zvyšuje aplikační využití v oblastech jako je medicína, elektronika, optika či ochrana životního prostředí. [3]

V současné době je kladen důraz na studium materiálů na bázi uhlíku, kovů a oxidů kovů. Velkého zájmu se dostává nanočásticím stříbra především pro jejich vysoké antimikrobiální účinky. Samotné stříbro využívali lidé už v antickém Řecku pro desinfekci vody. [4] Rezistence bakterií k nanočásticím stříbra zatím nebyla prokázána. Pokud mají být nanočástice stříbra použity k medicinským či desinfekčním aplikacím a zároveň mají být šetrné k životnímu prostředí, je velmi příhodné, aby nedocházelo k nadbytečnému uvolňování a zároveň si zachovaly agregační stabilitu, čímž neztratí tak vysoký kontaktní specifický povrch, který je odpovědný za antimikrobiální účinky nanočástic stříbra. Velmi vhodným řešením problematiky se nabízí imobilizace nanočástic stříbra na pevný substrát a tak vytvořit nanokompozitní materiál. [5] Tvorbou nanokompozitních materiálů s nanočásticemi stříbra se zabývá mnoho vědeckých publikací. Pro ukotvení nanočástic stříbra jsou studovány substráty jak organické, tak i anorganické. [6] Příkladem mohou být oxidy kovů, jílové minerály, textilní vlákna či organické polymery. Nanokompozitní materiály s nanočásticemi stříbra mohou najít své využití jak v kosmetice, potravinářství, filtraci vod, tak i v medicíně při povrchové úpravě chirurgických nástrojů, kloubních či zubních implantátů. [7]

Na základě výše uvedeného byl definován i cíl předložené bakalářské práce, jímž je příprava kompozitního materiálu s nanočásticemi stříbra (AgNPs). Jako modelový substrát bude studován jílovitý materiál – montmorillonit. Na tento substrát budou imobilizovány nanočástice stříbra. Kompozitní materiál bude připraven pro potřeby srovnání efektivity nanášení AgNPs neboli „loadingu“, jedнокrokovou a dvoukrokovou metodou. Základem

dvoukrokové syntézy bude metodika popsána v patentu „*Univerzální metoda imobilizace nanočástic stříbra na pevné substráty použitím polyethyleniminu s větvenou strukturou jako adhesivní vrstvy a redukčního činidla*“ (303502) jehož původci jsou prof. RNDr. Radek Zbořil, Ph.D. a RNDr. Jana Soukupová, Ph.D. Tato metoda využívá schopností rozvětveného polymerního řetězce polyethyleniminu jako tzv. polymerního linkeru, tj. spojky mezi substrátem a AgNPs. Dále pak polyethylenimin funguje jako stabilizátor vygenerovaných AgNPs a navíc jako redukční činidlo, které je schopno prostřednictvím termální iniciace na svých funkčních skupinách vyredukovat AgNPs z roztoku stříbrné soli. Efektivita depozice AgNPs bude kvantifikována pomocí atomové absorpční spektrometrie (AAS) a skenovací elektronové mikroskopie (SEM).

Takto připravený kompozit, na bázi montmorillonit@AgNPs (tedy MMT@AgNPs), bude dále podroben procesu systematického vyplavování ve vodném prostředí s cílem ověření stability připraveného kompozitu. Proces vyplavování AgNPs bude sledován jak pomocí AAS, tak SEM.

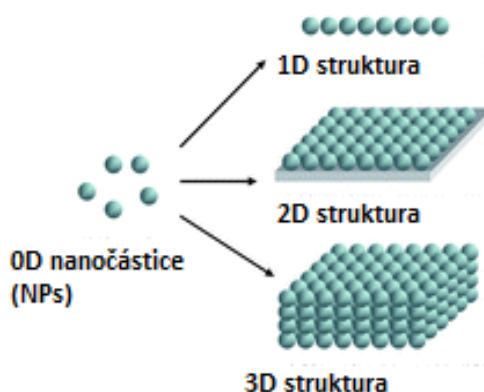
TEORETICKÁ ČÁST

1 NANOTECHNOLOGIE

V dnešním světě je nám umožněno pracovat se sofistikovanými technickými a technologickými produkty a aplikacemi. Setkáváme se s nimi jak v oblasti výpočetní techniky, předmětů každodenní potřeby, tak vzdáleněji prostřednictvím moderních léčebných metod, opomenout nemůžeme ani astronautiku a letectví.

S rostoucím poznání člověka se od druhé poloviny 20. století mluví o nanotechnologiích, vědním oboru zkoumajícím nanostruktury v měřítku 10^{-9} metru. [1] Vizionářem v této oblasti a prvním průkopníkem „technologií na nano úrovni“ byl nositel Nobelovy ceny za fyziku Richard Philips Feynman. Už v roce 1959 věnoval svou přednášku „There's Plenty of Room at the Bottom“ možnostem manipulace s atomy a molekulami. Jeho vize se následně potvrdily vznikem samostatného odvětví nazvaného nanotechnologie. [1]

Produkty z oblasti nanotechnologií, nanomateriály, jsou tedy materiály, jejichž rozměr spadá do oblasti pod 100 nm. [8] Na základě vnitřního rozměru mohou být nanomateriály rozděleny do tří skupin (obr. 1): dvojdimenzionální s jedním rozměrem menším než 100 nm (např. nanofilmy); jednodimenzionální se dvěma rozměry menšími než 100 nm (např. nanotrubičky) a nanočástice, které mají všechny tři rozměry menší než 100 nm (např. kvantové tečky). [8] Každý z těchto materiálů pak nachází uplatnění v jiné oblasti lidské činnosti, kde je právě dimensionalita a jejich rozměr využíván.



Obrázek 1: Struktura nanomateriálů [19]

Příčiny odlišného fyzikálně-chemického chování nanomateriálů popisuje kvantová mechanika, která je postavena na zákonech, vycházejících z řešení Schrödingerovy rovnice.

Stejně jako Newtonovy rovnice jsou nezbytné pro klasickou mechaniku, tak je stejně důležitá pro kvantovou fyziku Schrödingerova rovnice. Dále se nebudeme zabývat příčinami, ale jen důsledky kvantové fyziky, jimiž jsou anomální vlastnosti nanomateriálů. [9]

2 NANOČÁSTICE

Nanotechnologie je vědním oborem vyvíjející morfologii, syntézu a technologii manipulace s nanomateriály, tudíž i s částicemi menšími než 100 nm ve všech třech rozměrech. [10] Nanočástice mají svým využitím široké pole působnosti. Jsou uplatnitelné jak ve zdravotnictví, kosmetice, potravinářství, ochraně životního prostředí, tak v chemickém průmyslu, mechanice, optice, elektronice, katalýze či ve studiu obnovitelných zdrojů energie. [3] Nanočástice mohou vznikat, jako důsledek vlivu přírodních procesů nebo jako produkt řízené i neřízené lidské činnosti. Přírodní nanočástice mohou vznikat sopečnou činností. Vyskytují se v prachu, písku nebo v půdních koloidech. Mezi přírodní nanočástice se řadí rovněž DNA, viry, proteiny či pyl. Ke vzniku nanočástic neřízenou lidskou činností dochází při spalování v dieslových motorech, důlní činnosti nebo svařování. Cíleně připravené nanočástice můžeme rozdělit na několik typů, jako jsou nanočástice kovů, oxidu kovů, uhlíku (uhlíková čerň, fullereny, uhlíkové nanotrubic). Mezi nanočástice můžeme řadit také kvantové tečky, nanodráty, dendrimery či keramické nanočástice. [15]

Nanočástice se odlišují od makroskopického materiálu nejen svou velikostí a optickými vlastnostmi, ale také z hlediska fyzikálně-chemických vlastností svým složením, tvarem, měrným povrchem, reaktivitou a toxicitou. [11] Například nanočástice zlata jsou široce využívány v biomedicině pro jejich foto-fyzikální vlastnosti. Při ozáření elektromagnetickým zářením ve viditelné a blízké infračervené oblasti jsou nanočástice zlata schopny zvýšit signál odrazu od povrchu vzorku, čehož se hojně využívá ke zdokonalení technik povrchových spektroskopii. [11] Nanočástice jsou ovšem velmi často diskutovány v souvislosti s jejich možným toxickým účinkem. Například Wang a spol. studovali rozdíl toxicity nanočástic a makročástic kovových oxidů na hlístice. Jejich výsledky ukazují, že některé nanočástice mohou být toxičtější pro organismy ve srovnání s částicemi identického materiálu, ale v podobě makro částicové. [12] Obecně lze tedy říci, že veškeré vlastnosti nanomateriálů jsou silně závislé na rozměru. To platí bez výjimky o toxicitě nanočástic jejichž účinek klesá s rostoucí velikostí částic. [12]

Studium a charakterizace nanočástic lze provést především mikroskopickými technikami. Pro studium morfologie a velikosti povrchově modifikovaných nanočástic jsou využívány mikroskopické techniky jako transmisní a skenovací elektronové mikroskopie (TEM, SEM) či mikroskopie atomárních sil (AFM). [2] Magnetická měření mohou být realizována na magnetometru SQUID (z anglického superconducting quantum interference device). Transmisní elektronovou mikroskopii s vysokým rozlišením (HRTEM) lze úspěšně použít pro analýzu krystalové struktury a detekovat poruchy krystalové struktury na atomárním měřítku. [13]

3 NANOČÁSTICE STŘÍBRA

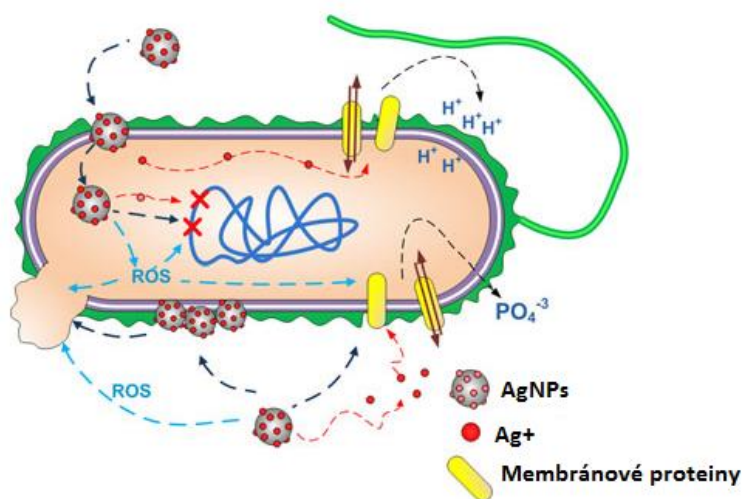
V oboru nanotechnologií se věnuje hodně úsilí studiu nanomateriálů kvůli jejich specifickým vlastnostem a řadě potenciálních aplikačních možností. Ze všech známých nanomateriálů jsou hojně studovány nanočástice kovové, obzvláště ušlechtilých kovů. Nanočástice kovů jsou výjimečné na rozdíl od jejich makroskopických analogů svými optickými, elektrickými, magnetickými, biologickými a katalytickými vlastnostmi. [16, 17]

