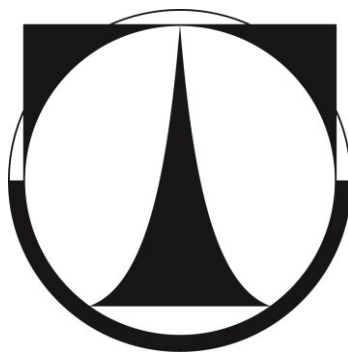


TECHNICKÁ UNIVERZITA LIBEREC

Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií



Modifikace membrán s využitím nanotechnologií

Ing. Jan Dolina

Téma disertační práce: Modifikace membrán s využitím nanotechnologií

Thesis topic: **Membrane modifications through nanotechnology**

Jméno a příjmení: Jan Dolina

Studijní program: P3901 / Aplikované vědy v inženýrství

Studijní obor: Aplikované vědy v inženýrství

Pracoviště: NTI - Ústav nových technologií a aplikované informatiky
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií
Technická Univerzita v Liberci

Vedoucí disertační práce: Ing. Tomáš Lederer, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Ing. Lukáš Dvořák, Ph.D.

Zadání disertační práce: 21.10 2008

Prohlášení

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

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

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

Disertační práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím disertační práce a konzultantem.

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

Datum:

Podpis:

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu disertační práce Ing. Tomášovi Ledererovi, Ph. D. za trpělivost a pomoc při doktorandském studiu a Ing. Lukášovi Dvořákovi, Ph.D. za vědeckou podporu a konzultace.

Poděkování patří také Ing. Tomáši Jiříčkovi za spolupráci na první části disertační práce, Ing. Denise Zálešákové, doc. Lence Martinové a Katedře netkaných textilií a nanovláknenných materiálů za vědeckou a materiální podporu v části druhé, Ing. Ondřeji Dlaskovi za spolupráci na čtvrté části, Ing. Hance Šourkové za spolupráci na části páté.

Dále bych chtěl poděkovat Ing. Pavlu Kejzlarovi a Oddělení přípravy a analýzy nanostruktur za mikroskopické analýzy, Bc. Filipovi Sanetrníkovi za podporu v oblasti přípravy nanovláken, Ing. Romanovi Knížkovi za instrukce k tepelně-tlakové laminaci a dalším, kteří se na disertační práci přímo, či nepřímo podíleli.

Poděkování patří také celé mé rodině a blízkým za všestrannou podporu při mém postgraduálním studiu.

Abstrakt

Předložená disertační práce je zaměřena zejména na povrchové modifikace komerčně dostupných ultrafiltračních membrán a na přípravu polyethersulfonových ultrafiltračních membrán s tzv. smíšenou maticí. Komerční ultrafiltrační membrány byly modifikovány prostřednictvím tří různých metod; metodou založenou na difuzi iontů stříbra s jejich následnou redukcí a tepelnou stabilizací, metodou založenou na polyethyleniminové imobilizaci nanočástic stříbra do membránové struktury a metodou tepelně-tlakové laminace nanovláknenné vrstvy s obsahem nanočástic stříbra, jejíž příprava byla rovněž cílem této práce.

Ačkoli se podařilo připravenou nanovláknennou vrstvu na membránový povrch zafixovat s dostatečnou pevností a minimální ztrátou morfologie, bylo pozorováno významné vyplavování stříbra z nanovláken. Optimalizací podmínek přípravy, zejména volbou vhodného prekurzoru nanočástic stříbra (disperze behenátu stříbrného), se podařilo minimalizovat vyplavování stříbra z nanovláknenné vrstvy, čímž byly zároveň prodlouženy antimikrobiální vlastnosti této vrstvy. S výjimkou modifikace membránového povrchu prostřednictvím nanovláken bylo dosaženo poklesu tendence k zanášení, tedy snížení adherence nežádoucích složek na povrch membrány. Ta představuje zásadní negativní jev membránových technologií při filtraci vod s obsahem organických látek, včetně mikroorganismů.

Pro přípravu polyethersulfonových membrán se smíšenou maticí byly kromě nanočástic stříbra použity také nejrozličnější komerční a disperzní nanočástice, u nichž se předpokládal antimikrobiální efekt. Zejména přidavek nanočástic oxidu měďnatého a disperzních nanočástic oxidu titaničitého s přidavkem stříbra v polymerní matici, vedl k membránám vykazující nižší tendenci k zanášení membránového povrchu při zachování jejich selektivity. U těchto membrán bylo dále pozorováno zvýšení hydrofility a stabilita aditiv v polymerní matici.

Dosažené výsledky prezentované v této disertační práci naznačují aplikační potenciál těchto kompozitních a modifikovaných membrán, například pro filtrace odpadních vod s vysokým obsahem nerozpuštěných látek a mikroorganismů.

Klíčová slova: Membrána; kompozity; nanovláknena; stříbro; nanočástice; disperze, antimikrobiální vlastnosti; hydrofilita, snížené zanášení.

Abstract

This thesis is focused on the surface modification of commercially available ultrafiltration membranes and on the preparation of mixed matrix polyethersulfone membranes for ultrafiltration. Commercial ultrafiltration membranes were modified by three different methods; one based on the diffusion of silver ions with their subsequent reduction and thermal stabilization; other based on polyethylenimine immobilization of silver nanoparticles in the membrane structure and the last method is based on thermal-pressure lamination of nanofibrous layers containing silver nanoparticles whose preparation is also an objective of this work.

Although the nanofiber layer was fixed on the membrane surface with sufficient adhesion and minimum loss of morphology, significant leaching of silver from nanofibre layer was observed. By optimizing conditions of preparation, particularly the choice of a suitable precursor of silver nanoparticles (silver behenate dispersion), the silver leaching from nanofibrous layer was minimized and thereby antimicrobial properties were prolonged. Membranes used for the filtration of wastewater suffer from fouling by organic matter and microorganisms which limits the membrane performance significantly. With the exception of membranes with surface modified by nanofibers the surface modifications of commercially available membranes led to fouling mitigation, i.e. reducing adherence of undesirable components on the membrane surface.

For mixed matrix polyethersulfone membranes preparation the addition of various commercially available and dispersed nanoparticles with antimicrobial properties was investigated. In particular, the addition of copper oxide nanoparticles and dispersed nanoparticles of titanium dioxide with the silver addition to polymer matrix led to membranes with lower tendency to surface fouling while maintaining their selectivity. These membranes exhibited improved hydrophilicity and stability of additives in the polymer matrix.

Achieved results presented in this thesis indicate the application potential of these membrane composites and modified membranes, e.g. for the wastewater filtration with high content of suspended solids and microorganisms.

Keywords: Membrane, composites; nanofibres; silver; nanoparticles; dispersion; antimicrobial properties; hydrophilicity; membrane fouling.

Členění práce

Jelikož předložená disertační práce vychází z výsledků, které byly již publikovány v mezinárodních impaktovaných časopisech, je práce rozdělena celkem do pěti částí. Jednotlivé části odpovídají vždy jednomu článku uveřejněnému, či plánovanému v impaktovaném periodiku. I z tohoto důvodu se každá část skládá z krátkého úvodu, experimentální části, výsledků a diskuze. Práce zároveň obsahuje nezbytné části jako je abstrakt, přehled aktuálního stavu poznání (Literární část) a hlavní závěry plynoucí z této práce.

První část disertační práce je zaměřena na povrchovou modifikaci stávajících komerčně dostupných ultrafiltračních membrán prostřednictvím nanovláken. Výzkumné aktivity související s touto oblastí byly úzce spjaty s mezinárodním výzkumným projektem NAMETECH. Jeho cílem byla integrace nanotechnologie a membránové technologie využitelné v oblasti čištění odpadních vod. Membránová modifikace pomocí nanovláken byla testována z důvodu vyšší aktivace povrchu a možnosti snížení adherence nežádoucích složek vedoucích k jeho zanášení, zejména pak vlivem antimikrobiálních vlastností nanočástic stříbra.

Jelikož docházelo k rychlému vyplavování stříbra (zejména v prvních fázích filtračních testů), dalším krokem bylo minimalizovat uvolňování stříbra z polyurethanových nanovláken. Za tímto účelem byly testovány další sloučeniny a zároveň nejrůznější procesní podmínky. Dosažené výsledky těchto experimentů jsou detailně popsány a diskutovány v **druhé části** této práce.

Experimenty přípravy membránových kompozitů s nanovláknem (část 1) ukázaly, že vrstvení nanovláken s nanočásticemi stříbra je možné a bylo dosaženo dobré adheze k testovaným povrchům. **Třetí část** disertační práce se proto zabývá přípravou a charakterizací kompozitní mikrofiltrační membrány s antibakteriálními vlastnostmi, kdy jsou nanovláknata využita jako aktivní vrstva s velmi vysokým specifickým povrchem a otevřenou a vzájemně propojenou porézní strukturou.

Čtvrtá část disertační práce se zabývá povrchovými modifikacemi komerční membrány prostřednictvím tří různých technik inkorporace nanočástic stříbra. Konkrétně se jednalo o funkcionalizaci založenou na principu difuze iontů stříbra s jejich následnou redukcí a tepelnou stabilizací v polymerní matici, dále o imobilizaci nanočástic stříbra v polyethyleniminové matici a o povrchovou modifikaci založenou na tepelně-tlakové laminaci stříbrem dotovaných polyurethanových nanovláken (viz část 1).

Pátá část se zabývá přípravou polyethersulfonových membrán se smíšenou maticí připravených *in situ* metodou inverze fáze, tzn. bez nutnosti následných úprav. Základní polymer, polyethersulfon, byl dotován jak nejrůznějšími komerčně dostupnými nanočásticemi, tak nanočásticemi ve formě organických disperzí. Cílem bylo připravit takovou membránu, která bude dlouhodobě odolávat zanášení membránovému povrchu. Výhodou membrán se smíšenou maticí oproti povrchovým modifikacím je možnost dotace částic i do vnitřní membránové struktury, čímž je možné snížit zanášení i na vnitřním povrchu membrány.

Obsah

| | |
|----------------------------|-------------|
| Prohlášení | i |
| Poděkování..... | ii |
| Abstrakt | iii |
| Členění práce | v |
| Obsah..... | vii |
| Cíle práce | xii |
| Přínosy práce | xiii |

LITERÁRNÍ ČÁST

| | |
|---|----------|
| 1 Nanotechnologie..... | 1 |
| 1.1 Historie nanotechnologie..... | 1 |
| 1.2 Rozdělení nanotechnologie | 1 |
| 2 Membránové procesy | 2 |
| 2.1 Definice membrány | 2 |
| 2.2 Přehled historického vývoje polymerních membrán | 3 |
| 2.3 Mechanismy separace a membránové procesy..... | 4 |
| 2.4 Použití membrán..... | 4 |
| 2.5 Materiály membrán | 5 |
| 2.6 Membránové profily a tvary | 5 |
| 2.7 Metody přípravy membrán | 5 |
| 2.8 Tlakové membránové procesy..... | 8 |
| 2.8.1 Mikrofiltrace..... | 9 |
| 2.8.2 Ultrafiltrace..... | 10 |
| 2.8.3 Hyperfiltrační membránové procesy | 13 |
| 2.9 Negativní jevy membránové separace | 14 |
| 2.10 Snížení negativních jevů membránové separace | 15 |
| 2.11 Membránové modifikace..... | 16 |
| 2.12 Inkorporace nanočástic do polymerních membrán..... | 16 |
| 2.13 Polymerní membrány s nanočásticemi stříbra | 17 |
| 2.14 Antibakteriální aktivita stříbra..... | 17 |
| 2.15 Zdravotní rizika stříbra - cytotoxicita | 19 |
| 2.16 Využití nanočástic stříbra v praxi..... | 20 |

| | | |
|------|---------------------------|----|
| 2.17 | Nanovlákná | 21 |
| 2.18 | Aplikace nanovláken | 21 |
| | Seznam použité literatury | 22 |

ČÁST I.

| | | |
|------------------------------|--|----|
| Souhrn | 27 | |
| 1 ÚVOD | 28 | |
| 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 28 | |
| 2.1 | Příprava polymerních nanovláken | 28 |
| 2.2 | Metoda zvlákňování | 29 |
| 2.3 | Studium morfologie a distribuce velikosti částic | 30 |
| 2.4 | Metody redukce stříbra | 30 |
| 2.5 | Příprava kompozitních membrán | 31 |
| 2.5.1 | Tepelně-tlaková laminace | 31 |
| 2.5.2 | Přímá depozice nanovláken | 31 |
| 2.6 | Testování membrán | 31 |
| 2.6.1 | Permeabilita membrán | 31 |
| 2.6.2 | Vyplavování stříbra z nanovláknenné vrstvy | 31 |
| 2.6.3 | Antimikrobiální testy | 32 |
| 3 VÝSLEDKY A DISKUZE | 33 | |
| 3.1 | Příprava nanovláken | 33 |
| 3.2 | Polyurethanová nanovlákná se stříbrem | 33 |
| 3.3 | Příprava kompozitních membrán | 35 |
| 3.3.1 | Tepelně-tlaková laminace | 35 |
| 3.3.2 | Přímá depozice nanovláken | 37 |
| 3.4 | Metody redukce stříbra | 37 |
| 3.5 | Testování membrán | 38 |
| 3.5.1 | Permeabilita membrán | 38 |
| 3.5.2 | Vyplavování stříbra z nanovláknenné vrstvy | 39 |
| 3.5.3 | Antimikrobiální vlastnosti | 41 |
| 3.5.4 | Antimikrobiální vlastnosti – respirační aktivita | 42 |

| | |
|---------------------------------|-----------|
| 4 ZÁVĚRY | 42 |
| Seznam použité literatury | 43 |

ČÁST II.

| | |
|---|-----------|
| Souhrn | 45 |
| 1 ÚVOD | 46 |
| 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 46 |
| 2.1 Příprava stříbrných nanočástic | 46 |
| 2.2 Nanovláknenné roztoky a elektrostatické zvlákňování | 47 |
| 2.3 Elektronová mikroskopie a snímková analýza | 49 |
| 2.4 Antimikrobiální testy | 50 |
| 2.5 Testy vyplavování stříbra | 51 |
| 3 VÝSLEDKY A DISKUZE | 51 |
| 3.1 Vliv nanovláknenných roztoků na zvlákňování | 51 |
| 3.2 Nanovláknenná a částicová morfologie | 52 |
| 3.3 Antimikrobiální vlastnosti | 59 |
| 3.4 Testy vyplavování stříbra | 62 |
| 4 ZÁVĚRY | 66 |
| Seznam použité literatury | 66 |

ČÁST III.

| | |
|---|-----------|
| Souhrn | 70 |
| 1 ÚVOD | 71 |
| 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 71 |
| 2.1 Příprava nanovláknenné membrány | 71 |
| 2.2 Morfologie membrán | 72 |
| 2.3 Měření permeability | 72 |
| 2.4 Měření selektivity a porozity | 73 |
| 2.5 Filtrace bakteriální suspenze | 73 |
| 2.6 Měření kontaktního úhlu | 74 |
| 2.7 Filtrace odpadní vody a aktivovaného kalu | 74 |
| 3 VÝSLEDKY A DISKUZE | 75 |

| | | |
|---------------------|--|------------|
| 3.1 | Morfologie membrán..... | 75 |
| 3.2 | Měření permeability | 78 |
| 3.3 | Měření porozity | 79 |
| 3.4 | Filtrace bakteriální suspenze | 81 |
| 3.5 | Měření kontaktního úhlu | 82 |
| 3.6 | Filtrace biologicky vyčištěné odpadní vody | 82 |
| 3.7 | Filtrace aktivovaného kalu | 83 |
| 4 | ZÁVĚRY..... | 85 |
| | Seznam použité literatury | 86 |
| ČÁST IV. | | |
| | Souhrn | 88 |
| 1 | ÚVOD..... | 89 |
| 2 | EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST..... | 91 |
| 2.1 | Membránové modifikace..... | 91 |
| 2.2 | Filtrační testy | 92 |
| 2.3 | Měření dělicí schopnosti membrán | 95 |
| 2.4 | Antimikrobiální vlastnosti | 96 |
| 2.5 | Test stability stříbra | 96 |
| 2.6 | Studium morfologie..... | 97 |
| 2.7 | Měření kontaktního úhlu | 97 |
| 3 | VÝSLEDKY A DISKUZE | 98 |
| 3.1 | Filtrační testy | 98 |
| 3.2 | Měření dělicí schopnosti membrán | 106 |
| 3.3 | Antimikrobiální vlastnosti | 109 |
| 3.4 | Test stability stříbra | 110 |
| 3.5 | Studium morfologie..... | 111 |
| 3.6 | Měření kontaktního úhlu | 119 |
| 4 | ZÁVĚRY..... | 120 |
| | Seznam použité literatury | 121 |

ČÁST V.

| | |
|---|------------|
| Souhrn | 125 |
| 1 ÚVOD | 126 |
| 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 127 |
| 2.1 Metodika přípravy membrán se smíšenou maticí | 127 |
| 2.2 Charakterizace použitých aditiv | 129 |
| 2.3 Měření permeability | 130 |
| 2.4 Měření kontaktního úhlu | 130 |
| 2.5 Měření účinnosti odstranění organického znečištění..... | 131 |
| 2.6 Měření dělicí schopnosti membrán | 131 |
| 2.7 BSA testy..... | 131 |
| 2.8 Filtrační testy s aktivovaným kalem..... | 131 |
| 2.9 Stanovení stability aditiv v membráně | 132 |
| 2.10 Antimikrobiální testy..... | 133 |
| 2.11 Mikroskopické hodnocení | 134 |
| 3 VÝSLEDKY A DISKUZE | 135 |
| 3.1 Příprava membrán se smíšenou maticí..... | 135 |
| 3.2 Charakterizace použitých aditiv | 135 |
| 3.3 Měření permeability | 138 |
| 3.4 Měření kontaktního úhlu | 139 |
| 3.5 Měření účinnosti odstranění organického znečištění..... | 141 |
| 3.6 Měření dělicí schopnosti membrán | 142 |
| 3.7 BSA testy..... | 145 |
| 3.8 Filtrační testy s aktivovaným kalem..... | 149 |
| 3.9 Stabilita aditiv v membráně..... | 160 |
| 3.10 Testování antimikrobiálních vlastností..... | 163 |
| 3.11 Mikroskopické hodnocení | 167 |
| 4 ZÁVĚRY | 184 |
| Seznam použité literatury | 186 |
| Závěry disertační práce | I |
| Seznam publikací | III |

Cíle práce

Cílem disertační práce bylo s využitím nanotechnologií modifikovat komerčně dostupné membrány a připravit nové membrány, které povedou ke snížení negativních jevů jako je zejména zanášení membránového povrchu. Důležitým faktorem bylo nejen provést zmiňovanou modifikaci, ale zároveň zachovat vysoké separační schopnosti daných membrán, které tak mohou sloužit např. pro intenzifikaci procesů čištění vod.

Za tímto účelem byla připravena kompozitní ultrafiltrační membrána prostřednictvím antimikrobiální nanovlákněné vrstvy. Cílem bylo otestovat tepelně-tlakovou laminaci a přímou depozici nanovláken pro přípravu mechanicky stabilní kompozitní membrány. Jelikož hlavní nevýhodou imobilizace stříbra na nanovlákněch je jeho slabá fixace, jedním z cílů práce bylo minimalizovat vyplavování stříbra s použitím jiných prekurzorů stříbra a změnou procesních podmínek přípravy. Další oblastí byl výzkum nanovlákněných membrán určených pro filtraci vody s obsahem nerozpuštěných látek a mikroorganismů a cílem bylo připravit nanovlákněnou kompozitní membránu s nanovlákněnými sloužícími jako aktivní vrstva.

Další oblastí byla příprava povrchově modifikovaných membrán. Cílem zvolených modifikací bylo připravit membrány, které budou mít dlouhodobé antimikrobiální vlastnosti vůči mikroorganismům reálné odpadní vody a jejichž povrchy budou co nejméně náchylné k zanášení.

Poslední oblastí výzkumu disertační práce byly membrány se smíšenou maticí. Cílem této oblasti byla příprava ultrafiltračních membrán s nejrůznějšími aditivami na bázi nanosloučenin metodou inverze fáze vedoucí opět ke snížení jejich zanášení. Výhodou oproti povrchovým modifikacím je možnost *in situ* přípravy metodou inverze fáze bez následných úprav a funkcionalizace membrány napříč celou strukturou.

Kromě vlastní modifikace či přípravy membrán, bylo cílem disertační práce také tyto membrány detailně charakterizovat. Za tímto účelem byly provedeny následující testy:

- Stanovení permeability (hydraulického výkonu) daných membrán
- Určení selektivity (dělicí schopnosti) modifikovaných či nově připravených membrán
- Stanovení stability použitých aditiv
- Určení antimikrobiálních vlastností prostřednictvím kontaktních testů, testů inhibičních zón, změn v respirační aktivitě aj.
- Mikroskopické analýzy vnitřních a povrchových morfologií modifikovaných a nově připravených membrán s využitím pokročilých mikroskopických technik

Přínosy práce

Výstupem práce je řada původních výsledků materiálového výzkumu zaměřeného na oblast vývoje modifikovaných membrán pro tlakové separační procesy aplikované v technologiích čištění odpadních vod. Celkovým přínosem je komplexní a cílená výzkumná činnost zaměřená na různé směry modifikací separačních membrán směřující na omezení negativních procesů foulingu a biofoulingu.

Prvním přínosem disertační práce byl vývoj kompozitních ultrafiltračních materiálů prostřednictvím tepelně tlakové laminace a přímé depozice původních nanovláknenných struktur. V této oblasti bylo dosaženo přípravy mechanicky stabilních kompozitů s dostatečnou adhezí nanovláknenné vrstvy s minimální ztrátou její morfologie. Tyto membrány navíc vykazovaly antimikrobiální vlastnosti.

Dalším přínosem byl vývoj a testování vlastních nanovláknenných mikrofiltračních membrán, připravených navrstvením více vrstev kontinuálně zvlákněných nanovláken na polyesterový netkaný substrát prostřednictvím tepelně tlakové laminace. Tyto vrstvy vykazovaly vysokou permeabilitu a srovnatelnou selektivitu v porovnání s komerční mikrofiltrační 0,45 μm membránou. V testu s aktivovaným kalem navíc tyto kompozity vykazovaly lepších výsledků, než symetrické mikrofiltrační membrány. Nanovláknenné vrstvy z polyurethanu byly dále *in situ* dopovány různými prekurzory a nulmocnými nanočásticemi stříbra. Pro nanovláknena s přidávkou disperzního behenátu stříbrného bylo pozorováno snížené vyplavování stříbra a velmi nízká ztráta stříbra ve srovnávacích testech. V této práci bylo navíc v porovnání s ostatními studii polyurethanových nanovláken se stříbrem měřeno vyplavování stříbra v průběhu času pomocí koncentrace uvolněného stříbra metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, která mnohem přesněji odráží skutečnou ztrátu stříbra z nanovláken.

V navazující části disertační práce byly modifikace komerčních membrán pomocí nanovláken porovnány s dalšími postupy povrchové inkorporace nanočástic stříbra. Jmenovitě se jednalo o difuzi iontů stříbra s následnou redukcí a o ukotvení nanočástic stříbra do polyethyleniminové matrice. Přínosem kromě experimentálního ověření povrchových modifikací ultrafiltračních membrán byla příprava membrán s antimikrobiálními vlastnostmi vůči mikroorganismům reálné odpadní vody. V případě difuzní a polyethyleniminové metody membránové modifikace vedly ke snížení biologického zanášení. **Tyto metody jsou předmětem původní ověřené technologie s názvem „Antimikrobiální modifikace ultrafiltračních membrán s různými prekurzory stříbrných nanočástic“** (identifikační kód: 17890_2015_1). Z hlediska použití v praxi je

u difuzní metody rozhodným přínosem možnost znovuoobnovení antimikrobiálních vlastností bez nutnosti výměny membrán.

Přínosem práce v oblasti výzkumu membrán se smíšenou maticí bylo nalezení vhodných (nano)částicových a disperzních aditiv a vlastní příprava nových původních membrán se smíšenou maticí, u kterých bylo minimalizováno jejich biologické zanášení. Membrány se smíšenou maticí s přidavkem oxidu měďnatého a oxidu titaničitého doplněného o stříbro dosahovaly požadované selektivity, zvýšené hydrofility, antimikrobiálních vlastností a stability aditiv.

Hmatatelným výstupem disertační práce jsou zejména povrchové modifikace založené na difuzní a polyethyleniminové metodě komerčních ultrafiltračních membrán a membrány se smíšenou maticí s přidavkem oxidu měďnatého a oxidu titaničitého doplněného o stříbro. Povrchové modifikace jsou součástí ověřené technologie a spolu s membránami budou v navazujícím výzkumu posouzeny jejich aplikovatelnosti v průmyslu.

Přínosem disertační práce je také publikační činnost a to i v odborných časopisech s relativně vysokým impact faktorem vzhledem k danému oboru. Odezvu na publikované výsledky práce dokumentují i níže uvedené citace:

- Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978. (IF, 2,587; počet citací, 4)
- Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2015. Biocide modification of ultrafiltration membranes using nanofiber structures. *Desalination Water Treat.*, 56(12), 3252-3258. (IF, 1,272; počet citací, 3)
- Dolina, J., Dlask, O., Lederer, T., Dvořák, L., 2015. Mitigation of membrane biofouling through surface modification with different forms of nanosilver. *Chem. Eng. J.*, 275, 125-133. (IF, 5,310; počet citací, 3)
- Dvořák, L., Gómez, M., Dolina, J., Černín, A., 2015. Anaerobic membrane bioreactors—a mini review with emphasis on industrial wastewater treatment: applications, limitations and perspectives. *Desalination Water Treat.*, 1-15. (IF, 1,272; počet citací, 1)
- Dolina, J., Dvořák, L., Lederer, T., Vacková, T., Mikmeková, Š., Šlouf, M., Černík, M., 2016. Characterisation of morphological, antimicrobial and leaching properties of in situ prepared polyurethane nanofibres doped with silver behenate. *RSC Advances*, 6(28), 23816-23826. (IF, 3,289; počet citací, 0)

Dalším přínosem byla aktivní účast na význačných zahraničních konferencích zabývajících se membránovou problematikou:

- 5. ročník mezinárodní konference PERMEA, 4. - 8. září 2010, Tatranské Matliare, Slovensko
- 6. ročník mezinárodní konference IWA Specialist Conference on Membrane Technology for Water & Wastewater Treatment, 4. – 7. října 2011, Eurogress Aachen, Německo
- 7. ročník mezinárodní konference nanomateriálů - výzkum & aplikace, 14. - 16. října 2015, Brno, Česká republika

Projektové zapojení související s výzkumem v oblasti membránové separace a nanovláken:

- Development of intensified water treatment concepts by integrating nano- and membrane technologies. European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under grant agreement nr. 226791 [2009-2012]
- Mikrobiální kolonizace povrchu vláken pro analyticko-diagnostickou praxi a technické aplikace (TA04021210) [2014-2017]
- Ekologicky šetrné nanotechnologie a biotechnologie pro čištění vod a půd (TE01020218) [2012-2019].

LITERÁRNÍ ČÁST

1 Nanotechnologie

Pojem nanotechnologie je odvozen z řeckého slova nanos (trpaslík) a techné (dovednost) (Šrámek, 2009). Nanotechnologie se tedy zabývá objekty o velikosti řádově v jednotkách až desítkách nanometrů (Farokhzad a Langer, 2009). Další definice lze nalézt například v Shrbená a Šperlink (2012), kde je nanotechnologie definována jako projektování, charakterizace, produkce a aplikace struktur, zařízení a systémů řízením tvarů a rozměrů v nanometrické škále. Nanotechnologie jsou schopny například modulovat kovy do nanorozměru, což dramaticky mění jejich chemické, fyzikální a optické vlastnosti.

1.1 Historie nanotechnologie

Nanotechnologie je poměrně mladá a dynamicky se rozvíjející vědecká disciplína, i když její počátky lze najít, zejména ve spojitosti s koloidní chemií, již ve 20. letech minulého století (Lyklema, 1991). Jako zakladatel nanotechnologie je obvykle uváděn fyzik Richard P. Feynman (1918–1988), který v příspěvku „There's Plenty of Room at the Bottom“ na kongresu American Physical Society v roce 1959 nastínil principy nanotechnologie (Feynman, 1960). V roce 1974 použil Norio Taniguchi z Tokijské univerzity jako první termín „Nano-technologie“ k popisu nanášení tenkých vrstev v polovodičích, které vykazují kontrolu v řádu nanometrů. V roce 1986 vydal Eric Drexler knihu „Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology“, ve které vnímal nanotechnologii jako manipulaci jednotlivých atomů a molekul. V roce 1992 další knihu „Nanosystems“, ve které řešil výhody a limitace nanotechnologie jako takové. Od roku 2000 se začínají nanotechnologie využívat i v průmyslu, a to zejména ve formě nanočástic oxidu titaničitého, oxidu zinečnatého či stříbra v kosmetice nebo potravinářství (Dowling et al., 2004).

1.2 Rozdělení nanotechnologie

V současnosti se v rámci nanotechnologie rozlišují čtyři hlavní proudy výzkumu 1) nanoelektronika, 2) nanomateriály, 3) molekulární nanotechnologie, 4) mikroskopy s nanometrovou rozlišovací schopností (Šrámek, 2009).

Dělení nanomateriálů (Shrbená a Šperlink, 2012):

- a) nanopráškové materiály, nanočástice, nanovlákna, kvantové tečky
- b) kompozitní materiály obsahující nanočástice
- c) materiály s uhlíkovými nanotrubicemi nebo fullereny
- d) tenké vrstvy, nanovrstvy, nanopovlaky
- e) nanostrukturní kovy a slitiny

- f) nanokeramika
- g) polymerní nanokompozity, polymerní nanomateriály

Výhodou nanomateriálů, ve srovnání s běžnými materiály, je jejich velký specifický povrch a zvýšená reaktivita (Duncan, 2011). Tyto nové vlastnosti je následně odliší od stejných sloučenin, ale s většími rozměry (Moritz a Geszke-Moritz, 2012).

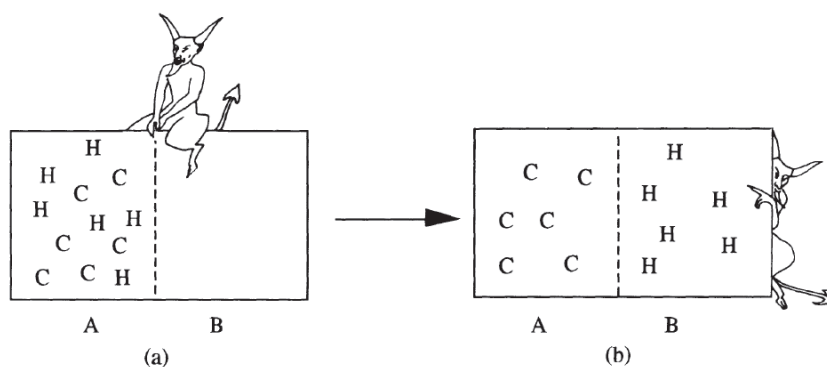
Nanotechnologie, jako nově se rozvíjející technologie, proniká do mnoha odvětví vědních oborů. Jedním z nich je i membránová separace.

Výzkum membrán s využitím nanotechnologie v disertační práci spadá do oblasti nanomateriálů (1) a molekulární nanotechnologie (2). V oblasti nanomateriálu pak pod oblasti a–e, g.

2 Membránové procesy

2.1 Definice membrány

Definice membrány byla asi nejpřesněji zformulována v roce 1984 podle Lakshminarayanaiaha (Wienk et al., 1995). Ten popsal membránu jako „fázi, která funguje jako bariéra zabráňující toku hmoty, ale umožňující omezený nebo regulovaný transport jedné, či více komponent“. Obdobná definice říká, že membrána je mezifázová selektivní bariéra na rozhraní dvou fází umožňující selektivní transport látek (Mulder, 1996). Obecně je membrána vnímána jako fázově oddělující transportně selektivní bariéra. V ideálním a nereálném případě je membrána schopna úplné separace jednotlivých částic na základě jejich vlastností, například oddělení teplých částic od studených a z neuspořádaného stavu tak udělat stav uspořádaný (Obrázek 1).



Obrázek 1: Maxwellův „démon“ zaručující, že se náhodné rozložení (a), změní v uspořádané (b) (Mulder, 1996).

2.2 Přehled historického vývoje polymerních membrán

Bez membrán by neexistovaly buňky, ani by nedocházelo k filtraci krve v ledvinách, kůže by nechránila člověka od okolního prostředí. V průběhu historického vývoje byly postupně objevovány fyzikální zákony membránové separace. S rozvojem organické chemie mohlo dojít k výrobě prvních syntetických membrán. Syntetické materiály, jež vznikaly v druhé polovině minulého století, jsou inspirovány biologickými membránami, snaží se jim svými vlastnostmi přiblížit, či je v budoucnu i překonat.

V roce 1748 francouzský duchovní Abbé Nolletem pozoroval permselektivitu prasečího měchýře. Byl tak poprvé zmíněn reverzně osmotický jev. V roce 1829 objevil Thomas Graham dialýzu. Rovnici popisující difuzi zveřejnil v roce 1855 Adolph Fick. Moritz Traube připravil v roce 1867 první anorganickou membránu. První relevantní vědecká práce popisující tlakově řízenou membránovou ultrafiltraci byla vydána Heinrichem Bechholdem v roce 1907, kde publikoval přípravu nitrocelulóзовé membrány. Roku 1909 byl Martinem Knudsenem zformulován zákon popisující tok plynu membránou. Na počátku průmyslového rozvoje membránového průmyslu stál v 30. letech britský vědec William Elford. Poprvé vyrobil membránu z acetátu celulózy a nitrátu celulózy pro ultrafiltraci bílkovin. Syntetická polymerní chemie se začala rozvíjet od roku 1937, kdy byl poprvé připraven syntetický polyamid (Nylon). Mikroporézní membrány se staly v malém měřítku komerční v Německu již před druhou světovou válkou.

Další výzkum membrán je úzce spjat s vývojem polymerní chemie, který prodělal boom při technologickém závodění během druhé světové války. V 60. letech minulého století byly připraveny první syntetické polymerní membrány použitelné v průmyslovém měřítku. Příkladem jsou reverzně osmotické membrány vyvinuté z acetátu celulózy na začátku 60. let na univerzitě v Kalifornii sloužící k odsolování mořské vody. Na konci 60. a 70. let vznikly dnešní nejznámější průmyslové membránové společnosti. Dalším milníkem v membránovém průmyslu bylo použití polymerních membrán do palivových článků v rámci vesmírného programu NASA.

V dnešní době již membránová separace představuje nedílnou součást technologického procesu pro separaci látek. Vyvíjené membrány jsou vylepšované tak, aby minimalizovaly zbylé nedostatky membránové technologie a umožnily tak jejich další využívání na úkor konvenčních separačních technologií.

2.3 Mechanismy separace a membránové procesy

Na základě fyzikálních vlastností a mechanismu dělení lze separace rozdělit na procesy založené na aktivním či pasivním transportu. Aktivní transport nevyžaduje vnější hnací síly a je spojen s chemickou afinitou či s případy fázových změn. Pasivní transport přes membránu je naproti tomu možný pouze s pomocí hnací síly. Hnací silou separačních procesů v případě nefázových změn je například rozdíl chemického potenciálu, koncentrace, tlaku, nebo elektrického pole pro reálný transport vyjádřený gradientem (Mulder, 1996). Aktivní i pasivní transport je spojen s porézními i neporézními membránami. Transportní mechanismus porézních membrán je možné popsat síťovacím mechanismem, kdy vlastní velikost částic způsobuje oddělení větších molekul od malých (Baker, 2000). Transportní rychlost u neporézních membrán určuje interakce mezi složkami separované fáze a membránovým materiálem. Proces separace probíhá rozpustnostně-difuzním mechanismem (Mulder, 1996). Tabulka 1 zobrazuje typy pasivního membránového transportu vázaného na strukturu membrány.

Tabulka 1: Membránové procesy pomocí pasivního transportu (Ulbricht, 2006).

| membránová mezistruktura | hnací síla procesu | | |
|---|--------------------|-----------------------------------|-----------------|
| | koncentrace | tlak | elektrické pole |
| neporézní | pervaporace | separace plynů reverzní osmóza | elektrodialýza |
| mikroporézní poloměr pórů $d_p < 2$ nm | dialýza | nanofiltrace | elektrodialýza |
| středněporézní poloměr pórů $d_p = 2-50$ nm | dialýza | ultrafiltrace | |
| makroporézní poloměr pórů $d_p = 50-500$ nm | | mikrofiltrace | |

2.4 Použití membrán

Membrány jsou vyvíjeny jako materiály pro efektivní separaci látek. Hlavním cílem je odstranění malého množství látek z velkých zdrojů či získání velkého množství čistého produktu. Nejčastěji používanými procesy jsou odsolování vody za pomoci reverzní osmózy, selektivní pronikání malého množství látek přes membránu (například rozpouštědla) nebo dehydratace azeotropického oddělení při separaci pomocí pervaporace. Dalšími procesy jsou zakoncentrování malého množství produktu selektivním pronikáním rozpouštědla přes membránu například odsolování bílkovin za pomoci ultrafiltrace nebo elektrodialýzy (Noble a Stern, 1995). Dalším využitím je například selektivní frakcionace biomolekul.

Komerčně používané membránové separační technologie:

- Dialýza krevní plazmy, její detoxikace a separace
- Reverzní osmóza pro výrobu pitné a ultračisté vody

- Mikrofiltrace k odstranění částic, včetně sterilní filtrace
- Ultrafiltrace pro koncentraci, frakcionaci nebo čisticí procesy průmyslového odvětví
- Separace pro dělení vzduchu například k čištění zemního plynu

2.5 Materiály membrán

Obecné požadavky kladené na membránové materiály jsou především vysoká propustnost s minimálním hydraulickým odporem při současném zachování její vysoké dělicí schopnosti, tzv. selektivity (Mulder, 1996). Organické polymery patří mezi nejčastěji používané materiály, včetně výroby podpůrných vrstev pro kompozitní membrány. Mezi další používané materiály patří kompozitní či anorganické materiály (oxidy kovů, keramika) nebo smíšené matrice (Baker, 2000).

Polymerní materiály nacházejí využití prakticky ve všech odvětvích membránové separace, či jsou alespoň alternativou. Proto v této oblasti probíhá intenzivní vývoj soustředěný jak na stávající, tak i nové materiály (Ulbricht, 2006). Důvody pro jejich časté použití jsou jejich snadná výroba, spolu s možností řízení vlastností pro homogenní i heterogenní membrány. Dalšími výhodami polymerních materiálů jsou selektivní přenos chemických látek a v neposlední řadě i jejich cena. Nevýhodou je naopak slabší chemická odolnost v porovnání s kovovými či keramickými membránami (Lin et al., 2013).

2.6 Membránové profily a tvary

Membránové profily mohou být izotropní (symetrické) nebo anizotropní (asymetrické). Nejčastěji používané jsou asymetrické membrány pro tlakově řízenou molekulově selektivní filtraci (ultrafiltrace, reverzní osmóza, separace plynů). Struktury membrán dále mohou být integrální nebo kompozitní, dvou nebo vícevrstvé (Hughes, 1996). Obvyklou konfigurací kompozitních membrán je smíšená matrice s tenkou středněporézní, mikroporézní nebo neporézní selektivní vrstvou na povrchu makroporézní podpůrné vrstvy, poskytující dostatečnou mechanickou stabilitu. Mezi nejčastější membránové tvary patří plochá či dutá vlákna, duté kapsle a další (Baker, 2000).

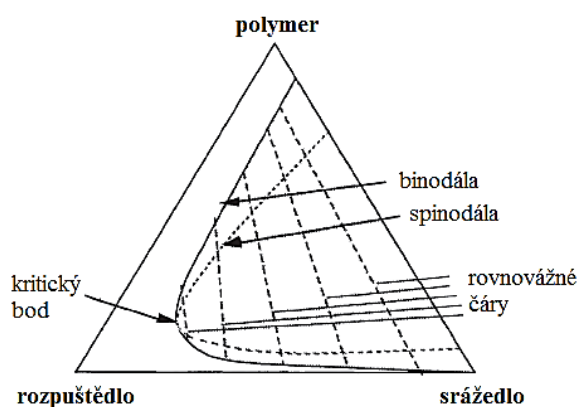
2.7 Metody přípravy membrán

Nejčastějšími metodami pro výrobu membrán jsou: inverze fází, reakce na rozhraní fází, *sol-gel* procesy, protahování, extruze a leptání. Nejvýznamnější z hlediska výroby polymerních membrán je metoda inverze fází. Technicky nejvýznamnějšími postupy výroby porézních membrán izotropního nebo anizotropního profilu:

- metoda fázové separace iniciovaná srážedlem (NIPS) (Schacher et al., 2009)
- metoda fázové separace iniciovaná odpařováním rozpouštědla (EIPS) (Tang et al., 2009)
- metoda iniciovaná vypařováním rozpouštědla (VIPS) (Kao et al., 2008)
- metoda iniciovaná teplem (TIPS) (Su et al., 2007)

Ultrafiltrační polymerní membrány jsou nejčastěji připraveny metodou fázové separace (inverze fáze) iniciované srážedlem. Polymerní roztok se nanese v tenké vrstvě na inertní hladký podklad (např. skleněnou desku), který se ponoří do koagulační lázně, nejčastěji demineralizované vody (Mikulášek et al., 2013). Následně dojde k toku rozpouštědla do vodní fáze a k toku vody do polymerní vrstvy. Jakmile je polymer vysrážen do formy tuhého filmu, dojde k jeho samovolnému odlepení od podložky. Membrány připravené tímto způsobem vykazují asymetrickou strukturu. Na povrchu je tenká selektivní vrstva v řádech desetin mikrometrů, která volně přechází na mnohem tlustší makroporézní vrstvu, která primárně neovlivňuje separační vlastnosti, ale zlepšuje mechanické vlastnosti. Velikost pórů v obou vrstvách záleží na vlastnostech polymeru, typu rozpouštědla i srážedla i na koncentraci polymeru v rozpouštědle (Mulder, 1996). Za předpokladu stejných podmínek přípravy lze pozorovat menší póry v membráně s rostoucí koncentrací polymeru.

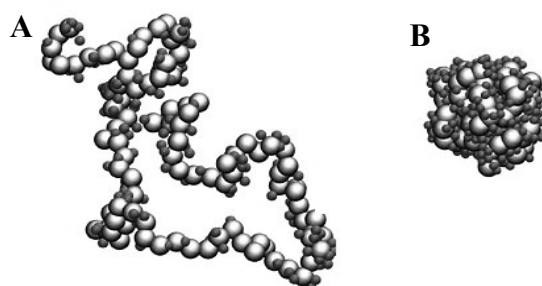
K přípravě termodynamicky stabilních roztoků je potřeba dodržet poměr v systému polymer-rozpouštědlo-srážedlo. Schematické znázornění ternárního systému s vyznačenou mísitelnou oblastí rozpouštědlo-srážedlo v systému s polymerem je zobrazen na obrázku 2.



Obrázek 2: Fázový diagram systému polymer-rozpouštědlo-srážedlo (Mulder, 1996).