Klasickým příkladem ušlechtilého kovu, který ve své nanočásticové podobě přináší řadu benefitů, je stříbro. Již od starověku Egypťané nebo i Řekové využívali stříbro pro uchovávání potravin či desinfekci vody. [4] Díky svým jedinečným antimikrobiálním vlastnostem bylo stříbro využíváno i ve dvacátém století k léčbě žaludečních vředů, chronických zánětů a popálenin. I dnes je stříbru věnována pozornost ve výzkumu, obzvláště v době kdy roste rezistence bakterií vůči antibiotikům. [14]

Při přechodu z makro do nano měřítku dochází u stříbra ke změně zbarvení. Se zmenšující se velikostí rozptýlených částic v disperzi se zbarvení proměňuje od stříbrolesklé k žlutooranžové. [18] Nanočástice stříbra se díky svým vlastnostem, jako dobrá elektrická vodivost, chemická stabilita a katalytická aktivita, využívají v elektronice, optoelektronice nebo i v povrchově zesílené Ramanově spektroskopii (SERS z anglického Surface Enhanced Raman Spectroscopy). [11] Nanočástice stříbra jsou charakteristické svou rezonanční adsorpcí povrchového plasmonu, čehož se využívá v SERS, jako zdokonalení citlivé, optické, analytické metody pro kvalitativní stanovení látky adsorbované na povrchu nanočástice. Byla taky experimentálně ověřena optimální velikost nanočástic stříbra, při nichž

je maximální intenzita povrchově zesílené Ramanovi spektroskopie. Výsledná hodnota 50–60 nm byla stanovena na rhodamin 6G. [20]

Antimikrobiální vlastnosti nanočástic stříbra (AgNPs) se využívají při funkcionalizaci vláken v textilním průmyslu pomocí tohoto kovu v podobě nanočástic, nebo jako medicínské



Obrázek 2 : Interakce AgNPs s buňkou bakterie [22]

aplikace při úpravě katetrů, obvazových materiálů či aditiv do dentálních materiálů. [27, 21] Pravděpodobný mechanismus antimikrobiální aktivity AgNPs je schematicky znázorněn na obr. 2. Bakterie jsou na povrchu napadeny AgNPs, které interagují s membránovými proteiny a mění jejich funkci. Je narušena propustnost a transport látek přes buněčnou membránu, což zapříčiňuje omezení růstu buněk a odumření. Dochází taky k nahromadění AgNPs do cytosolu buněk, kde zamezují tvorbě ATP, poškozují DNA, generují volné radikály (ROS z anglického reactive oxygen species) a Ag⁺. Vzniklé ROS a Ag⁺ mohou též poškodit DNA a membránové proteiny. [22]

Experimentálně byla ověřena antimikrobiální aktivita AgNPs na částicích různých velikostí. Připravené velikosti nanočástic 7 nm, 29 nm a 89 nm byly testovány na jak Gram-pozitivních, tak na Gram-negativních bakteriích – modelově na *E. coli* a *S. aureus*. Na základě provedených studií lze vyslovit závěr, že antibakteriální aktivita klesá se vzrůstající velikostí AgNPs. [23]

3.1 Příprava nanočástic stříbra

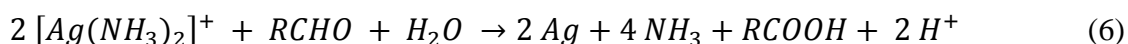
V současnosti je známo mnoho chemických, fyzikálních, fotochemických či biologicky šetrných přístupů pro přípravu nanočástic stříbra. Jedním z hlavních určujících kritérií, jakou metodu zvolíme pro přípravu AgNPs, jsou výsledné vlastnosti připravených nanočástic. Každá metoda s sebou nese řadu výhod i nevýhod, jež se objevují při samotné přípravě nanočástic stříbra s cílenými vlastnostmi jako tvar, velikost, stabilita, polydisperzita a cena nanočástic. [10]

3.1.1 Příprava nanočástic stříbra kondenzační syntézou

Kondenzační metody neboli „bottom-up“ přípravy nanočástic stříbra (AgNPs) v současné době v praxi převládají nad ostatními přístupy. Pro syntézu AgNPs kondenzační cestou jsou v zásadě nutné dvě až tři reakční komponenty: prekursor AgNPs v podobě stříbrné soli, redukční činidlo a stabilizátor(y). Samotná tvorba koloidních disperzí tvořících se redukcí ze stříbrné soli má dvě fáze: nukleaci a následný růst nukleí do podoby finálních nanočástic. Chceme-li vytvořit monodisperzní systém, který bude obsahovat částice přibližně stejných rozměrů a morfologie, musí docházet k nukleaci ve stejném čase. [10] Tvorbu částic můžeme ovlivňovat reakčními parametry jako reakční teplotou, pH nebo koncentrací prekursoru stříbrné soli (například: AgNO_3), koncentrací a volbou redukčních činidel (např. tetrahydridoborin sodný (NaBH_4), polyethylen glykol (PEG), redukující sacharidy) a stabilizátory (oleát sodný, polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon). [10]

Často používanou metodou přípravy AgNPs je tzv. borohydridová metoda založená na redukcí stříbrné soli tetrahydridoboritanem sodným. Creighton, Blatchford a Albrecht byli první, komu se příprava podařila uskutečnit. Zmíněným silným redukčním činidlem se dají připravit stabilní nanočástice o velikosti od 5 do 20 nm. Změnou poměru $\text{AgNO}_3:\text{NaBH}_4$ lze upravovat velikost syntetizovaných nanočástic stříbra, které mohou být stabilní až několik měsíců. Jako stabilizační činidlo může být použitý polyvinylalkohol nebo kyselina dodecyl-laurová (DDA). [34, 28]

Redukčními činidly mohou být i organické látky. V Tollensově metodě vznikají nanočástice stříbra redukcí diaminstříbrného iontu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ aldehydem jedнокrokově:



Jako redukční činidla se nejčastěji používají redukující sacharidy (např. glukosa, maltosa, galaktosa a laktosa). Velikost, tvar a polydisperzitu nanočástic stříbra lze ovlivňovat volbou redukčního činidla, koncentrací reagujících látek a hodnotou pH, která je určena koncentrací amoniaku v reakci. S rostoucí koncentrací amoniaku roste velikost nanočástic, díky čemuž lze připravit nanočástice stříbra v rozmezí od 25 do 450 nm. [32] Povrchově aktivní látky jako například dodecylsírán sodný (SDS), Tween 80 či polymer polyvinylpyrrolidon (PVP) mohou být použity jako vhodná stabilizační činidla. [32]

Další používanou metodou při přípravě AgNPs je tzv. Turkevichova metoda spočívající v redukcí dusičnanu stříbrného (AgNO_3) citrátem trisodným. Takto připravené nanočástice jsou stabilizovány roztokem kyseliny citronové a hydroxidem sodným. Změnou poměru AgNO_3 :citrát lze upravit velikost a tvar výsledných nanočástic. Touto metodou se připravují nanočástice s vyšší polydisperzitou v porovnání s Tolensovým nebo tetrahydridoboritanovým přístupem. [33]

Monodisperzní AgNPs ve tvaru krychliček byly připraveny redukcí dusičnanu stříbrného s ethylen glykolem a polyvinylpyrrolidonem (PVP). Použitý přístup je známý jako „polyolový proces“. V tomto případě je ethylen glykol (EG) použit jako redukční činidlo a rozpouštědlo zároveň. PVP ovlivňuje geometrický tvar a velikost připravených nanočástic. [29, 10] Touto metodou lze připravit i monodisperzní systém se sférickými AgNPs. Jejich velikost od 2 do 17 nm můžeme kontrolovat tzv. injekční technikou. Řízené vstříkování prekursoru stříbrné soli do temperovaného roztoku redukčního činidla a stabilizátoru zajišťuje růst nanočástic do stejných velikostí. [29]

3.1.2 Fyzikální metody přípravy nanočástic stříbra

Kondenzace par kovu a laserová ablace jsou nejdůležitější metody fyzikálního přístupu k přípravě AgNPs. Ve srovnání s chemickými metodami jsou připravené nanočástice nekontaminované chemickými činidly a jejich velikosti jsou rovnoměrně rozložené. Ke kondenzaci par kovu je potřeba keramický ohříváč k odpaření vzorku materiálu. Kondenzací par kovu vznikají AgNPs ve vysoké koncentraci a jsou velmi stabilní. Takto připravené nanočástice mohou být použity pro dlouhodobé experimenty, například pro studium toxicity. Velikosti připravených nanočástic jsou v rozmezí od 6 do 22 nm. [3]

Laserová ablace patří mezi významné dispergační metody neboli „top-down“ metody. Tímto postupem se dají připravit AgNPs z makroskopického kovu. V principu se laserovou

ablaci odstřelují makroskopická množství materiálu spolu s nanočásticemi z povrchu pevné látky krátkými (10^{-13} – 10^{-8} sekundy) intenzivními laserovými pulsy. Makroskopický materiál vystavený nárazům laserových pulsů může být uložený ve vakuu, plynu nebo kapalině za předpokladu, že nedochází k tlumení energie či intenzitě laseru. [47] Účinnost ablace a charakteristiky vyrobených AgNPs závisí na mnoha parametrech. Především záleží na vlnové délce laseru dopadajícího na kov, času laserového pulsu (femto-, pico-, nano- režimy), energii laserového pulsu, času ablace, vlivu kapalného média nebo přítomnosti surfaktantů. Obecně lze ale říci, že systémy připravené laserovou ablací jsou vysoce polydisperzní. [3]

3.1.3 Biologicky šetrná syntéza nanočástic stříbra

Řada vědeckých článků popisuje chemické syntézy nanočástic stříbra, které jsou neekologické a cenově nákladné. Vzrůstající snaha nezatěžovat životní prostředí toxickými látkami vede vědce ke studiu přípravy nanočástic stříbra biosyntézou pomocí prokaryontních bakterií a eukaryontních hub nebo rostlin, jejichž chemické látky nahrazují toxická redukční a stabilizační činidla. [19] Příkladem může být příprava monodisperzních, stabilních AgNPs bioredukci $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ bakteriemi *Aeromonas sp.* SH10 a *Corynebacterium sp.* SH09. Bakterie *K. pneumoniae* za přítomnosti viditelného světla a v prostředí prekursoru AgNPs dokáží vyprodukovat AgNPs ve velikostním rozsahu 1–6 nm. [3] Pomocí hub se dají syntetizovat AgNPs s velikostmi od 5 do 50 a více nm. Sférická morfologie připravených AgNPs je stejně jako sféricky připravené AgNPs pomocí bakterií ještě obohacena o trojúhelníkové a ojediněle se vyskytující tyčinkovité tvary. Použitím houby *Aspergillus flavus* se dají připravit AgNPs, které jsou ve vodě stabilní přes tři měsíce. Nedochází k agregaci nanočástic díky povrchovému pokrytí materiálem vylučovaným houbou. [3] Redukčními činidly z vodných extraktů z listů keře *Alternanthera dentata* byly úspěšně syntetizovány AgNPs, které jsou vhodné k biomedicínskému využití. Takto připravené AgNPs měly sférický tvar o velikosti od 50 do 100 nm. [36] Extrakty z listů keře sloužily zároveň jako redukční i stabilizační činidla a přímo úměrně s množstvím extraktů keře docházelo k poklesu velikosti připravených AgNPs. [36]

4 JÍLOVÉ MINERÁLY

Jílové minerály se obecně uvádějí jako skupina hydratovaných křemičitanů hliníku s vrstevnatou strukturou. Mohou také obsahovat významné množství železa, alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin. [24]

Jíl je přírodní jemnozrnný materiál tvořený především fylosilikáty, jejichž uspořádání je rovněž ve vrstevnaté struktuře. Dále mohou obsahovat i jiné minerály nebo organickou hmotu, která ovlivňuje plasticitu a tvrdnutí materiálu po vysušení. Příkladem takových minerálů může být krystalický i nekrystalický SiO_2 , minerály skupiny živce, zeolitu, alofánu, karbonátu nebo oxidy železa a hliníku. Na rozdíl od jílových minerálů, v jílech můžeme nalézt více skupin minerálů, které se dají systematicky zařadit do mineralogie. [24]

Stejně jako jíly, tak i jílové minerály obsahují všechny fylosilikáty a další skupiny minerálů jako alofány, některé hydroxidy, oxy-hydroxidy a oxidy. [25] Řada jílových minerálů může být vyjádřena pomocí stechiometrických chemických vzorců jako: $2 \text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (kaolinit), $4 \text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pyrofylitem), $4 \text{SiO}_2 \cdot 3\text{MgO} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (mastek), $3 \text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{FeO} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (chamosit). [24]

4.1 Fylosilikáty

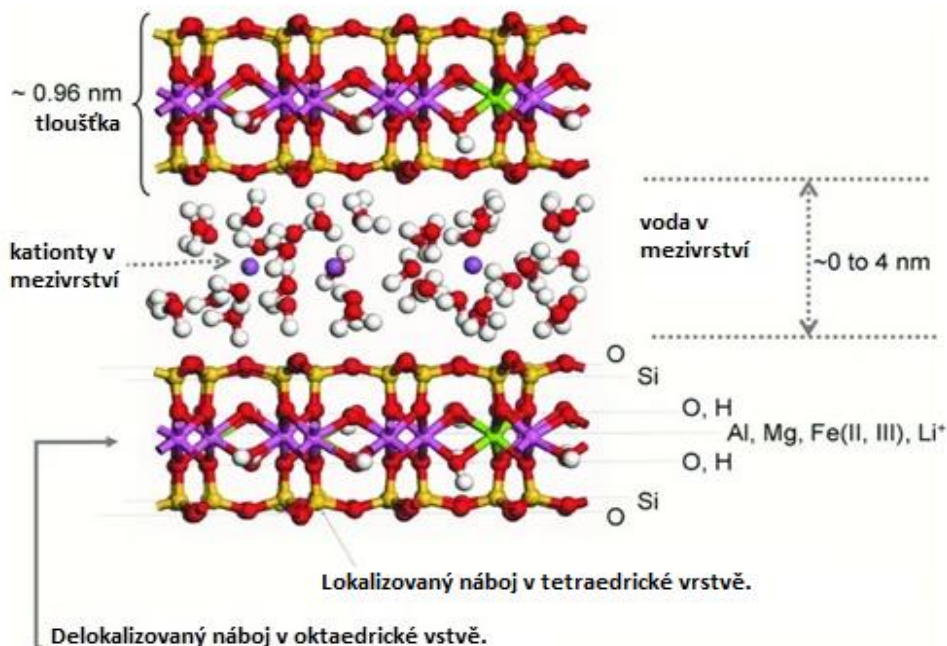
Struktura fylosilikátů je tvořena tetraedry a oktaedry. Centrálními atomy tetraedrů jsou většinou kationty Si^{4+} . Mohou být však nahrazeny také Al^{3+} , Fe^{3+} i Ge^{4+} . U oktaedrických struktur se vyskytují jako centrální atomy Al^{3+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Li^+ . Pozici aniontů mohou zaujímat u polyedrů O^{2-} , OH^- , F^- . [25]

Obecný vzorec pro fylosilikáty s planární stechiometrií je T_2O_5 (kde T může být Si nebo Al). Tento druh fylosilikátů je vytvořen dvojrozměrnou sítí tetraedrů, které jsou spojeny třemi vrcholy a čtvrtý stojí kolmo na tuto síť, směřující libovolně do prostoru. Se sítěmi oktaedrů vytvářejí síť tetraedrů vrstvy sdílením aniontů. Síť mezi sebou mohou být svázané vodíkovými vazbami, slabými van der Waalovými silami, nebo iontovými vazbami, stejně jako interakce mezi kationty a bazálními kyslíky.

Neplanární fylosilikáty jsou odvozeny od poruchy základní struktury planárních fylosilikátů. Periodickým narušením základní struktury vznikají modulované struktury. Dále se mohou vytvořit cylindrické a sféroidní struktury. [25]

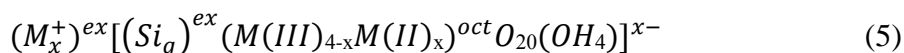
4.1.1 Montmorillonit

Struktura montmorillonitu, jehož název je odvozen od místa objevení v roce 1947 ve francouzském městě Montmorillonit, je znázorněna na obr. 3. [25] Jílové minerály mohou být rozděleny na základě chemického složení a atomové struktury do devíti skupin: serpentinkaolinit, mastek-pyrophylit, slídy, křehké slídy, vermikulity, chlority, sepiolit-palygorskit, imogolit-alofán a taky smektity, mezi které se řadí montmorillonit (MMT). [24]



Obrázek 3: Struktura montmorillonitu [26]

Stechiometrickým vzorcem montmorillonitu můžeme vyjádřit chemické složení:



kde M^+ zastupuje vyměnitelný kationt z mezivrstev, M(III) a M(II) vyjadřují oktaedricky koordinované kationty. [25]

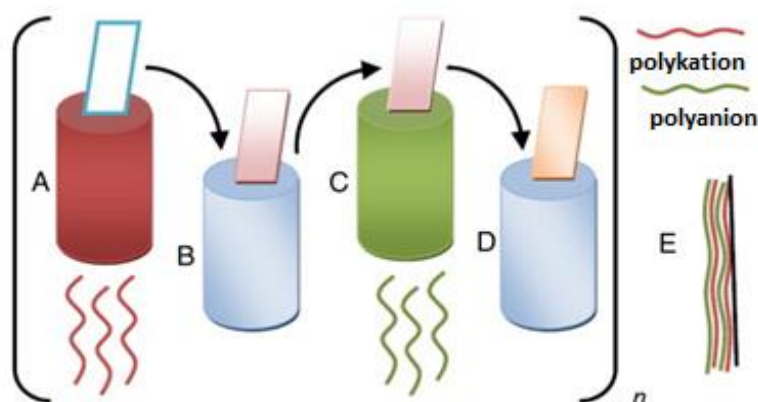
Skupina smektitů včetně montmorillonitu obsahuje aktivní adsorbční místa na svém povrchu. Například může docházet k adsorpci vody, tedy tzv. „botnání“, kdy se zvětšuje objem jílu. Substitucí centrálního atomu oktaedru (Al^{3+}) divalentními kationty (Mg^{2+}), vzniká záporný náboj, který je vyrovnán kladným nábojem (Na^+) umístěným v mezivrstev. Ionty Na^+ jsou koordinovány molekulami vody v prostoru a se zvětšujícím se množstvím vody dochází k rozšíření mezivrstev až o 4 nm. [25] Díky „botnání“ lze montmorillonit využít jako sorbent v potravinářském a chemickém průmyslu. Stabilizuje barviva a slouží také jako nosič katalyzátorů a absorbent při rafinaci ropy. [24]

5 NANOKOMPOZITNÍ MATERIÁLY

Kompozitní materiály se skládají minimálně ze dvou složek. Jsou složeny z matrice a plniva, které hraje podstatnou roli ve využití těchto materiálů. [6] Mluvíme-li o nanokompozitech, tak uvažujeme kompozitní materiál, jenž obsahuje minimálně jednu složku plniva, která je alespoň v jedné dimenzi rozměrově menší než 100 nanometrů (nanotrubičky, nanočástice, destičkové nanomateriály). Matrice je nosičem jednotlivých nanočástic, které určují výsledné fyzikálně-chemické vlastnosti nanokompozitního materiálu. V mnohých případech se jako matrice používají kovové materiály a oxidy kovů (Al, Ti, Ni, Fe, TiO₂, ZnO), keramické materiály (montmorillonit), ostatní anorganické materiály (např. SiO₂, uhlíkové alotropy) a polymerní materiály (polyethylenimin). [6, 44]

5.1 Příprava nanokompozitů

Často využívanou metodou nanosení vrstev nanočástic na matrici nanokompozitu je layer-by-layer. Byla poprvé provedena Ilerem v roce 1966 a znovuobjevena Decherem a Hongem. Metoda využívá elektrostatických interakcí mezi substrátem a nanočásticemi. Do značné míry se uplatňují i van der Waalovy síly a vodíkové vazby. Obecný mechanismus probíhá následujícím způsobem: dochází k zavedení substrátu do roztoku s opačným nábojem. Po opláchnutí substrátu dojde k odstranění přebytečného materiálu. Znovu je zaveden substrát do roztoku s opačným nábojem a je propláchnut. Střídané namáčení substrátu do negativně a pozitivně nabitého roztoku se opakuje, dokud nedosáhneme požadovaného navrstvení. Svou jednoduchostí na instrumentální vybavení je metoda hojně využívanou v laboratořích.