Konformace polymerních řetězců je také ovlivněna kvalitou rozpouštědla, dále závisí na chemickém složení polymeru i molekul rozpouštědla, ale například i na teplotě roztoku. Molekuly rozpouštědla a polymerního řetězce se vždy snaží zaujmout v dané situaci nejnižší

energetický stav. Interakce mezi molekulami segmentu polymerních řetězců a koordinovaných molekul rozpouštědla mají kladnou nebo zápornou energii. V případě záporné hodnoty Gibbsovy energie směsi polymer-rozpouštědlo je entropie samotných polymerních řetězců zvýšena vůči vnitřní energii polymerního řetězce interakcí mezi makromolekulou polymeru a rozpouštědlem. Rozpouštědlo, pro které je energeticky příznivá interakce mezi polymerními segmenty a molekulami rozpouštědla, způsobuje expanzi polymerního řetězce (koeficient expanze; $\alpha > 1$). Příklad expandovaného polymerního řetězce je uveden na obrázku 3A. Doprovodným jevem je zvýšení viskozity daného roztoku. Rozpouštědlo θ (theta), charakterizované hodnotou $\alpha = 1$, nezpůsobuje při dané teplotě expanzi polymeru a chemický potenciál mísení je roven nule (Mark, 2007). Rozpouštědlo s koeficientem expanze $\alpha < 1$ způsobuje shlukování polymerního řetězce do sebe (Obrázek 3B). Tento jev je pak typicky doprovázen poklesem viskozity, protože svinuté klubko klade menší odpor v roztoku než klubko rozvinuté. Údaj o viskozitě však nemusí být přesným indikátorem o kvalitě rozpouštědla. Viskozitu může výrazně ovlivnit například přidavek soli k polymerním řetězcům ve formě polyelektrolytů (Wyatt et al., 2011).



Obrázek 3: Chování polymerního řetězce v rozpouštědle pro a) $\alpha > 1$ b) $\alpha < 1$
 (Mukherji et al., 2014).

Vzájemnou interakci polymer-rozpouštědlo lze také popsat Hansenovými parametry rozpustnosti (Hansen a Smith, 2004). Hansenův tříslložkový parametr rozpustnosti definuje rozdělení parametru rozpustnosti na polární síly (δ_p), disperzní síly (δ_d) a vazby vodíkovým můstkem (δ_h), kde pro celkový parametr rozpustnosti platí:

$$\Delta\delta = \left((\delta_{d,p} - \delta_{d,r})^2 + (\delta_{p,p} - \delta_{p,r})^2 + (\delta_{h,p} - \delta_{h,r})^2 \right)^{1/2} \text{ [MPa}^{1/2}\text{]} \quad (1)$$

Index p je indexem polymeru a index r odpovídá rozpouštědлу. Látky s $\Delta\delta < 7 \text{ MPa}^{1/2}$ jsou v principu mísitelné, zatímco látky s hodnotou $\Delta\delta > 10 \text{ MPa}^{1/2}$ patří mezi nemísitelné. Pro kombinaci rozpouštědel je pro parametr rozpouštědla použita hodnota lineární kombinace daná jejich koncentračním poměrem. Polyethersulfon se tedy bude rozpouštět například v acetofenonu, dichlormethanu, dimethylsulfoxidu, dimethylformamidu, dimethylacetamidu nebo N-methyl-2-pyrrolidonu (Gharagheizi, 2007; Guan et al., 2006).

2.8 Tlakové membránové procesy

V tlakových membránových procesech je efektivita a výkon membrány určen dvěma parametry (Mikulášek et al., 2013) – selektivitou a intenzitou toku permeátu. Selektivitu (R) membrány vůči dělené směsi látek vyjadřuje rovnice 2.

$$R = 1 - \frac{c_P}{c_F} \quad [-] \quad (2),$$

kde c_F je koncentrace dělené složky na vstupu a c_P je koncentrace složky v permeátu. Hodnota R se pohybuje v rozsahu 0 (membrána danou složku nedělí) a 1 (dochází k úplné retenci dané složky).

Intenzita objemového toku permeátu (J_V) je definována jako objem tekutin, nebo rozpouštědla, které projde jednotkovou plochou membrány za jednotku času (rovnice 3).

$$J_V = \frac{1}{A} \frac{dV_P}{d\tau} \quad [\text{m} \cdot \text{s}^{-1}] \quad (3),$$

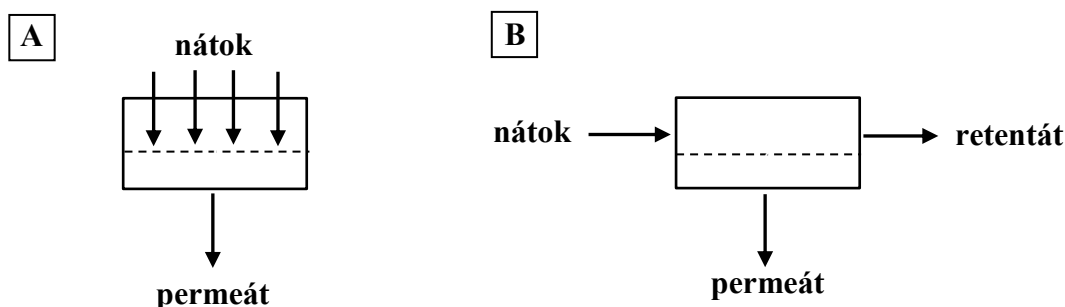
kde A je aktivní plocha membrány, V_P je objem permeátu a τ je čas. V praxi se jednotka SI $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ často nahrazuje více praktickou $\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{hod}^{-1}$.

K definici tlakově nezávislého toku se využívá permeabilita (K) vyjádřená rovnicí 4.

$$K = \frac{J_V}{\Delta p} \quad [\text{m} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}] \quad (4),$$

kde J_V je podíl intenzity toku skrz membránu a Δp rozdíl tlaků před a za membránou, často označovaný jako transmembránový tlak (TMP) sloužící jako řídicí síla filtrace. V praxi se namísto základní jednotky permeability často používá jednotka $\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{hod}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}$.

Z hlediska profilu hydraulického toku se používají dvě hlavní procesní konfigurace (Obrázek 4). Ty rozlišují kolmý (*dead-end*) a tangenciální (*cross-flow*) nátok filtrované suspenze (Hughes, 1996). Výhodou *cross-flow* filtrace je lepší čištění membránového povrchu, nevýhodou pak nutnost přídavného čerpadla zajišťujícího recirkulaci retentátu.

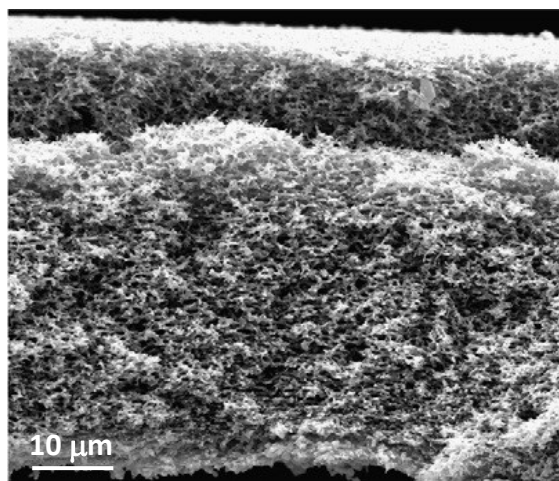


Obrázek 4: Kolmý (*dead-end*) a tangenciální (*cross-flow*) nátok filtrované suspenze.

2.8.1 Mikrofiltrace

Mikrofiltrace je tlakově řízený proces probíhající přes symetrické i asymetrické membrány s makroporézní strukturou (Mulder, 1996), která určuje z velké části její vlastnosti (Wilbert et al., 1998). Velikost pórů se u mikrofiltračních membrán pohybuje od 0,05–0,5 μm . Symetrické membrány charakterizuje jednotné složení a stejné vlastnosti napříč strukturou. Obrázek 5 zobrazuje typickou strukturu symetrické mikrofiltrační membrány. Metodami pro výrobu symetrických membrán jsou například lití z roztoku a lisování z taveniny (Hughes, 1996).

Póry membrány mohou být tvořeny například ozářením nabitými částicemi z jaderného reaktoru (například nukleární polykarbonace). Membrána je následně ponořena do leptací lázně, kde dojde k vytvoření pórů v místech po částicové radiaci. Čím déle je membrána v leptací lázni, tím větší je velikost pórů.



Obrázek 5: Mikroporézní polyethersulfonová membrána, zvětšení 4 000 \times (Susanto et al., 2009).

Na rozdíl od symetrických membrán vykazují asymetrické změny v porézní struktuře. Tenká permsektivní vrstva tvoří horní část membránového filmu, který je prodloužen otevřenými póry nosné vrstvy. Porézně hustá vrchní vrstva membrány určuje selektivitu, respektive retenci částic, zatímco nosná vrstva zajišťuje tokové a mechanické vlastnosti. Tento typ membrány se například vyrábí inverzí fáze iniciovanou teplem. Rozdílná struktura polymeru je vytvořena srážecí reakcí s rychlou změnou teploty na povrchu filmu nebo vystavením části polymeru působením srážedla (Wilbert et al., 1998).

Mikrofiltrační membrány

Mikrofiltrace se používá k odstranění částic, bakterií a koloidů z vodních toků například v procesech čištění odpadních vod. Dále ji lze použít například jako předstupeň v kombinaci s membránovými procesy s jemnější pórovou strukturou (například ultrafiltrací). Často se proto

používá série mikrofiltrů s postupně se zmenšující velikostí pórů, což vede k prodloužení životnosti membrán.

Mikrofiltrační membrány jsou nejčastěji vyrobeny z oxidu hlinitého nebo polymerních materiálů například celulózy, polypropylenu, polysulfonu, polyvinylalkoholu, z polyvinylidendifluoridu (Wilbert et al. 1998) Membrány jsou kruhových nebo plošných tvarů či z dutých vláken. Tabulka 2 uvádí příklady materiálů sloužících pro výrobu mikrofiltračních tubulárních membrán a membrán z dutých vláken.

Tabulka 2: Typické mikrofiltrační materiály pro tubulární membrány a membrány z dutých vláken (Porter, 1989).

| Materiály membrán | Velikost pórů [μm] | Tubulární membrány \varnothing [mm] | Dutá vlákna \varnothing [mm] |
|------------------------|------------------------------------|--|-----------------------------------|
| Hliník | 0,2–5,0 | 3–5 | – |
| Ester celulózy | 0,2 | – | 0,37–0,61 |
| Polypropylen | 0,2 | 5,5 | 0,6–1,8 |
| Polysulfon | 0,1–0,4 | – | 0,5–1,0 |
| Polyvinylalkohol | 0,4 | – | 0,4 |
| Polyvinylidendifluorid | 0,08 | 25,4 | – |

Dalšími materiály pro výroby mikrofiltračních membrán jsou například polytetrafluorethylen (PTFE), polyvinylidenfluorid (PVDF), dále pak kompozity bavlna/polyester, kopolymer polyvinylchlorid/polypropylen (co-PVC/PP), z nepolymerních materiálů pak různé směsi oxidů (Baker, 2000).

Studii tří druhů mikrofiltračních membrán jmenovitě polyethersulfonu (PES), polykarbonátu (PC) a rozšířeného polytetrafluorethylenu (ePTFE) se zabývali Tung et al. (2010). PC membrána vykazovala téměř souměrný profil, zatímco PES membrána měla velmi hustou svrchní vrstvu s následující porézní nosnou vrstvou. ePTFE membrána měla pórovou strukturu i tenké kanály napříč celým profilem. Póry PTFE membrány byly tvořeny řízeným tahem bi-axiálního filmu. ePTFE membrány lze připravit například zabudováním PTFE pryskyřice do mikroporézní struktury (Wikol et al., 2008). Tím dochází k větší monodistribuci pórů i ke zvýšení měrného povrchu. Tyto membrány se používají pro filtry s vysokou účinností.

2.8.2 Ultrafiltrace

Ultrafiltrace (UF) má velikost pórů o řád menší než mikrofiltrace. Odděluje částice větší než $0,01 \mu\text{m}$ nebo částice s molekulovou hmotností větší než $10\,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Z důvodu širší distribuce velikosti pórů však lze tuto hodnotu určit jen s omezenou přesností (Wilbert et al.,

1998). Ultrafiltrace patří mezi nízkotlakové procesy s rozsahem 0,1 až 5,0 bar. Póry ultrafiltračních membrán jsou nejčastěji tvořeny metodou inverze fáze a mají asymetrickou strukturu. Vyšší tendence ke strukturálním vadám ultrafiltračních membrán je způsobena tenčí vrstvou a větší plochou v porovnání s membránami mikrofiltračními.

Použití ultrafiltračních membrán

Ultrafiltrační membrány zachycují makromolekuly a mikroorganismy (viry i bakterie) (Hughes, 1996). Ultrafiltrace se primárně používá v průmyslových, farmaceutických a potravinářských aplikacích. Například prádelny, myčky aut a podobná průmyslová odvětví mohou pomocí ultrafiltrace snižovat cenu provozu díky recyklaci používané vody. V galvanických provozech průmyslových podniků lze pomocí ultrafiltrace získat část kovů zpět. V potravinářském průmyslu se ultrafiltrace používá například pro koncentraci mléčných výrobků nebo čištění ovocných šťáv, vína a jiných. Farmaceutický průmysl využívá ultrafiltraci například k odstranění pyrogenů z injekční vody. Dále mohou být ultrafiltrační membrány použity například v biotechnologii k zachytávání enzymů a dalších metabolických produktů (Baker, 2000).

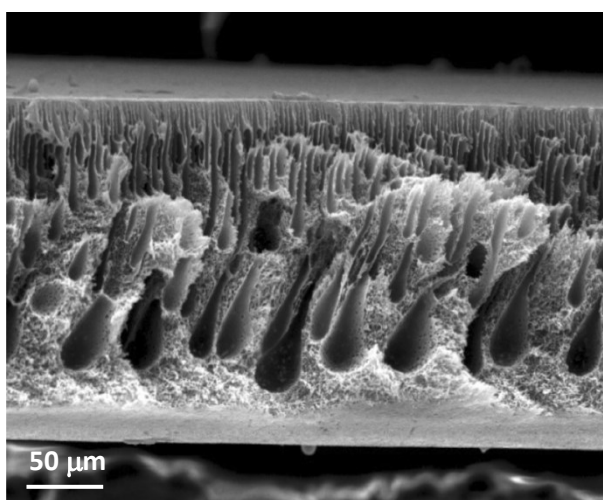
Ultrafiltrace se také používá při zpracování odpadních vod. Ultrafiltrační membrány zachycují bakterie a makromolekulární sloučeniny, zatímco voda, organické látky malé molekulové hmotnosti a soli odchází pro další zpracování. Tento postup umožňuje bakteriální rozklad makromolekulárních látek takto zachycených v bioreaktorech.

Speciální aplikací ultrafiltračních membrán je například micelární ultrafiltrace. Tento proces odstraňuje kovové ionty, nízkomolekulární a organické sloučeniny z vodního prostředí (Xiarchos et al., 2003). Principem micelární ultrafiltrace je přidání povrchově aktivní látky (surfaktantu) do odpadní vody s obsahem látek příliš malých na odstranění pomocí ultrafiltrace. Základem úspěšné separace je volba vhodných surfaktantů, které vedou k tvorbě micel, tedy komplexu většího než je porozita membrány.

Polymerní materiály pro ultrafiltraci

Pro ultrafiltraci se používají anizotropní nebo asymetrické membrány vyrobené metodami inverzí fáze nebo laminováním tenké vrstvy polymerního materiálu na nosnou konstrukci, například z porézního polysulfonu (Wilbert et al., 1998). V důsledku mírných osmotických změn při UF slouží aplikovaný tlak (0,1–5,0 bar) téměř výhradně k průchodu viskózní tekutiny přes porézní síť UF membrány (Baker, 2000).

Ultrafiltrační membrány nemají ostrou velikost pórů, průtok membránou je tedy určen především největšími póry. Nejčastější využití mají membrány s asymetrickou nebo kompozitní strukturou (Baker, 2000). Komerčně využívané asymetrické UF membrány jsou složeny z tenké selektivní povrchové vrstvy, za níž následuje vysoce porézní 50 až 250 μm silná a zároveň vysoce poprutná nosná vrstva. UF membrány jsou nejčastěji vyrobeny z organických sloučenin například polysulfonu, polyethersulfonu, polyakrylonitrilu, polyamidu, acetátu celulózy, polyvinylidenfluoridu a alifatických polyamidů (Xiarchos et al., 2003). Z anorganických materiálů lze pro výrobu použít například zirkonium nebo oxidy hliníku (Mulder, 1996). Vnitřní struktura asymetrické polyethersulfonové membrány je uvedena na obrázku 6.



Obrázek 6: Průřez asymetrickou polyethersulfonovou ultrafiltrační membránou, zvětšení 250 \times (Idris et al., 2007).

V disertační práci využívané UF membrány vyrobené z polyethersulfonu byly testovány i v dalších studiích (Xu a Qusay, 2004). UF membrány zde byly připraveny z polyethersulfonových dutých vláken za pomoci N-methyl-2-pyrrolidonu a methanolu, ethanolu, N-propanolu a vody jako aditiva.

Asymetrické UF membrány lze vytvořit například i z dutých vláken polyvinylchloridu (Xu a Xu, 2002). Pro formaci pórů byl použit polyvinylpyrolidon (PVP) nebo polyethylenglykol (PEG) s různou molekulovou hmotností. N,N-dimethylacetamid zde sloužil jako rozpouštědlo. Membrány byly opět připraveny technikou inverze fáze. PVP a PEG měly vliv na pórovitost membrány a zvyšovaly tok i propustnost změnou morfologie.

2.8.3 Hyperfiltrační membránové procesy

Mezi hyperfiltrační procesy schopné oddělit rozpuštěné ionty z vodního proudu řadíme nanofiltraci a reverzní osmózu. Membrány používané při těchto procesech nemají skutečné póry. Voda prochází strukturou polymerní membrány vlivem aplikovaného tlaku.

Nanofiltrace

Nanofiltrační membrány se někdy označují jako „volné“ reverzně osmotické membrány a mají obvykle nižší retenci jedno i dvouvalentních iontů. Retence jednovalentních iontů (např. NaCl) se pohybuje na hladině 75 %, na úrovni dvouvalentních iontů na hladině 99,5 % (např. CaCl₂) (Baker, 2000). Zdánlivá velikost pórů u nanofiltrů je 8 až 80 Å.

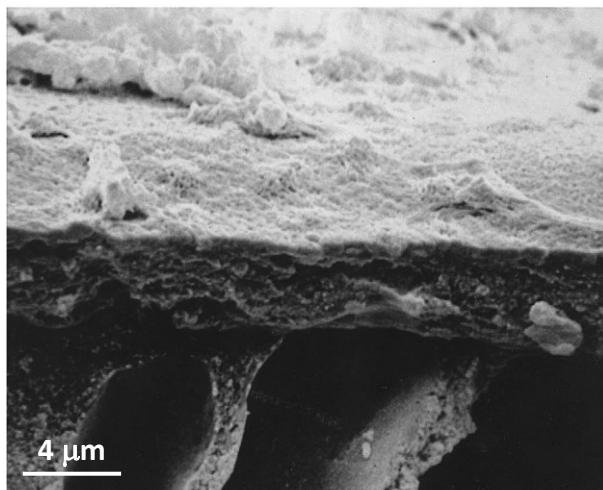
Reverzní osmóza

Reverzně osmotické (RO) membrány mají obvykle 99,5% retenci iontů NaCl a 99,99% retenci iontů CaCl₂, přičemž se zdánlivá velikost pórů pohybuje mezi 1 a 15 Å.

Přestože velikost iontů (například Ca²⁺=0,99 Å) (Wilbert et al., 1998) nebrání jejich pronikání přes póry membrány, dochází k jejich retenci na jejím povrchu způsobené slabými přechodnými vazbami mezi kladně a záporně nabitými ionty. Vysokou selektivitu membrán pro dvoumocné ionty vysvětluje snaha o zachování elektroneutrálnosti roztoku, kdy se při transportu iontů dvojnásobného mocenství musí transportovat dva opačné monovalentní ionty.

Membrány pro hyperfiltraci

V hyperfiltraci se používají membrány čistě asymetrické a převážně z kompozitních materiálů vhodné pro filtraci za vysokého provozního tlaku (až 80 bar pro reverzní osmózu) (Hughes, 1996). Kompozitní membrána je složena z tenké vrchní permsektivní bariéry a mikroporézní vrstvy až desetin milimetrů tlusté. Vrchní vrstva může být vyrobena separátně a teprve poté laminována na podpůrnou vrstvu. Polymerace monomeru přímo na nosné vrstvě patří mezi nejpoužívanější metodu pro průmyslové výroby. Další metody zahrnují například lití membrány přímo na nosnou vrstvu, ponorným nánosem nebo depozicí plynnou fází (Baker, 2000). Materiály pro výrobu nanofitračních membrán zahrnují acetát celulózy, směsi polyamidu či jiných kompozitů, eventuálně modifikované polymery např. sulfonované polysulfony. RO membrány typicky tvoří acetát celulózy nebo polysulfony potažené aromatickými polyamidy (Sagle a Freeman, 2004). Příklad struktury RO membrány je uveden na obrázku 7.



Obrázek 7: SEM snímek řezu RO kompozitní membránou na bázi polysulfonamidu, zvětšení 5 000× (Trushinski et al., 1998).

Materiály pro RO membrány pracující na horní mezi operačního tlaku (50–70 bar) zahrnují kompozity polyamidu/polystyrenu/polyethylenu, dále kompozity polyamidů či asymetrické polyamidy (Wilbert et al., 1998).

Použití hyperfiltračních membrán

Nanofiltrační membrány jsou používány například k měkčení těžké podzemní vody. RO membrány se používají například pro odsolování brakické nebo mořské vody (Wilbert et al., 1998). Nanofiltrační membrány se dále používají například k filtraci barev a laků v automobilovém průmyslu. Hyperfiltrační membrány se používají též jako předstupeň pro iontovýměnné membrány při výrobě ultračisté vody (Mulder, 1996).

2.9 Negativní jevy membránové separace

Hlavní problém v oblasti membránových procesů představuje zanášení membrán (Yu et al., 2013) vedoucí k poklesu hydraulického výkonu s následným zvyšováním provozních nákladů (Judd, 2010). Zanášení membrán lze dle povahy rozdělit na anorganické a organické. Ve většině případů dochází k zanášení vlivem hydrofobní/hydrofilní interakce nebo chemickou afinitou složek separované směsi k membránovému povrchu. Podoblastí organického znečištění je znečištění biologické, způsobené živými organismy, zejména bakteriemi a jejich produkty. Bakterie jsou schopné tvořit biofilm, tedy kompaktní a odolné mikrobiální společenství, které společně drží díky vyprodukované matici extracelulárních polymerních látek (Dvořák et al., 2011). Extracelulární polymerní látky se potom značnou měrou podílejí na organickém zanášení

membrán a jsou obvykle složeny z polysacharidů, proteinů, lipidů, huminových látek, aromatických aminokyselin či nukleových kyselin (Le-Clech et al., 2006).

Mezi další negativní jev membránové separace se řadí koncentrační polarizace (Crespo a Bøddeker, 2013), která významným způsobem ovlivňuje permeabilitu především u hyperfiltračních membrán (Vogel et al., 2010). Dochází k hromadění separované složky na povrchu, kde se tak tvoří vrstva o vyšší koncentraci vyvolávající difuzní tok látek směrem od membrány, což snižuje jejich hydraulický výkon. K výrazné koncentrační polarizaci dochází například při filtraci vysokomolekulárních látek, jako jsou polymery nebo proteiny, kdy může docházet i k vytvoření gelové vrstvy na povrchu membrány. Tento jev je doprovázen zvýšením odporu membrány a snížením intenzity toku permeátu (Meng et al., 2009).

2.10 Snížení negativních jevů membránové separace

Sníženého zanášení membrán a zvýšení dlouhodobého hydraulického výkonu lze dosáhnout:

- změnou procesních podmínek
- *cross-flow* filtrací a periodickým čištěním
- provozem za nižšího než kritického toku
- membránovou modifikací a přípravou nových materiálů

V případě filtrace reálné odpadní vody s organickou kontaminací zahrnuje změna procesních podmínek například změnu ve složení aktivovaného kalu či změněnou dobu zdržení (Meng et al., 2007) nebo například zvýšený přívod kyslíku do bioreaktoru (Menniti a Morgenroth, 2010). Změna procesních podmínek ovlivňuje tedy složení biomasy a tím i produkci extracelulárních polymerních látek i jejich interakci s povrchem membrány.

Zanášení mohou ovlivnit také perioda a délka zpětného proplachu (Judd, 2010), kdy vhodně zvolená strategie čištění výrazně prodloužuje filtrační cyklus při zachování vysokého hydraulického výkonu. Další doporučenou strategií pro minimalizaci membránového zanášení je provoz v *cross-flow* režimu (Meng et al., 2009). Dochází k tečnému nátoku filtované suspenze a tím ke vzniku střížných sil, které umožňují snížení tloušťky zanášené vrstvy i minimalizaci koncentrační polarizace. Další možností jak se vyhnout intenzivnímu znečištění membrány při filtraci organicky kontaminovaných vod je provoz při nižším než kritickém toku (Meng et al., 2007). Kritický tok je definován jako tok permeátu, při jehož překročení se objevuje nevratné zanášení membrány, které je nutné čistit jinými než hydraulickými metodami, například mechanicky, nebo chemicky.

Zvýšení hydrofility membránového povrchu, případně další membránové funkcionalizace řadíme mezi další způsoby jak snížit zanášení membrán. Tyto povrchové úpravy vedou ke snížení vzájemné interakce mezi povrchem membrány a látkami způsobujícími zanášení membrány přítomnými ve filtrovaném mediu (Bae a Tak, 2005).

2.11 Membránové modifikace

Současný trend vývoje se posouvá od polymerního materiálu směrem k funkcionalizované makromolekulární architektuře, přičemž funkcionalizované polymerní materiály doplňují základní separační mechanismus a zlepšující vlastnosti membránové struktury. Mezi membránové modifikace lze zařadit jednak využití speciálních vlastností polymerů, inkorporaci částic nebo hybridní membránové systémy (Ulbricht, 2006). Modifikace membrán, při které jsou přítomny dvě či více složek, se označuje jako smíšená matrice, přičemž koncentrace přidané složky může být vysoká bez ztráty důležitých fyzikálních vlastností membrány. Modifikované materiály se zlepšenými separačními, fyzikálními, elektrochemickými, nebo magnetickými vlastnostmi se staly rozšířenými v mnoha oblastech vědy.

Princip metody je založen na změně fyzikálně-chemických vlastností povrchu a vnitřní struktury membrány, která zvyšuje její hydrofilní a antimikrobiální charakter (Yu et al., 2013). Nanotechnologie patří mezi hojně využívané postupy (Ng et al., 2013).

Metody modifikace membránového povrchu lze rozdělit do dvou základních kategorií, a to na metody chemické a metody fyzikální. Mezi chemické metody patří například kovalentní navázání (Ahmed et al., 2013) či chemisorpce (Ma et al., 2007). Tímto způsobem lze na povrchu membrány fixovat řadu látek například polyethylenoxydy (Tripathi et al., 2014) nebo nanočástice kovů (Green et al., 2011).

Fyzikální modifikace zahrnují například působení UV (Yu et al., 2007) či γ -záření (Shim et al., 2001) nebo plasmatické úpravy vzduchem (Yu et al., 2008) či amoniakem (Yu et al., 2005). I přesto, že vysokoenergetické fyzikální metody vedou k požadovaným vlastnostem, jejich hlavní nevýhodou je výsledná cena modifikovaných membrán (Asatekin et al., 2006).

2.12 Inkorporace nanočástic do polymerních membrán

Nanočástice a nanotrubičky, s velikostí částic 4 až 100 nm, byly při membránové syntéze použity teprve nedávno. Katalytické nanočástice přítomné v keramických membránách vykazují synergické účinky. Průlom byl zaznamenán v oblasti čištění odpadních vod, kde vedlo přidání nanočástic ke zlepšení kvality permeátu a sníženému zanášení membrán (Qu et al., 2013). Úplné

pochopení výhod i nebezpečí při používání nanočástic je nezbytně nutné k využití jejich plného potenciálu (Khaydarov et al., 2009).

Nanočásticové hybridní membrány zahrnují zejména anorganická aditiva přidávaná do polymerní matrice, například křemík a oxidy křemíku (SiO_2) (Shen et al., 2011), zeolity (Lind et al., 2009), vícestěnné uhlíkové nanotrubičky (Jeong et al., 2006), dále kovy jako železo (Xu et al., 2010) či stříbro (Kumar et al., 2010) nebo oxidy kovů, například oxid hlinitý (Yang et al., 2005), oxid titaničitý (Luo et al., 2009) a mnoho dalších (Ng et al., 2013).

2.13 Polymerní membrány s nanočásticemi stříbra

Dotaci stříbrných částic do membránové struktury lze provádět dvěma způsoby (Kumar et al., 2010):

- *ex situ* syntézou - přidáním stříbra na vynesení roztok
- *in situ* syntézou - redukcí iontového stříbra v polymerním rozpouštědle

Zodrow et al., (2009) sledovali antimikrobiální vlastnosti polysulfonové ultrafiltrační membrány s dotací stříbra (obchodní název NAG-PSV). Nanostříbro, kromě antimikrobiálních vlastností, zvyšuje hydrofilitu membrány a tím snižuje její zanášení. Nanočástice stříbra byly použity také například v kombinaci s membránami na bázi polyvinylsyloxanu (Taurozzi a Tarabara, 2007).

Příkladem *in situ* redukce stříbrných iontů v přípravě polyakrylonitrilových membrán je redukce s využitím dimethylformamidu (Kim a Van der Bruggen, 2010). Tímto postupem byly získány částice o velikosti řádově 50 nm.

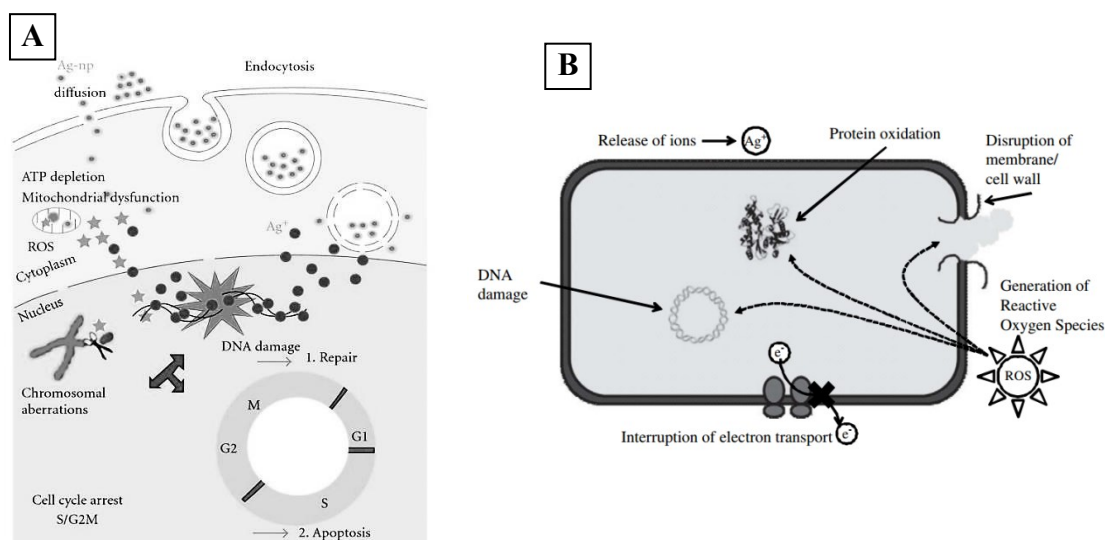
Speciální postupy inkorporace stříbra lze nalézt například v Kumar et al. (2010), kde se částice stříbra dostávají do struktury membrány polyperfluorosulfonické kyseliny pomocí iontových a neiontových redukčních činidel.

2.14 Antibakteriální aktivita stříbra

Antimikrobiální aktivita nanočástic stříbra je způsobena různými mechanismy. Jedním z nich je například indukce oxidativního stresu v důsledku generace reaktivního kyslíku (ROS), který může způsobit degradaci membránové struktury buněk. Vzhledem k vysoké povrchové energii nanočástic stříbra v porovnání s iontovým stříbrem dochází k tvorbě ROS častěji, což má za následek silnější oxidační stres v buňkách (Chaloupka et al., 2010). Dalším způsobem je pak například uvolnění iontů stříbra z povrchu nanočástic, které po navázání na membránu vyvolávají bakteriální smrt. Nicméně, vlastní mechanismus toxicity je stále pochopen jen částečně

(Emamifar et al., 2011). Stříbrné nanočástice mohou poškodit buněčné membrány mikroorganismů tvorbou děr do jejich povrchu, po kterém navíc může dojít k jejich pronikání do buněk a tím působení dalších poškození například v DNA (Morones et al., 2005). Ionty stříbra vyplavované z povrchu nanočástic mohou též reagovat s thiolovými skupinami bílkovin a vyvolat bakteriální inaktivace, kondenzace molekul DNA nebo ztrátu jejich reprodukční schopnosti (Emamifar et al., 2010). Tvorba volných radikálů poškozujících membránovou strukturu byla potvrzena i pomocí spinové elektronové rezonance (Kim et al., 2007).

Při léčbě nanostříbrem dochází k destabilizaci membrány bakterií, kdy nanostříbro reaguje s vnější membránovou vrstvou tvořenou lipopolysacharidy a tím dochází k rozrušení cytoplasmatické membrány. Mechanismus, kterým pronikají nanočástice o průměru 10 nm, není přesto dosud přesně znám.



Obrázek 8: A) přenos nanočástic stříbra endocytózou spolu s mechanismy toxicity (AshaRani et al., 2009); B) mechanismy antimikrobiální aktivity způsobené uvolněním iontového stříbra (Li et al., 2008).

Endocytóza je proces, kterým buňky absorbují molekuly (např. proteiny) z bezprostředního okolí. Mechanismus endocytózy se uplatňuje u všech buněk v těle. Většina, pro buňku, důležitých látek jsou velké polární molekuly, které nemohou projít hydrofobní plazmatickou nebo buněčnou membránou. Povrchově velmi aktivní nanočástice mají tendenci minimalizovat svoji povrchovou energii buď samovolnou agregací, nebo vazbou na povrch proteinových molekul. Ty jsou poté transportovány skrze buněčnou membránu k jádru buňky (Obrázek 8A).

Díky elektronové a optické mikroskopii lze pozorovat průnik nanočástice stříbra skrze vnější i vnitřní membránu gramnegativních bakterií. Některé částice byly nalezeny i ve vnitrobuněčném

prostoru. Nanočástice také vyvolávají rychlý kolaps protonové hnací síly, které potvrdilo pozorování masivní ztráty intracelulárního draslíku. Podle předpokladů došlo také ke snížení množství buněčného ATP souvisejícího s kolapsem membránového potenciálu. Ztráta bakteriálního membránového potenciálu spolu se snížením hladiny ATP může vyústit ve ztrátu životaschopnosti buňky.

Nejen nanočástice samotné, ale i ionty Ag^+ (např. ve formě AgNO_3) mají podobné účinky na membránu buněk (Obrázek 8B). Efektivní koncentrace nanostříbra a iontů Ag^+ se pohybují v řádech nano a mikromolů, resp. částice nulmocného stříbra se zdají mnohem účinnější než ionty Ag^+ (Lok et al., 2006).

Antimikrobiální účinek nanočástic stříbra může být ovlivněn i odlišným složením membrány u gramnegativních/pozitivních bakterií (Maneerung et al., 2008). Některé studie tvrdí, že gramnegativní bakterie jsou odolnější vůči nanočásticím stříbra díky vnější membráně tvořené převážně ze ztuhnutých molekul lipopolysacharidů (LPS) poskytujících efektivní bariéru vůči částicím stříbra (Yoon et al., 2007). Jiné naproti tomu ukázaly vznik nepravidelných tvarů (důlků) ve vnější membráně vedoucí ke změně permeability a postupnému uvolňování molekul LPS i dalších membránových proteinů (Amro et al., 2000). Další studie naopak tvrdí, že gram-positivní bakterie obsahující peptidoglykany vykazují vyšší odolnost vůči nanočásticím stříbra (Feng et al., 2000). Stejně tak může pro inhibiční účinek hrát roli i velikost uvolněných částic, kdy menší uvolněné nanočástice mají větší vliv na antimikrobiální aktivitu (Guzman et al., 2012).

2.15 Zdravotní rizika stříbra - cytotoxicita

Experimenty s myšími makrofágy prokázaly nižší toxicitu stříbrných nanočástic ve srovnání s nanočásticemi zlata (Yen et al., 2009). Vznik reaktivní formy kyslíku (ROS), snížení hladiny ATP (makroergická sloučenina potřebná při metabolismu) nebo poškození mitochondrií a DNA jsou důvody pro jejich opatrné využití v lékařství (AshaRani et al., 2009; Hsin et al., 2008).

Studie cytotoxicity nanočástic stříbra byly většinou provedeny *in vitro* (Khaydarov et al., 2009), tedy výsledky *in vivo* studií mohou mít odlišné výsledky. Navíc byly studie cytotoxicity provedeny pomocí nereálně vysoké koncentrace nanostříbra.

Nejnovější studie ukazují vyšší stupeň odolnosti lidské tkáňové buňky v porovnání s bakteriální buňkou (*E. coli*). Transport hmoty je u tkáňových buněk uskutečňován pomocí takzvaných aquaporinů (Krane a Kishore, 2003), které představují vyšší energetickou bariéru pro transport kovových částic. Nicméně zvýšené koncentrace stříbra ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v těle způsobují cytotoxicitu u jaterních buněk (Kim et al., 2009), které mají odlišný ochranný mechanismus i jiný typ

transportního kanálu (Steck, 1974). Stříbro má kumulativní účinek a při dlouhodobé nadbytečné expozici se ukládá přednosně v játrech, ale i jiných buňkách lidského těla (Wijnhoven et al., 2009).

In vivo studie se škrobem stabilizovanými nanočásticemi stříbra byly provedeny například na lidských buňkách plicních fibroblastů anebo glioblastomu. Toxicita byla následně hodnocena pomocí změn v buněčné morfologii, životaschopnosti, metabolické aktivitě a oxidačním stresu. Působení nanočástic vedlo ke snížení koncentrace ATP, poškození mitochondrií a ke zvýšené produkci ROS, a to v závislosti na použité koncentraci. Poškození DNA měřené kometovým testem bylo též závislé na koncentraci a bylo více zřetelné u nádorových buněk. Snímky z transmisního elektronového mikroskopu prokázaly přítomnost stříbrných nanočástic uvnitř mitochondrií i jádra.

Vlivem nanočástic dochází k narušení mitochondriálního dýchacího řetězce a tím ovlivnění syntézy ATP. Zvýšená produkce ROS potom způsobuje poškození DNA vedoucí k zastavení buněčného cyklu v G2 fázi. Vyšší citlivost buněk glioblastomu a zastavení životního cyklu v G2 fázi je dále zkoumáno pro potenciální využití stříbrných nanočástic v léčbě rakoviny (AshaRani et al., 2009). Cytotoxické účinky nanokrystalického stříbra a stříbra ve formě dusičnanu stříbrného se testovaly též na buněčných liniích keratinocytů a fibroblastů (Poon a Burd, 2004). U obou buněčných linií pěstovaných v monovrstvě výsledky potvrdily toxicitu stříbra. Kultury fibroblastů se ale zdají být citlivější, než je tomu v případě keratinocytů. 3D modely predikují snížené cytotoxické účinky stříbra na komplexní tkáňové kultury. Toxická dávka použitého stříbra byla velmi podobná té, která byla použita v případě bakteriálních kultur. Výsledky provedených studií naznačují nutnost zvážit cytotoxické účinky stříbra a jeho produktů pro specifické léčby ran například v případě popálenin. Dále zůstávají otevřeny otázky relativní účinnosti, možných cytotoxických účinků na lidské buňky či existence bakterií rezistentních na stříbro (Guo et al., 2013).

2.16 Využití nanočástic stříbra v praxi

Nanočástice stříbra jsou používány v mnoha lékařských aplikacích zejména v souvislosti s bakteriální rezistencí k antibiotikům. Nanočástice stříbra vykazují toxicitu pro široké spektrum bakterií i eukaryotických mikroorganismů (Dallas et al., 2011), hub (Chwalibog et al., 2010) a virů (De Gussemme et al., 2011). Kromě aplikací ve zdravotnictví byly nanočástice stříbra rovněž použity v kosmetickém či textilním průmyslu. Uplatnění našly i při úpravě vody nebo čištění odpadních vod (Kim et al., 2012; Pham et al., 2006). Řada výzkumů je zaměřena na přidání

antimikrobiálních vlastností funkčním vrstvám, například ultrafiltrační membrány nebo lékařské náplasti (Qu et al., 2014, Ng et al., 2013).

U komerčního produktu ve formě antimikrobiálního obvazového materiálu s částicemi stříbra (Acticoat™, Smith & Nephew, Velká Británie) jsou deklarovány trvalé baktericidní účinky, snížení zánětlivosti i podpora hojení. Přes rozsáhlé klinické testy nebyla u tohoto nanokrystalického stříbra potvrzena bakteriální rezistence nebo cytotoxicita a jedná se o použití tohoto výrobku v léčbě popálenin (Dunn a Edwards-Jones, 2004).

2.17 Nanovláknna

Existuje několik způsobů přípravy nanovláknenných vrstev zahrnujících suché a mokré zvláknění, tažení, fázovou separaci, tzv. *melt-blowing* nebo elektrostatické zvláknění (Bhardwaj a Kundu, 2010; Imura a Jaffe, 2014; Ozipek a Karakas, 2014). Technikou elektrostatického zvláknění je možné produkovat polymerní vlákna s průměry od stovek nanometrů do několika mikrometrů (Hohman et al., 2001). Schopnost polymeru být zvlákněn v elektrostatickém poli je ovlivněna fyzikálně-chemickými parametry zvláknovacího roztoku a procesními parametry (Huang et al., 2003). Netkané nanovláknenné struktury vykazují vysoký specifický povrch spolu s otevřenou a propojenou pórovou strukturou, přičemž lze dosáhnout až 90% porozity elektrostaticky zvlákněných vláken (Tang et al., 2009).

2.18 Aplikace nanovláken

Nanovláknna lze použít v lékařství a farmacii (nárůst buněk, hojení a sterilizace ran, cílený transport léčiv, regenerace nervové tkáně) v textilním průmyslu (ochranné obleky), elektrotechnice (miniaturní elektrické vodiče), dále v optických aplikacích nebo v akustice (Fang et al., 2008; Huang et al., 2003; Sun et al., 2014). Nanovláknna s vysokou porozitou jsou vhodná pro filtraci vzduchu (Gopal et al., 2006) nebo vody (Ma et al., 2011) kde se využívají například pro filtraci aktivovaného kalu v membránových bioreaktorech (Meng et al., 2009).

Nanovláknenné struktury v membránové separaci lze použít jako samotnou aktivní vrstvu (Daels et al., 2010), podpůrný materiál ke stávajícím membránám pro nano- a ultrafiltraci (Tang et al., 2009) nebo jako materiál mezi aktivní a podpůrnou vrstvou (Yoon et al., 2008). Ve všech případech se přitom využívá otevřená struktura a vysoké porozity nanovláken. Nanovláknenná vrstva (pórovitost větší než 70 %) může být použita k nahrazení podpůrné vrstvy (pórovitost okolo 34 %) asymetrické ultrafiltrační membrány omezující tok při zachování separačních vlastností (Yoon et al., 2006). Široký přehled používaných nanovláknenných materiálů pro filtraci vody lze nalézt například ve Feng et al. (2013).

Seznam použité literatury

Ahmed, F., Santos, C.M., Mangadla, J., Advincula, R., Rodrigues, D.F., 2013. Antimicrobial PVK:SWNT nanocomposite coated membrane for water purification: Performance and toxicity testing. *Water Res.* 47, 3966–3975. doi:10.1016/j.watres.2012.10.055

Amro, N.A., Kotra, L.P., Wadu-Mesthrige, K., Bulychev, A., Mobashery, S., Liu, G., 2000. High-resolution atomic force microscopy studies of the *Escherichia coli* outer membrane: structural basis for permeability. *Langmuir* 16, 2789–2796.

Asatekin, A., Menniti, A., Kang, S., Elimelech, M., Morgenroth, E., Mayes, A.M., 2006. Antifouling nanofiltration membranes for membrane bioreactors from self-assembling graft copolymers. *J. Membr. Sci.* 285, 81–89. doi:10.1016/j.memsci.2006.07.042

AshaRani, P., Low Kah Mun, G., Hande, M.P., Valiyaveetil, S., 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano* 3, 279–290.

Bacino, J., 1995. Porpous PTFE film and a manufacturing method therefor.

Bae, T.-H., Tak, T.-M., 2005. Interpretation of fouling characteristics of ultrafiltration membranes during the filtration of membrane bioreactor mixed liquor. *J. Membr. Sci.* 264, 151–160. doi:10.1016/j.memsci.2005.04.037

Baker, R.W., 2000. Membrane technology. Wiley Online Library.

Bixler, G.D., Bhushan, B., 2012. Biofouling: lessons from nature. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Math. Phys. Eng. Sci.* 370, 2381–2417.

Crespo, J.G., Bøddeker, K.W., 2013. Membrane processes in separation and purification. Springer Science & Business Media.

Dowling, A., Clift, R., Grobert, N., Hutton, D., Oliver, R., O’neill, O., Pethica, J., Pidgeon, N., Porritt, J., Ryan, J., 2004. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. *Lond. R. Soc. R. Acad. Eng. Rep.* 61, e64.

Duncan, T.V., 2011. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *J. Colloid Interface Sci.* 363, 1–24. doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017

Dunn, K., Edwards-Jones, V., 2004. The role of Acticoat™ with nanocrystalline silver in the management of burns. *Burns* 30, S1–S9.

Dvořák, L., Gómez, M., Dvořáková, M., Růžičková, I., Wanner, J., 2011. The impact of different operating conditions on membrane fouling and EPS production. *Bioresour. Technol.* 102, 6870–6875. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.061

Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., Soleimani-Zad, S., 2011. Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. *Food Control* 22, 408–413.

Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., Soleimani-Zad, S., 2010. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11, 742–748.

Farokhzad, O.C., Langer, R., 2009. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano* 3, 16–20.

Feng, Q., Wu, J., Chen, G., Cui, F., Kim, T., Kim, J., 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Biomed. Mater. Res.* 52, 662–668.

Feynman, R.P., 1960. There’s plenty of room at the bottom. *Eng. Sci.* 23, 22–36.

Gharagheizi, F., 2007. New procedure to calculate the Hansen solubility parameters of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* 103, 31–36.

Glater, J., 1998. The early history of reverse osmosis membrane development. *Desalination* 117, 297–309.

Green, J.-B.D., Fulghum, T., Nordhaus, M.A., 2011. A review of immobilized antimicrobial agents and methods for testing. *Biointerphases* 6, MR13–MR28. doi:10.1116/1.3645195

Guan, R., Dai, H., Li, C., Liu, J., Xu, J., 2006. Effect of casting solvent on the morphology and performance of sulfonated polyethersulfone membranes. *J. Membr. Sci.* 277, 148–156.

Guzman, M., Dille, J., Godet, S., 2012. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 8, 37–45.

Hansen, C.M., Smith, A.L., 2004. Using Hansen solubility parameters to correlate solubility of c 60 fullerene in organic solvents and in polymers. *Carbon* 42, 1591–1597.

Hsin, Y.-H., Chen, C.-F., Huang, S., Shih, T.-S., Lai, P.-S., Chueh, P.J., 2008. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS-and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. *Toxicol. Lett.* 179, 130–139.

Hughes, R., 1996. *Industrial membrane separation technology*. Springer Science & Business Media.

Idris, A., Zain, N.M., Noordin, M., 2007. Synthesis, characterization and performance of asymmetric polyethersulfone (PES) ultrafiltration membranes with polyethylene glycol of different molecular weights as additives. *Desalination* 207, 324–339.

Jeong, H.J., Choi, H.K., Kim, G.Y., Song, Y.I., Tong, Y., Lim, S.C., Lee, Y.H., 2006. Fabrication of efficient field emitters with thin multiwalled carbon nanotubes using spray method. *Carbon* 44, 2689–2693.

Judd, S., 2010. *The MBR book: principles and applications of membrane bioreactors for water and wastewater treatment*. Elsevier.

Kao, S., Teng, M., Li, C., Kuo, C., Hsieh, C., Tsai, H., Wang, D., Lee, K., Lai, J., 2008. Fabricating PC/PAN composite membranes by vapor-induced phase separation. *Desalination* 233, 96–103.

Khaydarov, R.R., Khaydarov, R.A., Estrin, Y., Evgrafova, S., Scheper, T., Endres, C., Cho, S., 2009. Silver nanoparticles, in: *Nanomaterials: Risks and Benefits*. Springer, pp. 287–297.

Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.-H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.-Y., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 3, 95–101.

Kim, J., Van der Bruggen, B., 2010. The use of nanoparticles in polymeric and ceramic membrane structures: review of manufacturing procedures and performance improvement for water treatment. *Environ. Pollut.* 158, 2335–2349.

Kim, S., Choi, J.E., Choi, J., Chung, K.-H., Park, K., Yi, J., Ryu, D.-Y., 2009. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol. In Vitro* 23, 1076–1084.

Krane, C.M., Kishore, B.K., 2003. Aquaporins. *Biologist* 50.

Kumar, R., Pandey, A.K., Dhara, S., Misra, N., Ramagiri, S.V., Bellare, J.R., Goswami, A., 2010. Inclusion of silver nanoparticles in host poly (perfluorosulfonic) acid membrane using ionic and non-ionic reductants. *J. Membr. Sci.* 352, 247–254.

Le-Clech, P., Chen, V., Fane, T.A., 2006. Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *J. Membr. Sci.* 284, 17–53.

Lee, K.P., Arnot, T.C., Mattia, D., 2011. A review of reverse osmosis membrane materials for desalination—Development to date and future potential. *J. Membr. Sci.* 370, 1–22.

Lee, S.Y., Kim, H.J., Patel, R., Im, S.J., Kim, J.H., Min, B.R., 2007. Silver nanoparticles immobilized on thin film composite polyamide membrane: characterization, nanofiltration, antifouling properties. *Polym. Adv. Technol.* 18, 562–568.

Lind, M.L., Ghosh, A.K., Jawor, A., Huang, X., Hou, W., Yang, Y., Hoek, E.M., 2009. Influence of zeolite crystal size on zeolite-polyamide thin film nanocomposite membranes. *Langmuir* 25, 10139–10145.

Lin, H., Peng, W., Zhang, M., Chen, J., Hong, H., Zhang, Y., 2013. A review on anaerobic membrane bioreactors: Applications, membrane fouling and future perspectives. *Desalination* 314, 169–188. doi:10.1016/j.desal.2013.01.019

Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D.Y., Brunet, L., Liga, M.V., Li, D., Alvarez, P.J., 2008. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water Res.* 42, 4591–4602.

Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P.K.-H., Chiu, J.-F., Che, C.-M., 2006. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J. Proteome Res.* 5, 916–924. doi:10.1021/pr0504079

Luo, Z., Yang, W., Peng, A., Zeng, Y., Yao, J., 2009. The fabrication of TiO₂ nanorods from TiO₂ nanoparticles by organic protection assisted template method. *Nanotechnology* 20, 345601.

Lyklema, J., 1991. *Fundamentals of interface and colloid science. Volume I: Fundamentals.*

Maneerung, T., Tokura, S., Rujiravanit, R., 2008. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydr. Polym.* 72, 43–51.

Mark, J.E., 2007. *Physical properties of polymers handbook.* Springer.

Ma, X., Su, Y., Sun, Q., Wang, Y., Jiang, Z., 2007. Enhancing the antifouling property of polyethersulfone ultrafiltration membranes through surface adsorption-crosslinking of poly(vinyl alcohol). *J. Membr. Sci.* 300, 71–78. doi:10.1016/j.memsci.2007.05.008

Meng, F., Chae, S.-R., Drews, A., Kraume, M., Shin, H.-S., Yang, F., 2009. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water Res.* 43, 1489–1512. doi:10.1016/j.watres.2008.12.044

Meng, F., Shi, B., Yang, F., Zhang, H., 2007. Effect of hydraulic retention time on membrane fouling and biomass characteristics in submerged membrane bioreactors. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 30, 359–367. doi:10.1007/s00449-007-0132-1

Menniti, A., Morgenroth, E., 2010. The influence of aeration intensity on predation and EPS production in membrane bioreactors. *Water Res.* 44, 2541–2553.

Mikulášek, P., Doleček, P., Jiráňková, H., Kinčl, J., Kočířík, M., Pospíšil, P., Schauer, J., 2013. *Tlakové membránové procesy, 1. vydání.* VŠCHT Praha.

Moritz, M., Gieszke-Moritz, M., 2012. The application of nanomaterials in detection and removal of environmental pollutants. *Przemysl Chem.* 91, 2375–2381.

Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., Yacaman, M.J., 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 2346.

Mukherji, D., Marques, C.M., Kremer, K., 2014. Polymer collapse in miscible good solvents is a generic phenomenon driven by preferential adsorption. *Nat. Commun.* 5.

Mulder, M., 1996. *Basic principles of membrane technology.* Springer Science & Business Media.

Ng, L.Y., Mohammad, A.W., Leo, C.P., Hilal, N., 2013. Polymeric membranes incorporated with metal/metal oxide nanoparticles: a comprehensive review. *Desalination* 308, 15–33.

Noble, R.D., Stern, S.A., 1995. *Membrane separations technology: principles and applications.* Elsevier.

Poon, V.K., Burd, A., 2004. In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. *Burns* 30, 140–147.

Porter, M.C., 1989. *Handbook of industrial membrane technology.*

Qiu, G.-M., Zhu, L.-P., Zhu, B.-K., Xu, Y.-Y., Qiu, G.-L., 2008. Grafting of styrene/maleic anhydride copolymer onto PVDF membrane by supercritical carbon dioxide: preparation, characterization and biocompatibility. *J. Supercrit. Fluids* 45, 374–383.

Qu, X., Alvarez, P.J., Li, Q., 2013. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. *Water Res.* 47, 3931–3946.

Sagle, A., Freeman, B., 2004. Fundamentals of membranes for water treatment. *Future Desalination Tex.* 2, 137–154.

Schacher, F., Rudolph, T., Ulbricht, M., Müller, A.H., 2009. Double Stimuli-Responsive Porous Membranes from Polystyrene-block-poly (N, N-dimethyl-aminoethyl methacrylate) Diblock Copolymers. Presented at the ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, AMER CHEMICAL SOC 1155 16TH ST, NW, WASHINGTON, DC 20036 USA.

Shen, J., Ruan, H., Wu, L., Gao, C., 2011. Preparation and characterization of PES–SiO₂ organic–inorganic composite ultrafiltration membrane for raw water pretreatment. *Chem. Eng. J.* 168, 1272–1278.

Shim, J.K., Na, H.S., Lee, Y.M., Huh, H., Nho, Y.C., 2001. Surface modification of polypropylene membranes by γ -ray induced graft copolymerization and their solute permeation characteristics. *J. Membr. Sci.* 190, 215–226. doi:10.1016/S0376-7388(01)00445-8

Shrbená, J., Šperlink, K., 2012. *Nanotechnologie v České republice 2012*, 1st ed. Praha: Septima.

Šrámek, J., 2009. *Nanotechnologie v medicíně*. Masaryk. Univerzita V Brně 1–15.

Steck, T.L., 1974. THE ORGANIZATION OF PROTEINS IN THE HUMAN RED BLOOD CELL MEMBRANE A Review. *J. Cell Biol.* 62, 1–19.

Susanto, H., Stahra, N., Ulbricht, M., 2009. High performance polyethersulfone microfiltration membranes having high flux and stable hydrophilic property. *J. Membr. Sci.* 342, 153–164.

Su, Y., Chen, C., Li, Y., Li, J., 2007. Preparation of PVDF membranes via TIPS method: The effect of mixed diluents on membrane structure and mechanical property. *J. Macromol. Sci. Part Pure Appl. Chem.* 44, 305–313.

Tang, J., Fan, Y., Hu, J., Liu, H., 2009. Fabrication of ordered lamellar polyacrylamide/P123 composite membranes via solvent-evaporation-induced self-assembly. *J. Colloid Interface Sci.* 331, 191–195.

Taurozzi, J.S., Tarabara, V.V., 2007. Silver nanoparticle arrays on track etch membrane support as flow-through optical sensors for water quality control. *Environ. Eng. Sci.* 24, 122–137.

Tripathi, B.P., Dubey, N.C., Stamm, M., 2014. Polyethylene glycol cross-linked sulfonated polyethersulfone based filtration membranes with improved antifouling tendency. *J. Membr. Sci.* 453, 263–274. doi:10.1016/j.memsci.2013.11.007

Trushinski, B., Dickson, J., Smyth, T., Childs, R., McCarry, B., 1998. Polysulfonamide thin-film composite reverse osmosis membranes. *J. Membr. Sci.* 143, 181–188.

Tung, K.-L., Li, Y.-L., Wang, S., Nanda, D., Hu, C.-C., Li, C.-L., Lai, J.-Y., Huang, J., 2010. Performance and effects of polymeric membranes on the dead-end microfiltration of protein solution during filtration cycles. *J. Membr. Sci.* 352, 143–152.

Ulbricht, M., 2006. Advanced functional polymer membranes. *Polymer* 47, 2217–2262.

Vogel, D., Simon, A., Alturki, A.A., Bilitewski, B., Price, W.E., Nghiem, L.D., 2010. Effects of fouling and scaling on the retention of trace organic contaminants by a nanofiltration membrane: the role of cake-enhanced concentration polarisation. *Sep. Purif. Technol.* 73, 256–263.

Wienk, I., Scholtenhuis, F.O., Van den Boomgaard, T., Smolders, C., 1995. Spinning of hollow fiber ultrafiltration membranes from a polymer blend. *J. Membr. Sci.* 106, 233–243.

Wijnhoven, S.W.P., Peijnenburg, W.J.G.M., Herberts, C.A., Hagens, W.I., Oomen, A.G., Heugens, E.H.W., Roszek, B., Bisschops, J., Gosens, I., Van De Meent, D., Dekkers, S., De Jong, W.H., van Zijverden, M., Sips, A.J.A.M., Geertsma, R.E., 2009. Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* 3, 109–138. doi:10.1080/17435390902725914

Wikol, M., Hartmann, B., Brendle, J., Crane, M., Beuscher, U., Brake, J., Shickel, T., Jornitz, M.W., Meltzer, T.H., Gore, W., 2008. Expanded polytetrafluoroethylene membranes and their applications. *Drugs Pharm. Sci.* 174, 619.

Wilbert, M.C., Leitz, F., Abart, E., Boegli, B., Linton, K., 1998. *Desalting and Water Treatment Membrane Manual: A Guide to Membranes for Municipal Water Treatment.*

Wyatt, N.B., Gunther, C.M., Liberatore, M.W., 2011. Increasing viscosity in entangled polyelectrolyte solutions by the addition of salt. *Polymer* 52, 2437–2444.

Xiarchos, I., Doulia, D., Gekas, V., Trägårdh, G., 2003. Polymeric ultrafiltration membranes and surfactants. *Sep. Purif. Rev.* 32, 215–278.

Xu, J., Bhattacharyya, D., 2007. Fe/Pd nanoparticle immobilization in microfiltration membrane pores: Synthesis, characterization, and application in the dechlorination of polychlorinated biphenyls. *Ind. Eng. Chem. Res.* 46, 2348–2359.

Xu, J., Bhattacharyya, D., 2005. Membrane-based bimetallic nanoparticles for environmental remediation: Synthesis and reactive properties. *Environ. Prog.* 24, 358–366.

Xu, J., Xu, Z.-L., 2002. Poly (vinyl chloride)(PVC) hollow fiber ultrafiltration membranes prepared from PVC/additives/solvent. *J. Membr. Sci.* 208, 203–212.

Xu, X., Wang, Q., Choi, H.C., Kim, Y.H., 2010. Encapsulation of iron nanoparticles with PVP nanofibrous membranes to maintain their catalytic activity. *J. Membr. Sci.* 348, 231–237.

Xu, Z.-L., Qusay, F.A., 2004. Polyethersulfone (PES) hollow fiber ultrafiltration membranes prepared by PES/non-solvent/NMP solution. *J. Membr. Sci.* 233, 101–111.

Yang, C., Chen, J., Swiegers, G.F., Too, C.O., Wallace, G.G., 2005. Hydrogen generation using PPy-FMS modified PVDF membrane and other substrates. *Synth. Met.* 154, 69–72.

Yen, H., Hsu, S., Tsai, C., 2009. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small* 5, 1553–1561.

Yoon, K.-Y., Byeon, J.H., Park, J.-H., Hwang, J., 2007. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Sci. Total Environ.* 373, 572–575.

Yu, H.-Y., Hu, M.-X., Xu, Z.-K., Wang, J.-L., Wang, S.-Y., 2005. Surface modification of polypropylene microporous membranes to improve their antifouling property in MBR: NH₃ plasma treatment. *Sep. Purif. Technol.* 45, 8–15. doi:10.1016/j.seppur.2005.01.012

Yu, H.-Y., Liu, L.-Q., Tang, Z.-Q., Yan, M.-G., Gu, J.-S., Wei, X.-W., 2008. Surface modification of polypropylene microporous membrane to improve its antifouling characteristics in an SMBR: Air plasma treatment. *J. Membr. Sci.* 311, 216–224. doi:10.1016/j.memsci.2007.12.016

Yu, H.-Y., Xu, Z.-K., Lei, H., Hu, M.-X., Yang, Q., 2007. Photoinduced graft polymerization of acrylamide on polypropylene microporous membranes for the improvement of antifouling characteristics in a submerged membrane-bioreactor. *Sep. Purif. Technol.* 53, 119–125. doi:10.1016/j.seppur.2006.07.002

Yu, L., Zhang, Y., Zhang, B., Liu, J., Zhang, H., Song, C., 2013. Preparation and characterization of HPEI-GO/PES ultrafiltration membrane with antifouling and antibacterial properties. *J. Membr. Sci.* 447, 452–462.

Zodrow, K., Brunet, L., Mahendra, S., Li, D., Zhang, A., Li, Q., Alvarez, P.J., 2009. Polysulfone ultrafiltration membranes impregnated with silver nanoparticles show improved biofouling resistance and virus removal. *Water Res.* 43, 715–723.

ČÁST I.

Modifikace membrán s využitím nanovláčkových struktur se stříbrem

Tato část disertační práce vychází z článků:

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978. (IF; 2,587)

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2015. Biocide modification of ultrafiltration membranes using nanofiber structures. *Desalination Water Treat.*, 56(12), 3252-3258. (IF; 1,272)

Souhrn

Biologické znečištění membrán má negativní vliv na jejich výkon. Předkládaný výzkum je cílen na modifikaci povrchu komerčních ultrafiltračních membrán určených pro úpravy vod. Aplikace polyurethanových nanovláken se stříbrem na jejich povrch přidává těmto membránám antimikrobiální vlastnosti. Přídavek stříbra do roztoků určených pro elektrostatické zvlákňování způsobuje změny ve viskozitě a homogenitě nanovláknenných roztoků, tedy limituje i množství přidaného stříbra. Cílem modifikace bylo maximalizovat obsah nanočástic stříbra v roztoku i ve výsledném produktu. Pro přípravu kompozitních ultrafiltračních membrán s antibakteriálními vlastnostmi byly ověřeny dvě metody (a) metoda tepelně-tlakové laminace (b) metoda přímé depozice.

Hydrodynamické vlastnosti upravených a referenčních membrán byly testovány na ultrafiltrační jednotce AlfaLaval M10. Přidaná antimikrobiální funkcionality nicméně vedla k nižší propustnosti membrán. Testy potvrzující antimikrobiální aktivitu probíhaly prostřednictvím kultivačních a respiračních metod na kulturách *E. coli*. Současně bylo sledováno vyplavování stříbra z nanovláknenné vrstvy.

Modifikace ultrafiltračních membrán s využitím nanovláken se stříbrem je slibnou metodou pro přípravu antimikrobiálních kompozitních membrán vhodných pro budoucí výzkum v oblasti pokročilého čištění vody.

Klíčová slova: Kompozitní membrána; biologické znečištění; ultrafiltrace; nanovláknena, stříbro; antimikrobiální vlastnosti; čištění vody.

1 ÚVOD

Současný výzkum ultrafiltračních (UF) membrán je zaměřen na úpravy vedoucí ke zlepšení filtračních vlastností membrán na nano-úrovni. Póry v ideální membráně by měly během filtrace zůstat průchodné, k jejich blokování však často dochází v důsledku průchodu anorganických či organických sloučenin, ale i například vedlejších metabolických produktů mikroorganismů (Dvořák et al., 2011). Prevence růstu mikroorganismů na povrchu membrán vede ke snížení frekvence chemického a mechanického čištění membrán.

Příklady nano-modifikací UF membrán:

- a) Disperze anorganických nanočástic přímo do struktury membrány (Genne et al., 1997).
- b) Začlenění aktivních katalytických sloučenin do polyelektrolytu a jeho navrstvení (*layer-by-layer*) na povrch upravované membrány (Kochan et al., 2010)
- c) Použití nanovláken dotovaných nanočásticemi (Barakat et al., 2010)

Předkládaná část disertační práce byla zaměřena na výzkum nanovláken s nanočásticemi stříbra (Morones et al., 2005) a integraci těchto nanovláčkových vrstev do vrchní vrstvy membrán za účelem zvýšení jejich antibakteriálních vlastností. Navrhovanou oblastí pro využití takto modifikovaných membrán je filtrace organicky znečištěné vody a případné použití v membránových bioreaktorech.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Příprava polymerních nanovláken

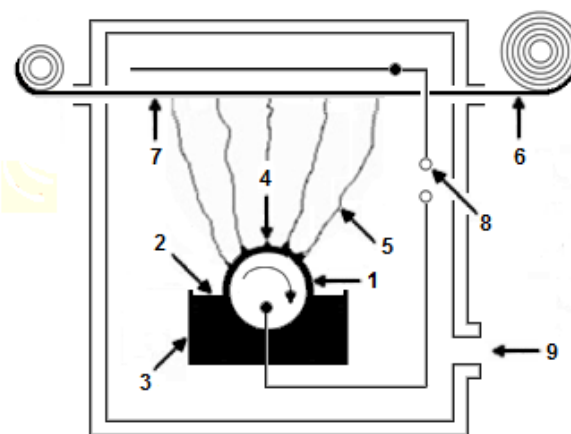
Pro výrobu testovaných nanovláken byl použit elastomerní polymer polyurethan (PU) (Dolina et al., 2013) s dobrou mechanickou, chemickou a tepelnou odolností. Jeho hydrolytická stabilita je vyšší než u polymerních amidů (Seymour a Kauffman, 1992). Navíc je PU vhodný pro elektrostatické zvlákňování (Huang et al., 2003).

Pro výroby PU nanovláken byl použit 30% roztok Larithanu v dimethylformamidu (LS 1086; Novotex, Itálie). Potřebné vodivosti nanovláčkového roztoku bez stříbra bylo dosaženo přidáním nasyceného roztoku vzniklého rozpuštěním tetraethylamoniumbromidu (TEAB; >98%, Sigma-Aldrich; USA) v dimethylformamidu (24 hm%) (DMF; ≥99,5%, Penta, Česká republika). Finální koncentrace PU vznikla přidáním DMF (22 hm%) k roztoku Larithanu. Zlepšení hydrodynamických vlastností, zvýšení elektrolytické vodivosti a snížení povrchového napětí polymerního roztoku bylo dosaženo přidáním demineralizované vody (2 hm%), čehož se zároveň využilo při přípravě PU se stříbrem. Dusičnan stříbrný (AgNO_3 ; ≥99,8%, Penta, Česká republika) byl přidán

do vody v koncentraci odpovídající maximální možné rozpustnosti, výsledná roztoková koncentrace stříbra byla 22 hm% vůči polymeru. Jako dodatečné rozpouštědlo pro polyurethan (Zhuo et al., 2008) byl přidán DMF sloužící zároveň k redukcí iontů stříbra (Pastoriza-Santos a Liz-Marzán, 1999; Sheikh et al., 2009). Po 24 hodinách byl roztok přidán do roztoku Larithanu a dalších 24 hodin míchán na třepače při frekvenci 100 ot.min^{-1} . Výsledná koncentrace polyurethanu v roztoku byla stejně jako v případě PU nanovláken bez stříbra 15 hm%. Těsně před elektrostatickým zvlákňováním byly roztoky míchány v ultrazvukové lázni při teplotě 65°C pro zvýšení pohyblivosti polymerních řetězců a molekul rozpouštědla a urychlení redukce stříbra (Pastoriza-Santos a Liz-Marzán, 1999).

2.2 Metoda zvlákňování

Nanovlákná byla připravena metodou elektrostatického zvlákňování (Huang et al., 2003), přičemž vlákna jsou vytvořena z tenké vrstvy polymerního roztoku prostřednictvím účinků elektrostatického pole. Schopnost polymeru vytvořit nanovlákná je ovlivněna řadou procesních a systémových parametrů, jako je například intenzita elektrického pole, viskozita, molární hmotnost, povrchové napětí nebo koncentrace polymeru (Jacobs et al., 2010). Pro kontinuální přípravu nanovláken (Obrázek 1) byla využita metoda elektrostatického zvlákňování z volné hladiny (Jirsak et al., 2009).



Obrázek 1: Ilustrace zařízení použitého pro kontinuální zvlákňování z volné hladiny (Jirsak et al., 2009). Popis: 1 – kovový válec, 2 – roztok polymeru, 3 – nádrž pro roztok, 4 – Taylorův kužel, 5 – tok nanovláken, 6 – nosný materiál, 7 – nanovláknenná příze, 8 – zemní elektroda, 9 – klimatizace.

Roztok nanovláken byl umístěn do nádrže s kladně nabitým kovovým válcem kruhového tvaru. K vytvoření elektrostatického pole byl použit zdroj vysokého napětí Spellman SL 600W s rozsahem 60–75 kV (maximum 120 kV), vzdálenost elektrod byla nastavena na 16 cm.

Relativní vlhkost (RH; 30–40 %) byla upravena ohřevem a klimatizací. Nanovláknna byla nanesena na netkaný polypropylenový (PP) spunbond (Pegas Nonvowens; Česká republika) s navíjecí rychlostí $0,05 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.3 Studium morfologie a distribuce velikosti částic

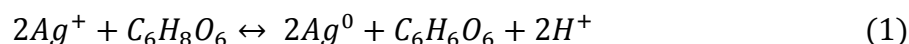
Snímkování povrchové morfologie bylo provedeno metodou SEM na mikroskopu FEI Phenom (FEI, USA) na TUL a dále metodou FEM na mikroskopu JEOL JSM-6340F (JEOL, Japonsko) ve spolupráci s Vlámským institutem pro technologický výzkum (VITO). Nanovláknna se snímala buď nepotažená nebo potažená 2,5 nm vrstvou platiny/palladia (80/20). Obrazy byly získány při urychlovacím napětí 20 kV a 5 kV. Rozložení stříbrných nanočástic na povrchu testovaných membrán bylo provedeno metodou TEM na mikroskopu FEI Tecnai™ (FEI, USA) ve spolupráci s Ústavem makromolekulární chemie (ÚMCH) Akademie věd České republiky. Pro vizualizaci povrchů (zvětšení 2 500 až 10 000x) po laminaci PU nanovláken byl použit skenovací elektronový mikroskop (SEM) Carl Zeiss ULTRA Plus (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Německo), používaný v laboratoři TUL.

Měření polydisperzních částic v nanovláknnech bylo ovlivněno agregací stříbrných nanočástic. Rozdělení velikosti částic bylo měřeno analýzou obrazu s použitím NIS Elements AR 3.2 (Laboratory Imaging, Česká republika) s větším počtem pozorování (>200).

2.4 Metody redukce stříbra

Ve srovnání s iontovým stříbrem, vykazuje nulmocné stříbro ve formě nanočástic nižší cytotoxicitu, zvýšenou antibakteriální aktivitu a nižší koagulaci v prostředí s vysokou iontovou silou (Panáček et al., 2006).

Redukce iontového stříbra a tvorba nanočástic byla testována několika metodami a to zejména redukcí stříbra v DMF (Pastoriza-Santos a Liz-Marzán, 2000), redukcí pomocí kyseliny askorbové následující po tvorbě nanovláken (rovnice 1) (Chou et al., 2005) a redukcí pomocí ultrafialového záření (Chahal et al., 2011). K redukcí stříbra s využitím kyseliny askorbové byl použit její 3% roztok v demineralizované vodě, který byl aplikován nástřikem přímo na povrch nanovláken.



Za účelem snížení chemického vlivu, který by vedl k nežádoucím morfologickým změnám nanovláken bylo aplikováno dlouhovlnné ultrafialové (UVA) světlo s rozsahem vlnové délky 315 až 400 nm. UVA světlo bylo generováno lampou Philips TUV (Philips, Nizozemsko) s výkonem 25 W.

2.5 Příprava kompozitních membrán

2.5.1 Tepelně-tlaková laminace

Tvorba nanovláknenné vrstvy pomocí tepelně-tlakových laminačních experimentů byla prováděna na ploché ultrafiltrační PES membrány UP150 (MICRODYN-Nadir, cut-off ~150 kDa; velikost pórů ~0,04 μm , polypropylenový (PP) / polyethylentereftalátový (PET) substrát). Tento typ membrány je běžně používán v oblasti čištění odpadních vod i k výzkumným účelům (Haberkamp et al., 2008). Testy byly provedeny s využitím laminačního přístroje OSHIMA Mini Press OP-450 GS (teplotní rozsah 0–230 °C; maximální tlak 0,14 MPa), jehož formovací pás byl z Teflonu™. Při přípravě membránového kompozitu byla elektrostaticky zvlákněná nanovláknenná vrstva tepelně oddělena od nosné vrstvy PP spunbondu a zalaminována za zvolených podmínek na povrch membrány.

2.5.2 Přímá depozice nanovláken

Přímé elektrostatické nanášení vláken na povrch membrány bylo testováno, aby se zabránilo degradaci membrány způsobené laminací. Volba podmínek elektrostatického zvláknění (Tang et al., 2009) ovlivňuje přilnavost k testovanému povrchu. Při metodě přímé depozice došlo ke kontinuálnímu nanesení nanovláken přímo na testovanou membránu uchycenou na netkaném PP substrátu. Procesní podmínky přípravy nanovláknenné vrstvy byly obdobné jako v případě nanovláken připravených pro experimenty tepelně-tlakové laminace.

2.6 Testování membrán

2.6.1 Permeabilita membrán

Měření propustnosti membrán bylo testováno dvěma experimenty. Měřením v Amicon 8050 (EDM Millipore, USA) *dead-end* cele o objemu 50 ml, kde byl hnací silou filtrace tlak dusíku a měření s využitím Alfa Laval M10 (AlfaLaval, Švédsko) *cross-flow* jednotky provozované v režimu konstantního objemu při teplotě místnosti. V obou případech byla jako filtrované medium použita demineralizovaná voda.

2.6.2 Vyplavování stříbra z nanovláknenné vrstvy

Stabilita stříbra byla testována dvěma rozdílnými přístupy. V prvním byla koncentrace stříbra stanovena v permeátu po filtraci 50 ml demineralizované vody a to jak pro *dead-end*, tak i pro *cross-flow* filtrační jednotku. Druhý přístup stanovil koncentraci stříbra na základě loužení membrán v demineralizované vodě za stálého míchání. V obou experimentech byl vzorek

odebírán v pravidelných intervalech. Analýza probíhala pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES). Krátkodobé testy byly vzorkovány v časech 0, 5, 15, 30, 60, a 120 min, dlouhodobé pak v časech 0, 1 h, 1 den a 4 dny. Při integrálním testu v systému cirkuloval totožný objem a vzorky byly odebrány z neustále se koncentrující vody. Pro derivační metodu vzorkování byla po každém přefiltrování definovaného objemu nasazená nová demineralizovaná voda a jednotlivé koncentrace stříbra v permeátu sečteny. Předpokladem je, že pro obě metody by měl být výsledný obsah uvolněného stříbra totožný.

Vzorky s přidanou kyselinou dusičnou (výsledná koncentrace 1%) byly poté analyzovány na ICP Optima 2100 DV spektrometru s argonem jako inertní fází. Výpočet koncentrace probíhal s využitím tříbodové kalibrace a sestrojením standardní křivky pro koncentrace 0, 1 a 10 mg·l⁻¹ stříbra.

Při stanovení celkového množství stříbra se struktura nanovláken oddělila od nosiče a po demineralizaci v kyselině dusičné (26 hm% v demineralizované vodě) byly vzorky převedeny do objemu 50 ml. Vypočtená absolutní koncentrace stříbra byla vztažena na plochu (m²) membrány.

2.6.3 Antimikrobiální testy

Antibakteriální vlastnosti kompozitních membrán byly testovány

- filtrováním bakteriálního roztoku *Escherichia coli* (referenční číslo dle ČSNI: CCM 3954) přes membrány v *dead-end* a *cross-flow* uspořádání s následnou kultivací bakterií zachycených na povrchu membrány
- pomocí on-line monitorovacího systému respirační aktivity

Sledování rychlosti spotřeby kyslíku je parametr vhodný pro kvantifikaci fyziologického stavu aerobní kultury mikroorganismů, protože většina metabolické aktivity u aerobních mikroorganismů závisí na spotřebě kyslíku (Anderlei et al., 2004). Tato měření byla provedena ve spolupráci s institucí RWTH (Aachen University).

Mikrobiální testy pro dlouhodobě loužené membrány probíhaly následujícím schématem. Bakterie *E. coli* byly nejprve naočkovány na agarový substrát (Plate Count Agar). Po nárůstu byly přeočkovány do fyziologického roztoku a zároveň byla změřena jejich absorbance při 600 nm na laboratorním spektrofotometru Hach-Lange DR 2800. Výpočet bakteriální koncentrace vycházel z předpokladu, že absorbance rovná 1,0 při vlnové délce 600 nm přibližně koresponduje s 1·10⁹ KTJ·ml⁻¹ (Phillips et al., 2012). Změřená hodnota absorbance (0,712) reprezentovala tedy

$7,12 \cdot 10^8$ buněk v ml suspenze. Počáteční roztok byl následně zředěn 1:700 a 1:70 tak, aby výsledná koncentrace byla $1 \cdot 10^5$ buněk. ml^{-1} (A) a $1 \cdot 10^6$ buněk. ml^{-1} (B). 10 ml vzorku A bylo následně přidáno ke dvěma stříbrem potaženým vzorkům membrán o rozměrech 2×2 cm a 10 ml vzorku B bylo přidáno ke třetímu vzorku membrány se stříbrem. V testu byly použity dva srovnávací vzorky fyziologického roztoku s koncentrací *E. coli* odpovídající $1,10^5$ buněk. ml^{-1} .

Membrány byly louženy po dobu 4 dnů za stálého míchání s frekvencí 200 ot. min^{-1} a následně promyty demineralizovanou vodou, aby se zajistilo, že uvolněné stříbro nezůstane uchycené na povrchu membrány. Vzorky membrán i referenční vzorky s bakteriemi *E. coli* byly inkubovány ve fyziologickém roztoku po dobu 24 hodin při teplotě $37 \text{ }^\circ\text{C}$, přičemž vzorky byly ručně zamíchány v čase 0, 12, a 24 hodin. Následně byly všechny vzorky testovány pomocí desítkového ředění s výsevem na agarové plotny. Vzorky naočkovaných agarů se po dobu kultivace (48 hodin) udržovaly za aerobních podmínek při teplotě $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Následně byly vzorky vyjmuty z inkubátoru a počet kolonií tvořících jednotek (KTJ) vyhodnocen.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Příprava nanovláken

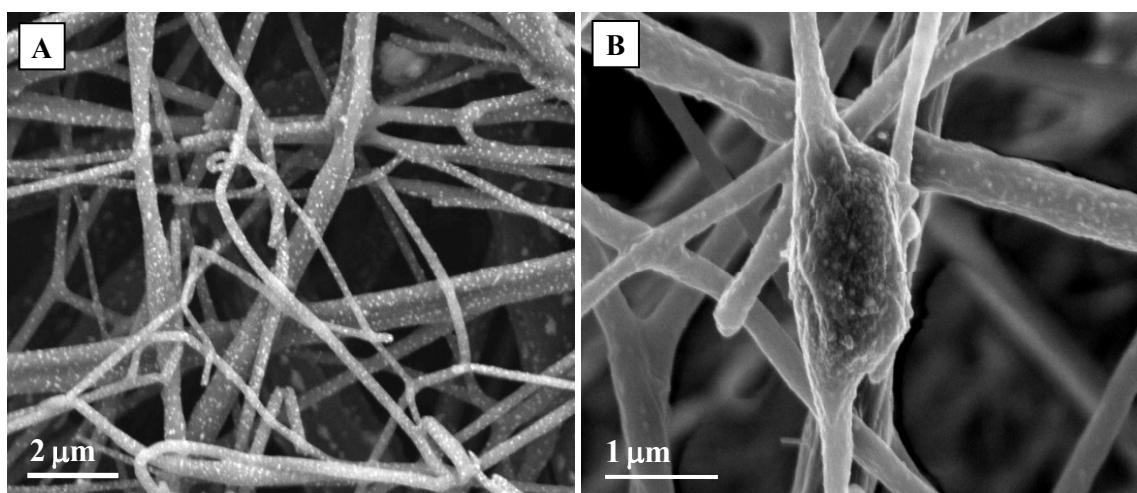
Základní roztok PU bez stříbra a roztok s redukováným dusičnanem stříbrným byly úspěšně zvlákněny s využitím kontinuálního elektrospinningu z volné hladiny (Jirsak et al., 2009). Procesní podmínky úspěšně zvlákněného polymerního roztoku zahrnovaly napětí 68–72 kV; vzdálenost elektrod 0,16 m; RH 18–22 %; rychlost pohybu navíjecího válce $0,05 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$; teplotu 26–28 $^\circ\text{C}$.

3.2 Polyurethanová nanovláknna se stříbrem

Přítomnost částic stříbra ve zvláknovacím roztoku negativně ovlivňuje homogenitu i nanovláknennou strukturu, což v mnoha případech vedlo k širšímu průměru nanovláken v porovnání s PU nanovláknny bez stříbra. Povrchový náboj částic stříbra zásadním způsobem ovlivňuje proces zvláknování, zejména tím, že omezuje pohyblivost nabitých polymerních skupin v přítomnosti silného elektrického pole.

V laboratorních podmínkách byl při elektrostatickém zvláknování roztoku se stříbrem pozorován plazmatický jev, tedy tok iontů a částečně nabitých molekul, které tvořily modro-fialové světlo (tvořící korunu), na hranici kapek. Tok plasmy byl pravděpodobně způsoben ztrátou valenčních elektronů stříbra v silném elektrickém poli, nebo ionizací molekul vzduchu.

V testech založených na přidavku vodné disperze stříbra (Dolina et al., 2013) byla dosažena nízká roztoková koncentrace stříbra (cca. 0,3 hm%) a zároveň velká průměrná velikost agregujících částic (300 nm). Naopak použití dusičnanu stříbrného vedlo k potlačení negativních jevů při elektrostatickém zvlákňování, což mělo pozitivní vliv na strukturu i distribuci částic v konečném vzorku. Roztoková koncentrace stříbra v PU nanovlákněch byla 22 hm% vůči polymeru a koncentrace stříbra v nanovlákněm produktu 1 000–1 200 mg.m⁻². Hmotnost nanovlákněné vrstvy po oddělení od podpůrné vrstvy byla 6,5–7,2 g.m⁻². Detailní struktura kontinuálně zvlákňovaných PU nanovláken se stříbrem je zobrazena na obrázku 2.



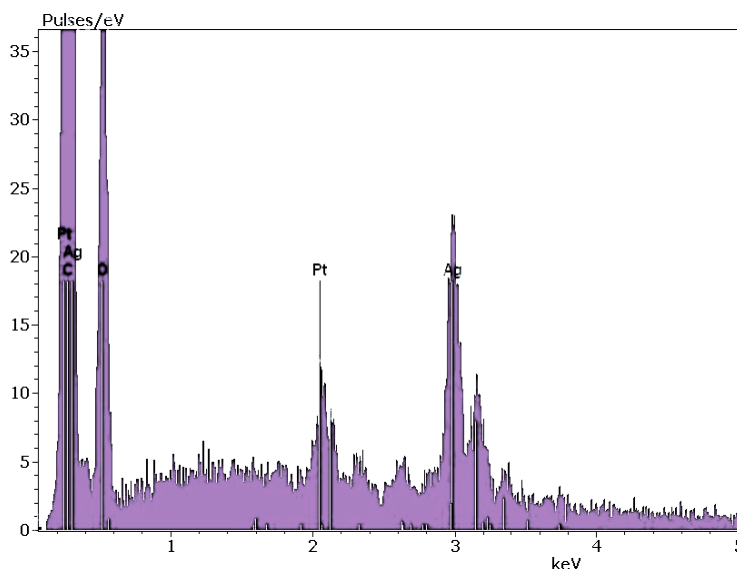
Obrázek 2: Polyurethanová nanovláknna s nanočásticemi stříbra připravená metodou kontinuálního elektrostatického zvlákňování. Snímky získané JEOL-JSM mikroskopem v institutu VITO; zvětšení A) 5 000×, B) 10 000×.

Přítomnost stříbra v nanovlákněm produktu též potvrdila rentgenová difrakční analýza (Obrázek 3). Měření vodivosti a ICP-OES analýza zvlákňovacích roztoků před a po elektrickém zvlákňování potvrdila, že stříbrné částice nebyly vyneseny přednostně. I přes vysoký stupeň ředění nanovlákněných roztoků (1 000× a 2 000×) indikovalo ICP-OES měření téměř stejný poměr stříbra před a po zvlákňování (0,95).

Analýza pomocí programu NIS Elements AR 3.10 stanovila střední velikost částic stříbra 80 ± 21 nm, což je hodnota nižší než průměr modifikovaných nanovláken odpovídající 240 ± 64 nm. Přidání nanočástic stříbra ve formě redukováného dusičnanu stříbrného nevedlo k významným změnám v průměru nanovláken (~ 240 nm u modifikovaných vláken, respektive ~ 250 nm u referenčních vláken).

Antibakteriální aktivita je možná pouze pokud jsou nanočástice stříbra účinné přímo na povrchu nanovláken. Velké částice stříbra ukotvené uvnitř polymerní struktury nanovláken nemůžou být

snadno transportovány k povrchu, naproti tomu malé částice nanometrových rozměrů uvnitř nanovlákně struktury mohou vykazovat účinnou antibakteriální aktivitu v důsledku difuzního transportu (Miller et al., 2013). Předběžné výsledky TEM mikroskopie poskytnuté Ústavem makromolekulární chemie AV ČR prokázaly umístění částic stříbra převážně na povrchu nanovláken.

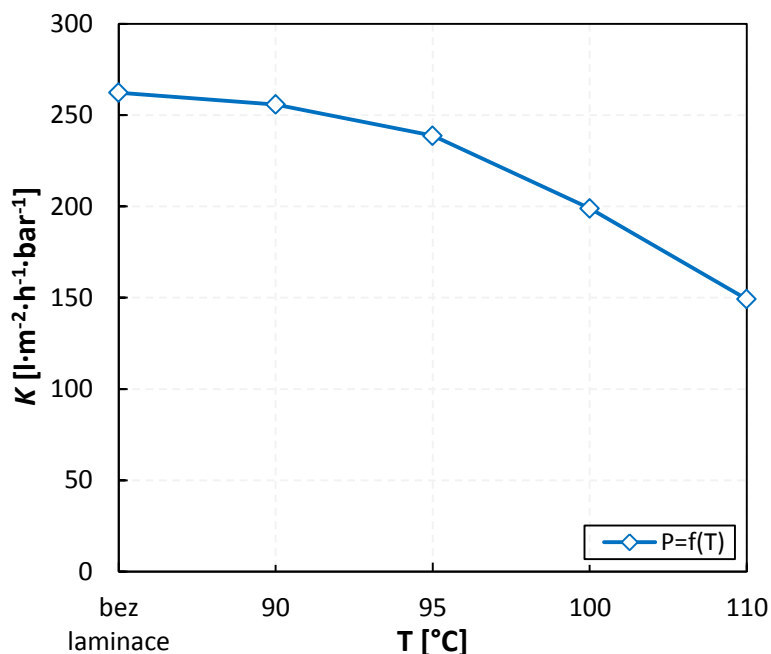


Obrázek 3: Výsledky rentgenové difrakční analýzy polyurethanových nanovláken se stříbrem.