Obrázek 4: Schématická ilustrace vrstvení matrice kompozitu metodou layer-by-layer [37]

Abychom změnili povrchový náboj substrátu, je potřeba použít jeden z polyelektrolytů, a to polyethylenimin (PEI), polyakrylovou kyselinu (PAA), polystyrenulfonát (PSS), polymethakrylovou kyselinu (PMA) anebo v dalším případě polydimethyldiallylamonium chlorid (PDDA). Své zařazení mají i přírodní elektrolyty, například proteiny, polysacharidy, DNA, heparin nebo chitosan. [37], [38]

5.1 Nanokompozitní materiály s nanočásticemi stříbra

Nanočástice stříbra vykazují vysokou antimikrobiální aktivitu, jak již bylo popsáno v kapitole 2. Avšak svou biologickou aktivitu ztrácejí se vzrůstající velikostí, a tedy i prostřednictvím agregace původně malých nanočástic stříbra. [23] Způsobem, jak zabránit agregaci a zároveň zachovat vysokou antimikrobiální aktivitu, může být ukotvení AgNPs na pevném substrátu. Příprava materiálu navíc může mít vliv na další neméně důležitý parametr, a to na toxicitu daného materiálu pro okolní, popř. životní prostředí. Jako jeden z cílů kladených na kompozitní materiál může být požadavek na neuvolňování nanočástic do prostředí.

Jako substráty kompozitních materiálů byly úspěšně použity látky z organické i anorganické chemie. Z anorganických látek jmenujme alespoň fotoaktivní oxidy zinečnaté a titaničitě, [7] uhlíkové nanotrubičky a uhlíková vlákna, [41] křemičitě sklo či zeolity anebo jílové minerály. [42] Například Anshari a kol. připravili nanokompozit oxidu zinečnatého, který obsahoval nanočástice stříbra tak, že pomocí elektrochemického aktivního biofilmu (EAB) nechali reagovat oxid zinečnatý s roztokem dusičnanu stříbrného za stálého míchání. Reakce probíhala při pokojové teplotě, ve vodném prostředí a za anaerobních podmínek. Nanočástice stříbra byly imobilizovány na povrchu oxidu redukci, která byla vedena elektrony vycházejícími z EAB k iontovému stříbru, jež bylo adsorbováno na povrch oxidu zinečnatého. Touto biogenní metodou se připravený fotoaktivní nanokompozit může uplatnit při výrobě fotoelektrod s využitím v čištění průmyslově znečištěných vod anebo při fotokatalytických reakcích. [7]

Jako matrice nanokompozitu mohou být použity mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky (MWNTs). Guan-Hui Gao a kol. využili adsorbční a chemisorbční interakce pro ukotvení nanočástic stříbra na povrchu nanotrubiček. Mnohostěnné nanotrubičky byly nejprve modifikovány směsí kyseliny sírové a dusičné v poměru 3:1 a dále se namočily do chloridu cínatého. Koncentrace a teplota byla navržena tak, aby citlivě upravený povrch redukoval

iontové stříbro. Samotná redukce dusičnanu stříbrného byla iniciována ultrafialovým zářením a probíhala v polyvinylpyrrolidon ethanolovém prostředí. Nanokompozit s matricí mnohastěnných uhlíkových nanotrubiček MWNTs@AgNPs je svou silnou antimikrobiální aktivitou užitečný ve filtraci vod. [41]

Další vhodnou matricí pro přípravu nanokompozitu mohou být nanočástice oxidu křemičitého (SiO₂NPs). Young Hwhan Kim a kol. syntetizovali nanokompozit nanočástic stříbra na nanočásticích oxidu křemičitého (SiO₂NPs@AgNPs). Nanočástice oxidu křemičitého byly připraveny Stöberého metodou. Byla provedena hydrolyza a kondenzace tetraethoxysilanu s vodou, ethanolom za katalyticky přítomného amoniaku. Nanočástice stříbra byly na povrchu oxidu křemičitého imobilizovány díky přidání dusičnanu stříbrného ke směsi SiO₂NPs s vodou. Principiálně došlo k elektrofilnímu ataku iontového stříbra na hydroxy skupinu, která byla navázána na křemíkovém atomu. Z testů difúzní metody byly získány výsledky, jež potvrdily předpokládanou antimikrobiální aktivitu nanokompozitu. [30]

Jílové minerály mohou být zvoleny jako vhodné materiály pro ukotvení nanočástic stříbra pro svou povrchovou velikost, sorpční a iontově výměnné vlastnosti. Velkou výhodou je rovněž ekonomická dostupnost. Martina Karlíková a kol. připravili nanokompozit stříbrných nanočástic na matrici montmorillonitu. Nejprve pomocí Tollensova přístupu syntetizovali AgNPs tím, že redukovali komplexní kationt [Ag(NH₃)₂]⁺ maltózou v alkalickém prostředí. A dále připravenou disperzi nanočástic stříbra nechali reagovat za míchání s montmorillonitem. Po vysušení na reakci 4-nitrofenol za přítomnosti borohydridu sodného byla studována katalytická aktivita připraveného nanokompozitu montmorillonit@AgNPs. I když byla nižší než katalytická aktivita volných AgNPs, je možné, aby byl kompozit použitý v praxi jako katalyzátor. [43]

Z organických materiálů je z řad polymerů velmi vhodnou matricí pro přípravu nanokompozitu s nanočásticemi stříbra polyethylenimin (PEI). Dusíkový atom ve struktuře PEI má díky volnému elektronovému páru vysokou afinitu k atomům stříbra, čímž lze PEI použít jako redukční činidlo iontového stříbra. Polymer je možné použít i jako linker k imobilizaci k pevnému substrátu. P. Wangovi a kol. se podařilo modifikovat netkané textilie a připravili tak nanovlákná-(PVA/PEI)/AgNPs. Transmisním elektronovým mikroskopem byly studovány velikosti imobilizovaných nanočástic stříbra. Průměrná velikost těchto nanočástic byla 7 nm. [44, 45, 46]

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A VYBAVENÍ

6.1 Chemikálie

Pro přípravu nanokompozitního materiálu na bázi montmorillonit@AgNPs byly použity uvedené chemikálie: montmorillonite – MMT (K30 Sigma-Aldrich), dusičnan stříbrný – AgNO_3 (99.8-100.5%, Sigma-Aldrich), rozvětvený polyethylenimin – PEI (M_w 25000, p.a. Sigma-Aldrich). Všechny roztoky byly připraveny bez dalšího přečišťování chemikálií a za použití destilované vody připravené přístrojem AQUAL 29 (AQUAL, Česká republika).

Všechny výše uvedené chemikálie byly použity pro dvoukrokovou přípravu. U jedнокrokové přípravy nanokompozitu montmorillonit@AgNPs (MMT@AgNPs) byla použita kromě již výše uvedeného MMT předpřipravená disperze nanočástic stříbra připravená termálně indukovanou redukcí AgNO_3 za přítomnosti PEI. Koncentrace stříbra v připravené disperzi byla $7,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Mineralizace vzorků připravených nanokompozitů pro stanovení množství stříbra pomocí AAS byla prováděna kyselinou dusičnou – HNO_3 ($\geq 65\%$, p. a. Sigma-Aldrich). Všechny vzorky byly ředěny destilovanou vodou.

6.2 Přístrojové vybavení

Vzorky byly navažovány na analytických vahách Schoeller Pharma Prague. Nanokompozity byly připraveny mícháním na magnetické míchače s ohřevem SI Analytics. Sušení připravených vzorků bylo provedeno v sušárně Binder 531. Vyplavování AgNPs ze vzorků bylo prováděno na třepače Heildolph Promax 1020. Vzorky pro stanovení množství stříbra v nanokompozitech byly analyzované pomocí atomového absorpčního spektrometru ContraAA 300 Analytik Jena. Pro přípravu vzorků na AAS byla použita centrifuga Hettich Eba 20. Snímky SEM k charakterizaci povrchů připravených vzorků nanokompozitního materiálu byly pořízeny skenovacím elektronovým mikroskopem Hitachi SU6600 (Hitachi, Japan).

7 PRACOVNÍ POSTUP

7.1 Jednokroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs

V rámci jedнокrokové přípravy nanokompozitu byl montmorillonit přímo funkcionalizován nanočásticemi stříbra (AgNPs) předpřipravenou disperzí. Tuto depozici lze označit jako *ex-situ*. Vlastní disperze nanočástic stříbra připravená pomocí termálně indukované syntézy, ve které je dusičnan stříbrný prekurzorem nanočástic, a rozvětvený polyethylenimin plní roli stabilizátoru a redukčního činidla¹. [48]

Konkrétně příprava MMT@AgNPs v jedнокrokovém módu probíhala následujícím způsobem. Navážka 1 g MMT byla přisypána k 50 ml disperze AgNPs o příslušné koncentraci. Po 30 minutách míchání za laboratorní teploty (cca 25 °C) byl připravený kompozit zfiltrován a promyt na Büchnerově nálevce za sníženého tlaku destilovanou vodou. Vzorek byl vysušen v sušárně při 60 °C. Tímto způsobem byly připraveny čtyři vzorky s různými molárními koncentracemi stříbra v disperzi. Obdobně jako u dvoukrokové syntézy byly použity následující koncentrace: 0,01; 0,05; 0,1 a 0,5 mol.dm⁻³ stříbra v disperzi.

7.2 Dvoukroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs

Při dvoukrokové přípravě kompozitu na bázi MMT@AgNPs bylo nutné v prvním kroku provést modifikaci MMT pomocí vysokomolekulárního rozvětveného polyethyleniminu. Následně byl přebytek polymeru vypláchnut proplachem destilovanou vodou. Ve druhém kroku byla provedena *in-situ* redukce a depozice AgNPs na povrchu MMT. Následný oplach byl proveden kvůli eliminaci případně uvolnitelných, slabě adsorpčně vázaných, AgNPs z povrchu MMT.