3.3 Příprava kompozitních membrán

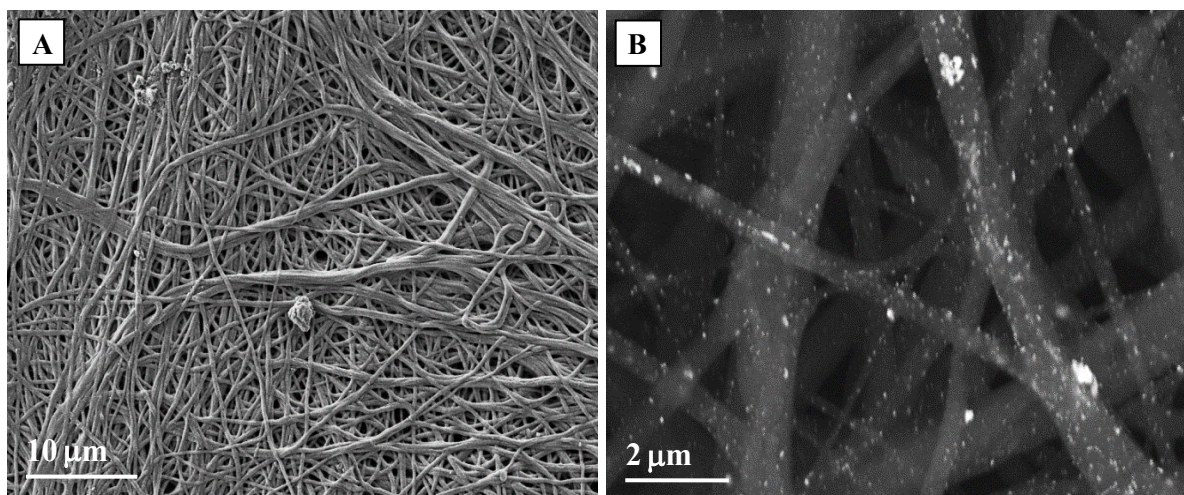
3.3.1 Tepelně-tlaková laminace

Počáteční experimenty na plochých membránách prokázaly dosažitelnou adhezi mezi nanovláknou a membránou. Zvýšená přilnavost získaná tepelně-tlakovou laminací nicméně vedla k částečné degradaci membrány. V případě PU nanovláken s dusičnanem stříbrným byly strukturální změny nanovlákně vrstvy pozorovány při teplotách nad 110 °C, zatímco současně testovaná PES nanovláknina zůstávala stabilní i při vyšších teplotách (Dolina et al., 2013). Dosažení adekvátní adheze při vyšších teplotách však vedlo k významné degradaci membrány z důvodu tepelné nestability podpurné PET vrstvy Nadir UP150 membrány. Vzniklá nanovlákně vrstva byla těsně před laminačním krokem oddělena od podpurné PP vrstvy. K laminaci nanovlákně vrstvy bylo použito zařízení OSHIMA Mini Press. Následné filtrační testy provedené v *dead-end* režimu s demineralizovanou vodou o objemu 50 ml a pracovním tlaku 0,8 bar hodnotily propustnost jednotlivých membrán s ohledem na teplotu laminace. Modifikované membrány ukázaly pozvolný pokles propustnosti v závislosti na teplotě (Obrázek 4).



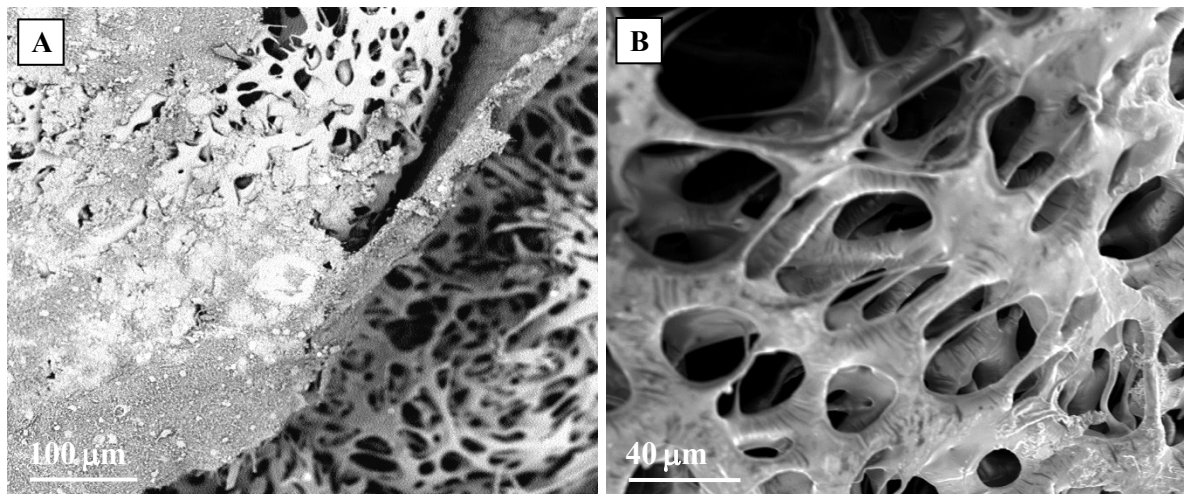
Obrázek 4: Závislost permeability na teplotě laminace.

V případech fixace založené na odpařování zbytkového rozpouštědla chemicky reagujícího s povrchem membrány, dochází vždy ke kompromisu mezi ztrátou nanovlákněné struktury a přílnavostí k povrchu membrán. Nejlepší adheze s přijatelným poklesem propustnosti bylo dosaženo v teplotním rozmezí od 90 do 100°C, při tlaku 2,4 kPa a čase laminování 15 sekund. Nanovlákněná struktura bez výraznějších morfologických změn po laminaci při teplotě 95°C je zobrazena na obrázku 5.



Obrázek 5: A) Povrch PU nanovláken po laminaci při 95°C (SEM, zvětšení 2 500×) B) Detail nanovláken se stříbrnými nanočásticemi (SEM, zvětšení 10 000×).

Naproti tomu, v paralelních experimentech s PES nanovláknou vedly podmínky nutné k dosažení adheze (teplota 170–175°C, tlak 3,2 kPa) k degradaci membrány, zejména podpůrné PET vrstvy (Obrázek 6A, B).



Obrázek 6: A) Ultrafiltrační membrána laminovaná PES nanovláknou vrstvou (SEM, zvětšení 1200×), B) strukturální degradace podpůrné PET vrstvy (SEM, zvětšení 440×).

3.3.2 Přímá depozice nanovláken

SEM mikroskopie (obrázky nejsou zobrazeny) potvrdila rovnoměrný nános nanovlákných vrstev metodou přímé depozice. Limitujícím faktorem tohoto postupu je ovšem zbytkový obsah rozpouštědla v nanovlákněch, který pravděpodobně reaguje s polymerním povrchem membrány. Ačkoli byla permeabilita pro tento způsob modifikace nižší než v případě referenční membrány, vedla k menšímu poklesu permeability v porovnání s tepelně-tlakovou laminací.

3.4 Metody redukce stříbra

Redukce stříbra s využitím dimethylformamidu jako rozpouštědla nanovlákných roztoků se ukázala jako účinná metoda pro formaci nanočástic (Sheikh et al., 2009). Přídavek dimethylformamidu se doporučuje před přidáním polymeru do nanovlákného roztoku. *Ex post* redukce s využitím zředěného roztoku kyseliny askorbové vedla ke znatelným morfologickým změnám struktury nanovláken. Naopak *ex post* redukce s využitím UVA záření se ukázala jako nejefektivnější způsob minimalizace chemického vlivu na morfologii nanovláken a efektivitu barevné změny.

3.5 Testování membrán

3.5.1 Permeabilita membrán

Testovací protokoly pro *cross-flow* i *dead-end* režim potvrdily sníženou propustnost nanovlákných membrán vázanou na zvýšenou teplotu laminace. Souběžně testovaná PES nanovláknina, vykazující vynikající rozměrovou stálost, bylo potřeba laminovat při vysoké teplotě, což vedlo ke zhoršení struktury pórů v podpůrné vrstvě (Dolina et al., 2013).

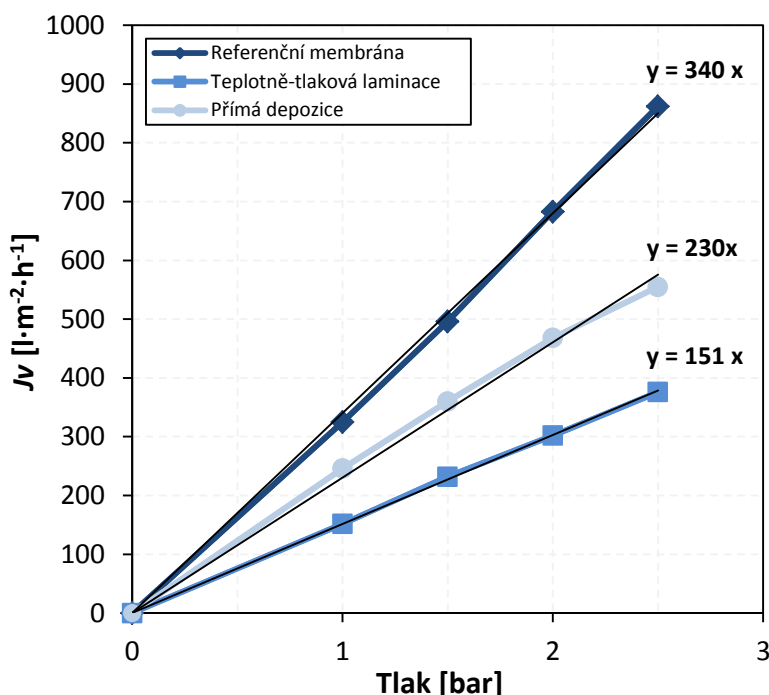
Ovlivnění struktury membrán i nanovláken při vysokých teplotách vedlo ke zvážení nových koncepcí pro nanášení nanovláken:

- a) použití různých polymerů s dobrou přilnavostí na membránu při nižších teplotách
- b) úplné odstranění procesu laminace

PU nanovláknina, jejichž výhodou je nižší teplota pro zajištění dobré přilnavosti, představují vhodnější variantu s lepší propustností kompozitní membrány v porovnání s PES nanovláknem. Hodnoty propustnosti PU membrán zůstávaly však stále nižší při porovnání s referenčními, což vedlo k vývoji kompozitní membrány bez laminování. Obrázek 7 ukazuje vývoj propustnosti testovaných membrán. V *cross-flow* režimu vykazovaly referenční membrány dvakrát větší propustnost než membrány laminované. Přímá depozice PU nanovláken na povrch membrány zlepšila propustnost v porovnání s laminovanými membránami přibližně o 50 %.

Nanovláknenná vrstva, nanosená na povrch membrány tepelně tlakovou laminací, vykazovala vyšší hydraulický odpor vyjádřený nižší propustností v porovnání s vrstvou vzniklou přímou depozicí (Obrázek 7). Vysoká pórovitost nanovláknenných vrstev s průměrem vláken v rozmezí 200–300 nm by neměla snižovat propustnost membrán, která by měla být řádově vyšší než u ultrafiltračních membrán s velikostí pórů ~40 nm. Zvýšený odpor lze vysvětlit zbytkovým tokem rozpouštědla, které interaguje s aktivní vrstvou membrány. Tím může docházet k blokadě některých pórů a zároveň může dojít k vytvoření méně porézních, vzájemně propojených struktur.

V porovnání s *dead-end* režimem filtrace byly pro *cross-flow* režim (Obrázek 7) pozorovány větší rozdíly permeability mezi modifikovanými a referenčními membránami. Ukazuje se, že *cross-flow* režim je více citlivý na povrchové vlastnosti membránového povrchu. Propustnost v této práci připravených kompozitních membrán nedosahovala hodnot referenčních membrán, což je cena zaplacená za přidané antibakteriální vlastnosti.



Obrázek 7: Permeabilita (směrnice přímky) laminované, přímou depozicí vzniklé a referenční membrány.

3.5.2 Vyplavování stříbra z nanovlákně vrstvy

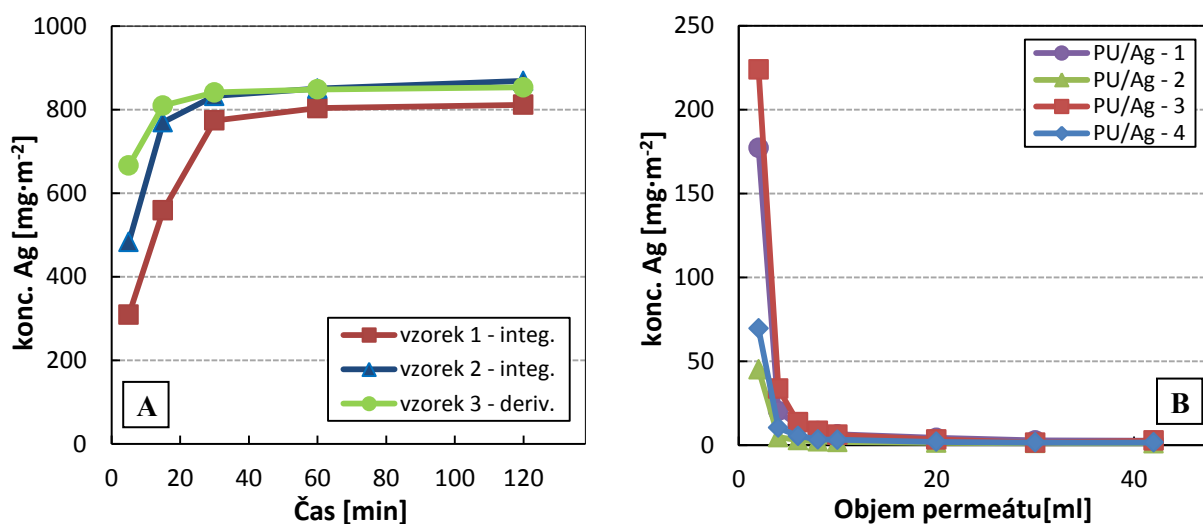
Experimenty ukázaly, že stříbro prochází skrze ultrafiltrační membránu (150 kDa), i když zjištěná velikost částic byla větší, než je velikost póru membrány. Tento jev lze vysvětlit rozpouštěním nanočástic s následným průchodem stříbrných iontů napříč membránou, nikoli průchodem samotných nanočástic. Nadměrné vyplavování stříbra, případně jeho nanočástic, z nanovlákně vrstvy do odpadní vody je pro životní prostředí potencionálně vážný problém a uznávaná nevýhoda současné metodiky membránových modifikací. Nadměrné vyplavování stříbra navíc snižuje dlouhodobé antimikrobiální vlastnosti nanovlákně vrstvy. Měření stability stříbra bylo provedeno na nanovlákně vrstvách s nejlepšími antibakteriálními vlastnostmi (PU nanovlákně s redukováným dusičnanem stříbrným, laminové nebo nanosené na membránu Nadir UP150), kde se tedy předpokládalo největší uvolňování stříbrných iontů.

Byl pozorován velmi podobný průběh vyplavování stříbra s intenzitou přímo úměrnou počátečnímu množství stříbra ($1\ 000\text{--}1\ 200\ \text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$) v nanovlákně vrstvě (Obrázek 8). Koncentrace stříbra v testech s membránou míchanou v demineralizované vodě postupně rostla s maximem po jedné hodině, kdy se hodnoty ustálily a k dalšímu růstu nedošlo (Obrázek 8A). Vyplavování stříbra mezi laminovanými membránami a membránami s přímou depozicí nanovlákně bylo srovnatelné. SEM snímky ukázaly přebytek stříbra v suchých vzorcích s malými

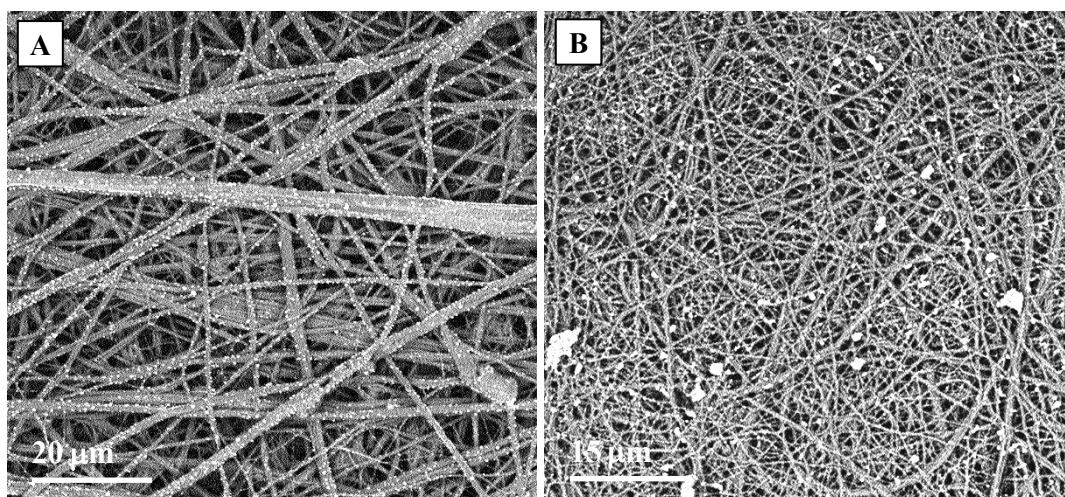
částicemi stříbra viditelnými na povrchu vláken po jedné minutě loužení (Obrázek 9A) a agregaci stříbra po 10 minutách (Obrázek 9B). Vzhledem k celkovému obsahu stříbra $1\ 000\text{--}1\ 200\ \text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ v nanovlákně po elektrostatickém zvlákňování stanoveného po demineralizaci nanovláken v roztoku kyseliny dusičné, odpovídala ztráta stříbra 66–80 % počáteční hodnoty. Toto výrazné vyplavení může být vysvětleno vysokým počátečním obsahem stříbra, které bylo 22 hm% vůči polymeru a zároveň nebylo pevně ukotveno v polymerní matici.

Stejný experiment, prodloužený na čtyři dny, ukázal obdobný průběh vyplavování stříbra s maximem po jedné hodině, kdy již zůstala koncentrace přibližně stejná. Mezi integrační a derivační metodou testování nebyl pozorován žádný významný rozdíl, vyplavování stříbra se tedy nezastavilo kvůli vzniku rovnovážné koncentrace mezi koncentrací stříbra na povrchu nanovláken a ve vodě. Po tomto testu následoval proplach membrány v demineralizované vodě a mikrobiální testy, které potvrdily trvalí antimikrobiální vlastnosti stříbra ukotveného na nanovlákněch (viz antimikrobiální testy).

Filtrační testy s demineralizovanou vodou prokázaly vyplavení většiny stříbra v prvních filtračních objemech a následný pokles k nízkým hodnotám (Obrázek 8B). Počáteční vysoké hodnoty vyplaveného stříbra odpovídaly uvolněným nanočásticím jen částečně uchyceným v PU nanovlákněch.



Obrázek 8: A) Vyplavování stříbra v demineralizované vzorků modifikovaných membrán v závislosti na čase a B) koncentrace vyplavování stříbra v závislosti na objemu permeátu.



Obrázek 9: Vzorky nanovláken zachycené rastrovacím elektronovým mikroskopem po A) 1 minutě, B) po 10 minutách loužení v demineralizované vodě (zvětšení A) 2800×, B) 3400×).

3.5.3 Antimikrobiální vlastnosti

Antimikrobiální vlastnosti byly testovány na membránách modifikovaných pomocí metody tepelně-tlakové laminace s PU nanovlákný se stříbrem a porovnány se vzorkem bakterií ve fyziologickém roztoku. Vzhledem k výraznému vyplavování stříbra, které bylo diskutováno v předchozí části, zůstává otevřena otázka dlouhodobě stabilních antibakteriálních vlastností stříbrem modifikovaných membrán. Antimikrobiální testy provedené pro *cross-flow* i *dead-end* uspořádání neprokázaly růst bakterií na povrchu modifikovaných membrán, a to v obou testovaných uspořádáních i pro rozdílné bakteriální koncentrace.

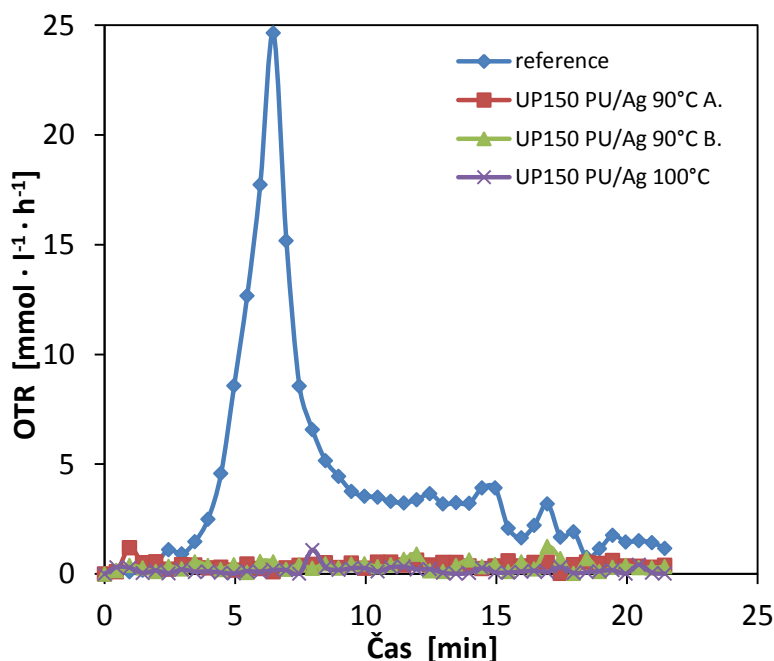
Antimikrobiální testy provedené po 4 dnech loužení v demineralizované vodě za stálého míchání prokázaly antimikrobiální účinek modifikovaných membrán. Výsledky tohoto testu a hodnocení počtu kolonií tvořících jednotek na mililitr jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Počet bakterií *E. Coli* po 48 hodinách kultivace. Vzorky 1–3 jsou membrány po vyplavování stříbra, vzorky 4 a 5 jsou slepé vzorky. Počáteční koncentrace *E. Coli* byla 10× vyšší pro vzorek 3, než v případě vzorku 1 a 2.

| desítkové ředění | vzorek | | | | | jednotka |
|------------------|--------|---|---|-----|-----|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 364 | 247 | KTJ/ml |
| -1 | 1 | 0 | 0 | 38 | 26 | |
| -2 | 0 | 0 | 0 | 4 | 2 | |
| -3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| -4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

3.5.4 Antimikrobiální vlastnosti – respirační aktivita

Testovány byly tři vzorky Nadir UP150 membrán modifikovaných nanovláknem se stříbrem spolu s referenční membránou bez úprav. Vzorky A a B byly laminovány za stejných podmínek a použity pro reprodukovatelnost měření. U všech stříbrem modifikovaných membrán byly prokázány silné antimikrobiální vlastnosti s minimální respirační aktivitou. Naproti tomu, vzorek referenční membrány respirační aktivitu vykazoval (Obrázek 10).



Obrázek 10: Rychlost spotřeby kyslíku (oxygen transport rate; OTR) bakterií *E. Coli* při testu membrán.

4 ZÁVĚRY

Předmětem této části práce byla příprava modifikovaných komerčních Nadir UP150 membrán s využitím nanovláken dotovaných nanočásticemi stříbra. Zkoumány byly dva způsoby přípravy kompozitní ultrafiltrační membrány s antibakteriálními vlastnostmi a to metoda tepelně tlakové laminace a přímé depozice. Přidaná antimikrobiální funkčnost je ale za cenu nižší propustnosti, která může být zlepšena optimalizací procesu depozice.

Antimikrobiální vlastnosti modifikovaných membrán byly potvrzeny za použití dvou různých metod, kultivace a respirační aktivita. Současně probíhalo sledování vyplavování stříbra z nanovlákněné vrstvy. Výzkum potvrdil možnost připravit membránový kompozit s prokázanými antimikrobiálními vlastnostmi a s přípustným poklesem hydraulického výkonu. Další práce byla založena na optimalizaci obsahu stříbra v nanovlákněch a hledání nových prekursorů stříbra se sníženým vyplavováním. Vzniklé membrány byly testovány s použitím reálné odpadní vody.

Seznam použité literatury

Anderlei, T., Zang, W., Papaspyrou, M., Büchs, J., 2004. Online respiration activity measurement (OTR, CTR, RQ) in shake flasks. *Biochem. Eng. J.* 17, 187–194.

Barakat, N.A., Abadir, M., Sheikh, F.A., Kanjwal, M.A., Park, S.J., Kim, H.Y., 2010. Polymeric nanofibers containing solid nanoparticles prepared by electrospinning and their applications. *Chem. Eng. J.* 156, 487–495.

Cath, T.Y., Childress, A.E., Elimelech, M., 2006. Forward osmosis: principles, applications, and recent developments. *J. Membr. Sci.* 281, 70–87.

Chahal, R.P., Mahendia, S., Tomar, A., Kumar, S., 2011. Effect of ultraviolet irradiation on the optical and structural characteristics of in-situ prepared PVP-Ag nanocomposites. *Dig. J Nanomater Biostr* 6, 299–306.

Chou, K.-S., Lu, Y.-C., Lee, H.-H., 2005. Effect of alkaline ion on the mechanism and kinetics of chemical reduction of silver. *Mater. Chem. Phys.* 94, 429–433.

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978.

Dvořák, L., Gómez, M., Dvořáková, M., Růžičková, I., Wanner, J., 2011. The impact of different operating conditions on membrane fouling and EPS production. *Bioresour. Technol.* 102, 6870–6875. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.061

Genne, I., Doyen, W., Adriansens, W., Leysen, R., 1997. Organo-mineral ultrafiltration membranes. *Filtr. Sep.* 34, 964–966.

Haberkamp, J., Ernst, M., Makdissy, G., Huck, P.M., Jekel, M., 2008. Protein fouling of ultrafiltration membranes—investigation of several factors relevant for tertiary wastewater treatment. *J. Environ. Eng. Sci.* 7, 651–660.

Huang, Z.-M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S., 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Compos. Sci. Technol.* 63, 2223–2253.

Jacobs, V., Anandjiwala, R.D., Maaza, M., 2010. The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers. *J. Appl. Polym. Sci.* 115, 3130–3136.

Jirsak, O., Sanetnik, F., Lukas, D., Kotek, V., Martinova, L., Chaloupek, J., 2009. Method of nanofibres production from a polymer solution using electrostatic spinning and a device for carrying out the method.

Kochan, J., Wintgens, T., Wong, J.E., Melin, T., 2010. Properties of polyethersulfone ultrafiltration membranes modified by polyelectrolytes. *Desalination* 250, 1008–1010.

Miller, J., Neubig, R., Clemons, C., Kreider, K., Wilber, J., Young, G., Ditto, A., Yun, Y., Milsted, A., Badawy, H., 2013. Nanoparticle deposition onto biofilms. *Ann. Biomed. Eng.* 41, 53–67.

Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., Yacaman, M.J., 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 2346.

Mulder, M., 1996. Basic principles of membrane technology. Springer Science & Business Media.

Panáček, A., Kvitek, L., Prucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V.K., Nevečná, T., Zboril, R., 2006. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J. Phys. Chem. B* 110, 16248–16253.

Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L.M., 2000. Binary cooperative complementary nanoscale interfacial materials. Reduction of silver nanoparticles in DMF. Formation of monolayers and stable colloids. *Pure Appl. Chem.* 72, 83–90.

Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L.M., 1999. Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N, N-dimethylformamide. *Langmuir* 15, 948–951.

Phillips, R., Kondev, J., Theriot, J., Garcia, H., 2012. Physical biology of the cell. Garland Science.

Seymour, R.B., Kauffman, G.B., 1992. Polyurethanes: A class of modern versatile materials. J. Chem. Educ. 69, 909.

Sheikh, F.A., Barakat, N.A., Kanjwal, M.A., Chaudhari, A.A., Jung, I.-H., Lee, J.H., Kim, H.Y., 2009. Electrospun antimicrobial polyurethane nanofibers containing silver nanoparticles for biotechnological applications. Macromol. Res. 17, 688–696.

Tang, Z., Qiu, C., McCutcheon, J.R., Yoon, K., Ma, H., Fang, D., Lee, E., Kopp, C., Hsiao, B.S., Chu, B., 2009. Design and fabrication of electrospun polyethersulfone nanofibrous scaffold for high-flux nanofiltration membranes. J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys. 47, 2288–2300.

Zhuo, H., Hu, J., Chen, S., Yeung, L., 2008. Preparation of polyurethane nanofibers by electrospinning. J. Appl. Polym. Sci. 109, 406–411.

ČÁST II.

Příprava a charakterizace polyurethanových nanovláken *in situ* dotovaných behenátem stříbrným

Tato část disertační práce vychází z článku:

Dolina, J., Dvořák, L., Lederer, T., Vacková, T., Mikmeková, Š., Šlouf, M., Černík, M., 2016. Characterisation of morphological, antimicrobial and leaching properties of *in situ* prepared polyurethane nanofibres doped with silver behenate. *RSC Advances*, 6(28), 23816–23826. (IF; 3,289)

Souhrn

Polyurethanová nanovlákna připravená pomocí elektrostatického zvlákňování z volné hladiny, byla *in situ* dotována nanočásticemi stříbra pomocí tří různých prekurzorů a nulmocných nanočástic. Nanovláknenné struktury se stříbrem byly připraveny bez jakýchkoliv dalších úprav.

V průběhu experimentů bylo dosaženo nejlepších výsledků s nanovláknou dotovanými behenátem stříbrným. Tato nanovlákna vykazovala homogenní pokrytí nanočásticemi (některé pozorované částice měly průměr <1 nm) a jednotnou morfologii hodnocenou pomocí rastrovací elektronové mikroskopie s extra vysokým rozlišením (XHR SEM), rastrovací elektronové mikroskopie s autoemisní katodou (FEG SEM) a transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Nanovlákna dotovaná behenátem stříbrným navíc vykazovala silné antimikrobiální vlastnosti hodnocené pomocí mikrobiálních testů. V prvním byla pozorována inhibice růstu bakterií *Escherichia coli*, dosahující více než 99 %. Metodou „parallel streak method“ byla hodnocena velikost vzniklých inhibičních zón u bakterií *Escherichia coli* ($1,20 \pm 0,12$ mm), *Staphylococcus aureus* ($1,45 \pm 0,08$ mm) a *Pseudomonas aeruginosa* ($0,62 \pm 0,12$ mm) testovaných v koncentracích odpovídajících zákalu 1 McFarland. Pro tento druh nanovláken byly ze všech připravených vzorků zaznamenány i nejnižší hodnoty vyplavování stříbra hodnocených po 168 hodinách loužení v demineralizované vodě (5,8 % z původního obsahu stříbra). Nanovlákna dotovaná behenátem stříbrným proto představují slibnou alternativu k současným *in situ* připraveným stříbrem dotovaným nanovláknům.

Klíčová slova: Nanovlákna; nanočástice stříbra; behenát stříbrný; vyplavování stříbra; pokročilá mikroskopie; antimikrobiální vlastnosti.

1 ÚVOD

Nanočástice stříbra jsou úspěšně inkorporovány do struktury nanovláken (Lagaron et al., 2011). Existuje několik způsobů přípravy stříbrem dotovaných nanovláken, včetně suchého a mokrého zvlákňování, tažení, fázové separace, tzv. *melt-blowingu*, nebo elektrostatického zvlákňování (Bhardwaj a Kundu, 2010; Imura a Jaffe, 2014; Ozipek a Karakas, 2014). Většina z těchto metod je založena na přidání nanočástic stříbra přímo do zvlákňovacího roztoku. Výhodou *in situ* metod je příprava nanovláken se zlepšenými vlastnostmi v jednom kroku, bez následného zpracování, jako je například úprava plazmatem (Padil et al., 2015). V případě *in situ* metod není potřeba žádného vysokoenergetického zpracování a tyto metody jsou tedy levnější a jednodušší. Na druhou stranu, *in situ* metody mohou vykazovat sníženou antimikrobiální aktivitu, vzhledem k přítomnosti nanočástic jak na, tak i ve vnější struktuře polymerních nanovláken (Qu et al., 2014).

Hlavní nevýhodou imobilizace stříbra na nanovlákech je jeho slabá přilnavost k polymerní matici vedoucí k vyplavování a následné ztrátě antimikrobiálních vlastností. Publikované studie potvrdily vyplavování stříbra v průběhu výroby nebo aplikace a to v důsledku špatné adheze a/nebo dostupnosti stříbrných iontů pro vodu (Zodrow et al., 2009). Z tohoto důvodu je potřeba upravit stávající metody, vyvinout nové sloučeniny nebo použít nové metody přípravy umožňující výrobu nanovláken s dlouhodobou stabilitou stříbra a tím i udržení jejich antimikrobiální aktivity.

V této práci byla připravena polyurethanová (PU) nanovlákná s nanočásticemi stříbra vycházející z prekurzorů ve formě behenátu, dusičnanu, benzoátu stříbrného a nulmocných nanočástic stříbra. Roztoky pro nanovlákná se stříbrem byly připraveny *in situ* bez následných úprav a vedly k výrobě stříbrem dotovaných nanovláken s předpokládanými antimikrobiálními účinky, nízkými hodnotami vyplavování a homogenní morfologií.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Příprava stříbrných nanočástic

Pro přípravu nanočástic stříbra byly použity tři různé stříbrné prekurzory: dusičnan stříbrný (P1; $\geq 99,8\%$, Penta Chemicals, Česká republika), benzoát stříbrný (P2; $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, USA) a 5 hm% disperze behenátu stříbrného v N-ethyl-2-pyrrolidonu (NEP) (P3, Agfa, Belgie). Benzoát stříbrný byl použit buď jako samotný prekurzor (P2) nebo také jako činidlo (R) pro zvýšení vodivosti výsledného roztoku nanovláken současně umožňující dosažení vyššího poměru stříbra

v daném polymerním roztoku (Dolina et al., 2013). V případě přidání benzoátu stříbrného nebyly potřeba žádné další přísady (například TEAC, TEAB, nebo NaCl), které by mohly vést k agregaci nanočástic ve zvláknovacím roztoku.

N,N-dimethylformamid (DMF; $\geq 99,5\%$, Penta Chemicals, Česká republika) byl použit jako redukční činidlo pro stříbro (Gao et al., 2014; Pastoriza-Santos a Liz-Marzán, 2000) při *in situ* redukci stříbrných prekurzorů (P1–3) na nanočástice nulmocného stříbra. Redukce byla provedena při laboratorní teplotě (Lala et al., 2007). Kromě výše uvedených prekurzorů stříbra byla také testována předem připravená disperze nulmocných nanočástic stříbra (nAg) v DMF. Disperze nulmocných nanočástic stříbra byla připravena *in situ* redukcí na základě postupu popsaného v Deivaraj et al. (2005). Původní postup byl upraven rozpuštěním dusičnanu stříbrného v DMF a přidáním této směsi do polyvinylpyrrolidonu s molekulovou hmotností $40\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, (PVP; Sigma-Aldrich, USA), který byl též rozpuštěn v DMF. Dávkování roztoku stříbra do roztoku PVP (poměr PVP a stříbra byl 3:1) probíhalo postupně za kontinuálního míchání v ultrazvukové lázni o teplotě $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 1 hodiny. Připravené roztoky s koncentrací stříbra 1,0; 2,5 a 8,0 hm% sloužily k vyhodnocení vlivu koncentrace disperzního stříbra na tvorbu nanovláken.

2.2 Nanovláknenné roztoky a elektrostatické zvláknování

Pro tuto práci byl zvolen PU s ohledem na jeho vynikající mechanickou a chemickou stabilitu, stejně jako schopnost být elektrostaticky zvlákněn z volné hladiny. PU nanovlákná (molekulová hmotnost $\sim 50\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) byla připravena z roztoku Larithanu LS 1086 (Novotex, Itálie) rozpuštěného v DMF na koncentraci 30 hm%. (dále v textu uváděn jako roztok Larithanu). DMF byl také použit pro získání PU o konečné roztokové koncentraci 15 hm%. Dimethylsulfoxid (DMSO; $>99\%$, Penta Chemicals, Česká republika), demineralizovaná voda, tetraethylamonium bromid (TEAB; $>98\%$, Sigma-Aldrich, USA) a benzoát stříbrný ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, USA) byly použity jako přísady zvyšující vodivost zvláknujícího roztoku (Dolina et al., 2013).

Jako reference (vzorek 0) byla připravena čistá PU nanovlákná bez přítomnosti stříbra umožňující porovnání s vlastnostmi a strukturou nanovláken bez nanočástic. Referenční vzorek byl připraven z roztoku Larithanu ve směsi s nasyceným roztokem TEAB v DMF tak, aby bylo dosaženo požadované vodivosti pro elektrostatické zvláknování. Konečná koncentrace polymeru nezbytná pro elektrostatické zvláknování byla dosažena též přidavkem DMF (Tabulka 1).

Na základě předběžných zhodnocení výsledků morfologie a homogenního elektrostatického zvláknování (sekce 3.1) byla z mnoha testovaných roztoků vybrána a následně testována čtyři

různá složení, která se lišila pouze koncentrací stříbrných prekurzorů (P1–3) nebo nulmocného nAg. Tyto roztoky byly připraveny následujícím způsobem:

- Roztok 1 - dusičnan stříbrný (P1; 2,5 až 5,0 hm%) se smíchal s DMF a nechal se míchat s frekvencí 100 ot·min⁻¹ po dobu 4 hodin, následně se přidal roztok Larithanu. Tato směs se opět míchala po dobu 24 hodin s frekvencí 100 ot·min⁻¹. Následně se přidal benzoát stříbrný (R; 1,0 až 3,0 hm%) a roztok se opět míchal po dobu 24 hodin s frekvencí 100 ot·min⁻¹. Nakonec byla přidána demineralizovaná voda a DMSO.
- Roztok 2 - benzoát stříbrný (P2; 1,0 až 3,0 hm%) se smísil s odpovídajícím množstvím DMF (aby se dosáhlo konečné koncentrace PU 15 hm%) a výsledná směs se nechala míchat s frekvencí 100 ot·min⁻¹ po dobu 4 hodin. Následně se přidal roztok Larithanu a směs se opět míchala po dobu 24 h s frekvencí 100 ot·min⁻¹. Nakonec byla přidána demineralizovaná voda a DMSO.
- Roztok 3 - roztok Larithanu se smísil s DMF a nechal se míchat s frekvencí 100 ot·min⁻¹ po dobu 24 hodin. Poté byla přidána disperze behenátu stříbrného v NEP (P3; 20,0 až 30,0 hm%) a roztok byl míchán s frekvencí 100 ot·min⁻¹ po dobu dalších 24 hodin. Nakonec došlo k přidání benzoátu stříbrného (R; 1,0 až 3,0 hm%) a demineralizované vody.
- Roztok 4 - gelová disperze nulmocných nAg (5,0 až 30,0 hm%) se smísila s DMF a byla míchána po dobu 4 hodin s frekvencí 100 ot·min⁻¹. Následně se přidal roztok Larithanu a výsledná směs byla míchána dalších 24 hodin za stejných podmínek. Nakonec byl přidán TEAB a demineralizovaná voda.

Všechny výsledné roztoky byly opět míchány s frekvencí 100 ot·min⁻¹ při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin, aby se zajistila dostatečná reakční doba k redukci stříbra. Pro zvýšení mobility polymerních řetězců a urychlení redukce stříbra v DMF (Pastoriza-Santos a Liz-Marzán, 1999) byly roztoky 1–4 před elektrostatickým zvlákňováním zahřívány po dobu 45 minut na teplotu 65 °C.

Nanovlákná z roztoků 1–4 byla připravena zvlákňováním z volné hladiny podle doporučení uvedeného v patentu číslo US 7585437 B2 (Jirsak et al., 2009) za současného použití laboratorního zařízení s hliníkovou elektrodou a plochým vrškem pro nanosení roztokové kapky. V průběhu elektrostatického zvlákňování byly pro všechny roztoky dodržovány tyto procesní podmínky: napětí 32 kV, relativní vlhkost 20 %, vzdálenost elektrod 105 mm a teplota 21–23 °C. Po přípravě nanovláken byly vzorky před započítáním testů skladovány po dobu jednoho týdne (Sheikh et al., 2009).

Konečné složení roztoků vykazující nejlepší předběžné výsledky získané pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (SEM) a zároveň během procesu elektrostatického zvlákňování, jsou uvedeny v tabulce 1 jako vzorky 1–4.

2.3 Elektronová mikroskopie a snímková analýza

Morfologie vláken byla hodnocena pomocí několika mikroskopických technik. Phenom SEM (FEI, Česká republika) při zvětšení 5 000× byl použit k rychlé kontrole kvality vláken. Detailní nanovlákná morfologie byla vizualizována pomocí Magellan 400L XHR SEM (FEI, Česká republika). Povrchové snímky s vysokým rozlišením byly získány pokovením vzorků 5 nm silnou vrstvou chrómu, chránící vzorky před poškozením způsobeným sekundárními elektrony, při urychlovacím napětím 1 kV.

Quanta 200 FEG SEM (FEI, Česká republika) vybavený EDX detektorem fungujícím na principu energiové disperze (EDAX, USA) byl použit pro vzorky bez pokovení. Všechny analýzy byly provedeny v režimu nízkého vakua (150 Pa), s detektorem sekundárních elektronů a s urychlovacím napětím 20 kV. Pro ověření přítomnosti nanočástic stříbra byla provedena analýza EDX spektra ze stejných míst, ze kterých byly pořízeny FEG SEM snímky.

Tecnai G2 Spirit Twin TEM (FEI, Česká republika) byl použit pro vizualizaci nejmenších nanočástic stříbra, které nebyly pomocí FEG SEM zjištělné. Všechny TEM mikrofotografie v této práci byly pořízené na světlém pozadí při 120 kV.

Průměry nanovláken a stříbrných nanočástic byly měřeny pomocí programu NIS Elements AR 3.2 (Laboratory Imaging, Česká republika), jenž je standardním programem pro analýzu obrazu. Distribuce průměru nanovláken byla získána z více než 80ti měření a distribuce průměru nanočástic z více než 250ti měření. XHR SEM (zvětšení 10 000×) byla použita k získání středního, minimálního a maximálního průměru vláken. FEG SEM (zvětšení 50 000×) a TEM (zvětšení 200 000×) mikrofotografie byly použity k získání dvou souborů dat pro vyhodnocení distribuce velikosti částic. Tyto datové soubory byly za splnění předpokladu výskytu izometrických částic spojeny a zpracovány s využitím vlastního programu MDISTR s cílem zajistit dva histogramy: dvojrozměrnou číselnou distribuci (2dN%) a dvojrozměrnou objemovou distribuci (2dV%). Program MDISTR byl navržen speciálně pro zpracování více datových souborů a pro měření částic s širokou distribucí velikostí. Podrobnosti o tomto programu lze nalézt ve Fulín et al. (2010).

2.4 Antimikrobiální testy

a) Inhibiční zóny

Gramnegativní bakterie *Escherichia coli* (CCM 3954) a *Pseudomonas aeruginosa* (CCM 3955) a grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* (CCM 3953) byly použity v testu „parallel streak method“ (AATCC 147, 2004). Bakteriální kmeny byly kultivovány na agarové půdě (Plate Count Agar; PCA) bez dextrózy (Bio-Rad Laboratories; USA) po dobu 48 hodin při teplotě 37 °C. Po kultivaci byl každý kmen převeden do fyziologického roztoku a jeho koncentrace byla upravena na zákal odpovídající 1 McFarland (McF) a 2 McF (McFarland, 1907). Tyto dva roztoky byly následně použity pro přípravu testu na PCA plotnách. Každá půda tedy obsahovala dvě linie s různými koncentracemi (1 McF a 2 McF).

Vzorky nanovláken (20 × 20 mm) byly umístěny přes tyto paralelní linie a kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin (Fernandes et al., 2013). Inhibiční účinek byl hodnocen na základě šířky inhibiční zóny, tedy oblasti mezi okrajem vzorku a začátkem bakteriální linie (Koizhaiganova et al., 2015). Všechny vzorky byly testovány v duplikátech.

Po zjištění přibližného počtu buněk každého bakteriálního kmene byla suspenze, se zákaelem odpovídajícím 1 McF, 10 000× naředěna fyziologickým roztokem a kultivována na agarových půdách po dobu 48 hodin při teplotě 37 °C. Po kultivaci byly spočteny jednotky tvořící kolonie (KTJ).

b) Kontaktní testy

Antimikrobiální kontaktní test byl založen na inhibici růstu bakterie *Escherichia coli* (*E. coli*). Nejprve se bakterie *E. coli* (CCM 3954) kultivovala v LB médiu (Miller's LB broth®, Sigma-Aldrich, USA) po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C za stálého míchání s frekvencí 120 ot·min⁻¹. Po kultivaci byla stanovena koncentrace buněk měřením optické density při vlnové délce 600 nm a za použití extinkčních koeficientů pro *E. coli* (Phillips et al., 2012).

Nanovláknenné vzorky (20 × 20 mm) byly umístěny do sterilizovaných Falkon zkumavek (15 ml) za současného přidání 10 ml fyziologického roztoku s přibližně 1 · 10⁵ *E. coli* buněk na 1 ml. Zkumavky byly kultivovány po dobu 24 hodin za stálého míchání (120 ot·min⁻¹) při 37 °C. Po odběru vzorků byly vzorky nanovláken vytaženy a umístěny do 50 ml nádobek s demineralizovanou vodou a ponechány 15 minut na třepače, poté došlo k odstranění demineralizované vody. Tento postup byl zvolen, aby se minimalizoval vliv vyplavování stříbra pro další hodnocení. Následně byly vzorky vyjmuty a umístěny do nových Falkon zkumavek a naplněné novým bakteriálním roztokem (o stejné koncentraci *E. coli*). V prvních 168 hodinách se pro

výměnu a promývání vzorků dodržoval 24 hodinový interval. V průběhu testu se vyplavování stříbra stabilizovalo a interval byl následně prodloužen na 72 hodin až do konce experimentu (480 h). Mezi jednotlivými výměnami byly odebírány vzorky *E. coli* roztoků v čase 24, 48, 168 a 480 hodin a kultivovány na živné agarové půdě bez dextrózy po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C. Následně došlo k vyhodnocení počtu KTJ.

2.5 Testy vyplavování stříbra

Nanovláknenné vzorky (20 × 20 mm) byly umístěny do 15 ml Falkon zkumavek, které byly naplněné 10 ml ultračisté vody. Zkumavky byly následně míchány při frekvenci 120 ot·min⁻¹ při laboratorní teplotě. Vzorky byly odebírány v čase 24, 48 a 168 hodin k posouzení množství uvolněného stříbra z nanovláken a to bez ohledu na formu stříbra, tj. zdali se jednalo o ionty, nebo nanočástice. Celkový obsah stříbra v nanovláknenných vzorcích byl stanoven pomocí demineralizace přidáním 2 ml 65 hm% kyseliny dusičné (Penta Chemicals, Česká republika). Obsah stříbra byl analyzován s použitím hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) na zařízení Agilent 7500 ICP-MS (Agilent, USA). Všechny vzorky byly měřeny v duplikátu.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Vliv nanovláknenných roztoků na zvlákňování

Byla sledována řada různých koncentrací stříbrných prekurzorů a disperzí nulmocných nAg. Hodnotící parametry zahrnovaly sledování poklesu vyplavování stříbra a tím i dosažení dlouhodobých antimikrobiálních vlastností. Volba stříbrných prekurzorů pro tvorbu nanočástic byla založena na třech faktorech: i) volba optimální koncentrace dusičnanu stříbrného k zajištění stabilního elektrostatického zvlákňování, ii) eliminace nestříbrných přísad (například TEAB, NaCl), které vedou ke srážení stříbra a iii) přidání sloučenin stříbra k zajištění požadované vodivosti elektrostatického zvlákňování. Kompozice nanovláknenných roztoků byla zvolena na základě výsledků předchozích experimentů, kde byla hodnocena zvlákňovitost roztoků v elektrostatickém poli a zároveň morfologie vláken (SEM). Konečné složení nanovláknenných roztoků 1–4, je uvedeno v tabulce 1. Tyto roztoky byly zvlákňeny bez negativních jevů (bez plazmového efektu, nebo přílišného toku rozpouštědla) a současně vykazovaly jemnou strukturu vláken v předběžném hodnocení pomocí provozního SEM. I přesto, že výskyt nanočástic stříbra nebyl ověřen pomocí předběžné mikroskopické analýzy, zbarvení těchto vzorků jeho přítomnost indikovalo.

Předchozí výzkum ukázal problémy s nízkou vodivostí a dávkováním organických solí (například TEAB) vedoucím k agregaci nanočástic stříbra v roztocích pro elektrostatické zvláknování. Přidáváním benzoátu stříbrného v této studii se naopak zvýšila vodivost roztoku na požadovanou úroveň ($\sim 1,5 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$) a to bez agregace a nutnosti dalších přísad. V této práci bylo pro nanovlákná dotovaná stříbrem bez přídavku TEAB prokázáno více homogenní pokrytí částicemi stříbra a zároveň více uniformní distribuce jejich velikostí. V mnoha případech bylo nutné přidání 4–8 hm % DMSO a 1–2 hm% demineralizované vody (Tabulka 1). Jak odpovídající vodivost, tak i absence látek vedoucích k vysrážení stříbra, měly za následek efektivnější elektrostatické zvláknování a vysokou hustotu rovnoměrného pokrytí vláken. Například, Lee et al. (2005) zjistili, že vyšší vodivost roztoku vede k jednotným nanovláknům v důsledku zvýšení přitažlivých sil mezi elektrodami, vyššímu toku a prodloužení vlákněných trysek.

Použití samotného prekursoru ve formě behenátu stříbrného (>95%; TCI Europe NV, Belgie) vedlo k jeho srážení v roztoku. Tento problém se nepodařilo odstranit ani intenzivním ultrazvukovým mícháním a roztok nebylo možné zvláknit. Naopak, roztok disperzního behenátu stříbrného v NEP (P3) s přídavkem benzoátu stříbrného (R), byl zvlákněn bez obtíží. Disperze nulmocných nAg (8 hm%) vedla k homogennímu nanovlákněnému pokrytí. Roztoky s přídavkem disperze nulmocných nAg s koncentrací 1,0 až 2,5 hm% byly naopak zvlákněny se špatnou účinností, pravděpodobně v důsledku nízké vodivosti vedoucí pouze k bodovému pokrytí vláken na nosném materiálu.

Tabulka 1: Složení vzorků 1–4 (hm%).

| vzorek číslo | sloučeniny | | | | | | | | |
|--------------|------------|------|------|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| | PU | DMF | DMSO | H ₂ O | TEAB ^{a)} | dusičnan stříbrný | benzoát stříbrný | behenát stříbrný | nulmocné nAg |
| 0 | 15,0 | 70,0 | – | – | 15,0 | – | – | – | – |
| 1 | 15,4 | 70,1 | 8,5 | 1,4 | – | 2,0 | 2,6 ^{b)} | – | – |
| 2 | 15,1 | 72,6 | 8,3 | 1,4 | – | – | 2,6 | – | – |
| 3 | 15,2 | 50,8 | 3,9 | – | – | – | 1,9 ^{b)} | 28,1 | – |
| 4 | 15,4 | 53,7 | – | 2,0 | 8,9 | – | – | – | 20,0 ^{c)} |

^{a)} nasycený roztok TEAB v DMF.

^{b)} přidáno jako činidlo pro zvýšení vodivosti roztoků

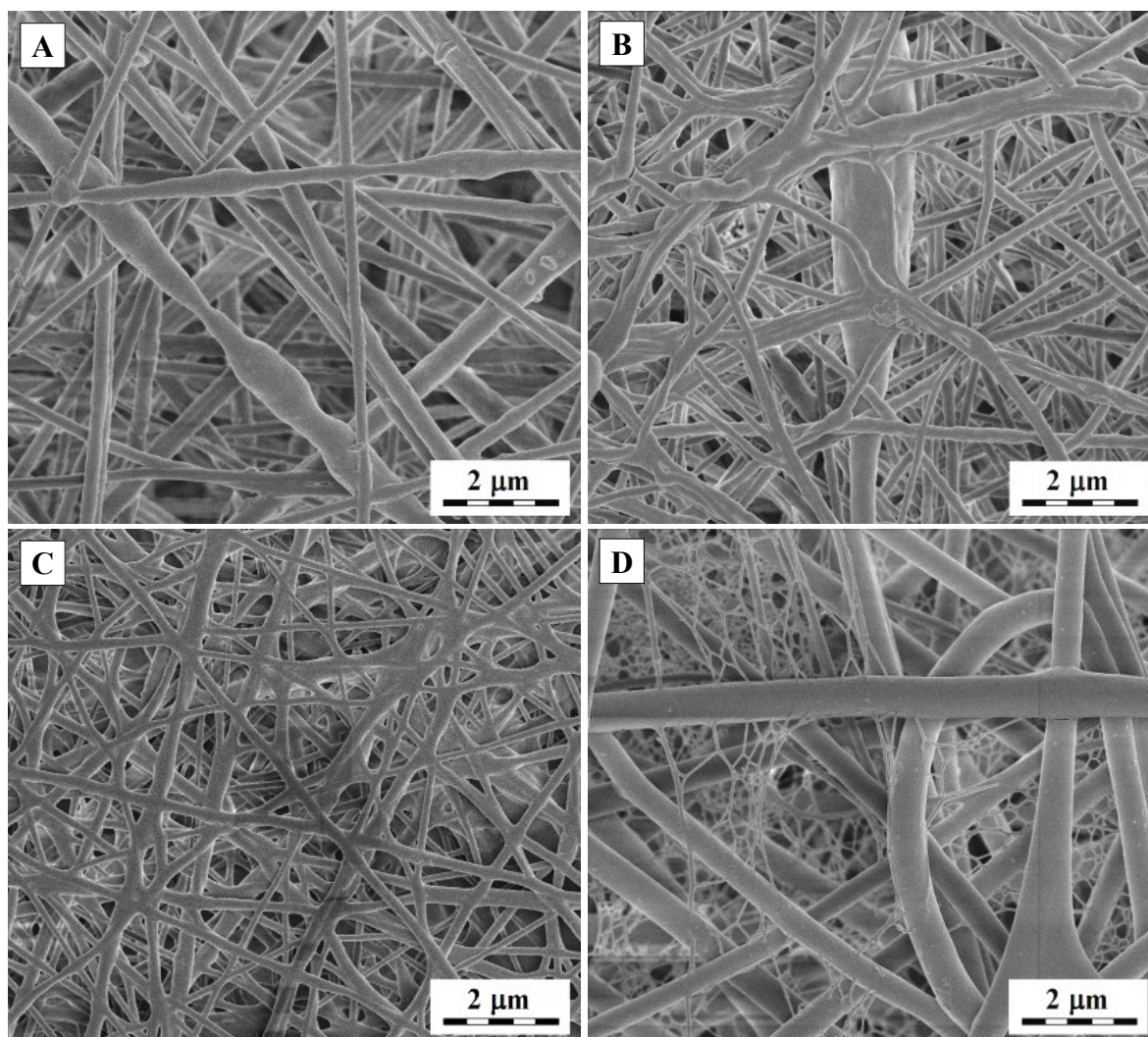
^{c)} koncentrace stříbra v disperzi byla 8 hm%

3.2 Nanovlákněná a částicová morfologie

Mikroskopickému hodnocení s větším zvětšením byly podrobeny pouze ty vzorky, které bylo možné spolehlivě připravit elektrostatickým zvláknováním a zároveň prokázaly slibnou SEM morfologii, tedy odpovídající tloušťku a strukturní homogenitu vláken (Tabulka 1).

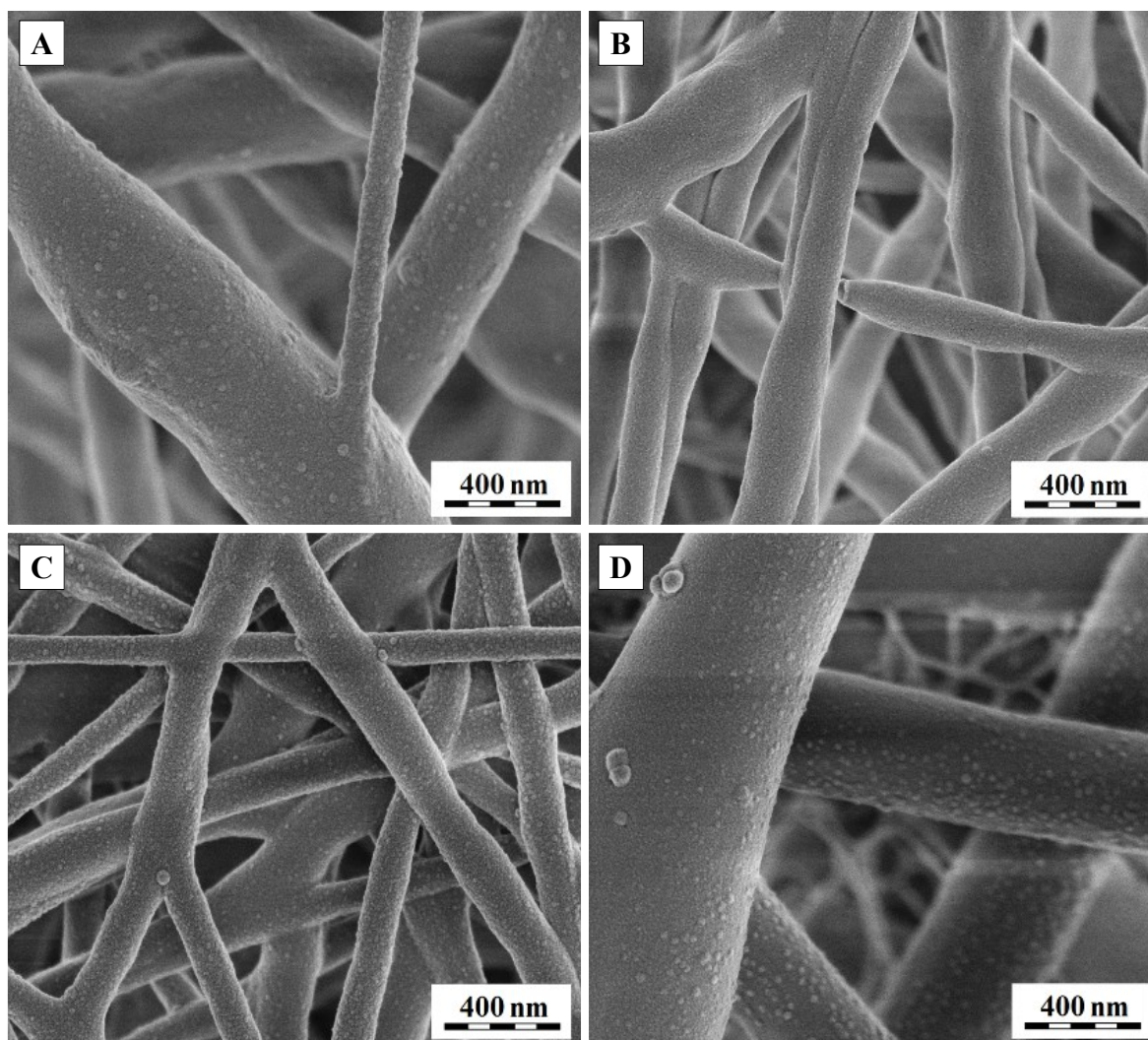
XHR SEM mikrofotografie ukázaly strukturální odlišnost v nanovlákněné morfologii i v průměru vláken, přestože byly všechny vzorky připraveny za stejných podmínek (Obrázek 1). Například vzorek 3 (PU/behenát stříbrný) vykazoval více propojenou strukturu, zatímco vzorek 1 (PU/dusičnan stříbrný) měl hladký povrch vláken bez významného propojení jednotlivých nanovláken (Obrázek 1A). Více propojená struktura vzorku 3 (Obrázek 1C) byla s největší pravděpodobností způsobena zbytkovým tokem rozpouštědla ve formě NEP (v DMF), které má nižší tenzi par (14 Pa při teplotě 20 °C), což vedlo k jeho pomalejšímu odpařování. Na rozdíl od vzorku 1, kde bylo použito pouze rozpouštědlo DMF s vyšší tenzí par (360 Pa při 20 °C).

XHR SEM mikrofotografie byly použity také pro stanovení minimální, maximální a střední hodnoty průměru vláken (Tabulka 2). Vzorek 3 vykazoval nejvíce uniformní velikost vláken (173 ± 81 nm), zatímco vzorek 4 měl největší průměr vláken (349 ± 223 nm). Při porovnání vzorku 1 s referenčními vlákny byly pozorovány jen nepatrné změny v průměru vláken.



Obrázek 1: XHR SEM mikrofotografie s chromovým povlakem pro A) vzorek 1, B) vzorek 2, C) vzorek 3, D) vzorek 4 (zvětšení 10 000×)

XHR SEM, s použitým zvětšením 50 000 \times , umožnila získání snímků povrchu s vysokým rozlišením (Obrázek 2A–D) a tím i vizualizaci nejtenčích vláken (<50 nm) ve vnitřní struktuře nanovláken. V některých případech byla zjištěna vlákna o průměru <35 nm, zejména u vzorku 4 (Tabulka 2).



Obrázek 2: XHR SEM mikrofotografie s chromovým povlakem pro A) vzorek 1, B) vzorek 2, C) vzorek 3 a D) vzorek 4. (zvětšení 50 000 \times)

Přidání prekurzorů ve formě benzoátu stříbrného (vzorek 2) a behenátu stříbrného s přidavkem benzoátu stříbrného (vzorek 3), vedlo k menšímu průměru nanovláken (Tabulka 2) v porovnání s dusičnanem stříbrným (vzorek 1) a nulmocným nAg (vzorek 4). I přesto, že se vliv různých prekurzorů stříbra na průměr vláken zdá zřejmý, s ohledem na stejnou koncentraci polymeru a konstantní procesní podmínky během přípravy, mohou mít vliv na průměr nanovláken i další faktory jako typ rozpouštědla, vlastnosti aditiv nebo vodivost (Jacobs et al., 2010). Vliv stříbrných prekurzorů na tvorbu nanovláken může být jednoznačně rozlišen pouze pro vzorky 1 a 2.

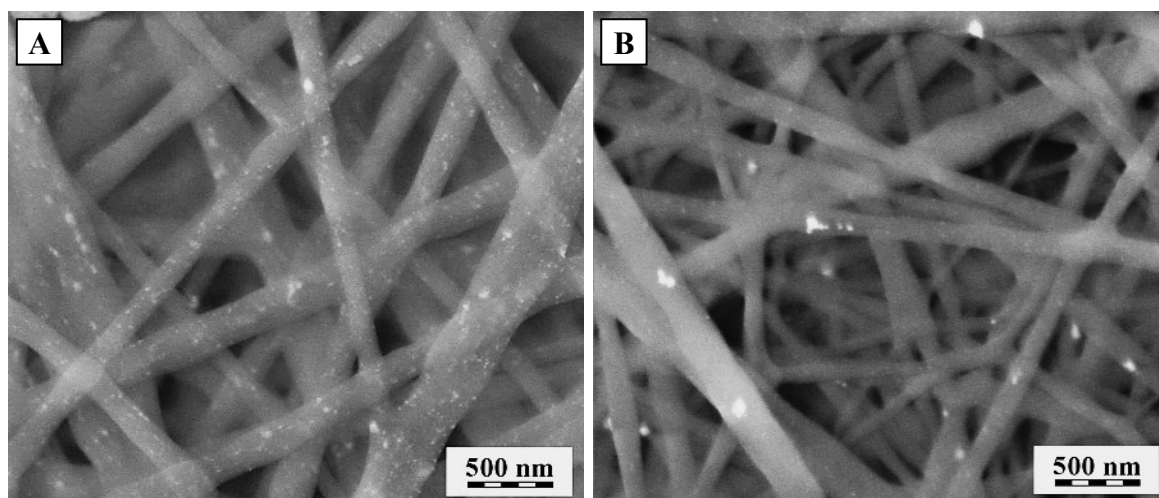
Tyto vzorky vykazovaly rozdílný průměr a strukturu vláken, přestože měly podobné složení, které se lišilo pouze v přítomnosti dusičnanu stříbrného.

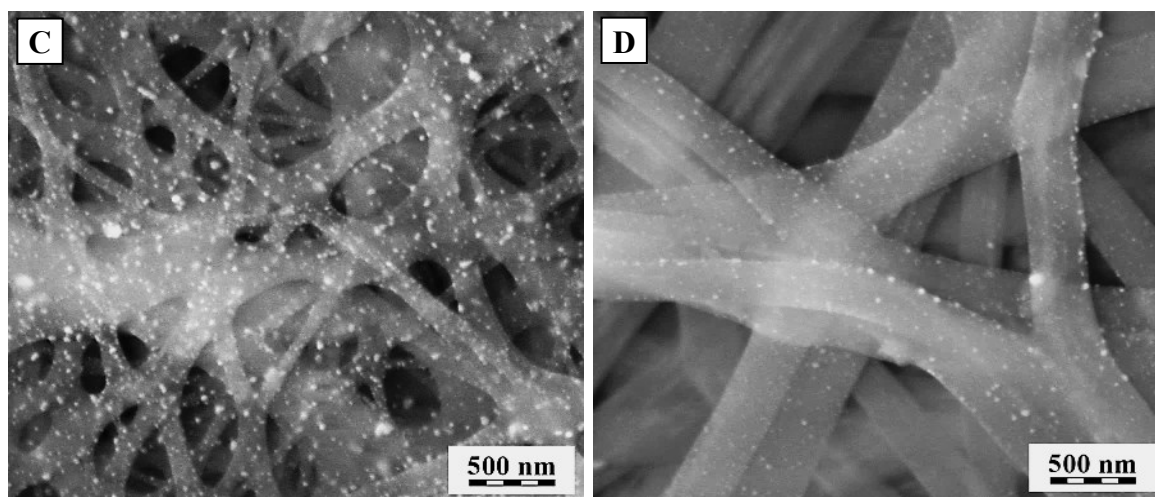
Tabulka 2: Střední, minimální a maximální průměr vláken získaný na základě XHR SEM mikroskopie vzorků 1–4. Ag/P představuje hmotnostní poměr stříbra v suchém polymeru.

| vzorek číslo | prekurzor stříbra/nanočástic | Ag/P [hm%] | střední průměr vlákna [nm] | min. průměr vlákna [nm] | max. průměr vlákna [nm] |
|--------------|------------------------------|------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | – | – | 244 ± 127 | 72 | 748 |
| 1 | dusičnan stříbrný | 16,2 | 279 ± 142 | 50 | 785 |
| 2 | benzoát stříbrný | 8,11 | 205 ± 122 | 87 | 1035 |
| 3 | behenát stříbrný | 8,13 | 173 ± 81 | 68 | 394 |
| 4 | nulmocné nAg | 10,4 | 349 ± 223 | 34 | 858 |

I když hrubé struktury povrchu nanovláken naznačovaly přítomnost nanočástic stříbra, nebylo možné je odlišit od polymerního pozadí. Použití XHR SEM současně s pokovením povrchu chromem eliminoval kontrast mezi vlákny a částicemi. To vedlo k použití analýzy pomocí FEG SEM k vyhodnocení přítomnosti a velikosti nanočástic stříbra. V případě FEG SEM se žádná příprava vzorku nevyžaduje a vzorky tak mohou být zobrazeny bez pokovení.

Průměr stříbrných nanočástic se pohyboval v rozmezí od 5 do 50 nm (Obrázek 3A–D, Tabulka 3). Nejvyšší hustota částic byla pozorována u vzorku 3, nejnižší potom u vzorku 2 a to bez ohledu na poměr stříbra k polymeru v roztoku, který byl pro oba vzorky přibližně stejný (Tabulka 2).



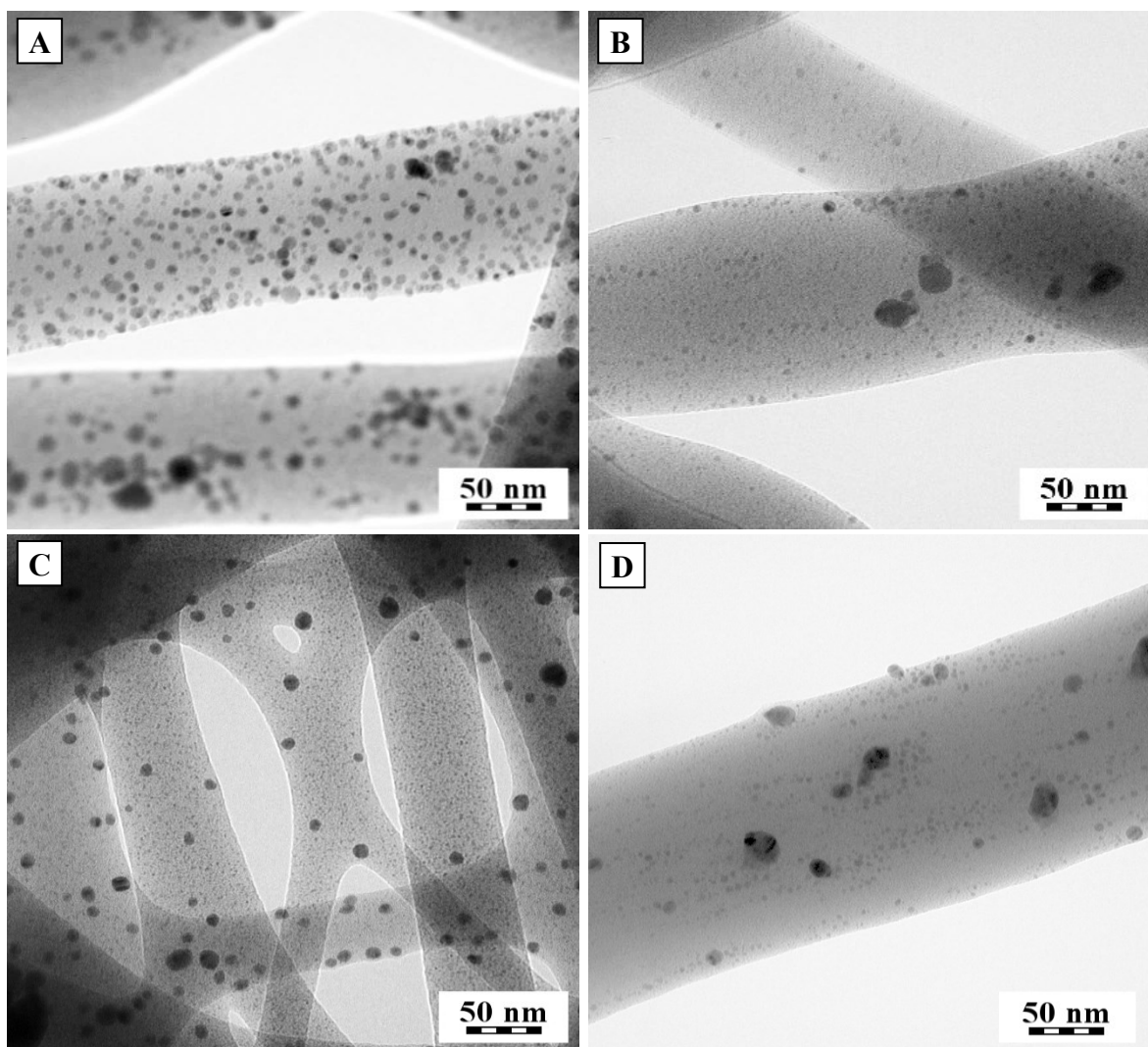


Obrázek 3: FEG SEM mikrofotografie (zvětšení 40 000×) A) vzorku 1, B) vzorku 2, C) vzorku 3 a D) vzorku 4. Stříbrné nanočástice jsou zobrazeny jako bílé body.

Dokonce i s využitím FEG SEM bylo obtížné vizualizovat nejmenší částice stříbra (<5 nm) s dostatečným rozlišením, což vedlo k použití mikroskopické TEM analýzy. TEM mikrofotografie ukázaly homogenní pokrytí malými nanočásticemi stříbra u všech vzorků se stříbrem dotovanými nanovláknými (Obrázek 4A–D). Ve srovnání se vzorkem 4 vedlo použití benzoátu stříbrného jako reakčního činidla (R), nebo prekursoru (P2) k vyššímu stupni pokrytí částic u vzorků 1–3 (Obrázek 4A–C). Nanočástice stříbra byly uloženy zejména na povrchu, jelikož nebyla pozorována jejich zvyšující se hustota ve směru do středu vláken. TEM analýza také ukázala nejvyšší hustotu nejmenších částic (<1 nm v průměru) pro vzorek 3 (Obrázek 4C).

Kromě velikosti (Choi a Hu, 2008), jsou antimikrobiální vlastnosti ovlivněny také tvarem nanočástic stříbra (Pal et al., 2007). S použitím TEM byl tedy rozeznán také tvar nanočástic stříbra. Většina nanočástic připravených v této práci byla sférická (Obrázek 4A–D). Podle Pal et al. (2007) vykazují sférické nanočástice stříbra průměrnou antimikrobiální aktivitu, komolé trojúhelníkové nanočástice nejsilnější aktivitu a tyčovitě nanočástice naopak aktivitu nejhorší.

Analýza distribuce velikosti částic pomocí programu MDISTR ukázala ve všech vzorcích více než 73 % zastoupení nanočástic stříbra s průměrem <5 nm (Obrázek 5, Tabulka 3). Zatímco vzorky 1 a 3 měly nižší hustotu nejmenších nanočástic a výrazně se distribucí nelišily (Tabulka 3), přibližně 94 % nanočástic ve vzorku 2 mělo průměr <5 nm.

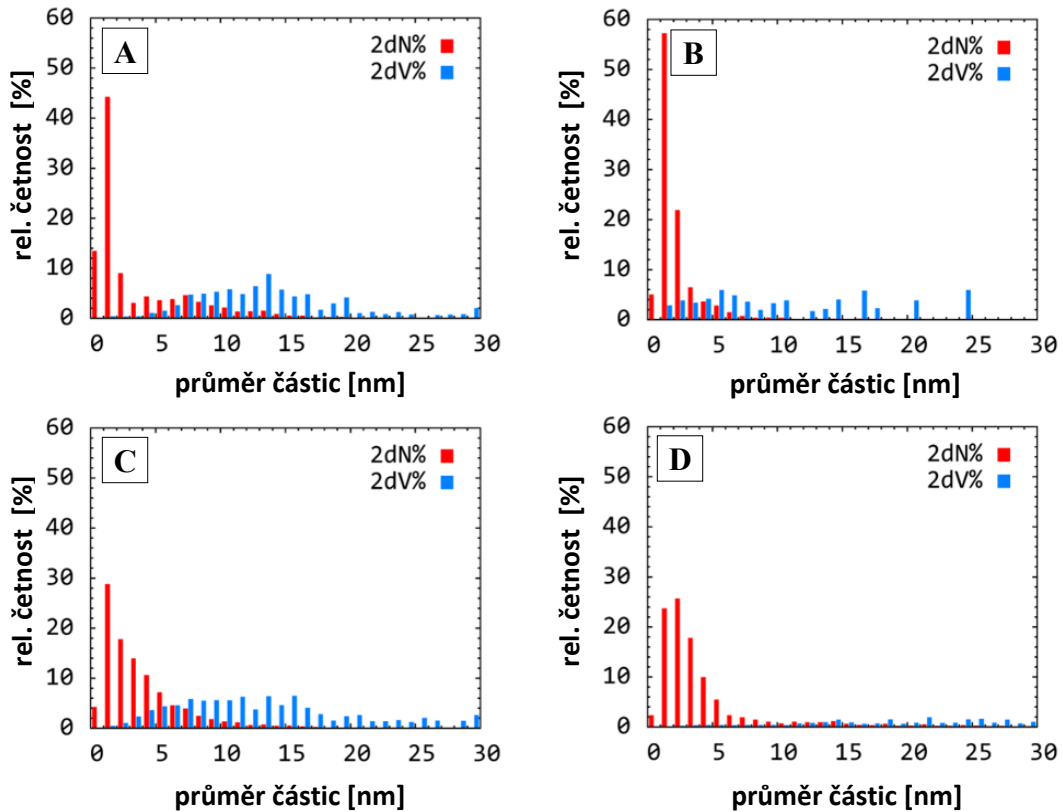


Obrázek 4: TEM mikrofotografie (zvětšení 235 000×) A) vzorku 1, B) vzorku 2, C) vzorku 3 a D) vzorku 4. Stříbrné nanočástice jsou zobrazeny jako tmavé body.

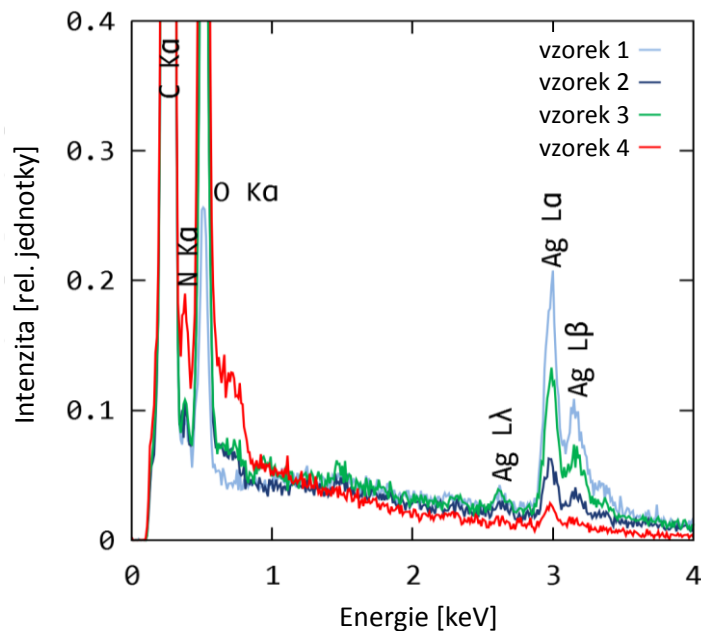
Tabulka 3: Analýza velikosti částic (číselná a objemová) s použitím kombinace FEG SEM a TEM mikroskopie.

| vzorek číslo | středníN | σ_N | středníV | σ_V | min. | max. | M [%] | V [%] |
|-----------------|----------|------------|----------|------------|------|------|-------|-------|
| | [nm] | | | | | | | |
| 1 | 3,74 | 4,80 | 19,9 | 12,9 | 0,60 | 48,8 | 73,7 | 26,3 |
| 2 | 2,27 | 1,86 | 20,9 | 14,2 | 0,68 | 40,3 | 93,9 | 6,10 |
| 3 | 3,93 | 3,24 | 15,6 | 10,5 | 0,68 | 48,1 | 75,1 | 24,9 |
| 4 | 3,89 | 3,38 | 15,6 | 8,60 | 0,71 | 49,1 | 81,1 | 18,9 |

StředníN = střední velikost částic na základě číselné distribuce; σ_N = šířka číselné distribuce; *StředníV* = střední velikost částic na základě objemové distribuce; σ_V = šířka objemové distribuce; min., max. = minimum a maximum velikosti částic; M = procento malých (<5 nm) a V = procento velkých částic (>5 nm).



Obrázek 5: Číselná (2dN%) a objemová (2dV%) distribuce stříbrných nanočástic v A) vzorku 1, B) vzorku 2, C) vzorku 3 a D) vzorku 4.



Obrázek 6: EDX spektrum pro vzorky 1–4.

Tento podíl byl s největší pravděpodobností způsoben přítomností pouze benzoátu stříbrného, na rozdíl od vzorků 1 a 3, kde byl kromě benzoátu stříbrného (R) také dusičnan stříbrný (P1), nebo behenát stříbrný (P3), což mohlo vést ke vzájemné interakci. I když byla pomocí TEM

pro vzorek 3 potvrzena nejvyšší pozorovaná hustota nejmenších (<1 nm) částic (Obrázek 4), nižší výsledný podíl mohl být ovlivněn omezeným počtem měření (přibližně 300×) zpracovaným MDISTR programem. Přítomnost nanočástic stříbra byla také ověřena pomocí EDX analýzy, kdy vrcholy okolo 3 keV potvrdily přítomnost stříbra (Obrázek 6).

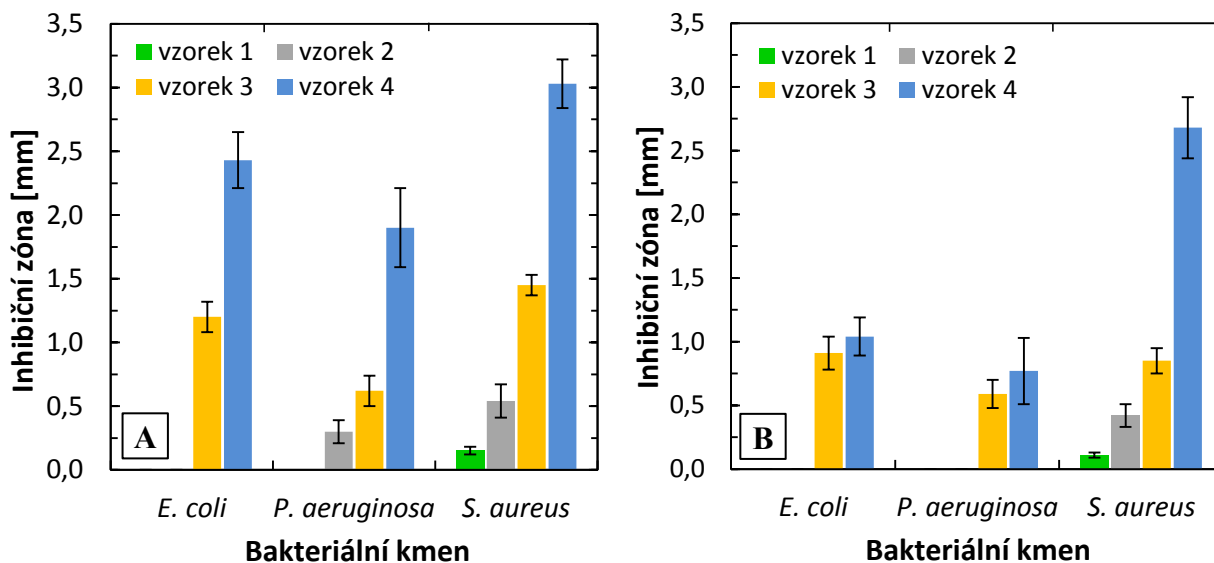
3.3 Antimikrobiální vlastnosti

a) Inhibiční zóny

Silný inhibiční efekt pro obě testované koncentrace byl pozorován pro vzorek 3 bez ohledu na bakteriální kmen (Obrázek 7). Šířky inhibičních zón se pohybovaly od $0,62 \pm 0,12$ mm (*P. aeruginosa*, CCM 3955) do $1,45 \pm 0,08$ mm (*S. aureus*, CCM 3953) pro koncentraci 1 McF a od $0,59 \pm 0,11$ mm (*P. aeruginosa*) do $0,91 \pm 0,13$ mm (*E. coli*, CCM 3954) pro 2 McF. Nejsilnější inhibice byla zjištěna u vzorku 4 s maximální šířkou inhibiční zóny 3,0 mm pro *S. aureus*. Přestože vzorek 4 vykazoval při „parallel streak method“ testu nejsilnější inhibici napříč všemi bakteriálními kmeny (potvrzeno také prostřednictvím kontaktního testu s *E. coli* - diskutováno dále), testy vyplavování stříbra (sekce 3.4) odhalily třikrát vyšší hodnoty uvolněného stříbra ve srovnání se vzorkem 3.

Na rozdíl od vzorků 3 a 4, které vykazovaly inhibiční zóny pro všechny bakteriální kmeny i pro obě koncentrace, vzorky 1 a 2 inhibovaly pouze bakterii *S. aureus* (Obrázek 7). Inhibiční účinek vůči *S. aureus* může být vysvětlen nižší testovanou koncentrací buněk tohoto bakteriálního kmene. Zatímco 1 McF odpovídá koncentraci $2,7 \cdot 10^7$ buněk na 1 ml pro *E. coli*, pro *P. aeruginosa* představuje koncentraci $1,6 \cdot 10^8$ buněk. Pro *S. aureus* byla pozorována nejnižší koncentrace buněk na 1 ml ($1,5 \cdot 10^7$). Kromě koncentrace buněk, může hrát roli také různé složení buněčných membrán grampozitivních a gramnegativních bakterií. Podle Yoon et al. (2007) vykazují gramnegativní bakterie (například *E. coli*) vyšší toleranci vůči nanočásticím stříbra, protože jejich vnější membrány se skládají převážně z lipopolysacharidů, které částečně působí jako ochranná bariéra vůči nanočásticím stříbra. To je v souladu s výsledky dalších studií zaměřených na vliv nanočástic stříbra na bakterie *S. aureus* a *E. coli* (Maneerung et al., 2008; Shahverdi et al., 2007).

Referenční nanovláknina (vzorek 0) nevykazovala žádnou antimikrobiální aktivitu, jak dokládá nepřítomnost inhibičních zón pro všechny bakteriální kmeny. Výsledky inhibičních zón jsou shrnuty na obrázku 7 a snímky živných agarových půd ukazující inhibiční zóny jsou zobrazeny na obrázku 8.