Konkrétní postup byl tedy následující. Na analytických vahách byl navážen 1 g MMT. Do odměrné baňky o objemu 50 ml byl naředěn PEI o molární koncentraci 10⁻⁴ mol.dm⁻³. Za stálého míchání bylo uvedené množství MMT s PEI zahříváno na 60 °C po dobu 30 minut na magnetické míchačce s ohřevem. Po mírném zchlazení byl modifikovaný MMT odfiltrován na Büchnerově nálevce za sníženého tlaku. Po důkladném promytí destilovanou vodou a vysušení v sušárně na 60 °C byl vzorek připravený k dalšímu použití.

¹ Dle diplomové práce autorky Soni Gybasové nazvané „Syntéza nanočástic stříbra pomocí termálně indukované redukce“.

Ve druhém kroku byl modifikovaný vzorek montmorillonitu pomocí polyethyleniminu dále funkcionalizován nanočásticemi stříbra. Připravený, vysušený vzorek MMT@PEI byl za stálého míchání s 50 ml AgNO_3 o různých koncentracích zahříván na $80\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut. Poté byl připravený nanokompozit zfiltrován a promyt destilovanou vodou na Büchnerově nálevce za sníženého tlaku. Následně byl vzorek vysušen při $60\text{ }^\circ\text{C}$ v sušárně.

Nejprve byly studovány vzorky připravené v systému, který obsahoval následující koncentrace prekursoru AgNPs: 0,01; 0,05; 0,1 a $0,5\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. A po vizuálním vyhodnocení byly dále připraveny vzorky s molární koncentrací 0,01; 0,02; 0,03, 0,04 a $0,005\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

7.3 Uvolňování stříbra z nanokompozitu MMT@AgNPs

Pevnost adsorpce nanočástic stříbra k modifikovanému montmorillonitu byla studována protřepáváním v destilované vodě po dobu 24 hodin. Konkrétně byly naváženy 4 g nanokompozitu MMT@AgNPs, které byly třepány po dobu 24 hodin v 50 ml destilované vody. Po zfiltrování a vysušení nanokompozitu byl odebrán vzorek na SEM a odváženo 0,5 g vzorku na AAS. Zbytek vysušeného vzorku byl třepán dalších 24 hodin v 50 ml destilované vody. To bylo zopakováno ještě třikrát, až poslední vzorky nanokompozitu byly podrobeny 96 hodinovému třepání. Z množství stříbra ve vzorcích nanokompozitu z jednotlivých kroků protřepávání byla stanovena závislost uvolňování stříbra na čase.

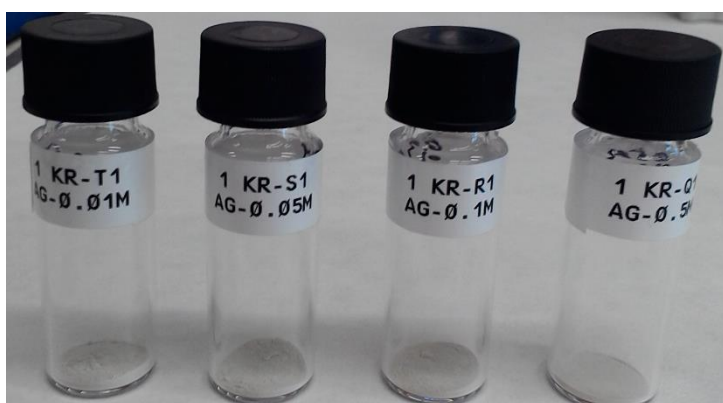
7.4 Stanovení množství stříbra metodou AAS

Atomovou absorpční spektrometrií bylo stanoveno množství stříbra ve vzorcích nanokompozitu MMT@AgNPs. Vzorky pro samotné měření byly připraveny z 0,1 g naváženého nanokompozitu s přesností měření na čtyři desetinná místa. Mineralizace navážky byla provedena 5 ml 65% HNO_3 . K oddělení roztoku od pevného podílu suspenze byla směs centrifugována a následně převedena přes mikrofiltr k dalšímu ředění roztoků pro měření. Výsledné množství stříbra v $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ bylo přepočítáno na 1 g nanokompozitu MMT@AgNPs. Kalibrační křivka byla nastavena na rozsah $0,1 - 2,00\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ stříbra.

8 VÝSLEDKY

8.1 Jednokroková příprava nanokompozitu MMT@AgNPs

V rámci jednokrokové přípravy kompozitu MMT@AgNPs byl montmorillonit funkcionalizován předpřipravenou stříbrnou disperzí, která obsahovala PEI s AgNPs. Koncentrace stříbra v disperzi byla stejná jako koncentrace stříbra v dvoukrokové přípravě s použitím (0,01; 0,05, 0,1 a 0,5 mol.dm⁻³) AgNO₃. Vizuálně lze z obr. 5 pozorovat téměř neměnnou šedobílou barvu náležející samotnému MMT i přes rostoucí koncentrací stříbra v disperzi. Metodou AAS byla stanovena koncentrace AgNPs, jež byly ukotveny na montmorillonitu. Z tabulky 1 lze vyčíst hmotnost stříbra v 1 g nanokompozitu hned po přípravě, po 24 hodinovém a 48 hodinovém třepání v destilované vodě. Při předpokladu navázání veškerého stříbra na montmorillonit za použití 0,01 mol.l⁻¹ disperze by v 1 g nanokompozitu bylo 53,9 mg AgNPs. Z hodnot tabulky 1 lze odvodit, že jen 1/20 stříbra z disperze je naadsorbována na montmorillonitu a zbytek zůstává ve filtrátu.



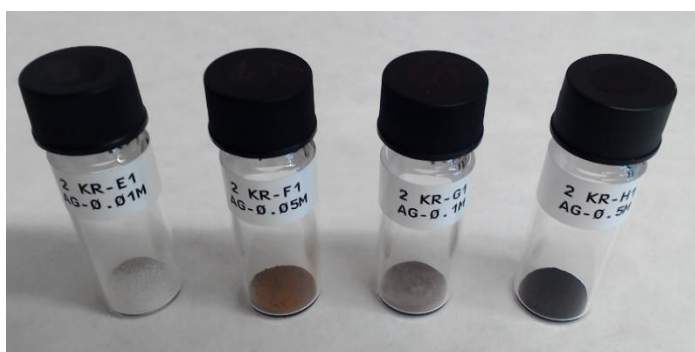
Obrázek 5: Vzorky AgNPs-PEI@MMT připravené jednokrokově s koncentrací Ag v disperzi (0,01; 0,05; 0,1 a 0,5 mol.dm⁻³)

Tabulka 1: Hmotnost AgNPs (mg) na 1 g nanokompozitu připraveného jednokrokově

Koncentrace stříbra v použité disperzi (mol.dm ⁻³)	Značení vzorku/hmotnost Ag (mg) v 1 g kompozitu		Značení vzorku/hmotnost Ag (mg) v 1 g kompozitu po 24 h. promytí		Značení vzorku/hmotnost Ag (mg) v 1 g kompozitu po 48 h. promytí	
	T ₂	3,075	T ₂₁	2,782	E ₂₂	2,579
0,01	T ₂	3,075	T ₂₁	2,782	E ₂₂	2,579

8.2 Dvoustupňová příprava nanokompozitu MMT@AgNPs

V rámci dvoukrokové přípravy kompozitu na bázi MMT@AgNPs byl v prvním kroku povrch montmorillonitu modifikován rozvětveným polymerem PEI. V druhém kroku byl upravený MMT funkcionalizován nanočásticemi stříbra vygenerovanými pomocí redukce z dusičnanu stříbrného iniciovaného zvýšenou teplotou. Připravené vzorky nanokompozitního materiálu se lišily koncentrací použitého AgNO_3 . Na obr. 6 lze optometricky vyhodnotit barevné změny od bílo-šedé přes oranžovo-červené až k černavému zabarvení kompozitního materiálu při změně použité koncentrace (0,01; 0,05, 0,1 a 0,5 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) AgNO_3 . Nejen barevnými změnami, ale i atomovou absorpční spektroskopií byly stanoveny rozdílné hmotnosti zachycených stříbrných nanočástic na vzorcích kompozitního materiálu. Z tabulky 2 lze vyčíst hmotnost stříbra obsahující nanokompozit po 24 hodinovém promytí v destilované vodě.



Obrázek 6: Vzorky MMT@AgNPs připravené s koncentrací AgNO_3 rovné 0,01; 0,05; 0,1 a 0,5 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Tabulka 2: Hmotnost AgNPs (mg) na 1 g nanokompozitu, po jeho 24 hodinovém promytí, stanová metodou AAS

Koncentrace použité stříbrné soli ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ AgNO_3)	Značení vzorku/hmotnost Ag (mg) v 1 g kompozitu po 24 h. promytí	
0,01	E ₁₁₂	39,42
0,05	F ₁₁₂	44,95
0,10	G ₁₁₂	54,53
0,50	H ₁₁₂	80,72