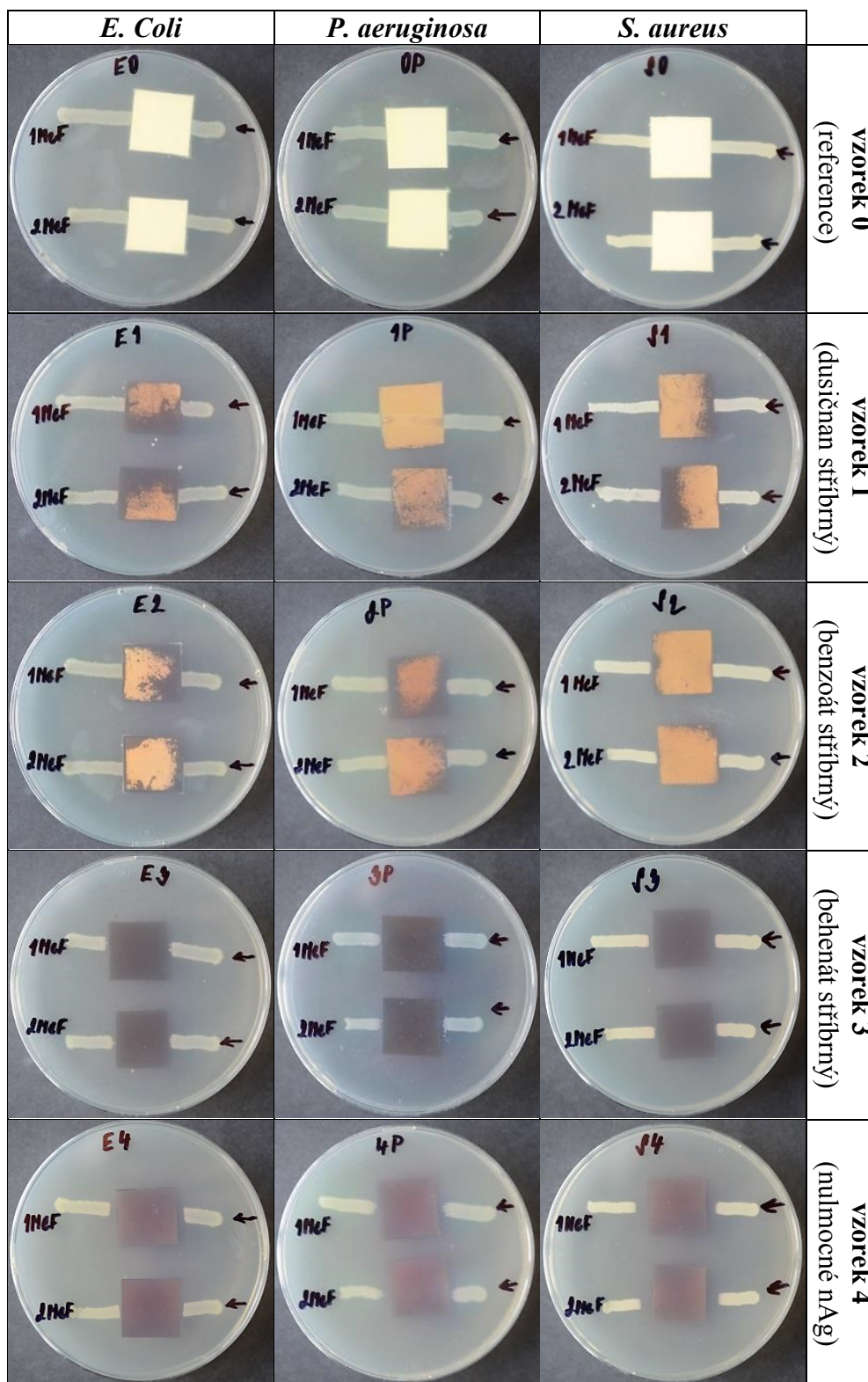


Obrázek 7: Inhibiční zóny gram negativních bakterií *Escherichia coli* (CCM 3954) a *Pseudomonas aeruginosa* (CCM 3955) a grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* (CCM 3953) pro zákal odpovídající A) 1 McF B) 2 McF.

b) Kontaktní testy

Všem stříbrem dotovaným vzorkům byly po celou dobu experimentu zachovány jejich antimikrobiální vlastnosti a inhibice růstu *E. coli* dosahovala >99 % (Tabulka 4). Zároveň nebyly zjištěny žádné výrazné rozdíly v inhibici mezi jednotlivými vzorky.

Jak bylo dříve diskutováno (sekce 3.2) většina nanočástic stříbra měla průměr <5 nm (Tabulka 3), což indikuje velmi slibné antibakteriální účinky. Velmi malé stříbrné nanočástice (~25 nm) vykazují nejsilnější antimikrobiální aktivitu, zatímco větší částice (~50 nm) mají účinek nižší (Panáček et al. 2006), a to díky většímu poměru povrchu k objemu, kdy menší nanočástice stříbra mají více atomů na povrchu, čímž se zvyšuje jejich antimikrobiální aktivita (Morones et al., 2005). Vzhledem k tomu, že byl antimikrobiální efekt nanočástic stříbra v tomto testu velmi silný (Tabulka 4), nemůže být stanoven vliv morfologie nanočástic na *E. coli*. Jak již bylo zmíněno, v této práci byl tvar a velikost částic napříč vzorky téměř jednotný.



Obrázek 8: Snímky agarových misek na konci antimikrobiálního testu založeného na „parallel streak method“ (AATCC 147) pro vzorky 0–4 s použitím tří různých bakteriálních kmenů a dvou bakteriálních koncentrací (1 a 2 McF).

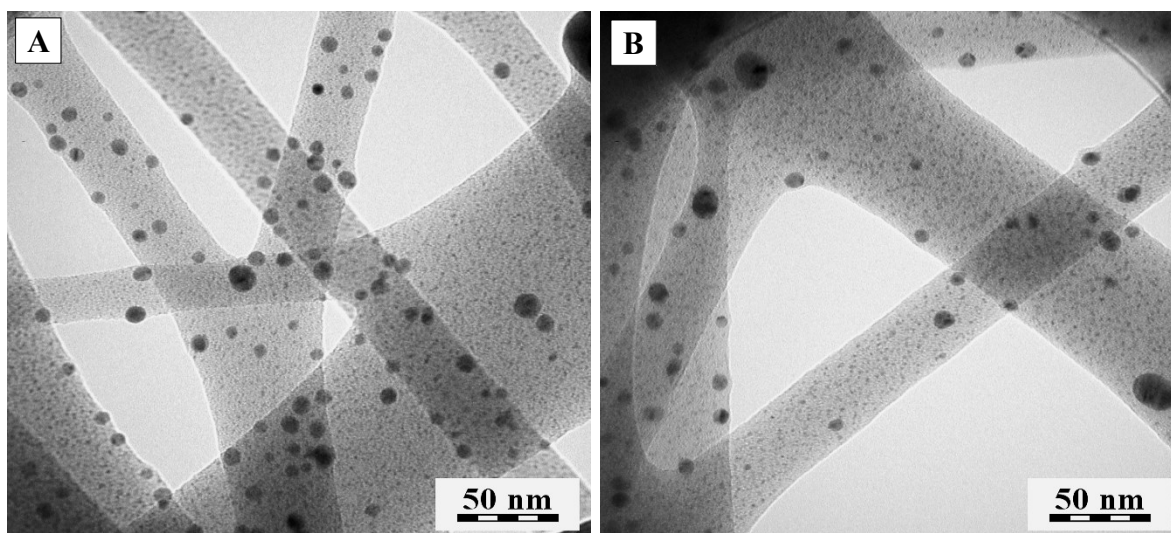
Kromě stříbrem dotovaných nanovláken (vzorky 1–4) byl použit i referenční vzorek (0) ve formě čistého PU nanovlákná bez stříbra. Z hlediska antimikrobiální vlastnosti byly hodnoceny další dva referenční materiály, komerčně dostupná náplast obsahující antibakteriální látku chlorhexidin dihydrochlorid a dále netkaný polypropylenový spunbond, který se běžně používá jako podkladová vrstva nanovláken. Jako slepý vzorek byl použit fyziologický roztok. V žádném z uvedených případů nebyla pozorována inhibice růstu *E. coli* s počtem KTJ >1 000 na konci testu (odpovídající 0,0% inhibici v tabulce 4). Netoxická povaha PU nanovláken bez stříbra (vzorek 0) byla potvrzena zrychleným růstem *E. coli* (třikrát vyšší hodnoty KTJ), ve srovnání se slepým vzorkem obsahujícím pouze fyziologický roztok bez nanovláken. Komerční náplast začala ztrácet své antimikrobiální vlastnosti po druhé výměně vzorku, tj. po 48 hodinách kontaktu.

Tabulka 4: Inhibice *E. coli* růstu během kontaktního testu se vzorky 1–4 a referenčními materiály.

| vzorek číslo/ referenční materiál | prekurzor stříbra/ nanočástic | inhibice [%] | | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|--------------|--------|---------|---------|
| | | 24 [h] | 48 [h] | 168 [h] | 480 [h] |
| 0 | – | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 1 | dušičnan stříbrný | 99,9 | 99,9 | 99,8 | 99,9 |
| 2 | benzoát stříbrný | 99,9 | 99,9 | 99,6 | 99,4 |
| 3 | behenát stříbrný | 99,9 | 99,9 | 99,9 | 99,9 |
| 4 | nulmocné nAg | 99,9 | 99,9 | 99,9 | 99,9 |
| náplast | – | 80,4 | 62,1 | 0,0 | 0,0 |
| netkaný spunbond | – | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| slepý vzorek | – | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |

3.4 Testy vyplavování stříbra

Vzorek 3 vykazoval nejnižší hodnoty vyplavování stříbra, se ztrátou celkového stříbra 3,3 % po 48 hodinách a 5,8 % po 168 hodinách. Pomocí TEM mikroskopie byly navíc zjištěny jen nepatrné změny v pokrytí částic vzorku 3 před a po testu (Obrázek 9A vs. Obrázek 9B). Nízké hodnoty vyplavování stříbra ze vzorku 3 byly způsobeny stabilizací stříbra v behenátové struktuře. Stříbrné ionty jsou přemostěny karboxylátovými skupinami alkanoátových molekul tvořící dimerní struktury sestávající z osmičlenných chelátových kruhů (Binnemans et al., 2004), které významně přispívají ke stabilitě stříbra (Stephens et al., 2012). Kromě toho, behenát stříbrný tvoří paralelní dvouvrstvou strukturu s dlouhými řetězci (Binnemans et al., 2004), které s největší pravděpodobností interagují s PU maticí.



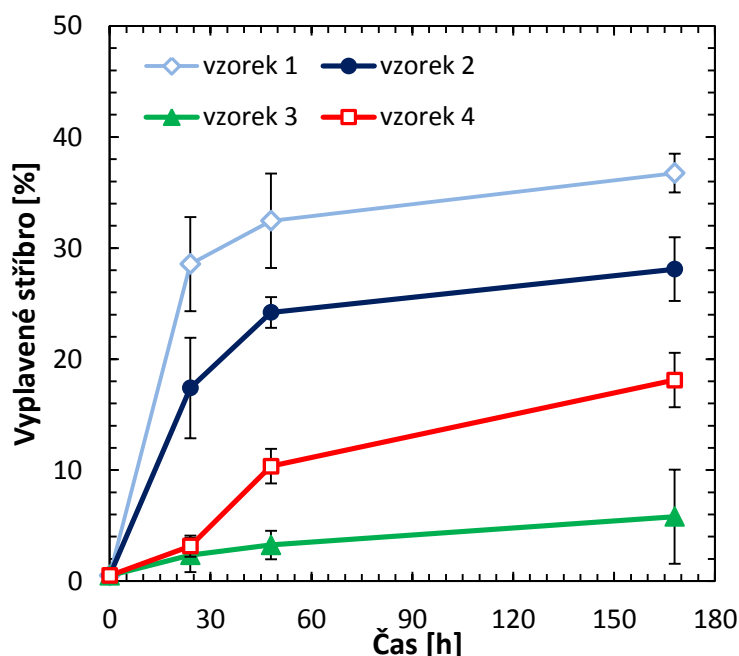
Obrázek 9: TEM mikrofotografie (310 000×) vzorku 3 (PU/behenát stříbrný) před (A) a po (B) testu vyplavování stříbra.

Na rozdíl od vzorku 3, bylo pro vzorky 1 a 2 pozorováno rychlé vyplavování stříbra v prvních fázích experimentu (Obrázek 10). V průběhu prvních 48 hodin se pro vzorek 1 uvolnilo 32 % celkového stříbra a 24 % pro vzorek 2. To bylo způsobeno ztrátou volných a slabě vázaných nanočástic, které nebyly pevně ukotveny do polymerní struktury, jakož i vyšším počátečním obsahem stříbra. Ačkoliv vzorek 1 (s přidavkem benzoátu stříbrného jako reakčního činidla) vykazoval významnou ztrátu stříbra v průběhu prvních 48 hodin, byly tyto výsledky znatelně lepší, než u nanovláken dotovaných výhradně dusičnanem stříbrným (Dolina et al., 2013). V další fázi experimentu (48 až 168 h) se uvolňování stříbra ze vzorků 1 a 2 stabilizovalo a ztráta stříbra byla maximálně 4 %. Toto pozorování je v souladu s výsledky Shi et al. (2011), jenž potvrdili dvoufázové uvolňování stříbra, kdy po počáteční fázi rychlého uvolňování z povrchu následuje mnohem pomalejší difuze nanočástic stříbra, jenž jsou uvnitř nanovláčenné matrice.

Vzorek 4 vykazoval mírné vyplavování stříbra (18 %). Nicméně uvolňování stříbra ze vzorku 4 bylo po 168 hodinách přibližně třikrát vyšší než pro vzorek 3 (Obrázek 10).

Zatímco existuje množství studií zabývajících se PU nanovláčky se stříbrnými nanočásticemi (Han et al., 2012; Lakshman et al., 2010; Nirmala et al., 2013), informace o kinetice uvolňování stříbra v těchto studiích obecně chybí. Pouze Sheikh et al. (2009) dříve referovali o stabilitě nanočástic stříbra v PU nanovláčkách, kdy byly nanočástice připraveny *in situ* redukcí dusičnanu stříbrného (1,3–6,3 hm% Ag vůči PU) v DMF. Po 25 hodinách loužení v demineralizované vodě (voda byla nahrazena každé 2,5 hodiny) pozorovali pouze nepatrné změny v absorpci při vlnové délce 450 nm odpovídající nanočástic stříbra v porovnání se vzorkem před loužením. V jiné studii (Nirmala et al., 2013) bylo uvolňování nanočástic stříbra z PU nanovláček

hodnoceno pomocí rychlosti růstu a změn v bakteriálních koncentracích, které byly měřeny absorbcí při vlnové délce 600 nm. V této disertační práci bylo vyplavování stříbra v průběhu času měřeno pomocí koncentrace uvolněného stříbra (ICP-MS), která mnohem přesněji odráží skutečnou ztrátu stříbra z nanovláken.



Obrázek 10: Kinetika vyplavování stříbra ze vzorků 1–4; 100 % obsahu stříbra představuje: 2,38 g·m⁻² pro vzorek 1; 1,44 g·m⁻² pro vzorek 2; 1,18 g·m⁻² pro vzorek 3 a 0,26 g·m⁻² pro vzorek 4.

Ve srovnání s jinými polymery, jenž byly kombinovány s nanočásticemi stříbra, jako například bio-degradovatelná polylaktidová (PLA) nanovlákná, kde byly nanočástice stříbra získány *ex post* vodíkovou redukcí dusičnanu stříbrného ve vláknech (Xu et al., 2006), v této práci připravená PU nanovlákná s behenátem stříbrným vykazovala výrazně vyšší stabilitu. Hodnoty uvolněného stříbra z PLA nanovláken s 5,1 hm%, 10,2 hm% a 20,3 hm% poměrem roztokové koncentrace stříbra k polymeru dosáhly 400, 507, 760 mg stříbra na 1,0 gram nanovláken po 168 hodinách loužení ve fyziologickém roztoku s fosfátovým pufrem. V této práci bylo potvrzeno uvolnění pouze 6,9 mg stříbra na 1,0 gram nanovláken po 168 hodinách v demineralizované vodě pro vzorek 3 obsahující behenát stříbrný.

Také ve srovnání se studií zabývajících se polyakrylonitrilovými (PAN) nanovláknými, kde byla *in situ* a před elektrostatickým zvláknováním použita atmosférická heliová plazma za účelem redukce dusičnanu stříbrného (4,0 až 9,9 hm% stříbra k polymeru), dosáhla kumulativní hodnota uvolněného stříbra 22 a 34 mg stříbra na 1,0 gram nanovláken po 168 hodinách loužením v deionizované vodě (Shi et al., 2011).

Studie zahrnující želatinová nanovlákná s nanočásticemi stříbra (1,6 hm% stříbra k polymeru) připravená pomocí *in situ* stárnutí, kdy se využilo $-NH_2$ nebo $-COOH$ skupin obsažených v želatině a díky iontové interakci s Ag^+ tvořící jádra nanostříbra (Rujitanaroj et al., 2008), ukázaly, že ztráta stříbra byla přibližně 70 % po 168 hodinách loužení v destilované vodě. V této práci byla pro nanovlákná s behenátem stříbrným ztráta stříbra 5,8 % po 168 hodinách loužení v demineralizované vodě (Obrázek 10). Výzkum provedený na bavlněných vláknech ponořených do roztoku dusičnanu stříbrného (170 mg $AgNO_3$ v 100 ml destilované vody) a *in situ* syntézy nanočástic stříbra prostřednictvím extraktu z listů (korymbie a fíkovníku) a zároveň stabilizací nanočástic na bavlněných vláknech ukázaly, že se z bavlněných vláken po 7 dnech loužení ve fyziologickém roztoku uvolnilo 39 % z celkového obsahu stříbra (Ravindra et al., 2010).

Na druhou stranu, studium PAN nanovláken s nanočásticemi stříbra (0,32 hm% stříbra k polymeru), jenž byly připraveny *in situ* redukcí s využitím DMF a ozařování pomocí xenonové výbojky, vykazovaly přibližně 0,2 mg uvolněného stříbra na 1,0 gram nanovláken po 144 hodinách loužení v deionizované vodě (Sichani et al., 2010). Tato hodnota je podstatně nižší než v této práci, nicméně roztoková koncentrace stříbra v případě PAN nanovláken byla více než 20× nižší než v případě PU nanovláken s behenátem stříbrným připravených v této práci (8 hm% stříbra k polymeru).

Výzkum polyvinylalkoholových (PVA) nanovláken s nanočásticemi stříbra *ex post* připravených tepelným zpracováním a UV zářením (Hong et al., 2006) vedl k prakticky stabilním nanočásticím stříbra. Hodnota uvolněného stříbra ze 1,0 gramu nanovláken po 48 hodinách loužení v deionizované vodě byla vypočtena na 0,3 mg. Tato nanovlákná byla připravena z roztoku s 0,63 hm% stříbra na polymer, což je opět mnohem nižší koncentracev porovnání s koncentrací použitou v této práci (Tabulka 1). Nanovlákná na bázi oxidu křemičitého s nanočásticemi stříbra (0,32 hm% stříbra na polymer) byla také připravena s použitím *ex post* tepelného zpracování a UV záření (Min et al., 2007). Nanovlákná bez *ex post* zpracování vykazovala 10% snížení obsahu stříbra po 24 hodinách loužení v deionizované vodě. Po použití *ex post* zpracování došlo k dalšímu zlepšení stability nanočástic.

V porovnání se studii, které se zabývají *ex post* technikami tvorby nanočástic, v této práci byla nanovlákná dotovaná behenátem stříbrným připravena v jediném kroku bez následných úprav. Jelikož není potřeba dalších úprav s vysokou spotřebou energie, má použitá *in situ* metoda dotace výhodu v levnější a jednodušší přípravě.

4 ZÁVĚRY

V této práci byla polyurethanová nanovlákná, *in situ* dotována dusičnanem, benzoátem a behenátem stříbrným a nulmocnými nanočásticemi stříbra, připravena metodou elektrostatického zvlákňování z volné hladiny bez následných úprav.

Podrobnou mikroskopickou analýzou (SEM XHR, FEG SEM a TEM) bylo zjištěno, že nanovlákná dotovaná behenátem stříbrným vykazovala nejvíce jednotnou velikost vláken. Tato nanovlákná navíc vykazovala homogenní pokrytí jejich povrchu sférickými nanočásticemi stříbra, z nichž byla většina v průměru <5 nm a některé pozorované nanočástice měly dokonce průměr <1 nm.

Všechny nanovlákné vzorky se stříbrem vykazovaly v kontaktních testech antimikrobiální vlastnosti vůči *E. coli* s inhibicí růstu >99 % a částečně vůči *E. coli*, *S. aureus* a *P. aeruginosa* při použití „parallel streak method“. Nanovlákná dotovaná behenátem stříbrným vykazovala nejnižší hodnoty vyplavování stříbra ze všech testovaných vzorků. Tato skutečnost byla potvrzena rovněž pomocí TEM mikroskopie, která ukázala zanedbatelné změny depozice částic před a po testech vyplavování.

PU nanovlákná dotovaná behenátem stříbrným proto představují novou alternativu k *in situ* připraveným nanovláknům se stříbrem. Tyto nanovlákná budou předmětem dalšího studia, včetně testování dlouhodobých antimikrobiální vlastností s využitím respiračních technik. Dále budou hodnoceny například jejich dlouhodobé mechanické vlastnosti.

Seznam použité literatury

AATCC 147, 2004. AATCC Test Method 147-2004 Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method. Research Triangle Park, NC.

Bhardwaj, N., Kundu, S.C., 2010. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol. Adv.* 28, 325–347.

Binnemans, K., Van Deun, R., Thijs, B., Vanwelkenhuysen, I., Geuens, I., 2004. Structure and mesomorphism of silver alkanoates. *Chem. Mater.* 16, 2021–2027.

Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M., 2010. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 28, 580–588. doi:10.1016/j.tibtech.2010.07.006

Choi, O., Hu, Z., 2008. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4583–4588.

Chwalibog, A., Sawosz, E., Hotowy, A., Szeliga, J., Mitura, S., Mitura, K., Grodzik, M., Orłowski, P., Sokolowska, A., 2010. Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *Int. J. Nanomedicine* 5, 1085.

Dallas, P., Sharma, V.K., Zboril, R., 2011. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Adv. Colloid Interface Sci.* 166, 119–135. doi:10.1016/j.cis.2011.05.008

De Gusseme, B., Hennebel, T., Christiaens, E., Saveyn, H., Verbeken, K., Fitts, J.P., Boon, N., Verstraete, W., 2011. Virus disinfection in water by biogenic silver immobilized in polyvinylidene fluoride membranes. *Water Res.* 45, 1856–1864. doi:10.1016/j.watres.2010.11.046

Deivaraj, T., Lala, N.L., Lee, J.Y., 2005. Solvent-induced shape evolution of PVP protected spherical silver nanoparticles into triangular nanoplates and nanorods. *J. Colloid Interface Sci.* 289, 402–409.

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978.

Duncan, T.V., 2011. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *J. Colloid Interface Sci.* 363, 1–24. doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017

Fernandes, I.P., Amaral, J.S., Pinto, V., Ferreira, M.J., Barreiro, M.F., 2013. Development of chitosan-based antimicrobial leather coatings. *Carbohydr. Polym.* 98, 1229–1235.

Fulín, P., Pokorný, D., Slouf, M., Lapčíková, M., Pavlová, E., Zolotarevová, E., 2010. [MORF method for assessment of the size and shape of UHMWPE wear microparticles and nanoparticles in periprosthetic tissues]. *Acta Chir. Orthop. Traumatol. Cech.* 78, 131–137.

Gao, G., Mathkar, A., Martins, E.P., Galvão, D.S., Gao, D., da Silva Autreto, P.A., Sun, C., Cai, L., Ajayan, P.M., 2014. Designing nanoscaled hybrids from atomic layered boron nitride with silver nanoparticle deposition. *J. Mater. Chem. A* 2, 3148–3154.

Guo, L., Yuan, W., Lu, Z., Li, C.M., 2013. Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications. *Nanoparticles@interfaces* 439, 69–83. doi:10.1016/j.colsurfa.2012.12.029

Han, X., Huang, Z., Huang, C., Du, Z., Wang, H., Wang, J., He, C., Wu, Q., 2012. Preparation and characterization of electrospun polyurethane/inorganic-particles nanofibers. *Polym. Compos.* 33, 2045–2057.

Hong, K.H., Park, J.L., Sul, I.H., Youk, J.H., Kang, T.J., 2006. Preparation of antimicrobial poly (vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 44, 2468–2474.

Imura, Y., Jaffe, M., 2014. Dry spinning of synthetic polymer fibers. *Adv. Filam. Yarn Spinn. Text. Polym.* 187.

Jacobs, V., Anandjiwala, R.D., Maaza, M., 2010. The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers. *J. Appl. Polym. Sci.* 115, 3130–3136.

Jirsak, O., Sanetnik, F., Lukas, D., Kotek, V., Martinova, L., Chaloupek, J., 2009. Method of nanofibres production from a polymer solution using electrostatic spinning and a device for carrying out the method.

Kim, E.-S., Hwang, G., Gamal El-Din, M., Liu, Y., 2012. Development of nanosilver and multi-walled carbon nanotubes thin-film nanocomposite membrane for enhanced water treatment. *J. Membr. Sci.* 394–395, 37–48. doi:10.1016/j.memsci.2011.11.041

Koizhaiganova, M., Yaşa, I., Gülümser, G., 2015. Assessment of antibacterial activity of lining leather treated with silver doped hydroxyapatite. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 105, 262–267.

Lagaron, J.M., Ocio, M.J., Lopez-Rubio, A., 2011. *Antimicrobial polymers*. John Wiley & Sons.

Lakshman, L.R., Shalumon, K., Nair, S.V., Jayakumar, R., Nair, S., 2010. Preparation of silver nanoparticles incorporated electrospun polyurethane nano-fibrous mat for wound dressing. *J. Macromol. Sci. Part Pure Appl. Chem.* 47, 1012–1018.

Lala, N.L., Ramaseshan, R., Bojun, L., Sundarrajan, S., Barhate, R., Ying-jun, L., Ramakrishna, S., 2007. Fabrication of nanofibers with antimicrobial functionality used as filters: protection against bacterial contaminants. *Biotechnol. Bioeng.* 97, 1357–1365.

Lee, C.K., Kim, S.I., Kim, S.J., 2005. The influence of added ionic salt on nanofiber uniformity for electrospinning of electrolyte polymer. *Synth. Met.* 154, 209–212.

Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P.K.-H., Chiu, J.-F., Che, C.-M., 2006. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J. Proteome Res.* 5, 916–924. doi:10.1021/pr0504079

Maneerung, T., Tokura, S., Rujiravanit, R., 2008. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydr. Polym.* 72, 43–51.

McFarland, J., 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *J. Am. Med. Assoc.* 49, 1176–1178.

Min, K.D., Youk, J.H., Kwark, Y.-J., Park, W.H., 2007. Preparation of inorganic silica nanofibers containing silver nanoparticles. *Fibers Polym.* 8, 591–600.

Moritz, M., Geszke-Moritz, M., 2013. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. *Chem. Eng. J.* 228, 596–613.

Moritz, M., Geszke-Moritz, M., 2012. The application of nanomaterials in detection and removal of environmental pollutants. *Przemysl Chem.* 91, 2375–2381.

Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., Yacaman, M.J., 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 2346.

Nirmala, R., Kalpana, D., Navamathavan, R., Lee, Y.S., Kim, H.Y., 2013. Preparation and characterizations of silver incorporated polyurethane composite nanofibers via electrospinning for biomedical applications. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 13, 4686–4693.

Ozipek, B., Karakas, H., 2014. Wet spinning of synthetic polymer fibers. *Adv. Filam. Yarn Spinn. Text. Polym.* 174.

Padil, V.V.T., Stuchlík, M., Černík, M., 2015. Plasma modified nanofibres based on gum kondagogu and their use for collection of nanoparticulate silver, gold and platinum. *Carbohydr. Polym.* 121, 468–476. doi:10.1016/j.carbpol.2014.11.074

Pal, S., Tak, Y.K., Song, J.M., 2007. 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.

Panáček, A., Kvitek, L., Prucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V.K., Nevečná, T., Zboril, R., 2006. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J. Phys. Chem. B* 110, 16248–16253.

Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L.M., 2000. Binary cooperative complementary nanoscale interfacial materials. Reduction of silver nanoparticles in DMF. Formation of monolayers and stable colloids. *Pure Appl. Chem.* 72, 83–90.

Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L.M., 1999. Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N, N-dimethylformamide. *Langmuir* 15, 948–951.

Pérez-Díaz, M.A., Boegli, L., James, G., Velasquillo, C., Sánchez-Sánchez, R., Martínez-Martínez, R.-E., Martínez-Castañón, G.A., Martínez-Gutierrez, F., 2015. Silver nanoparticles with antimicrobial activities against *Streptococcus mutans* and their cytotoxic effect. *Mater. Sci. Eng. C* 55, 360–366. doi:10.1016/j.msec.2015.05.036

Pham, Q.P., Sharma, U., Mikos, A.G., 2006. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue Eng.* 12, 1197–1211.

Phillips, R., Kondev, J., Theriot, J., Garcia, H., 2012. *Physical biology of the cell*. Garland Science.

Qu, R., Gao, J., Tang, B., Ma, Q., Qu, B., Sun, C., 2014. Preparation and property of polyurethane/nanosilver complex fibers. *Appl. Surf. Sci.* 294, 81–88.

Ravindra, S., Mohan, Y.M., Reddy, N.N., Raju, K.M., 2010. Fabrication of antibacterial cotton fibres loaded with silver nanoparticles via “Green Approach.” *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 367, 31–40.

Rout, A., Jena, P.K., Sahoo, D., Bindhani, B.K., 2014. Green Synthesis of Silver Nanoparticles of different Shapes and its Antibacterial Activity against *Escherichia coli*. *Int J Curr Microbiol App Sci* 3, 374–383.

Rujitanaroj, P., Pimpha, N., Supaphol, P., 2008. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. *Polymer* 49, 4723–4732.

Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R., Minaian, S., 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 3, 168–171. doi:10.1016/j.nano.2007.02.001

Sheikh, F.A., Barakat, N.A., Kanjwal, M.A., Chaudhari, A.A., Jung, I.-H., Lee, J.H., Kim, H.Y., 2009. Electrospun antimicrobial polyurethane nanofibers containing silver nanoparticles for biotechnological applications. *Macromol. Res.* 17, 688–696.

Shi, Q., Vitchuli, N., Nowak, J., Caldwell, J.M., Breidt, F., Bourham, M., Zhang, X., McCord, M., 2011. Durable antibacterial Ag/polyacrylonitrile (Ag/PAN) hybrid nanofibers prepared by atmospheric plasma treatment and electrospinning. *Eur. Polym. J.* 47, 1402–1409.

Sichani, G.N., Morshed, M., Amirnasr, M., Abedi, D., 2010. In situ preparation, electrospinning, and characterization of polyacrylonitrile nanofibers containing silver nanoparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* 116, 1021–1029.

Stephens, P.W., Kaduk, J.A., Blanton, T.N., Whitcomb, D.R., Mixture, S.T., Rajeswaran, M., 2012. Structure determination of the silver carboxylate dimer [Ag (O 2 C 20 H 39)] 2, silver arachidate, using powder X-ray diffraction methods. *Powder Diffr.* 27, 99–103.

Sun, B., Long, Y.Z., Zhang, H.D., Li, M.M., Duvail, J.L., Jiang, X.Y., Yin, H.L., 2014. Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning. *Prog. Polym. Sci.* 39, 862–890. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.06.002

Sutton, S., 2006. Measurement of cell concentration in suspension by optical density. Presented at the Pharmaceutical Microbiology Forum Newsletter, p. 3.

Xu, X., Yang, Q., Wang, Y., Yu, H., Chen, X., Jing, X., 2006. Biodegradable electrospun poly (L-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles. *Eur. Polym. J.* 42, 2081–2087.

Yoon, K.-Y., Byeon, J.H., Park, J.-H., Hwang, J., 2007. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Sci. Total Environ.* 373, 572–575.

Zodrow, K., Brunet, L., Mahendra, S., Li, D., Zhang, A., Li, Q., Alvarez, P.J., 2009. Polysulfone ultrafiltration membranes impregnated with silver nanoparticles show improved biofouling resistance and virus removal. *Water Res.* 43, 715–723.

ČÁST III.

Nanovláknenné membrány

Souhrn

Výzkum zaměřený na vývoj nanovlákných struktur s antimikrobiálními vlastnostmi zahrnoval přípravu kompozitních mikrofiltračních membrán, při kterém se využilo předností nanovláken, tedy vysokého specifického povrchu a otevřené vzájemně propojené struktury. Nanovlákněné membrány na bázi polyurethanu laminované na polyesterový substrát vykazovaly vysoké hodnoty permeability pro demineralizovanou vodu. Filtrační testy s odtokem z čistírny odpadních vod a aktivovaným kalem dále ukázaly srovnatelné výsledky selektivity s průmyslově vyráběnými membránami. Naopak, nanovlákněné membrány dosahovaly nižší selektivity při filtraci zředěné bakteriální suspenze *Escherichia coli*.

Mikroskopie atomárních sil prokázala řádově srovnatelnou hrubost mezi laboratorně připravenými nanovláknými a komerčně vyráběnými membránami (0,45 μm) na bázi nitrátu celulózy. Porovnání s komerční membránou na bázi polyvinylidene-flouridu (pórová velikost 0,22 μm) a s ultrafiltrační membránou UP150 na bázi polyethersulfonu prokázalo výrazně vyšší hrubost nanovlákných membrán, která by však mohla způsobovat zanášení a tedy zhoršené čištění membránového povrchu. Naopak pozitivní vliv na membránové zanášení se předpokládá vlivem antimikrobiálních vlastností nanovlákněného povrchu dotovaného nanočásticemi stříbra.

V dynamickém testu s aktivovaným kalem vykazovala nanovlákněná membrána s asymetrickou strukturou lepších výsledků než komerční symetrická (0,45 μm) membrána při nepatrně nižší selektivitě.

Nanovlákněné membrány zaručují dobrý kompromis mezi propustností a separačními vlastnostmi a je možné je použít pro filtraci odpadních vod s vyšším obsahem nerozpuštěných látek nebo biologické složky například v membránových bioreaktorech.

Klíčová slova: Nanovlákná; membránový kompozit; antimikrobiální vlastnosti; zanášení.

1 ÚVOD

Tato část disertační práce se zabývá přípravou a charakterizací nanovlákně kompozitní membrány s antibakteriálními vlastnostmi, kdy je nanovlákně vrstva samostatnou aktivní vrstvou. Filtrační vlastnosti nanovlákně membrán jsou dány fyzikálními vlastnosti nanovláken a antimikrobiální vlastnosti jsou splněny přidáním nanočástic stříbra (Dolina et al., 2013). Využití tohoto typu membrán se předpokládá jak pro filtraci organicky kontaminovaných vod, tak i pro možné využití v membránových bioreaktorech (MBR).

Membrána v MBR plní separační funkci a odděluje vyčištěnou odpadní vodu od aktivovaného kalu (suspenní směs bakterií, vyšších mikroorganismů, nerozpuštěných látek aj.). Tím dochází k nárůstu koncentrace aktivovaného kalu a tím podpoře specifických druhů mikroorganismů, především nitrifikačních bakterií. Ideální membrána by se vlivem filtrace neměla zanášet a měla by dlouhodobě vykazovat odpovídající selektivitu a stabilní permeabilitu. K zanesení membrán může docházet jak vlivem anorganických, tak i organických látek, včetně produktů metabolismu mikroorganismů (Dvořák et al., 2011).

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Příprava nanovlákně membrány

Pro přípravu membránového kompozitu byla zvolena metoda tepelně-tlakové laminace. Další alternativou je například využití teplotně aktivovaných bodových adheziv nebo přímá depozice nanovlákně vrstvy (Dolina et al., 2013). Při tepelně-tlakové laminaci byly testovány vzorky kontinuálně zvlákněných polyurethanových (Larithan LS 1086; Novotex, Itálie) a polyether-sulfonových (Ultrason® E 6020 P; BASF, Německo) nanovláken s různými typy stříbra.

Pro přípravu nanovláken se použila metoda elektrostatického kontinuálního zvláknování z volné hladiny (Jirsak et al., 2009). Podkladem nanovláken byl polypropylenový spunbond, ze kterého se nanovlákně následně odstranila a použila pro další experimenty. Elektrostatické zvláknování probíhalo při napětí 65 kV, vzdálenost elektrod byla nastavena na 16 cm a relativní vlhkost byla přibližně 35 %. Výroba PU nanovlákně membrány (D) probíhala fixací nanovláken na polyesterový Hollytex® podklad (Kavon, USA) v testech označený jako membrána E. Střední porozity bylo dosaženo nanosením tří vrstev nanovláken v laminačním zařízení Oshima Mini Press OP-450GS (Oshima, Japan). K získání potřebných adhezních vlastností pro tento typ nanovláken bylo nutno hledat optimální teplotu, při které nedochází k nežádoucím

morfologickým změnám, pozorovaným při teplotách nad 110 °C (teplota bodu tání $T_m \sim 105$ °C). Nejlepší výsledky vykazovala teplota 95 °C, tlak 2,4 kPa a čas laminace 15 sekund.

V souběžných experimentech byla též použita polyethersulfonová (PES) nanovlákná ($T_g \sim 225$ °C). Potřebné adheze bylo dosaženo pouze s použitím bikomponentního polyethylenového/polypropylenového spunbondu jako mezivrstvy mezi nanovlákná a podkladovou vrstvou. Teplotní interval 170–175 °C, při tlakovém zatížení 3,2 kPa a času laminace 15 sekund vykazoval nejlepší vlastnosti membrány. Vyšší tlak a teplota potom vedly k výrazným strukturálním změnám nanovláken. Nutnost přidat materiál ve formě bikomponentního spunbondu znesnadnila výrobu, proto bylo od toho typu kompozitních membrán upuštěno.

Testované nanovlákné membrány byly porovnány s průmyslově vyráběnými membránami. Jejich přehled je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1: Specifikace testovaných membrán, D – vyvíjená nanovlákná membrána.

| vzorek | membrána | výrobce | materiál | cut off | filtrační rozsah |
|----------|----------------------------|----------------|------------------------|----------------|------------------|
| A | Durapore® | Sigma-Aldrich | polyvinylidene-flourid | 0,22 μm | MF |
| B | UP150® | Microdyn-Nadir | polyethersulfon | 150 kDa | UF |
| C | NC45 | Whatman™ | nitrát celulózy | 0,45 μm | MF |
| D | nanovlákná membrána | | polyurethan | ~0,5 μm | MF |
| E | Hollytex® | Kavon™ | polyester | ~20 μm | filtrace |

2.2 Morfologie membrán

Snímkování povrchové morfologie bylo provedeno metodou SEM na mikroskopech FEI Phenom (FEI, USA) a Vega Tescan (Tescan, Česká republika). Snímky řezu nanovlákných membrán spolu s průmyslově vyráběnými membránami byly provedeny opět metodou SEM na mikroskopu Carl Zeiss ULTRA Plus (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Německo). Pro zjištění hrubosti povrchu byla použita metoda AFM na mikroskopu Nanowizard III (JPK Instruments, Německo) v kontaktním režimu na ploše 50 × 50 μm. Převedení snímků do 3D modelu výškového profilu, včetně stanovení parametrů drsnosti, bylo provedeno v programu JPK data processing (JPK Instruments, Německo).

2.3 Měření permeability

Filtrační experimenty byly provedeny v membránové cele s mícháním Amicon® 8050 (EDM Millipore, USA). Hnací silou filtrace byl vzduch s tlakem 0,7 bar připojený k tlakové nádobě Millipore (EDM Millipore, USA) s objemem 1,0 galonu (3,8 litru). Komprese materiálu bylo

dosaženo nepřetržitou filtrací 2,0 l demineralizované vody. Následně byl změřen čas potřebný pro filtraci 250 ml. Hodnota permeability byla stanovena na základě známého tlaku a plochy membrán.

Vzhledem k využití nanovlákněného kompozitu pro filtraci reálné odpadní vody či v provozech membránových bioreaktorů, následovalo měření filtrace s přidavkem 50 ml neředěného aktivovaného kalu. Koncentrace nerozpuštěných látek v aktivovaném kalu byla stanovena gravimetricky ($3,02 \pm 0,16 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). Předběžné zjištění filtračních schopností testovaných membrán proběhlo stanovením celkového organického uhlíku (TOC) permeátu na zařízení Shimadzu TOC-V (Shimadzu, Japan). Nanovlákněné membrány jak pro filtraci demineralizované vody, tak pro filtraci aktivovaného kalu byly porovnány s průmyslovými. Testován byl i samotný polyesterový substrát nanovlákněného kompozitu. Před začátkem filtračních testů byly nanovlákněné membrány minimálně 5 dní louženy v 500 ml demineralizované vody. Proplach probíhal na třepačce za stálého míchání s frekvencí $200 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ s cílem ustálit vyplavování stříbra.

2.4 Měření selektivity a porozity

Měření membránové selektivity bylo provedeno sérií filtračních testů s bakteriální suspenzí *E. coli* i s reálnou odpadní vodou (viz níže). Porozita membrány, respektive velikost pórů, byla vyhodnocena na základě SEM snímků a softwarové analýzy s využitím programu NIS Elements AR 3.2 (Laboratory Imaging, Česká republika).

2.5 Filtrace bakteriální suspenze

Suspenze *E. coli* použitá při filtračních testech byla kultivována v LB mediu (Sigma-Aldrich, USA) 24 hodin při 37°C . Koncentrace buněk byla stanovena spektrofotometricky. Měření absorbance při vlnové délce 600 nm probíhalo na zařízení Biotek® Synergy™ (BioTek Instruments, USA).

Výpočet bakteriální koncentrace vycházel z předpokladu, že absorbance rovna 1,0 při vlnové délce 600 nm přibližně koresponduje s $1 \cdot 10^9 \text{ KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Phillips et al., 2012). V testu s koncentrovanou bakteriální suspenzí byla filtrována kultura *E. coli* ve fyziologickém roztoku odpovídající přibližně koncentraci $6 \cdot 10^7 \text{ KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$. Při testu s naředěnou bakteriální suspenzí došlo k filtraci bakteriální suspenze *E. coli* s koncentrací přibližně $5 \cdot 10^3 \text{ KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Každému testu předcházela filtrace 500 ml sterilní demineralizované vody. Testované membrány byly před každým testem 5 minut ozařovány dlouhovlnným ultrafialovým (UVA) světlem vlnové délky 315 až 400 nm, které bylo generováno UV lampou Philips TUV (Philips, Nizozemsko)

s výkonem 25 W. Vlastní filtrační test probíhal s 25 ml bakteriální suspenze (ředěné i koncentrované) při tlaku 0,7 bar.

Po přefiltrování bakteriální suspenze došlo k vynesení 0,1 ml permeátu na agar a po 48 hodinách kultivace při 37 °C byly odečteny hodnoty KTJ testovaných membrán včetně nátoku a slepých vzorků. Testování proběhlo vždy v duplikátu.

2.6 Měření kontaktního úhlu

Smáčivost povrchu nanovlákněné i průmyslově vyráběné 0,45 µm membrány byla hodnocena na základě měření kontaktního úhlu pomocí přenosného přístroje See System E (Advex Instruments, Česká republika). Obrázek kapky vody, vzniklý nanosením 2 µl demineralizované vody na povrch membrán, byl snímán vestavěným fotoaparátem s periodou 0,1 sekunda pro 0,45 µm membránu, respektive s periodou 0,5 sekundy pro nanovlákněnou membránu. V případě 0,45 µm membrány došlo k rychlému vsakování nanosené kapky, což bylo nutné zohlednit délkou fotící periody. Kontaktní úhel byl vyhodnocen bezprostředně po ustálení kapky na povrchu membrány.

2.7 Filtrace odpadní vody a aktivovaného kalu

Účinnost odstranění celkového organického uhlíku (TOC) nanovlákněnými i průmyslovými membránami byla dále testována filtračními testy s reálnou odpadní vodou.

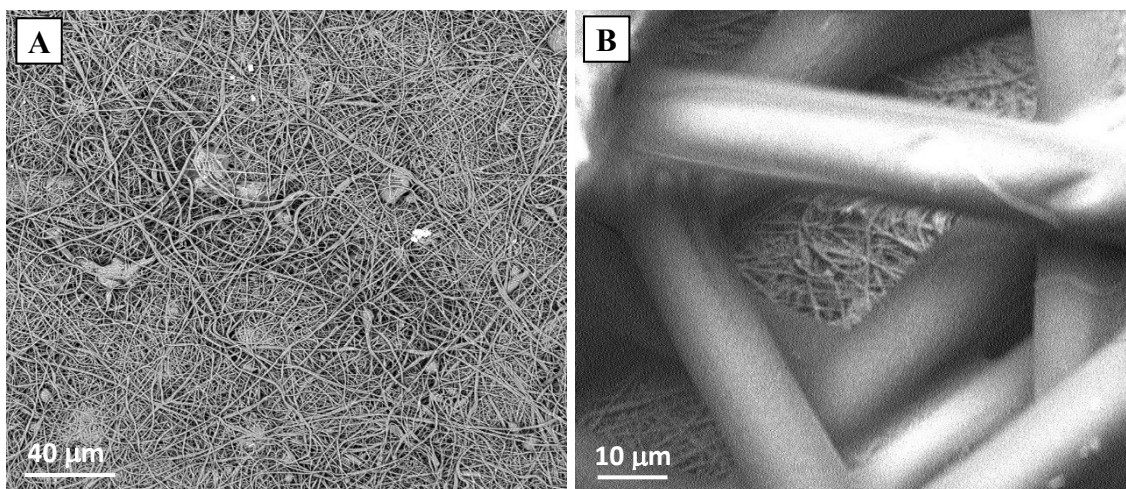
Jednorázový test probíhal s odtokem z čistírny odpadních vod ($\text{TOC} = 10,3 \pm 0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) a dále se 100× naředěným aktivovaným kalem z konce nitrifikační linky ($\text{TOC} = 18,4 \pm 1,0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ pro 100× ředěný aktivovaný kal, nerozpuštěné látky $\text{NL} = 4,09 \pm 0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro neředěný kal). V testech bylo nejprve přes membrány přefiltrováno 500 ml demineralizované vody, poté došlo k jednorázovému nadávkování 50 ml obou typů odpadní vody. Celkový obsah organického uhlíku byl analyzován ve 30 ml permeátu. Testování proběhlo opět v duplikátu.

Dynamický test s filtrací fyziologického roztoku probíhal po dobu 4 hodin, při tlaku 0,3 bar a frekvenci míchání $300 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$, po nadávkování 50 ml nezředěného aktivovaného kalu do filtrační cely Amicon 8050. Relaxace, která spočívala v odstranění tlaku nad membránou a zvýšení frekvence míchání na $500 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 5 minut, probíhala v časech 1, 2 a 3 hodiny. V časech 0,5; 1,5; 2,5 a 3,5 hodiny došlo k odebrání vzorku na analýzu TOC. Jako referenční byla zvolena membrána s velikostí pórů 0,45 µm, jelikož by měla být svojí strukturou a velikostí pórů nanovlákněné membráně nejbližší.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Morfologie membrán

Testované nanovláknenné membrány vykazovaly mechanickou stabilitu a optimalizací laminačních podmínek bylo dosaženo odpovídající adheze nanovláken na podpůrný polyesterový substrát. Navrstvením nanovláken bylo dosaženo střední porozity bez výrazných rozdílů ve velikosti pórů. Vzniklé membrány vykazovaly rovnoměrnou vláknennou strukturu. Na základě mikroskopických studií byla potvrzena uniformita vláken (Obrázek 1) bez výraznějších morfologických změn.

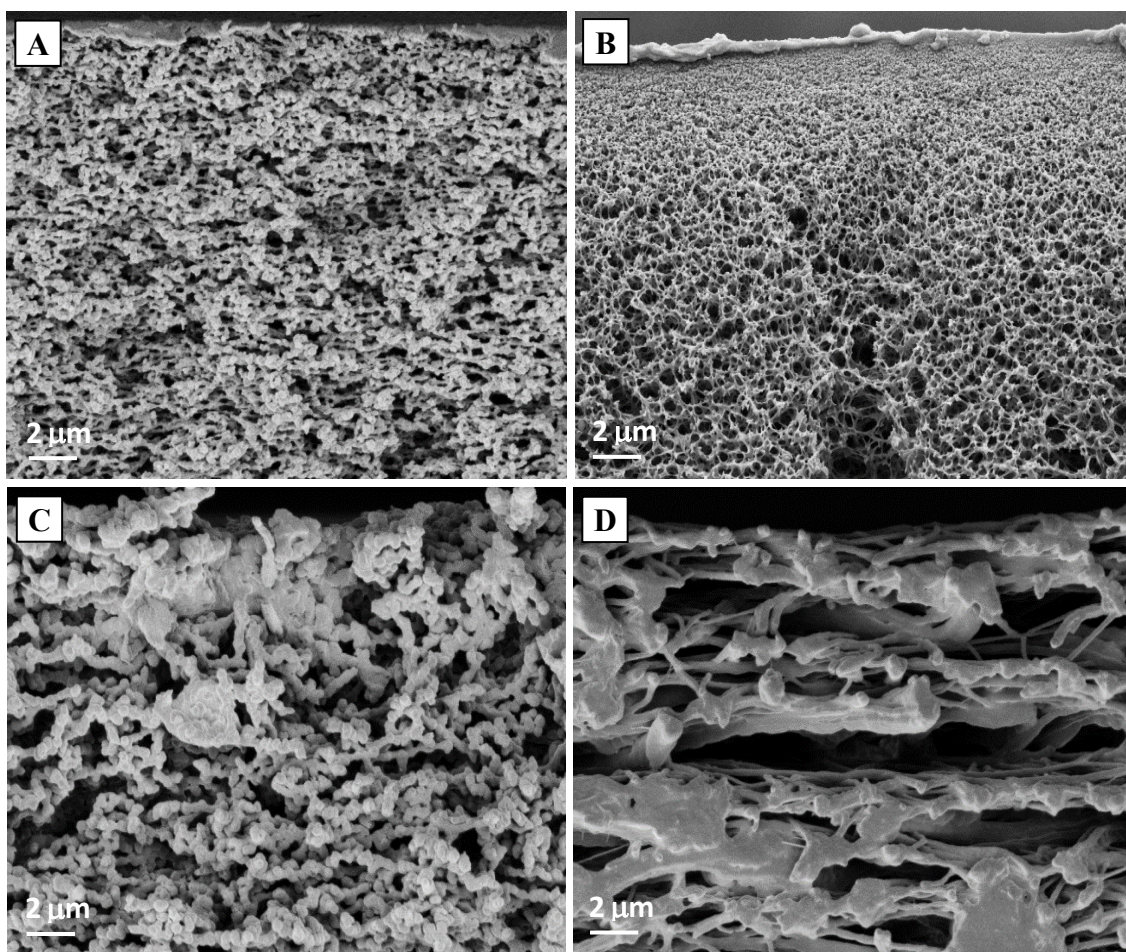


Obrázek 1: A) Obrázek polyurethanových nanovláken po tepelně-tlakové laminaci; zvětšení 1 000×, B) zadní strana kompozitní membrány zobrazující makroskopický polyesterový podklad nanovláknenných vrstev; zvětšení 3 000×.

Snímky řezů nanovláknenných a průmyslově vyráběných membrán jsou uvedeny na obrázku 2. Ze snímku je patrné, že se od sebe struktury zkoumaných membrán liší. Membrány s velikostí póru 0,22 a 0,45 μm jsou napříč průřezem symetrické, tlusté $\sim 130 \mu\text{m}$. Jediným rozdílem je hustší porová struktura s hladkou a méně otevřenou vrchní vrstvou pozorovanou u 0,22 μm membrány.

Naproti tomu ultrafiltrační kompozitní membrána Nadir UP150 obsahuje asymetrickou strukturu s aktivní vrstvou o tloušťce $\sim 100 \text{ nm}$, která plynule přechází ve vysoce otevřenou polyethylenovou podpůrnou vrstvu.

V porovnání s výše uvedenými komerčními spojuje nanovláknenná membrána výhody otevřené porové struktury 0,45 μm a nosné textilie, která umožňuje rychlý odvod permeátu, navíc s menší tendencí k vnitřnímu zanášení.



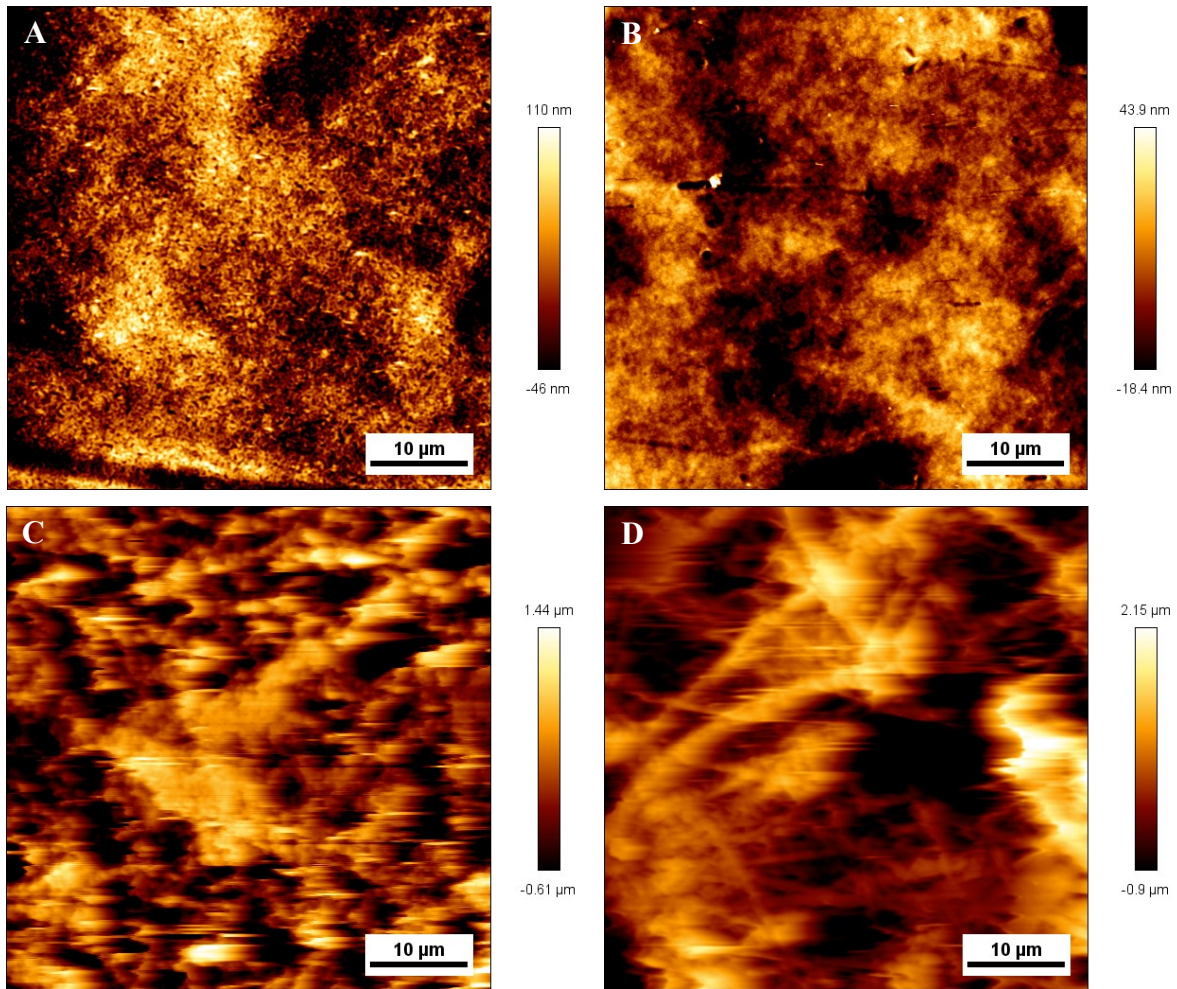
Obrázek 2: SEM snímky řezů průmyslově vyráběnými membránami A) Durapore®, B) UP150®, C) NC45 v porovnání s nanovláknennou membránou D); zvětšení 5 000×.

Samotná nanovláknenná vrstva dosahovala tloušťky ~20 μm, což je přibližně 7× menší než v případě symetrické 0,45 μm membrány. Navazující podpurná vrstva pak měla tloušťku ~180 μm.

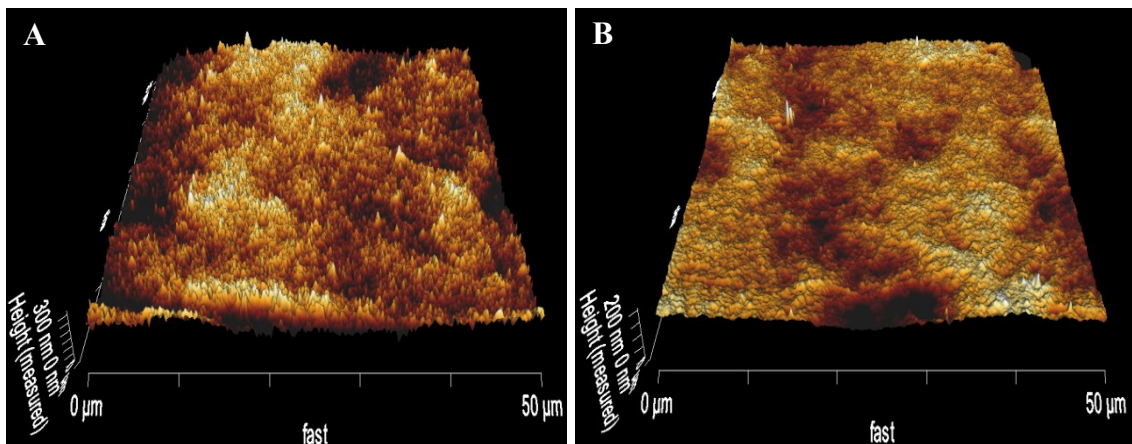
Nanovláknenná membrána vykazovala největší hrubost povrchu ze všech testovaných membrán (Obrázek 3). Nicméně hrubost nanovláknenné byla řádově srovnatelná s 0,45 μm membránou. Řádově nižší hodnoty hrubosti byly změřeny pro 0,22 μm membránu, nejmenší hodnota pak byla zaznamenána pro UF membránu UP150 (Tabulka 2). Trojrozměrná projekce jednotlivých membránových povrchů je zobrazena na obrázku 4.

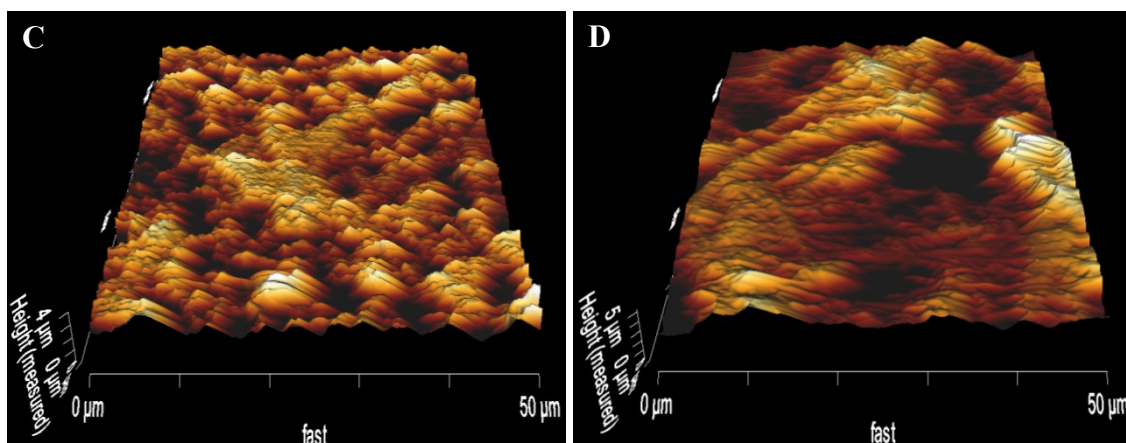
Tabulka 2: Výsledky měření drsnosti povrchu testovaných membrán.

| Veličina/ membrána | Durapore® | UP150® | NC45 | nanovlákn. m. | Hollytex® |
|--------------------------------------|-----------|--------|-------|----------------------|-----------|
| průměrná drsnost R_a [nm] | 24 | 10 | 336 | 470 | >1 500 |
| nejvyšší hloubka drsnosti R_t [nm] | 177 | 106 | 2 018 | 2 629 | >3 000 |



Obrázek 3: Výškový profil získaný pomocí AFM mikroskopie s vyznačením barevné škály absolutní hrubosti povrchu. A) Durapore®, B) UP150®, C) NC45 a D); nanovláknenná membrána; zvětšení 1 200×.





Obrázek 4: Trojrozměrný model výškového profilu zkoumaných membrán A) Durapore®, B) UP150®, C) NC45 a D); nanovláknenná membrána; zvětšení 1 200×.

3.2 Měření permeability

Permeabilita při filtraci demineralizované vody přes nanovláknennou membránu je řádově srovnatelná s hodnotou pro 0,45 μm komerční membránou vyrobenou z nitrátu celulózy, ostatní průmyslové membrány vykazovaly permeabilitu nižší (Tabulka 3). Tyto závěry byly potvrzeny i při filtraci aktivovaného kalu. Hodnoty TOC v permeátu nanovláknenných membrán se nelišily od hodnot membrán komerčních. Vysoká hodnota TOC v případě podpůrné vrstvy (E) lze vysvětlit přítomností velkých porů.

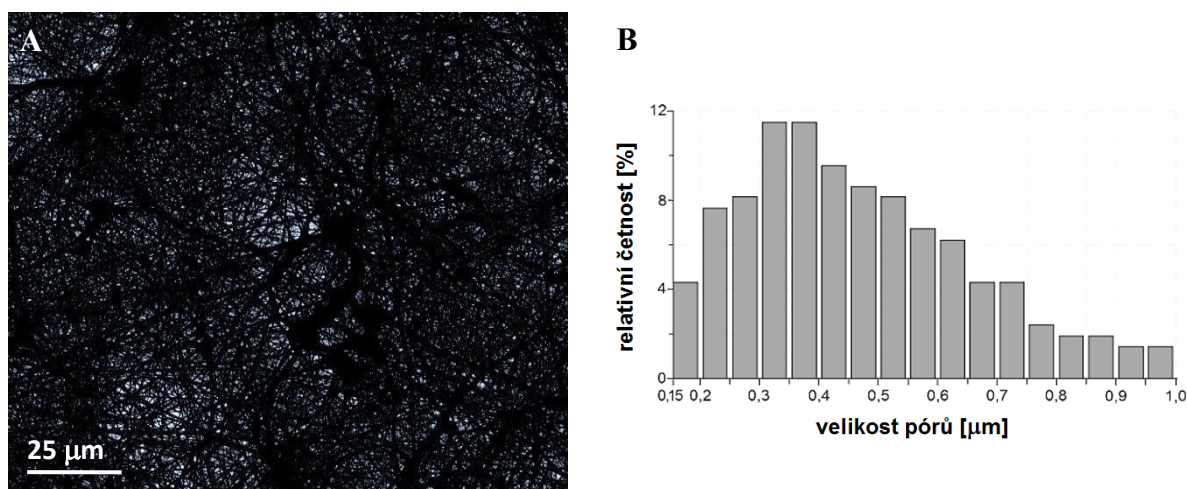
Změřená hodnota permeability čisté vody u nanovláknenné membrány byla o cca 30 % nižší v porovnání s PU nanovláknennými membránami připravenými v obdobné studii (Pant et al. 2014). Srovnatelná hodnota permeability byla naopak dosažena pro polyvinylidenfluoridovou nanovláknennou membránu (Gopal et al., 2006). Nanovláknenné membrány na bázi polyamidu dosahovaly nižší hodnoty permeability $\sim 6\,600\ \text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ (Daels et al., 2010). V případě dalších, polyethersulfonových nanovláknenných membrán byla permeabilita čisté vody výrazně vyšší a dosahovala hodnot $\sim 40\,000\ \text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ (Yoon et al. 2009). Pro polyvinylalkoholové nanovláknenné membrány s tloušťkou aktivní vrstvy 20 μm byla naměřena permeabilita $\sim 43\,000\ \text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ (Liu et al. 2013). Provedený výzkum prokázal pokles hodnot permeability nanovláknenných membrán s rostoucí tloušťkou nanovláknenné vrstvy při zachování hustoty nánosu. Zvýšení tloušťky aktivní vrstvy na přibližnou hodnotu 100 μm (hodnota blízká v této práci připraveným nanovláknenným membránám) vedlo k poklesu permeability.

Tabulka 3: Výsledky permeability pro demineralizovanou vodu a aktivovaný kal včetně hodnot TOC.

| vzorek | $K_{\text{voda}} [\text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{hod}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}]$ | $K_{\text{kal}} [\text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{hod}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}]$ | TOC [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|----------|--|---|---------------------------------------|
| A | 7200 | 850 | 5,6 |
| B | 320 | 170 | 5,9 |
| C | 17990 | 2210 | 5,6 |
| D | 12420 | 2060 | 5,7 |
| E | 26680 | 2960 | 35,3 |

3.3 Měření porozity

Distribuce velikosti pórů nanovlákné membrány byla získána ze SEM snímků a následně softwarové analýzy (Obrázek 5). Hodnocena byla střední velikost pórů včetně její odchylky (Tabulka 4). Jako reference byla zvolena membrána s označením NC45 s udávanou pórovou velikostí 0,45 μm .



Obrázek 5: A) nanovlákná PU filtrační vrstva (Vega Tescan, zvětšení 2 000 \times , inverze barevného spektra, vyhodnocení programem NIS Elements), B) vyhodnocená velikost pórů.

Pórová velikost se pohybovala okolo 0,53 μm , nicméně směrodatná odchylka, vycházející zejména ze široké distribuce velikosti samotných nanovláken ($0,31 \pm 0,16$), dosahuje 40 % střední hodnoty (Tabulka 4). Směrodatná odchylka referenční membrány byla v porovnání s nanovláknou nižší a dosahovala 26 % střední hodnoty. Možností, jak dosáhnout sníženého rozptylu velikosti pórů u nanovlákné membrány, je například vrstvení nanovláken s různou hustotou nánosu zakončené jemnou vrstvou nanovláken (Tang et al., 2009).

Tabulka 4: Distribuce pórové velikosti nanovlákné a referenční membrány

| pórová velikost | průměr [μm] | min [μm] | max [μm] |
|---------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|
| nanovlákná membrána | $0,53 \pm 0,21$ | 0,15 | 1,00 |
| membrána NC45 | $0,49 \pm 0,13$ | 0,08 | 0,84 |

Na základě měření velikosti distribuce v této práci použitých PU nanovláken ($0,31 \pm 0,16 \mu\text{m}$) se předpokládá separace částic menších než $1 \mu\text{m}$. Obecně jsou nanovlákné membrány schopny separace částic pod $0,02$ a nad $0,50 \mu\text{m}$ (Sun et al., 2014). Částice větší než 500 nm jsou blokovány na povrchu nanovlákné membrány vlivem síťovacího efektu daného pórovou velikostí membrán. Částice menší než póry mohou být zachytávány na vláknech vlivem hloubkové filtrace nanovlákné vrstvy (Gopal et al., 2007), vlivem vzájemné interakce nebo vlivem elektrostatické přitažlivosti (Sun et al., 2014). Velmi malé částice, menší než $0,02 \mu\text{m}$, mohou být na nanovlákně zachyceny vlivem Brownova pohybu (Sambaer et al., 2011).

Účinnost filtrace se zvyšuje s poklesem průměru vláken (Thavasi et al., 2008). Liu et al. (2013) byli schopni připravit nanovláknou membránu na bázi polyvinylalkoholu, která vykazovala téměř uniformní distribuci se střední pórovou velikostí $0,21 \mu\text{m}$. Uniformní nanovlákné struktury bylo dosaženo tenkými nanovláknými, jejichž průměr byl $0,10 \pm 0,02 \mu\text{m}$. Tato hodnota je podstatně nižší než hodnota u PU nanovlákných membrán zkoumaných v této práci (Tabulka 4). Obdobně uniformní velikost dosáhli i Wang et al. (2012), kteří připravili polyakrylonitrilová nanovlákná na netkaném polyethylentereftalátovém substrátu s průměrem nanovláken $0,10 \pm 0,02 \mu\text{m}$ a odpovídající pórovou velikostí $0,22 \pm 0,01 \mu\text{m}$. Gopal et al. (2006) byli schopni připravit polyvinylidenfluoridovou nanovláknou membránu s průměrem vláken $0,38 \pm 0,11 \mu\text{m}$, která separovala mikronové polystyrenové částice s účinností nad 96 %.

Gopal et al. (2007) pozorovali 47% odstranění polystyrenových částic o velikosti $0,5 \mu\text{m}$ na polysulfonových nanovlákných membránách s velikostí vláken $0,47 \pm 0,15 \mu\text{m}$. Gibson et al. (2001) připravili nanovlákná na bázi nylonu 6 s různou distribucí vláken a byli schopni řídit velikost pórů nanovlákných vrstev v rozmezí od $0,1$ do $0,8 \mu\text{m}$. Naopak, Prince et al. (2012) připravili nanovlákný kompozit na bázi polyvinylidenfluoridu s nanovláknou distribucí $0,50 \pm 0,15 \mu\text{m}$ a pórovou velikostí $0,60 \pm 0,17 \mu\text{m}$.

3.4 Filtrace bakteriální suspenze

Prvotní experimenty s filtrací neředěné bakteriální suspenze *E. coli* prokázaly schopnost nanovlákněné membrány zabraňovat masivnímu průniku bakterií do permeátu (Tabulka 5).

Tabulka 5: Absorbance permeátů při filtraci koncentrované suspenze *E. coli*.

| membrána | absorbance | \sim KTJ [-] | účinnost separace [%] |
|-------------------------|--------------|------------------------------------|-----------------------|
| Durapore® | 0,001 | $1,0 \cdot 10^5$ | 99,8 |
| UP150® | 0,001 | $1,0 \cdot 10^5$ | 99,8 |
| NC45 | 0,004 | $4,0 \cdot 10^5$ | 99,3 |
| nnv membrána | 0,008 | $8,0 \cdot 10^5$ | 98,6 |
| Hollytex® | 0,328 | $3,3 \cdot 10^7$ | 43,0 |
| fyziologický roztok | 0,000 | 0 | 100,0 |
| suspenze <i>E. coli</i> | 0,575 | $5,8 \cdot 10^7$ | 0,0 |

Sama filtrace koncentrované bakteriální suspenze ($6 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹) vytváří na povrchu membrány dodatečnou vrstvu zlepšující filtrační vlastnosti, pro jejichž potvrzení byl proveden test na zředěné bakteriální suspenzi ($5 \cdot 10^3$ KTJ.ml⁻¹). Hodnoty bakteriálního oživení permeátu prokazují schopnost nanovlákněných membrán zachytit 91 % bakterií *E. coli*. V porovnání s průmyslově vyráběnými membránami je tedy schopnost zachytit tuto gramnegativní bakterii (velikou přibližně $0,5 \times 2 \mu\text{m}$) nižší. Dle předpokladu, ale samotný polyesterový podklad *E. coli* bakterie prakticky nezachycuje (Tabulka 6).

Tabulka 6: Výsledky filtrace bakteriální suspenze *E. coli* pro testované membrány.

| membrána | KTJ [-] | účinnost odstranění [%] |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| Durapore® | 2 ± 1 | 99,7 |
| UP150® | 15 ± 5 | 98,0 |
| NC45 | 5 ± 2 | 99,3 |
| nnv membrána | 66 ± 12 | 91,3 |
| Hollytex® | 643 ± 74 | 15,3 |
| demi voda | 0 ± 1 | 100,0 |
| suspenze <i>E. coli</i> | 759 ± 52 | 0,0 |

Nejlépeších výsledků bylo dosaženo pro membrány Durapore® a NC45. Membrána UP150® nedosáhla očekávaných separačních vlastností, kdy udávaný cut off 150 kDa odpovídá přibližně $0,04 \mu\text{m}$. Otevřená struktura membránového povrchu podpůrně vrstvy pravděpodobně ovlivnila sterilizační krok před zahájením experimentu a to vedlo k horším výsledkům. Samotné nanovlákněné membrány nezaručují úplné odstranění bakterií, nicméně v reálném provozu lze

očekávat jejich zlepšenou účinnost vlivem přilnutí filtrované suspenze k membránovému povrchu.

3.5 Měření kontaktního úhlu

Měření kontaktního úhlu probíhalo na nanovlákně a referenční membráně. Jako referenční byla opět zvolena membrána s velikostí pórů 0,45 μm , jelikož by měla být svojí strukturou a velikostí pórů nanovlákně membráně nejbližší. Povrch nanovlákně membrány je v porovnání s membránou NC45 více hydrofobní a to i přes dotaci nanočásticemi stříbra (Tabulka 7). Důvodem může být hydrofobní povaha polyurethanu na rozdíl od hydrofilnějšího nitrátu celulózy.

Tabulka 7: Výsledky měření kontaktního úhlu ($^{\circ}$) pro nanovlákně membránu v porovnání s referenční membránou s pórovou velikostí 0,45 μm .

| měření | nanovlákně m. | referenční m. |
|---------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 87,1 | 62,6 |
| 2 | 71,9 | 64,9 |
| 3 | 77,5 | 62,2 |
| 4 | 86,8 | 62,1 |
| 5 | 82,8 | 74,5 |
| průměr | 81,4 \pm 5,5 | 65,3 \pm 4,7 |

3.6 Filtrace biologicky vyčištěné odpadní vody

Efektivnost odstranění organického znečištění byla testována filtrací vody z odtoku čistírny odpadních vod (ČOV). Při přihlédnutí k chybě měření TOC analýzy ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) vykazovaly nanovlákně kompozity srovnatelné výsledky v porovnání s průmyslovými membránami (Tabulka 8). Dle předpokladu, stejně jako v předchozím testu, samotný polyesterový podklad organické znečištění prakticky nezachycoval.

Tabulka 8: Výsledky filtrace odtoku ČOV pro testované membrány.

| membrána | TOC [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] | retence TOC [%] |
|----------------------|---------------------------------------|-----------------|
| Durapore® | 5,8 \pm 0,4 | 43,7 |
| UP150® | 6,5 \pm 0,2 | 37,2 |
| NC45 | 5,7 \pm 0,2 | 44,4 |
| nnav membrána | 6,3 \pm 0,1 | 39,4 |
| Hollytex® | 10,0 \pm 0,3 | 3,6 |
| demi voda | <1,0 | – |
| odtok ČOV | 10,3 \pm 0,2 | 0,0 |

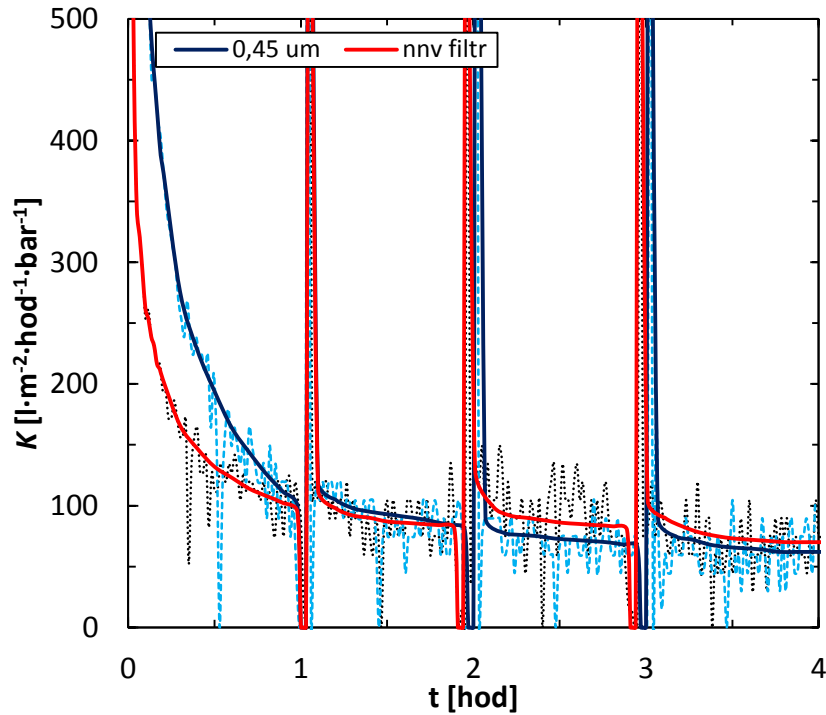
3.7 Filtrace aktivovaného kalu

Tvorba filtračního koláče na povrchu nanovlákněné membrány významně zlepšující separační vlastnosti při filtraci neředěného aktivovaného kalu (sekce 3.2) byla důvodem pro testy se zředěnou variantou. V případě filtrace 100× zředěného aktivovaného kalu z konce linky nitrifikace dosahoval nanovlákněný kompozit velmi dobrých výsledků. Průmyslové membrány Durapore a NC45 vykázaly v tomto testu nejlepší separační vlastnosti (Tabulka 9). Nicméně, hodnoty naměřené pro všechny testované membrány nepřekračují limity TOC hodnoty pro povrchové vody, v rámci platné legislativy, dosahující průměrné hodnoty 10 mg·l⁻¹ (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.). Nanovlákněná membrána je tedy vyhovující i pro tento typ aplikace. V reálném provozu se opět předpokládá vytvoření dodatečné vrstvy filtrované suspenze na povrchu membrány a tím zvýšení selektivity filtrace.

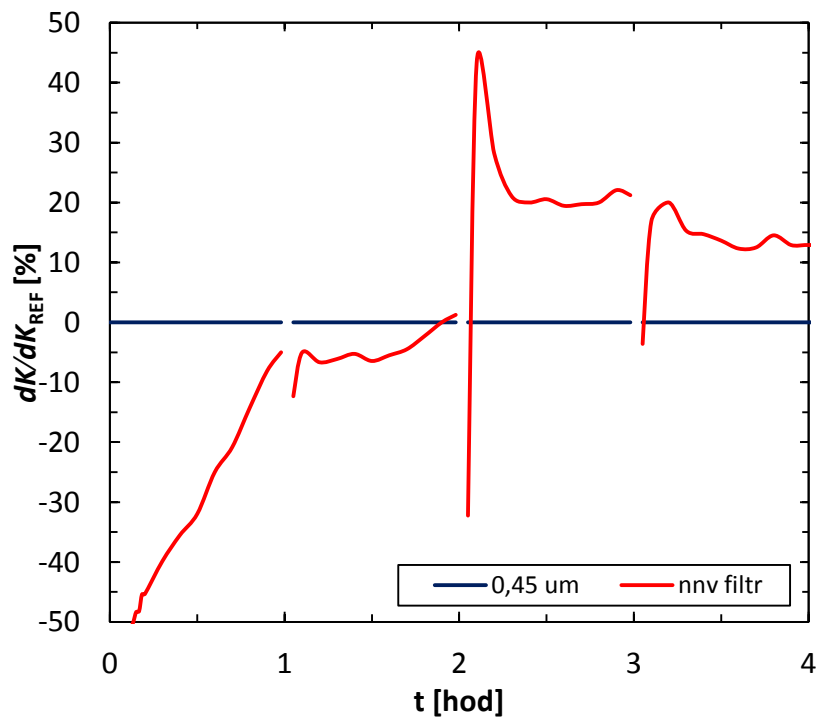
Tabulka 9: Výsledky filtrace 100× zředěného aktivovaného kalu.

| membrána | TOC [mg·l⁻¹] | retence TOC [%] |
|---------------------|--------------------------------|------------------------|
| Durapore® | 2,7 ± 0,4 | 85,2 |
| UP150® | 4,4 ± 0,3 | 75,9 |
| NC45 | 3,2 ± 0,4 | 82,8 |
| nnv membrána | 5,4 ± 0,2 | 70,7 |
| Hollytex® | 12,4 ± 0,9 | 32,6 |
| demi voda | <1,0 | – |
| 100x zředěný kal | 18,4 ± 1,0 | 0,0 |

V dynamickém testu s neředěným aktivovaným kalem byly porovnány vlastnosti nanovlákněné a referenční membrány (NC45). Již po provedení druhé relaxace vykazovala nanovlákněná membrána vyšší permeabilitu a to i navzdory její nižší počáteční hodnotě (Obrázek 6). Z porovnání procentuální změny permeability (Obrázek 7) je patrný její postupný nárůst u nanovlákněné membrány, kdy v druhé polovině filtračního testu vykazovala přírůstek vůči referenci. Podle Meng et al. (2009) je úzká distribuce velikosti pórů výhodná pro kontrolu zanášení v konvenčním procesu membránové separace i v procesu membránových bioreaktorů. Podle Judd (2010) je asymetrická struktura vhodnější pro filtraci reálných odpadních vod. Vyšší hodnoty permeability nanovlákněné membrány zjištěné v provedeném dynamickém testu, jsou tedy způsobeny asymetrickou strukturou, kdy separační vrstva kompozitní nanovlákněné membrány byla přibližně 7× tenčí než v případě referenční membrány. Nanovlákněné asymetrické membrány s tenkou aktivní vrstvou jsou tedy pro filtraci reálné odpadní vody výhodnější než symetrické.



Obrázek 6: Průběh permeability nanovlákněné a referenční membrány při testu s aktivovaným kalem.



Obrázek 7: Procentní změna permeability nanovlákněné vůči referenční membráně.

Separační vlastnosti nanovlákněné membrány byly nepatrně nižší než v případě membrány referenční (Tabulka 10). I přes drobné rozdíly, lze však v obou případech testovaných membrán potvrdit jejich velmi dobré separační vlastnosti. Účinnost separace byla odhadnuta z hodnot TOC v permeátu a nerozpuštěných látek v aktivovaném kalu ($3,55 \pm 0,46 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$).

Provedená studie s kompozitní nanovlákněnou membránou na bázi polyamidu potvrdila 94% účinnost odstranění organického znečištění v MBR s neřaděným kalem obsahujícím 3–4 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ nerozpuštěných látek (Daels et al., 2010). Účinnosti separace nanovlákněných membrán dosažená v dynamickém testu byla srovnatelná. Výsledky lze ovšem srovnávat jen částečně. O účinnosti odstranění nerozhoduje jen obsah nerozpuštěných látek, ale i složení aktivovaného kalu, tedy poměr jeho složek a molekulová hmotnost separovaných látek (Judd, 2011).

Tabulka 10: Hodnoty TOC ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) v permeátu v průběhu dynamického testu.

| membrána | 0,5 h | 1,5 h | 2,5 h | 3,5 h |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| NC45 | 3,86 | 5,27 | 4,60 | 4,33 |
| nnv membrána | 5,14 | 4,83 | 5,12 | 5,50 |

4 ZÁVĚRY

Součástí výzkumu nanovláken s antimikrobiálními vlastnostmi byla příprava samostatných mikrofiltračních membrán spojující filtrační vlastnosti nanovláken a antimikrobiální vlastnosti s využitím nanočástic stříbra. Při filtraci reálné odpadní vody ve formě aktivovaného kalu nebo odtoku z čistírny odpadních vod vykazují nanovlákněné membrány výsledky srovnatelné s průmyslově vyráběnými membránami. Nanovlákněné membrány naopak dosahovaly nižší selektivity pro filtraci naředěné bakteriální suspenze *E. coli*. Nanovlákněné membrány mají hrubost vyšší, ale řádově srovnatelnou s NC45 membránou. Vyšší hrubost nanovlákněných membrán může hrát roli při zanášení a čištění membránového povrchu. V dynamickém testu s aktivovaným kalem dosahovala nanovlákněná membrána vyšší permeability při nepatrně nižší selektivitě. Snížené zanášení povrchu nanovlákněné membrány v porovnání s NC45 membránou souvisí spíše s její asymetrickou strukturou než s distribucí pórové velikosti. Pozitivní vliv na snížené zanášení může mít i přítomnost nanočástic stříbra poskytující membráně antimikrobiální vlastnosti.

Nanovlákněné membrány, které zaručují dobrý kompromis mezi propustností a separačními vlastnostmi, je tedy možné použít zejména pro filtraci odpadních vod s vyšším obsahem nerozpuštěných látek a biologické složky, například v membránových bioreaktorech. I přes prokázané filtrační a separační vlastnosti nanovlákněných membrán zůstává otevřena otázka jejich dlouhodobé životnosti a efektivita čištění těchto vysoce strukturovaných materiálů.

Seznam použité literatury

- Balamurugan, R., Sundarrajan, S., Ramakrishna, S., 2011. Recent trends in nanofibrous membranes and their suitability for air and water filtrations. *Membranes* 1, 232–248.
- Daels, N., De Vrieze, S., Decostere, B., Dejans, P., Dumoulin, A., De Clerck, K., Westbroek, P., Van Hulle, S.W., 2010. The use of electrospun flat sheet nanofibre membranes in MBR applications. *Desalination* 257, 170–176.
- Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978.
- Dvořák, L., Gómez, M., Dvořáková, M., Růžičková, I., Wanner, J., 2011. The impact of different operating conditions on membrane fouling and EPS production. *Bioresour. Technol.* 102, 6870–6875. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.061
- Fang, J., Niu, H., Lin, T., Wang, X., 2008. Applications of electrospun nanofibers. *Chin. Sci. Bull.* 53, 2265–2286.
- Feng, C., Khulbe, K.C., Matsuura, T., Tabe, S., Ismail, A.F., 2013. Preparation and characterization of electro-spun nanofiber membranes and their possible applications in water treatment. *Sep. Purif. Technol.* 102, 118–135.
- Gibson, P., Schreuder-Gibson, H., Rivin, D., 2001. Transport properties of porous membranes based on electrospun nanofibers. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 187, 469–481.
- Gopal, R., Kaur, S., Feng, C.Y., Chan, C., Ramakrishna, S., Tabe, S., Matsuura, T., 2007. Electrospun nanofibrous polysulfone membranes as pre-filters: particulate removal. *J. Membr. Sci.* 289, 210–219.
- Gopal, R., Kaur, S., Ma, Z., Chan, C., Ramakrishna, S., Matsuura, T., 2006. Electrospun nanofibrous filtration membrane. *J. Membr. Sci.* 281, 581–586.
- Hohman, M.M., Shin, M., Rutledge, G., Brenner, M.P., 2001. Electrospinning and electrically forced jets. I. Stability theory. *Phys. Fluids* 1994-Present 13, 2201–2220.
- Huang, Z.-M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S., 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Compos. Sci. Technol.* 63, 2223–2253.
- Jirsak, O., Sanetnik, F., Lukas, D., Kotek, V., Martinova, L., Chaloupek, J., 2009. Method of nanofibres production from a polymer solution using electrostatic spinning and a device for carrying out the method.
- Judd, S., 2011. *The MBR Book: Principles and Applications of Membrane Bioreactors for Water and Wastewater Treatment*. Elsevier.
- Judd, S., 2010. *The MBR book: principles and applications of membrane bioreactors for water and wastewater treatment*. Elsevier.
- Liu, Y., Wang, R., Ma, H., Hsiao, B.S., Chu, B., 2013. High-flux microfiltration filters based on electrospun polyvinylalcohol nanofibrous membranes. *Polymer* 54, 548–556.
- Ma, H., Burger, C., Hsiao, B.S., Chu, B., 2011. Ultrafine polysaccharide nanofibrous membranes for water purification. *Biomacromolecules* 12, 970–976.
- Meng, F., Chae, S.-R., Drews, A., Kraume, M., Shin, H.-S., Yang, F., 2009. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water Res.* 43, 1489–1512. doi:10.1016/j.watres.2008.12.044
- Pant, H.R., Kim, H.J., Joshi, M.K., Pant, B., Park, C.H., Kim, J.I., Hui, K., Kim, C.S., 2014. One-step fabrication of multifunctional composite polyurethane spider-web-like nanofibrous membrane for water purification. *J. Hazard. Mater.* 264, 25–33.
- Phillips, R., Kondev, J., Theriot, J., Garcia, H., 2012. *Physical biology of the cell*. Garland Science.

- Prince, J., Singh, G., Rana, D., Matsuura, T., Anbharasi, V., Shanmugasundaram, T., 2012. Preparation and characterization of highly hydrophobic poly (vinylidene fluoride)–clay nanocomposite nanofiber membranes (PVDF–clay NNMs) for desalination using direct contact membrane distillation. *J. Membr. Sci.* 397, 80–86.
- Sambaer, W., Zatloukal, M., Kimmer, D., 2011. 3D modeling of filtration process via polyurethane nanofiber based nonwoven filters prepared by electrospinning process. *Chem. Eng. Sci.* 66, 613–623.
- Sun, B., Long, Y.Z., Zhang, H.D., Li, M.M., Duvail, J.L., Jiang, X.Y., Yin, H.L., 2014. Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning. *Prog. Polym. Sci.* 39, 862–890. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.06.002
- Tang, Z., Qiu, C., McCutcheon, J.R., Yoon, K., Ma, H., Fang, D., Lee, E., Kopp, C., Hsiao, B.S., Chu, B., 2009. Design and fabrication of electrospun polyethersulfone nanofibrous scaffold for high-flux nanofiltration membranes. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 47, 2288–2300.
- Thavasi, V., Singh, G., Ramakrishna, S., 2008. Electrospun nanofibers in energy and environmental applications. *Energy Environ. Sci.* 1, 205–221.
- Wang, R., Liu, Y., Li, B., Hsiao, B.S., Chu, B., 2012. Electrospun nanofibrous membranes for high flux microfiltration. *J. Membr. Sci.* 392, 167–174.
- Xie, Z., Wang, Z., Wang, Q., Zhu, C., Wu, Z., 2014. An anaerobic dynamic membrane bioreactor (AnDMBR) for landfill leachate treatment: Performance and microbial community identification. *Bioresour. Technol.* 161, 29–39. doi:10.1016/j.biortech.2014.03.014
- Yoon, K., Hsiao, B.S., Chu, B., 2009. Formation of functional polyethersulfone electrospun membrane for water purification by mixed solvent and oxidation processes. *Polymer* 50, 2893–2899.
- Yoon, K., Hsiao, B.S., Chu, B., 2008. Functional nanofibers for environmental applications. *J. Mater. Chem.* 18, 5326–5334.
- Yoon, K., Kim, K., Wang, X., Fang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., 2006. High flux ultrafiltration membranes based on electrospun nanofibrous PAN scaffolds and chitosan coating. *Polymer* 47, 2434–2441.