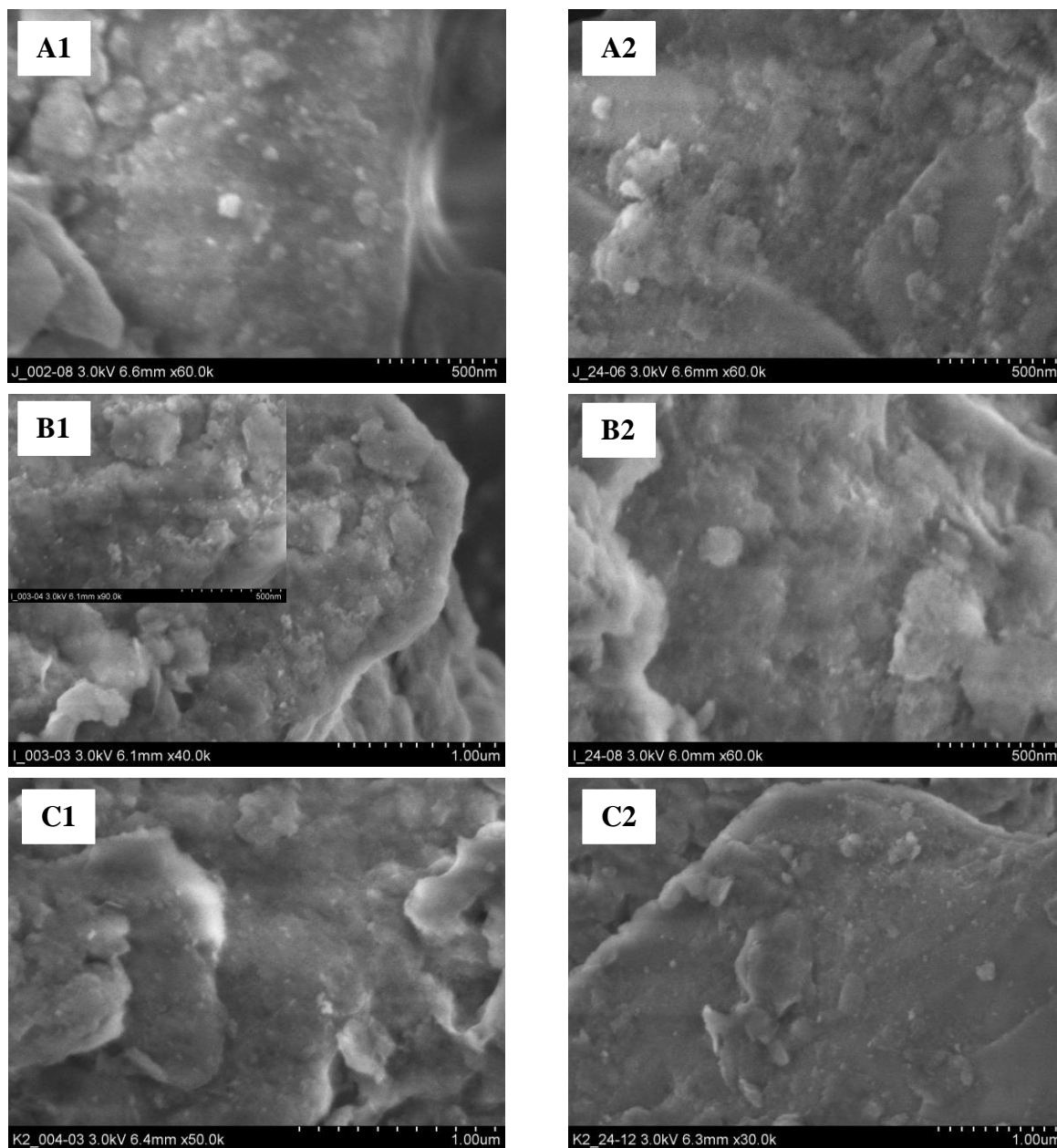
9 DISKUZE VÝSLEDKŮ

Z výsledků předložené bakalářské práce lze sledovat jasné rozdíly mezi jednokrokovou a dvoukrokovou přípravou nanokompozitního materiálu s nanočásticemi stříbra, které jsou imobilizované na jílovém minerálu, montmorillonitu. Příprava nanočástic stříbra byla v obou případech provedena na základě přímé redukce Ag^+ iontů na volných elektronových párech atomu dusíku v PEI pomocí termální iniciace. Větvený polymer PEI o relativní molekulové hmotnosti 25 000 byl využitý nejen jako redukční činidlo, ale současně i jako linker ukotvující nanočástice stříbra na povrchu matrice nanokompozitního materiálu. V obou případech byl studován vliv koncentrace stříbra na podobu výsledného kompozitu MMT@AgNPs za současně konstantní koncentrace větveného polymerního linkeru. Následně bylo zhodnoceno množství uvolněných nanočástic stříbra po mechanické námaze, tj. po třepání v destilované vodě.

U jednokrokové přípravy nanokompozitu, kde docházelo k adsorpci nanočástic stříbra ukotvených na PEI z disperze přímo na MMT, byly tímto způsobem připraveny vzorky s rozdílnými koncentracemi stříbra v disperzi odpovídající hmotnosti stříbra o koncentracích 0,01; 0,05, 0,1 a 0,5 mol.dm⁻³. Na základě vizuální podoby vzorku je evidentní, že k adsorpci AgNPs nedochází v žádném případě v takové míře jako je tomu u imobilizace dvoukrokové. Fakt, že většina stříbra z disperze zůstává ve filtrátu, byl potvrzen hmotností 3,075 mg stříbra v 1 g vzorku T₂ (tabulka 1), čímž je hodnota víc jak desetkrát menší než při použití stejné koncentrace stříbra v dvoukrokové metodě. V porovnání teoreticky ukotvitelného stříbra z disperze s výsledky z ASS je patrné, že došlo k ukotvení jen 1/20 stříbra na povrch montmorillonitu. Toto chování lze pravděpodobně vysvětlit již podstatou tohoto imobilizačního přístupu. Připravená disperze je v čase stabilní a tudíž lze předpokládat, že polymerní řetězce vytváří poměrně kompaktní obal kolem těchto částic a již není k dispozici dostatečné množství funkčních skupiny, které by mohly interagovat s povrchem substrátu. Proto je efektivita tohoto druhu imobilizace pouze 5%.

U dvoukrokové přípravy nanokompozitu, kde byly nanočástice stříbra imobilizovány na povrch montmorillonitu modifikovaného PEI, byly vzorky připraveny s rozdílnými použitými koncentracemi prekurzoru AgNO_3 . Uvolňování nanočástic stříbra bylo studováno na vzorcích připravených pomocí 0,005; 0,01; 0,02; 0,03 a 0,04 mol.dm⁻³ AgNO_3 . Některé z těchto vzorků byly charakterizované pomocí SEM (obr. 8). Na všech snímcích, tedy

snímcích MMT@AgNPs po syntéze (obr. 8 – A1, B1, C1), tak MMT@AgNPs po 96 hodinách třepání (obr. 8 – A2, B2, C2) je patrná přítomnost AgNPs na celém povrchu. Velikost jednotlivých částic na povrchu je pak cca 20 nm.



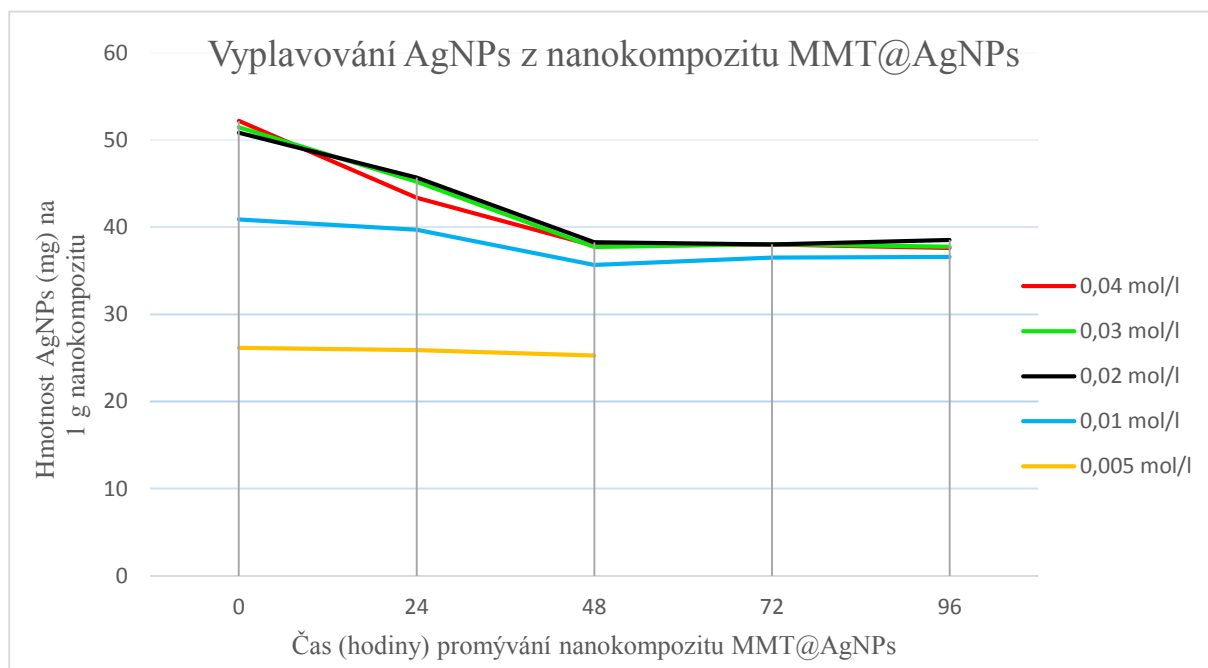
Obrázek 8: SEM snímky kompozitu na bázi MMT@AgNPs připraveného pomocí dvoukrokové depozice v koncentraci prekursoru (AgNO_3): A1 - $0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$; B1 - $0,03 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$; C1 - $0,04 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Vzorky A2, B2, C2 charakterizují odpovídající vzorky po 96 hod. namáhání na třepače při třepání v destilované vodě.

Z rozdílů koncentrací stříbra ve vzorcích nanokompozitu MMT@AgNPs lze pozorovat největší uvolňování do 48 hodin třepání a dále zůstávají hodnoty téměř konstantní (graf 1). S klesající koncentrací použitého AgNO_3 v rámci dvoukrokové depozice klesá množství

uvolněného stříbra z připraveného nanokompozitního materiálu. Lze usoudit, že při větším množství navázaných nanočástic stříbra na adhesivně ukotvenou vrstvu PEI na montmorillonit dochází k odštěpení nanočástic stříbra i s větvenou částí PEI. K optimalizaci poměru hmotnosti ukotvených nanočástic stříbra s adhezí silou vrstvy PEI došlo při použití $0,005 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ AgNO}_3$ a byla naměřena hodnota 26,15 mg Ag na 1 g kompozitu (graf 1). K minimálně rozdílným hodnotám množství Ag u vzorku F₂, vzniklým po 48 hodinovém třepání, je třeba taky zohlednit 5% odchylku měření metodou AAS.

Výše uvedené skutečnosti nebyly studovány jenom na jednogramové přípravě kompozitu MMT@AgNPs, ale byla provedena zkouška reprodukovatelnosti dvoukrokové přípravy MMT@AgNPs také v desetinásobném množství. Z výsledků jednoznačně vyplývá, že nedochází ke změně efektivity dvoukrokové přípravy kompozitu MMT@AgNPs s ohledem na změnu připravovaného množství nanokompozitu z 1 g na 10 g.

Graf 1: Vyplavování AgNPs z MMT@AgNPs připraveného dvoukrokově s koncentrací (0,01; 0,02; 0,03 a 0,04 mol.dm⁻³) AgNO₃



10 ZÁVĚR

Předmětem bakalářské práce je téma, které je svým charakterem více než aktuální. V současnosti jsou mnohé bakteriální kmeny rezistentní k řadě antibiotik a z tohoto důvodu se jeví použití nanočástic stříbra (AgNPs) jako antimikrobiální činidlo více než vhodné. Aby však nedocházelo ke ztrátě antimikrobiální aktivity agregací AgNPs a zároveň nebylo intoxikováno životní prostředí prostřednictvím AgNPs, je nasnadě imobilizovat AgNPs na pevný substrát. Podmínkou je ovšem zachování unikátních vlastností AgNPs i v nanokompozitním materiálu, tedy systému substrát@AgNPs.

S ohledem na zmíněná fakta byla navržena příprava kompozitního materiálu s imobilizovanými nanočásticemi stříbra na jílovitém substrátu – montmorillonitu (MMT@AgNPs). Při přípravě tohoto kompozitního materiálu byly srovnávány efektivity nanášení AgNPs neboli „loadingu“, jedнокrokovou a dvoukrokovou metodou. V obou případech jsou využity při přípravě AgNPs redukční schopnosti funkčních skupin větveného polymerního řetězce polyethyleniminu (PEI o relativní molekulové hmotnosti 25 000), který zároveň funguje jako polymerní linker a stabilizátor AgNPs vyredukovaných ze stříbrné soli (AgNO_3).

U jedнокrokové přípravy byly AgNPs imobilizovány z předpřipravené disperze AgNPs, syntetizované pomocí termálně indukované redukce stříbrného prekurzoru v přítomnosti polyethyleniminu, za laboratorních podmínek (25°C). Připravené vzorky s rozdílnými koncentracemi stříbra v disperzi odpovídající koncentracím 0,01; 0,05, 0,1 a 0,5 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ukazují, že už na základě vizuálního pozorování lze jen těžko sledovat změny množství imobilizovaných AgNPs s rostoucí koncentrací stříbra v disperzi (obr. 5). Fakt, že většina stříbra zůstala ve filtrátu, byl potvrzen množstvím 3,075 mg stříbra, stanoveného metodou AAS, které bylo v 1 g připraveného nanokompozitu naadsorbováno z disperze o koncentraci 0,01 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Tato hodnota koresponduje s 1/20 stříbra teoreticky adsorbovatelného z disperze. Důvodem je pravděpodobně vytvoření kompaktního obalu z polymerních řetězců kolem částic a absence většího množství funkčních skupin, které by byly použitelné pro adsorpci na MMT.

V dvoukrokové přípravě nanokompozitu MMT@AgNPs byly nanočástice stříbra vyredukovány a imobilizovány na primárně modifikovaném povrchu montmorillonitu pomocí PEI. Redukce byla v druhém kroku iniciována termicky. Koncentrace PEI v prvním kroku

byla ponechána konstantní. Pro vytvoření škály vzorků pak byl studován vliv koncentrace AgNO_3 (0,005; 0,01; 0,02; 0,03 a 0,04 mol.dm⁻³ AgNO_3) a následně byly vzorky podrobeny studiu uvolňování mechanickým třepáním v destilované vodě. Z rozdílů koncentrací stříbra ve vzorcích připraveného nanokompozitu lze pozorovat největší uvolňování AgNPs do 48 hodin třepání, odkdy dále nedochází k téměř žádnému uvolňování (graf 1). V rámci dvoukrokové depozice s klesající koncentrací použitého AgNO_3 klesá množství uvolněného stříbra z připraveného MMT@AgNPs. Lze usoudit, že s rostoucím množstvím navázaných AgNPs na adhesivně ukotvenou vrstvu PEI na montmorillonit dochází k odštěpení nanočástic stříbra i s větvenou částí PEI. K optimalizaci poměru hmotnosti ukotvených AgNPs s adhezí silou vrstvy PEI došlo při použití 0,005 mol.dm⁻³ AgNO_3 a byla naměřena hodnota 26,15 mg Ag na 1 g kompozitu (graf 1). Výše uvedené skutečnosti dvoukrokové přípravy MMT@AgNPs byly prokázány zkouškou reprodukovatelnosti, během níž se potvrdilo, že nedochází ke změně efektivity s ohledem na změnu připravovaného množství nanokompozitu z 1g na 10g. Charakterizace pomocí SEM (obr. 8) proběhla jak na vzorcích po syntéze MMT@AgNPs, tak po 96 hodinách třepání. Ze snímků je patrná přítomnost AgNPs na celém povrchu a velikost částic na povrchu montmorillonitu z dvoukrokové depozice je cca 20 nm.

Závěrem lze poukázat na skutečnost, že cíl bakalářské práce byl dosažen tím, že byl připraven kompozitní materiál MMT@AgNPs, který byl podroben procesu systematického vyplavování ve vodném prostředí, a byla tak ověřena stabilita připraveného kompozitu po 96 hodinách třepání v destilované vodě. Takto stabilní kompozit byl připraven dvoukrokovou metodou a s porovnáním efektivity depozice AgNPs při použití 0,01 mol.dm⁻³ AgNO_3 s jednokrokovou metodou je evidentně až desetinásobně krát úspěšnější příprava dvoukrokovou metodou.

11 SUMMARY

The bachelor paper is focused on more than up-dated topic. Nowadays, many bacterial strains are resistant against a wide range of antibiotics. Therefore the application of silver nanoparticles (AgNPs) reveals to be advantageous when the antimicrobial action is required.

In order to avoid the loss of the antimicrobial activity by aggregation of AgNPs side by side with the unwanted contamination of the environment with released AgNPs, the immobilisation of AgNPs on a solid substrate represents a tool how to handle both the problems. With regard to the facts mentioned above, a composite material on the bases of clay material – montmorillonite (MMT) with immobilized AgNPs, i.e. MMT@AgNPs, was suggested. The requirements for such composite material is clearly expressed: a) immobilization of AgNPs of diameter below 50 nm in order to retain the antimicrobial properties, b) resistance of the immobilized AgNPs against aggregation tendencies and c) release control of the deposited AgNPs from the composite material. Therefore, it was decided to evaluate two different methods of the AgNPs immobilization - one-step and two-step one. The results of both approaches was compared. In both cases, reduction abilities of function groups of branched polyethyleneimine polymer chain (PEI of relative molecular weigh 25,000) were used. The polymer chain of polyethyleneimine acts as a polymer linker and stabilizer of the AgNPs at the same time.

In the one-step approach, the PEI capped AgNPs were adsorbed from pre-synthesized dispersion directly onto the surface of MMT under laboratory temperature (25°C). The concentration of Ag in the dispersions used was as follows: 0,01; 0,05; 0,1 and 0,5 mol.dm⁻³. Although shaken in differently concentrated dispersions, the final composites did to reveal any colour difference, which was expected (Fig. 5). The fact that the majority of silver was left in the filtrate was proved with the amount of 3,075 mg of silver per 1g of the composite material as proved with the AAS method for the system shaken in dispersion containing 0,01 mol.dm⁻³. This value is more than ten times lower than in the two-step approach, the concentration used being still the same. It was proved that only 1/20 of the total amount of silver in dispersion is adsorbed. It is possible to assume that the formation of a compact surface layer around the particles disables effective adsorption of AgNPs to the MMT surface through the function groups.

In two-step approach, a MMT@AgNPs nanocomposite, was prepared by means of first modification of MMT by PEI followed by thermally induced generation and immobilization of the AgNPs on the PEI functional groups. The samples were prepared under constant PEI concentration and with a variety of AgNO₃ concentrations (0,005; 0,01; 0,02; 0,03 a 0,04 mol.dm⁻³). After the preparation, the samples were mechanically stressed in distilled water in order to provoke the AgNPs release. The differences in the concentration of silver in the samples of prepared nanocomposite indicate that the majority of AgNPs was released in the first 48 hours of shaking and that there was almost no emission noticed since then (Chart 1). Within two-step deposition with decreasing concentration of the used AgNO₃, the quantity of silver released from the prepared MMT@AgNPs decreases too. It is possible to assume, that with the increasing quantity of AgNPs attached to PEI adhesively fixed to MMT, the AgNPs are released together with the branched chain of PEI. The system, where 0,005 mol.dm⁻³ AgNO₃ was used in the course of the functionalization, is considered an optimised one with the proportion of the immobilized AgNPs to the PEI layer and the measured value was 26,15 mg Ag to 1g of the composite (Chart 1). The above mentioned facts concerning the two-step preparation were proved with a test of reproducibility. The test demonstrated that there is no change of efficiency with regards to the change of the amount of the prepared nanocomposite from 1g to 10g. The characterization by means of SEM (Fig. 8) was done using the samples after the synthesis of MMT@AgNPs and after about 96 hours of mechanical stress. The AgNPs are observable in all the SEM images covering the surface homogeneously with the average particle size of approx. 20 nm.

In conclusion, the aim of the paper was achieved with the preparation of the composite material MMT@AgNPs that was tested when mechanically stressed for the AgNPs release for maximally 96 hours. Such stable composite was prepared with the two-step method. In comparison with the efficiency of AgNPs deposition using 0,01 mol.dm⁻³ AgNO₃ and the one-step method it is obvious, that the two-step method is almost ten times more effective.

12 CITOVANÁ LITERATURA

- [1] George M. Whitesides, "Nanoscience, Nanotechnology, and Chemistry," *Small* 1, no. 2 (2005): 172–79, doi:10.1002/sml.200400130.
- [2] Michaela Pečová et al., "Biologicky Aktivní Látky Imobilizované Na Magnetických Nosičích a Jejich Využití v Biochemii a Biotechnologii," *Chemické Listy* 105, no. 7 (2011): 524–30, http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_07_524-530.pdf
- [3] S.V. Mirmohammadi and B. Zolfaghari S. Iravani, H. Korbekandi, "Synthesis of Silver Nanoparticles: Chemical, Physical and Biological Methods" *Research in Pharmaceutical Sciences* 9, no. 6 (2014): 385–406, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4326978/>
- [4] H. J. Klasen, "A Historical Review of the Use of Silver in the Treatment of Burns. II. Renewed Interest for Silver," *Burns* 26, no. 2 (2000): 131–38, doi:10.1016/S0305-4179(99)00116-3.
- [5] Radek Zbořil and Jana Soukupová, "Method Of Immobilization Of Silver Nanoparticles On Solid Substrates," *United States Patent Application* (2015), patent: US20150290677 A1, <http://www.google.ch/patents/US20150290677>
- [6] K. Barabaszová, „Mechanická příprava anorganických oxidů a jílových minerálů pro kompozitní materiály.” *Informátor* č. 43, 21 s, (2010), <http://www.czechclaygroup.cz/informatory/informator43.pdf>
- [7] Sajid Ali Ansari et al., "Biogenic Synthesis, Photocatalytic, and Photoelectrochemical Performance of Ag-ZnO Nanocomposite," *Journal of Physical Chemistry C* 117, no. 51 (2013): 27023–30, doi:10.1021/jp410063p.
- [8] Vicki Stone et al., "Nanomaterials for Environmental Studies: Classification, Reference Material Issues, and Strategies for Physico-Chemical Characterisation," *Science of the Total Environment* 408, no. 7 (2010): 1745–54, doi:10.1016/j.scitotenv.2009.10.035.
- [9] Paolo Di Sia, "Looking at the Schrödinger Equation For Nanotechnology" (*IJESIT*) 2, no. 6 (2013): 410–18. http://www.ijesit.com/Volume%202/Issue%206/IJESIT201306_51.pdf
- [10] Quang Huy Tran, Van Quy Nguyen, and Anh-Tuan Le, "Silver Nanoparticles: Synthesis, Properties, Toxicology, Applications and Perspectives," *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* 4, no. 3 (2013): 033001, doi:10.1088/2043-6262/4/3/033001.
- [11] X. Huang et al., "Gold Nanoparticles: Interesting Optical Properties and Recent Applications in Cancer Diagnostics and Therapy" *Nanomedicine* 2 (2007): 681–93, doi:abs/10.2217/17435889.2.5.681.
- [12] Olesja Bondarenko et al., "Toxicity of Ag, CuO and ZnO Nanoparticles to Selected Environmentally Relevant Test Organisms and Mammalian Cells in Vitro: A Critical Review," *Archives of Toxicology* 87, no. 7 (2013): 1181–1200, doi:10.1007/s00204-013-1079-4.

- [13] S Kuwahara, T Sugai, and H Shinohara, "A New AFM-HRTEM Combined Technique for Probing Isolated Carbon Nanotubes.," *Nanotechnology* 20, no. 22 (2009): 225702, doi:10.1088/0957-4484/20/22/225702.
- [14] Libor Kvítek et al., "Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs)," *Journal of Physical Chemistry C* 112, no. 15 (2008): 5825–34, doi:10.1021/jp711616v.
- [15] Lucie Dohnalová and Vlastimil Dohnal, "Nanočástice a Jejich Toxicita," *Chemické Listy* 109, no. 6 (2015): 444–50, http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2015_06_444-450.pdf
- [16] C. N. R. Rao et al., "Metal Nanoparticles and Their Assemblies," *Chem. Soc. Rev.* 29 (2010): 27–35, doi:10.1039/a904518j.
- [17] Prashant K. Jain et al., "Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in Imaging, Sensing, Biology, and Medicine," *Accounts of Chemical Research* 41, no. 12 (2008): 1578–86, doi:10.1021/ar7002804.
- [18] David D. Evanoff and George Chumanov, "Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays," *ChemPhysChem* 6, no. 7 (2005): 1221–31, doi:10.1002/cphc.200500113.
- [19] K. Kalishwaralal et al., "Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles by the Culture Supernatant of Bacillus Licheniformis," *Materials Letters* 62, no. 29 (2008): 4411–13, doi:10.1016/j.matlet.2008.06.051.
- [20] Kevin G. Stamplecoskie et al., "Optimal Size of Silver Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy," *The Journal of Physical Chemistry C* 115, no. 5 (2011): 1403–9, doi:10.1021/jp106666t.
- [21] Mohammad J. Hajipour et al., "Antibacterial Properties of Nanoparticles," *Trends in Biotechnology* 30, no. 10 (2012): 499–511, doi:10.1016/j.tibtech.2012.06.004.
- [22] Catalina Marambio-Jones and Eric M. V. Hoek, "A Review of the Antibacterial Effects of Silver Nanomaterials and Potential Implications for Human Health and the Environment," *Journal of Nanoparticle Research* 12, no. 5 (2010): 1531–51, doi:10.1007/s11051-010-9900-y.
- [23] G. A. Martinez-Castanon et al., "Synthesis and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles with Different Sizes," *Journal of Nanoparticle Research* 10, no. 8 (2008): 1343–48, doi:10.1007/s11051-008-9428-6.
- [24] H. Kodama, „Clay mineral“ *Encyclopædia Britannica Online*, accessed: 27. 2. 2016, <http://www.britannica.com/science/clay-mineral>
- [25] Z. WEISS, „Jílové minerály: jejich nanostruktura a využití.“ *Praha: Karolinum*, vyd. 1. (2005), 281 s., ISBN 80-246-0868-5.
- [26] K.S. Katti, „Structure of montmorillonite,“ *Geo Science World*. Virginia (2004), accessed: 27. 2. 2016, <http://ccm.geoscienceworld.org/content/60/6/599/F1.large.jpg>

- [27] Yolanda Echegoyen and Cristina Nerín, “Nanoparticle Release from Nano-Silver Antimicrobial Food Containers,” *Food and Chemical Toxicology* 62 (2013): 16–22, doi:10.1016/j.fct.2013.08.014.
- [28] Kwi Jong Lee et al., “Direct Synthesis and Inkjetting of Silver Nanocrystals toward Printed Electronics,” *Nanotechnology* 17 (2006): 2424–28, doi:10.1088/0957-4484/17/9/060.
- [29] Dongjo Kim, Sunho Jeong, and Jooho Moon, “Synthesis of Silver Nanoparticles Using the Polyol Process and the Influence of Precursor Injection.,” *Nanotechnology* 17, no. 16 (2006): 4019–24, doi:10.1088/0957-4484/17/16/004.
- [30] Y.H. Kim et al., “Synthesis and Characterization of Antibacterial Ag-SiO₂ Nanocomposite,” *Journal of Physical Chemistry C* 111 (2007): 3629–35, doi:10.1021/jp068302w.
- [31] C. Y. Flores, C. Diaz et al., “Spontaneous Adsorption of Silver Nanoparticles on Ti/TiO₂ Surfaces.pdf,” *Journal of Colloid and Interface Science* 350, no. 2 (2010): 402–408, doi:10.1016/j.jcis.2010.06.052.
- [32] Virender K. Sharma, Ria A. Yngard, and Yekaterina Lin, “Silver Nanoparticles: Green Synthesis and Their Antimicrobial Activities,” *Advances in Colloid and Interface Science* 145, no. 1–2 (2009): 83–96, doi:10.1016/j.cis.2008.09.002.
- [33] Xinyi Dong et al., “Shape Control of Silver Nanoparticles by Stepwise Citrate Reduction,” *Journal of Physical Chemistry C* 113, no. 16 (2009): 6573–76, doi:10.1021/jp900775b.
- [34] K. Čermáková et al., “Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Spectroscopy with Borohydride-Reduced Silver Colloids: Controlling Adsorption of the Scattering Species by Surface Potential of Silver Colloid,” *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 58 (1993): doi: 10.1135/cccc19932682.
- [35] Sharma, Yngard, and Lin, “Silver Nanoparticles: Green Synthesis and Their Antimicrobial Activities.” *Advances in Colloid and Interface Science*, (2009): 83–86, doi: 10.1016/j.cis.2008.09.002
- [36] Deenadayalan Ashok Kumar, V. Palanichamy, and Selvaraj Mohana Roopan, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Alternanthera Dentata Leaf Extract at Room Temperature and Their Antimicrobial Activity,” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 127 (2014): 168–71, doi:10.1016/j.saa.2014.02.058.
- [37] Melgardt M. De Villiers et al., “Introduction to Nanocoatings Produced by Layer-by-Layer (LbL) Self-Assembly,” *Advanced Drug Delivery Reviews* 63, no. 9 (2011): 701–15, doi:10.1016/j.addr.2011.05.011.
- [38] Xi Zhang, Huan Chen, and Hongyu Zhang, “Layer-by-Layer Assembly: From Conventional to Unconventional Methods,” *Chem. Commun.*, no. 14 (2007): 1395–1405, doi:10.1039/B615590A.

- [39] Sh. Sohrabnezhad, M. Rassa, and A. Seifi, "Green Synthesis of Ag Nanoparticles in Montmorillonite," *Materials Letters* 168 (2016): 28–30, doi:10.1016/j.matlet.2016.01.025.
- [40] Shaoqin Liu and Zhiyong Tang, "Nanoparticle Assemblies for Biological and Chemical Sensing," *Journal of Materials Chemistry* 20, no. 1 (2010): 24, doi:10.1039/b911328m.
- [41] Guan-Hui Gao et al., "Synthesis of Nanocomposites of Silver Nanoparticles with Medical Stone and Carbon Nanotubes for Their Antibacterial Applications," *Materials Express* 2, no. 2 (2012): 85–93, doi:10.1166/mex.2012.1056.
- [42] Kamyar Shameli et al., "Synthesis of Silver Nanoparticles in Montmorillonite and Their Antibacterial Behavior.," *International Journal of Nanomedicine* 6, no. MARCH (2011): 581–90, doi:10.2147/IJN.S17112.
- [43] Martina Karlíková et al., "The Catalytic Behaviour of nanoAg@montmorillonite Composite Materials," *Physics Procedia* 44, no. September 2015 (2013): 231–37, doi:10.1016/j.phpro.2013.04.028.
- [44] Jan Hošek, "Úvod do nanotechnologie," *České vysoké učení technické*, vyd.1. (2011): 176 s., ISBN 978-80-01-04555-8.
- [45] Hyun Ju Lee et al., "Antimicrobial Polyethyleneimine-Silver Nanoparticles in a Stable Colloidal Dispersion," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 88, no. 1 (2011): 505–11, doi:10.1016/j.colsurfb.2011.07.041.
- [46] K. H. Wu et al., "Preparation and Characterization of Silver-Modified Poly(vinyl Alcohol)/polyethyleneimine Hybrids as a Chemical and Biological Protective Material," *Polymer Degradation and Stability* 94, no. 12 (2009): 2170–77, doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.09.007.
- [47] Zijie Yan and Douglas B. Chrisey, "Pulsed Laser Ablation in Liquid for Micro-/nanostructure Generation," *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 13, no. 3 (2012): 204–23, doi:10.1016/j.jphotochemrev.2012.04.004.
- [48] Soňa Gybasová, „Syntéza nanočástic stříbra pomocí termálně indukované redukce“ *Theses.cz*, (2013), http://theses.cz/id/6a10xk/Bakalks_prce_-_Gybasov_Soa.pdf