ČÁST IV.

Snížení biologického zanášení ultrafiltračních membrán povrchovou úpravou stříbrnými nanočásticemi

Tato část disertační práce vychází z článku:

Dolina, J., Dlask, O., Lederer, T., Dvořák, L., 2015. Mitigation of membrane biofouling through surface modification with different forms of nanosilver. Chem. Eng. J., 275, 125–133. (IF; 5,310)

Souhrn

Biologické zanášení membrán představuje závažný problém a je limitujícím faktorem pro širší aplikaci membránové technologie. Cílem této části disertační práce bylo vyvinout modifikaci membrán, s použitím nanočástic stříbra, snižující tento negativní jev.

Ultrafiltrační NADIR® UP150 membrány vyrobené z polyethersulfonu byly modifikovány s využitím různých forem nanostříbra a to metodami i) difuzí iontů stříbra s následnou redukcí, ii) ukotvením nanočástic stříbra do polyethyleniminové matrice (PEI-Ag), iii) tepelně-tlakovou fixací nanovláken se stříbrem. Modifikované membrány byly podrobeny testům propustnosti, selektivity, antimikrobiálních vlastností, stability stříbra a měření kontaktních úhlů. Dále byly provedeny filtrační testy s proteinem BSA a reálnou odpadní vodou. V neposlední řadě pak došlo k detailní charakterizaci morfologie membrán.

V porovnání s nemodifikovanými, měly membrány dotované nanočásticemi stříbra pomocí difuzní metody vyšší propustnost při filtraci demineralizované vody. Membrány modifikované nanovláknem se stříbrem vykazovaly nejnižší propustnost. Membrány modifikované difuzní a PEI-Ag metodou vykazovaly nižší tendenci k zanášení membránového povrchu ve filtračních testech s modelovým proteinem i reálnou odpadní vodou. Výsledky těchto filtračních testů odpovídaly měřením kontaktního úhlu, kdy povrchy membrán modifikovaných difuzní a PEI-Ag metodou byly více hydrofilní. Modifikované membrány vykazovaly srovnatelnou, v případě nanovláknenné modifikace nepatrně lepší, selektivitu v porovnání s referencí. Všechny membrány dále vykazovaly antimikrobiální vlastnosti i nízké hodnoty vyplavování stříbra v průběhu času. Testy morfologie membrán, modifikovaných difuzní a PEI-Ag metodou, neodhalily změny ve vnitřní struktuře, na rozdíl od membrán modifikovaných nanovláknem se stříbrem.

Klíčová slova: Antimikrobiální vlastnosti; biologické znečištění; modifikace membrán; nanovláknena; nanostříbro.

1 ÚVOD

Přes četné výhody membránových technologií v oblasti čištění odpadních vod zahrnující například vynikající kvalitu odtokové vody, ještě stále existují některé nevýhody omezující široké uplatnění těchto technologií. Jedním z nejzávažnějších problémů je přitom zanášení membránového povrchu (Judd, 2010; Yu et al., 2013). Zanášení membrán vedoucí zejména k poklesu hydraulického výkonu systému a tím i zvýšení provozních nákladů, je komplexní problém ovlivněný řadou různých faktorů nebo jejich kombinací (Boyle-Gotla et al., 2014; Meng et al., 2007). V této souvislosti byla intenzivně studována celá řada otázek týkajících se membránového zanášení v procesu MBR zahrnujících provozní podmínky, charakteristiku odpadních vod nebo membránových materiálů (Dalmau et al., 2014; Dvořák et al., 2011; Lyko et al., 2007; Tang et al., 2009).

Existuje několik způsobů, jak minimalizovat zanášení membrán a tím zlepšit jejich dlouhodobý výkon, přičemž za účinné jsou považovány dva přístupy. První z nich vyžaduje změny v provozních podmínkách MBR zahrnující změny ve složení kalu, hydraulického retenčního času (Meng et al., 2007), poměru rozložitelného substrátu k počtu mikroorganismů (Meng et al., 2007; Trussell et al., 2006) nebo přívodu kyslíku (Menniti a Morgenroth, 2010). Všechny uvedené možnosti pak ovlivňují složení biomasy a tím i produkci extracelulárních polymerních látek a následně tedy interakci s povrchem membrány. Změny ve filtračním cyklu (např. v době filtrace, periodě a trvání zpětného proplachu) mohou také ovlivnit zanášení membrán (Judd, 2010). Zanášení membrány se lze vyhnout i provozem při nižším než kritickém toku nicméně s rizikem nestabilních podmínek, zejména nízkým hydraulickým výkonem systému (Meng et al., 2007).

Druhou možností pro zmírnění biologického zanášení membrán a tím i zvýšení hydraulického výkonu systému představují úpravy původního povrchu nebo příprava membrán nových. Tento přístup obvykle zahrnuje zvýšení hydrofilního charakteru povrchu, případně další membránové funkcionalizace. Tyto povrchové úpravy vedou ke snížení vzájemné hydrofobní interakce mezi povrchem membrány a mikroorganismy, případně látkami přítomnými v nátoce, čímž se snižuje biologické zanášení membrán (Bae a Tak, 2005a).

V současnosti jsou pro zmírnění biologického zanášení membrán vyvíjeny a testovány nové techniky membránové modifikace, které lze rozdělit na fyzikální a chemické. Jednou z fyzikálních metod je plazmatická modifikace povrchů, jak je například uvedeno v Yu et al. (2005a, 2005b), kteří podrobili polypropylenovou membránu z dutých vláken plazmatickým úpravám s pomocí amoniaku a oxidu uhličitého. Dále byly pro plazmatické modifikace povrchu membrán použity například dusík a vzduch (Kull et al., 2005; Yu et al., 2008). Díky plazmatické

expozici byly na povrch membrán navázány primární aminové skupiny ($-NH_2$) nebo karboxylové kyseliny ($-COOH$) (Kull et al., 2005; Yu et al., 2008, 2005a, 2005b). Další možností je využití UV nebo gama záření (Yu et al., 2007) obvykle vedoucí ke zvýšení hydrofility povrchu a tím ke snížení tendence k zanášení. Hlavní nevýhodou těchto vysokoenergetických metod je významné zvýšení konečné ceny membránového produktu (Asatekin et al., 2006).

Z chemických technik lze uvést zejména vytvoření kovalentní vazby a další imobilizační metody, které umožňují přípravu tenkého filmu na povrchu membrán (např. Ahmed et al., 2013; Asatekin et al., 2006; Tripathi et al., 2014). Pro imobilizační techniky lze využít například polyethylenoxid, polyvinylalkohol, sloučeniny zirkonia, oxidu hořečnatého, titanu nebo stříbra (Asatekin et al., 2006; Bae a Tak, 2005a, 2005b; Ma et al., 2007). Vlivem zvýšené hydrofility nebo antibakteriálních vlastností, popřípadě jejich kombinací, vykazuje takto upravený povrch větší odolnost vůči zanášení (Bae a Tak, 2005a; Ho et al., 2012). Dále může modifikovaný povrch snadněji odolávat např. adsorpci extracelulárních polymerů (Asatekin et al., 2006).

Látky způsobující zanášení se navíc snadněji odstraní z povrchu membrány prostřednictvím *cross-flow* (tangenciálního) efektu (Bae a Tak, 2005a, 2005b), čímž se zlepší provozní vlastnosti membrán a zachová se hydraulický výkon.

Modifikace za použití nanočástic stříbra je slibnou metodou pro snížení biologického zanášení membrán vedoucí k požadované dlouhodobé permeabilitě a antimikrobiálním vlastnostem. Prokázané antimikrobiální vlastnosti iontů stříbra i stříbrných nanočástic představují potenciál pro využití jimi modifikovaných membrán v oblasti čištění odpadních vod (Green et al., 2011; Morones et al., 2005).

Hlavním cílem této práce proto byla modifikace komerčně dostupných ultrafiltračních membrán s následnou charakterizací membránových vlastností. Modifikace byla provedena prostřednictvím difuze iontů stříbra s jejich následnou redukcí, ukotvení nanočástic stříbra do polyethyleniminové matrice zabudované do membránové struktury a tepelně-tlakové laminace stříbrem modifikovaných nanovláken. V návaznosti na tyto modifikace byly vyhodnoceny změny filtračních charakteristik za různých podmínek, kontaktní úhel membránových povrchů, stabilita stříbra i antimikrobiální vlastnosti.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Membránové modifikace

a) Difuzní metoda

Metoda modifikace byla založena na difuzi a zachycení stříbra v polymerní matici membrány. Koncentrace jednotlivých látek i podmínky přípravy směsi vycházely z experimentů provedených s polyethersulfonovou (PES) membránou.

Komerční NADIR® UP150 membrána byla ponořena do roztoku dusičnanu stříbrného v demineralizované vodě s koncentrací 3,5 hm% (AgNO_3 , Sigma-Aldrich, USA) a následně loužena po dobu 4 hodin při pokojové teplotě za stálého míchání s frekvencí $50 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$. Posléze byla dvakrát propláchnuta demineralizovanou vodou o objemu 250 ml. Redukce stříbra bylo dosaženo ponořením membrány do vodného roztoku kyseliny askorbové s koncentrací 2 hm% ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$; Sigma-Aldrich, USA) na dobu 2 hodin. Po skončení redukce byla membrána opět propláchnuta demineralizovanou vodou a následně 2 hodiny ponořena do vodní lázně s demineralizovanou vodou o teplotě $70 \text{ }^\circ\text{C}$ za stálého míchání s frekvencí $50 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$. Modifikovaná membrána byla následně opláchnuta demineralizovanou vodou a uložena pro pozdější použití.

b) Polyethyleniminová metoda

Druhá metoda modifikace využila polyethyleniminové struktury s navázáním nanočástic stříbra (PEI-Ag). Tento postup byl odvozen od českého patentu číslo: 2011–549 (A3) (Zbořil a Soukupová, 2011). NADIR® UP150 membrána se nejprve loužila ve vodném roztoku polyethyleniminu s koncentrací 5 hm% (PEI; Sigma-Aldrich, USA) při pokojové teplotě po dobu 2 hodin za stálého míchání s frekvencí $50 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$. PEI s molekulovou hmotností 2 000 Daltonů vykazoval dostatečnou fixaci k povrchu membrány a zároveň zamezoval zaslepení pórů ultrafiltrační membrány (MWCO $\sim 150 \text{ kDa}$). Po fixaci PEI do membránové struktury následoval dvojnásobný oplach demineralizovanou vodou o objemu 250 ml. Následně byla membrána ponořena do vodného roztoku prekurzorového stříbra ve formě AgNO_3 s koncentrací 3,5 hm% a ponořena po dobu 2 hodin při $70 \text{ }^\circ\text{C}$ za stálého míchání s frekvencí $50 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$. Po skončeném zahřívání byla membrána ponechána po dobu 24 hodin v roztoku a následně opláchnuta demineralizovanou vodou. Redukce stříbrných iontů, které zůstaly na povrchu membrány, bylo dosaženo ponořením do roztoku kyseliny askorbové s koncentrací 2 hm%. Modifikovaná membrána byla uložena v demineralizované vodě pro další použití.

c) Nanovláknenná metoda

Třetí použitá metoda byla založena na modifikaci membrán polyurethanovými nanovláknými dotovanými nanočásticemi stříbra. Nanovláknna byla připravena v souladu s postupem popsáným v Dolina et al. (2015), tedy byla vyrobena metodou elektrostatického zvlákňování z volné hladiny s využitím zařízení popsaného v českém patentu číslo: 294274 (B6) (Jirsák et al., 2009). Tepelně-tlaková laminace nanovláken na původní povrch NADIR® UP150 membrány byla provedena na laminačním zařízení Oshima Mini Press: OP-450GS (Oshima, Čína). Parametry laminace (tlak 0,02 MPa, teplota v rozmezí 90–100°C) nezpůsobovaly významné strukturální změny nanovláken.

2.2 Filtrační testy

V návaznosti na membránové modifikace byly stanoveny filtrační charakteristiky s využitím *cross-flow* laboratorní jednotky LabUnit M10 (AlfaLaval, Švédsko), která umožňovala paralelní testování dvou párů membrán s plochou 168 cm². Provedeny byly různé filtrační zkoušky. Před začátkem každého filtračního testu byly membrány vodě umístěny na 24 hodin do nádoby s demineralizovanou vodou o objemu 250 ml a míchány s frekvencí 200 ot·min⁻¹.

a) Test s demineralizovanou vodou

Filtrační test s demineralizovanou vodou hodnotil tok jednotlivých modifikovaných membrán při různých hodnotách transmembránového tlaku (TMP) pohybujícího se v rozmezí od 0,3 do 1,9 bar, při objemovém (*cross-flow*) toku o intenzitě 3 l·min⁻¹ a laboratorní teplotě. Z důvodu eliminace tlakových ztrát byly po dokončení filtračního testu jednotlivé membrány vzájemně vyměněny a znovu proměřeny. Průměrné hodnoty z obou měření byly porovnány s nemodifikovanými membránami testovanými za stejných podmínek.

b) BSA test

Měření adsorpce proteinů patří k základním testům posuzujícím zanášení membránových povrchů (Sun et al., 2009; Zhu et al., 2014). Jako referenční protein byl použit hovězí sérový albumin (bovine serum albumine, BSA; Sigma-Aldrich, USA); (Ma et al., 2007; Yu et al., 2013). Referenční protein BSA vyniká uniformní molekulovou hmotností 66 000 g·mol⁻¹ a dále hydrofobní povahou, kterou má i celá řada organických látek přítomných v reálné odpadní vodě. Vnitřní hydrofobní charakter membrán na bázi polysulfonů často vede k adsorpci proteinů na povrchu i uvnitř pórů membrány, což má za následek zanášení a zhoršený hydraulický výkon membrány (Zhu et al., 2007).

Pro filtraci BSA proteinů byly použity postupy popsané například v Sun et al. (2009) nebo Ma et al. (2007). Před vlastní filtrací byla demineralizovanou vodou naplněna zásobní nádrž Millipore 6700P20 (Millipore, USA), dále byly testované membrány kompresovány při tlaku 1,0 bar po dobu 30 minut s frekvencí míchání $400 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ ve filtrační kontinuálně míchané cele Amicon 8400 (Millipore, USA). Následně došlo ke snížení tlaku na hodnotu 0,5 bar a po dobu 1 hodiny byla přes membrány filtrována demineralizovaná voda. Tok permeátu byl měřen pomocí přírůstku hmotnosti na váze Kern 440–49A (Kern, Německo), softwarově s periodou 300 sekund. Tok čisté vody (J_{w1}), respektive jeho ustálená hodnota byla vypočtena ze vztahu:

$$J_{w1} = \frac{V}{A\Delta t} \quad (1),$$

kde V je objem permeátu (litry), A plocha membrány (m^2) a Δt časový úsek (hodiny) pro daný přírůstek objemu permeátu.

Poté byla zásobní nádrž naplněna 0,01 molárním (M) roztokem fosfátového pufru s hodnotou $\text{pH} = 7,4$. Filtrační cela byla naplněna roztokem BSA o koncentraci $1,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ v 0,01 M fosfátovém pufru. Ihned po započetí testu byla stanovena koncentrace BSA v 10 ml permeátu. Filtrační test probíhal 1 hodinu při tlaku 0,5 bar a za stálého míchání s frekvencí $400 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$. Hodnocen byl tok proteinového roztoku J_p . Poměr retence BSA (R) byl vypočten následujícím vztahem:

$$R (\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) \times 100 \quad (2),$$

kde C_p ($\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) je koncentrace BSA v permeátu a C_f koncentrace BSA v nátoce ($1,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). Koncentrace BSA byly stanoveny pomocí UV-VIS spektrofotometru DR 6000 (Hach-Lange, Německo) při vlnové délce 280 nm (Zhu et al., 2014). Pro stanovení C_p byla použita kalibrační křivka v rozsahu $0-1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Po skončení filtrace byla membrána bez tlaku čištěna demineralizovanou vodou po dobu 20 minut s frekvencí míchání $500 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$, poté došlo k vyprázdnění filtrační cely a do zásobní nádrže byla opět napuštěna demineralizovaná voda. Filtrace probíhala 1 hodinu při stejných podmínkách jako v případě stanovení toku J_{w1} a J_p , zaznamenaný tok byl označen J_{w2} .

K posouzení zanášení modifikovaných membrán byl stanoven poměr toku před a po filtraci proteinů označovaný jako FRR (flux recovery ratio); (Mansourpanah et al., 2011) podle vztahu:

$$FRR (\%) = \left(\frac{J_{w2}}{J_{w1}}\right) \times 100 \quad (3),$$

Čím vyšší je hodnota FRR , tím méně jsou membrány náchylné k zanášení (Yu et al., 2013).

Zanášení membrán lze rozdělit na reverzibilní a ireverzibilní. V případě adsorpce proteinů lze reverzibilní zanášení odstranit hydraulickým čištěním, zatímco odstranění ireverzibilního zanášení způsobného adsorpcí proteinů lze dosáhnout částečně mechanickým nebo chemickým čištěním (Sun et al., 2009) či enzymatickou degradací (Qin et al., 2005; Susanto a Ulbricht, 2005). Pro studium zanášení membrán jsou zaváděny různé parametry popisující proces zanášení (Ma et al., 2007). Parametr R_t určující pokles toku vlivem celkového zanášení je definován jako:

$$R_t (\%) = \left(1 - \frac{J_p}{J_{w1}}\right) \times 100 \quad (4).$$

Vyšší hodnota R_t odpovídá intenzivnějšímu zanášení membrán. Další parametry R_r a R_{ir} popisují reverzibilní, respektive ireverzibilní pokles toku vlivem:

reverzibilního zanášení

$$R_r (\%) = \left(\frac{J_{w2} - J_p}{J_{w1}}\right) \times 100 \quad (5)$$

a ireverzibilního zanášení

$$R_{ir} (\%) = \left(1 - \frac{J_{w2}}{J_{w1}}\right) \times 100 \quad (6).$$

c) Test s odtokem z čistírny odpadních vod

Během tohoto testu, byla jako vstup použita reálná odpadní voda v podobě odtoku z čistírny odpadních vod (ČOV). Počáteční tlak byl nastaven na 1,0 bar. Během měření byl sledován pokles objemové intenzity toku permeátu skrz membrány. *Cross-flow* tok napříč membránami byl nastaven na hodnotu $3 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$, zpětný proplach byl proveden každých 24 hodin a trval 120 sekund. Permeabilita byla vypočítána z doby filtrace 250 ml permeátu a tlaku na vstupu a výstupu filtrační cely. Retentát a část permeátu byly recirkulovány zpět do vstupní nádrže o objemu 4 litry. Nerozpuštěné látky na vstupu byly udržovány na stálé koncentraci průběžným přidáváním odpadní vody z ČOV o objemu $200 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$. Zároveň byl ve vstupní nádrži udržován konstantní objem. Teplota filtrované vody byla udržována na hodnotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ pomocí termostatu Lauda ECO Silver (Lauda GmbH, Německo) připojeného k tepelnému výměníku filtrační jednotky. Celková doba experimentu byla přibližně 72 hodin.

Pomocí filtrace odtoku z čistírny odpadních vod byla v nezávislém testu měřena potenciální změna v retenci organických látek. Vyhodnocení testu probíhalo měřením chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Cr}). Před testováním byly modifikované membrány promyty 400 ml demineralizované vody a následně byl filtrován odtok z čistírny odpadních vod o objemu 50 ml

přes membránu ve filtrační cele Amicon 8050 (EMD Millipore, USA). Koncentrace CHSK v nátoku a permeátu byla stanovena v duplikátu pomocí kyvetových setů Hach-Lange (LCK 414).

d) Test se zvýšeným obsahem nerozpuštěných látek

Tento test přímo navazoval na kontinuální filtraci odtoku z ČOV, trval dalších cca 60 hodin a probíhal za stejných podmínek. K 4 litrům vody z odtoku ČOV bylo přidáno 200 ml aktivovaného kalu z ČOV, čímž bylo docíleno zvýšené koncentrace mikroorganismů i nerozpuštěných látek. Koncentrace nerozpuštěných látek na vstupu filtrační jednotky byla zvýšena na hodnotu $\sim 250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

2.3 Měření dělicí schopnosti membrán

Stanovení dělicí schopnosti membrán na základě separace molekulové hmotnosti (molecular weight cut-off; MWCO) bylo testováno měřením retence specifických látek s definovanou molekulovou hmotností. MWCO je obecně definována jako molekulová hmotnost, kterou je membrána schopna zachytit s více jak 90% účinností (Hamid et al., 2011).

Pro měření byla vybrána látka s označením Dextran D70 (Pharmacia Chemicals, Švédsko), která byla dodána Ústavem makromolekulární chemie se střední číselnou molekulovou hmotností $M_n = 61\,625 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ a váhovou molekulovou hmotností $M_w = 251\,553 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Další testovanou látkou byl polyvinylpyrrolidon (PVP 40) s molekulovou hmotností $40\,000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ a dále PVP 360 s molekulovou hmotností $360\,000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Sigma-Aldrich, USA). Tyto látky byly zvoleny pro jejich definovanou distribuci (v případě dextranového standardu), deklarovanou uniformní distribuci (v případě polyvinylpyrrolidonů) a v neposlední řadě z důvodu blízké velikosti deklarovaného MWCO pro modifikovanou Nadir UP150 membránu (Haberkamp et al., 2007).

Před vlastním filtračním testem byl každý připravený standard míchán magnetickým míchadlem IKA® C-MAG HS 7 (IKA, Německo) s frekvencí $200 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ a těsně před započítáním testu vortexován na zařízení Heidolph D91126 (Heidolph, Německo). Ke zjištění velikosti zvolených látek v demineralizované vodě bylo použito měření pomocí dynamického rozptylu světla na zařízení ZetaSizer nano ZS (Malvern, Velká Británie).

Stanovení separačních vlastností pomocí zvolených standardů probíhalo filtrací přes membrány umístěné ve filtrační cele Amicon 8050. Nejprve probíhala filtrace 250 ml demineralizované vody s mícháním o frekvenci $200 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ při laboratorní teplotě. Hnací silou byl stlačený vzduch

o tlaku 0,7 bar přivedený do zásobní nádrže Millipore 6700P20 o objemu 20 litrů. Následně bylo do filtrační cely přidáno 50 ml roztoku prvního standardu o koncentraci $0,1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Filtrace všech standardů probíhaly při tlaku 0,7 bar, frekvencí míchání $200 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ a při laboratorní teplotě. Permeát byl spolu s nátokem analyzován pomocí metody CHSK_{Cr} s využitím Hach-Lange setů LCK 414 a vyhodnocen pomocí Hach-Lange spektrofotometru DR 6000. Po skončení filtrace byla membrána vyjmuta z filtrační cely a její povrch opláchnut demineralizovanou vodou. Následně došlo k znovuumístění membrány do filtrační cely, přefiltrování 250 ml demineralizované vody a k filtraci dalšího standardu. Po dokončení filtrace všech standardů byly dle výše uvedeného postupu testovány všechny zbývající membrány. Jako referenční byla použita membrána s velikostí póru $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ na bázi nitrátu celulózy s označením NC45.

2.4 Antimikrobiální vlastnosti

Antimikrobiální vlastnosti membrán byly hodnoceny pomocí otiskové metody s použitím kultivačních testů. Hodnocení testů probíhalo počítáním kolonií tvořících jednotek (KTJ) narostlých na agarových plotnách. Pro každou testovanou membránu byly provedeny čtyři kultivační testy se zvyšujícím se kontaktním časem mezi mikroorganismy a povrchem membrány. Nejprve bylo přes každou membránu přefiltrováno 100ml odtoku z ČOV vyředěného fyziologickým roztokem na koncentraci $4,3 \cdot 10^3$ bakterií.

Po filtraci byly membrány inkubovány po dobu 0, 3, 6 a 24 h ve vlhčené cele. Po skončení inkubace byly membrány umístěny na agarovou misku na dobu 30 minut. Kultivace získaných otisků byla provedena v souladu s metodou popsanou v ČSN EN ISO 6222 (75 7821) (Fremrová a Čermák, 2000).

2.5 Test stability stříbra

Množství uvolněného stříbra z modifikovaných membrán bylo měřeno při filtraci demineralizované vody po dobu 8 hodin. Vzorky pro analýzu byly odebrány v čase 0, 30, 120, 240 a 480 minut během filtrace přes ultrafiltrační jednotku LabUnit M10 (TMP 1,0 bar, objemový *cross-flow* tok $3 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$). Před analýzou byly vzorky stabilizovány roztokem kyseliny dusičné s koncentrací 1 hm% (HNO_3 , Penta Chemicals CZ). Celkové množství stříbra na povrchu upravených membrán bylo stanoveno jejich loužením v roztoku kyseliny dusičné s koncentrací 15 hm% za stálého míchání s frekvencí $100 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 24 hodin. Koncentrace uvolněného stříbra byla měřena pomocí metody optické emisní spektroskopie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES) na zařízení Optima 2100 DV (Perkin Elmer, USA).

2.6 Studium morfologie

SEM vizualizace povrchů a řezů

Skenovací elektronový mikroskop (SEM) Carl Zeiss ULTRA Plus (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Německo) byl použit k vizualizaci membránových povrchů i pro vizualizaci vnitřní struktury membrán.

EDX analýza povrchů a řezů

Detektorem sekundárních elektronů vybavený SEM mikroskop byl použit pro analýzu chemického složení povrchů membrán. Jeho vestavěný energeticky disperzní rentgenový (EDX) detektor (Oxford instruments, UK) byl použit pro stanovení množství stříbra vázaného na povrchu membrány. Zjištění přítomnosti částic a jejich přibližné distribuce uvnitř membránové struktury bylo provedeno EDX analýzou řezů modifikovaných membrán.

AFM mikroskopie

Vliv modifikace na hrubost membránového povrchu byl sledován pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM). Pro tento účel byl použit mikroskop Nanowizard III (JPK Instruments, Německo). Analýza byla provedena na ploše $25 \times 25 \mu\text{m}$ v kontaktním režimu. Snímky byly následně vyhodnoceny programem JPK data processing (JPK Instruments, Německo). Stanovena byla jak průměrná drsnost reliéfu, tak i nejvyšší hloubka drsnosti. Zmapované povrchy byly převedeny do trojrozměrného modelu výškového profilu.

2.7 Měření kontaktního úhlu

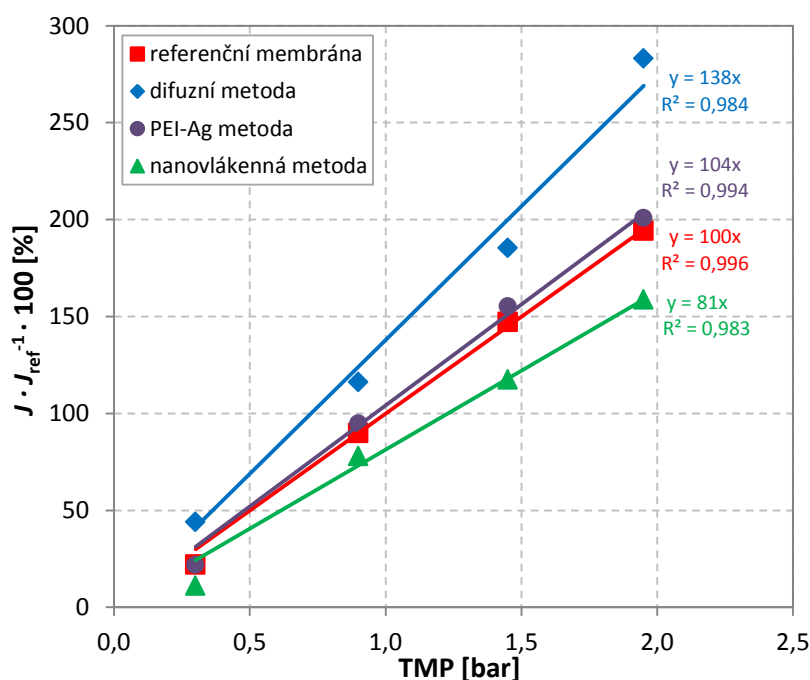
Smáčivost povrchu modifikovaných membrán byla hodnocena na základě měření kontaktního úhlů pomocí přenosného přístroje See System E (Advex Instruments, Česká republika). Testovaná kapka vznikla nanesením $2 \mu\text{l}$ demineralizované vody na povrch membrány. Analyzovaný obrázek byl pořízen vestavěným fotoaparátem s periodou 1 sekunda. Kontaktní úhel vzniklý po ustálení kapky na povrchu membrány byl vyhodnocen softwarem přístroje.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Filtrační testy

a) Test s demineralizovanou vodou

Membrána modifikovaná difuzní metodou vykazovala při filtračních testech nejvyšší propustnosti v celém rozsahu TMP (Obrázek 1). Toto zjištění je v souladu s výsledky měření kontaktního úhlu (viz sekce 3.6) a potvrzuje zvýšení povrchové hydrofility dotací nanočásticemi stříbra. Naopak membrány modifikované nanovlákný se stříbrem vykázaly nejnižší propustnost ze všech testovaných membrán. Nízká propustnost je důsledkem zvýšeného odporu vrchní membránové vrstvy, k čemuž přispívají zejména podmínky během tepelně-tlakové laminace vyžadované pro dostatečnou fixaci nanovláken na povrch membrány (Dolina et al., 2013). Vliv laminace nanovlákněné vrstvy na povrch membrány je zřejmý z obrázků průřezů nanovlákný modifikované membrány (sekce 3.5).

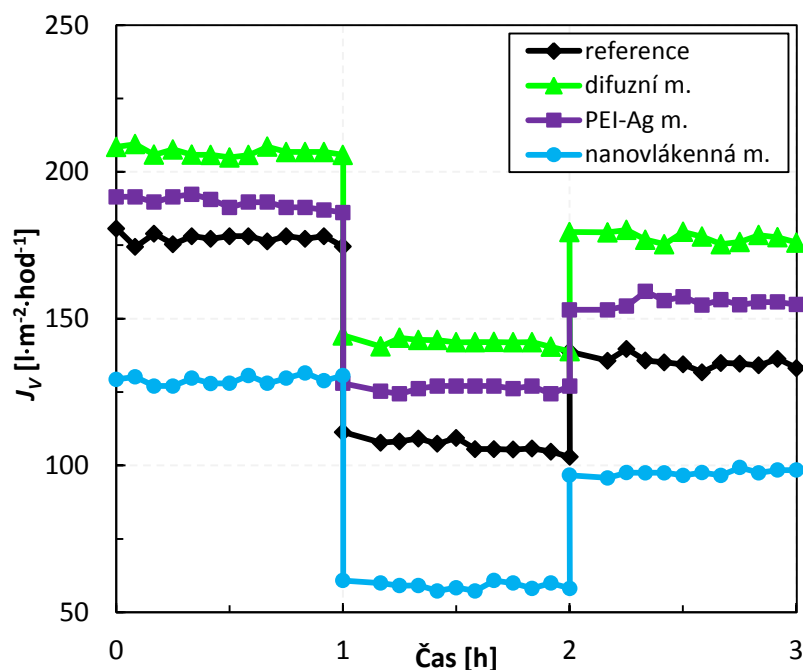


Obrázek 1: Závislost toku $J \cdot J_{ref}^{-1}$ na TMP (s použitím demineralizované vody) modifikovaných membrán vynesena jako % rozdíl od referenční membrány. Vypočtený tok referenční membrány (J_{ref}) při 1 baru představuje 100 %.

V paralelních testech modifikovaných membrán měly referenční membrány permeabilitu $534 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}$ v porovnání s difuzně modifikovanou; $648 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}$ proti membráně modifikované PEI-Ag metodou a $518 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}$ proti membráně modifikované nanovlákný se stříbrem.

b) BSA test

Výsledky filtračního testu s referenčním proteinem BSA prokázaly, že membrány modifikované difuzní a PEI-Ag metodu vykazovaly vyšší hodnoty intenzity objemového toku (J_V) pro demineralizovanou vodu, po přidavku proteinu i po hydraulickém čištění (Obrázek 2). Naproti tomu membrána modifikovaná nanovláknny se stříbrem vykazovala v porovnání s referenční membránou nižší tok.

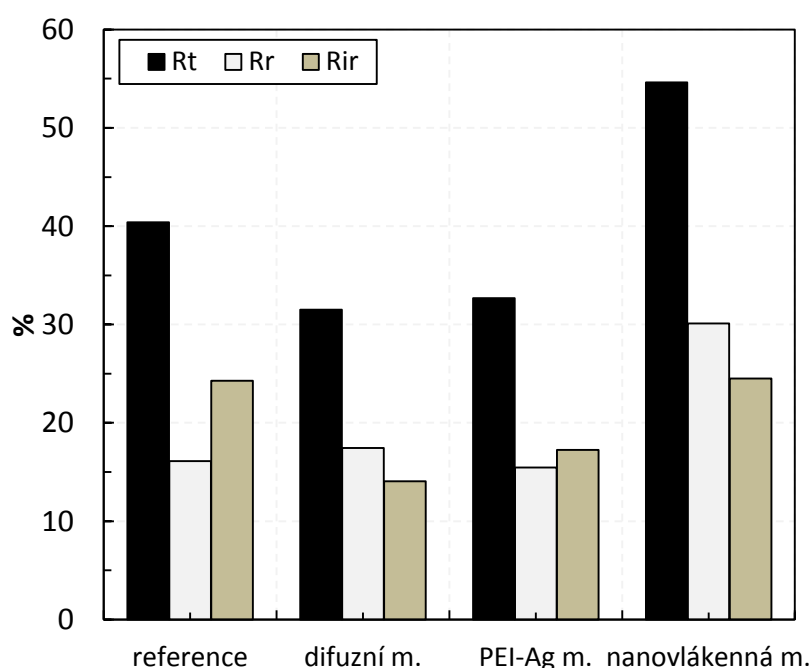


Obrázek 2: Časový vývoj toku referenční a modifikovaných membrán při filtračním testu s BSA proteinem. V čase 0–1 hodina byla filtrovaná demineralizovaná voda, v čase 1–2 hodiny protein BSA a v čase 2–3 hodiny demineralizovaná voda po hydraulickém čištění membrán.

Shrnutí parametrů R_t , R_r , a R_{ir} referenční i modifikovaných membrán spolu s retencí BSA je uvedeno na obrázku 3. Je patrné, že membrány modifikované difuzní metodou vykazovaly v porovnání s referencí nižší tendenci k zanášení a zároveň i nejnižší hodnotu ireverzibilního typu zanášení. Modifikace membrán pomocí PEI-Ag metody měla též pozitivní vliv, hodnota reverzibilního typu zanášení byla sice srovnatelná s referenční membránou, nicméně hodnota ireverzibilního zanášení byla snížena. Naproti tomu, nanovláknenná membrána měla srovnatelnou hodnotu ireverzibilního typu zanášení, ale o 14 % vyšší hodnotu reverzibilního zanášení indukující adsorpční/desorpční vlastnosti nanovláknenné vrstvy.

Zvýšení hydrofility (sekce 3.6) vlivem změny povrchových vlastností, zejména hrubosti na submikronové úrovni (sekce 3.5) vedlo v případě membrán modifikovaných pomocí difuzní a PEI-Ag metody ke snížené tendenci k zanášení.

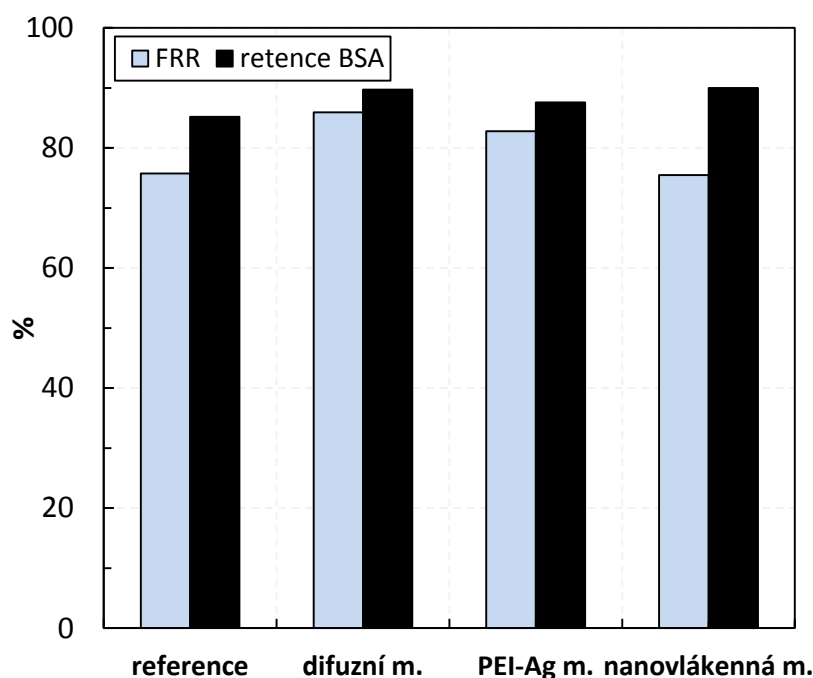
Tento fakt je v souladu se studii jiných autorů, kdy například Zhu et al. (2007), nebo Rahimpour a Madaeni (2010) pozorovali sníženou tendenci k zanášení vlivem zvýšené hrubosti, respektive zvýšené hydrofilnosti membránových povrchů. Příčinou je hydrofilní povrch potlačující usazování BSA molekul na membráně (Mansourpanah et al., 2011), kdy je tedy zabráněno vstupu velkých molekul proteinu mající hydrofobní charakter (Zhu et al., 2014) do hydrofilní vrstvy a tím je i zabráněno podstatnému snížení entropie (Yoshikawa et al., 2006). Absorbovaná vrstva na modifikovaných membránách je tak poměrně tenká a snadněji odstranitelná, což odpovídá i vyšší hodnotě toku (FRR) po hydraulickém, případně chemickém čištění (Yu et al., 2013).



Obrázek 3: Shrnutí parametrů celkového (R_t), reverzibilního (R_r) a ireverzibilního (R_{ir}) zanášení referenční membrány v porovnání s modifikovanými membránami.

Hodnota ireverzibilního zanášení nanovláknenné vrstvy byla srovnatelná s referencí, což dokládá i hodnota FRR pohybující se u obou membrán okolo 76 %. Naproti tomu hodnota FRR pro membránu modifikovanou pomocí difuzní metody dosahovala 86 % a hodnota FRR pro PEI-Ag modifikaci dosahovala 83 % (Obrázek 4). V případě retence BSA došlo u modifikovaných membrán v porovnání s membránou referenční ke zlepšení (Obrázek 4). Membrány modifikované pomocí difuzní a PEI-Ag metody vykazovaly zároveň i snížení ireverzibilního zanášení (R_{ir}). Podle Sun et al. (2009) zvýšená retence BSA zlepšuje odolnost vůči ireverzibilnímu zanášení. Pro membrány modifikované pomocí nanovláken však zlepšená retence BSA vedla jen na srovnatelné hodnoty R_{ir} indikující, že část molekul byla po hydraulickém čištění nevrátně zachycena na nanovláknenném povrchu.

BSA adsorpci v případě PU nanovláken lze vysvětlit vysokou adsorpční kapacitou nanovláken i hydrofobní povahou obou látek. V případě adsorpce BSA na čistý PEI lze přepokládat určitou afinitu díky aminovým skupinám společným pro obě látky. V případě PEI se stříbrem se předpokládá reakce aminových skupin se stříbrem a tedy potlačení případné interakce s BSA. V případě difuzní metody se kromě snížené adsorpce proteinů vlivem zvýšené hydrofilicity další interakce nepředpokládá.

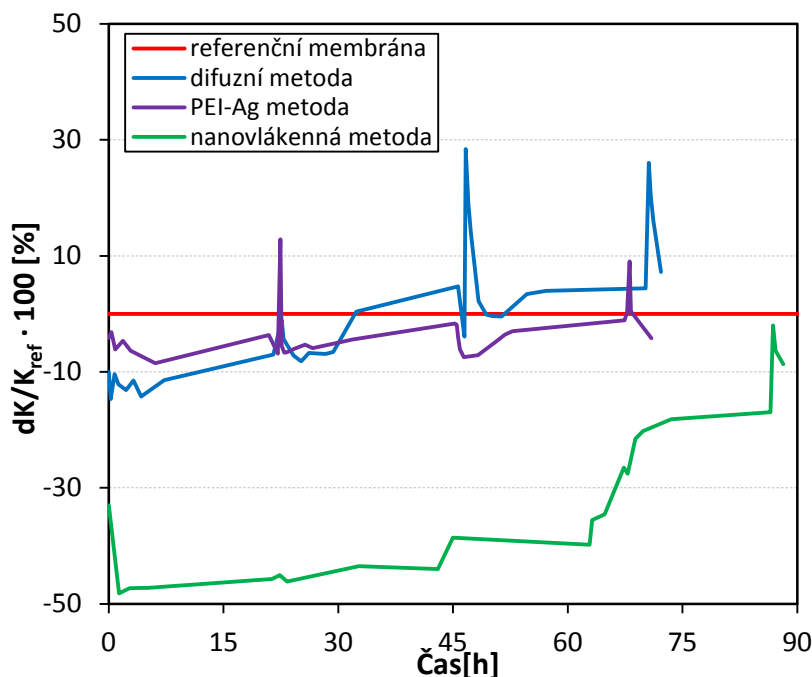


Obrázek 4: Shrnutí poměru toku před a po filtraci (*FRR*) a retence BSA pro referenční a modifikované membrány.

c) Test s odtokem z čistírny odpadních vod

Další hodnocení filtračních charakteristik modifikovaných membrán bylo provedeno filtrací odpadní vody z odtoku ČOV. Při tomto testu bylo u všech modifikovaných membrán pozorováno postupné zvyšování rozdílu permeability ($dK/K_{ref.}$). Srovnání s referenčními membránami v čase je uvedeno na obrázku 5.

Zatímco počáteční permeabilita membrány modifikované difuzní metodou byla přibližně o 10 % nižší než u referenční membrány, na konci experimentu dosáhla o cca 5 % vyšší hodnoty. V případě membrány modifikované PEI-Ag byla počáteční permeabilita o cca 8 % nižší než u referenční membrány, zatímco na konci byla hodnota permeabilit srovnatelná.



Obrázek 5: Rozdíl permeabilit (dK/K_{ref} ; %) modifikovaných membrán v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s odtokem z čistírny odpadních vod.

Níže propustnost modifikovaných membrán na začátku filtračního testu mohla být způsobena rychlou fixací sloučenin a částic z reálné odpadní vody, zejména těch, které jsou velikostí podobné průměru pórů. Membránové modifikace povrchovými imobilizacemi a to buď s použitím polyelektrolytů (Ahmed et al., 2013; Kull et al., 2005) nebo povrchových imobilizérů (Tang et al., 2014) mohou způsobit změny v efektivní velikosti i v distribuci velikosti pórů.

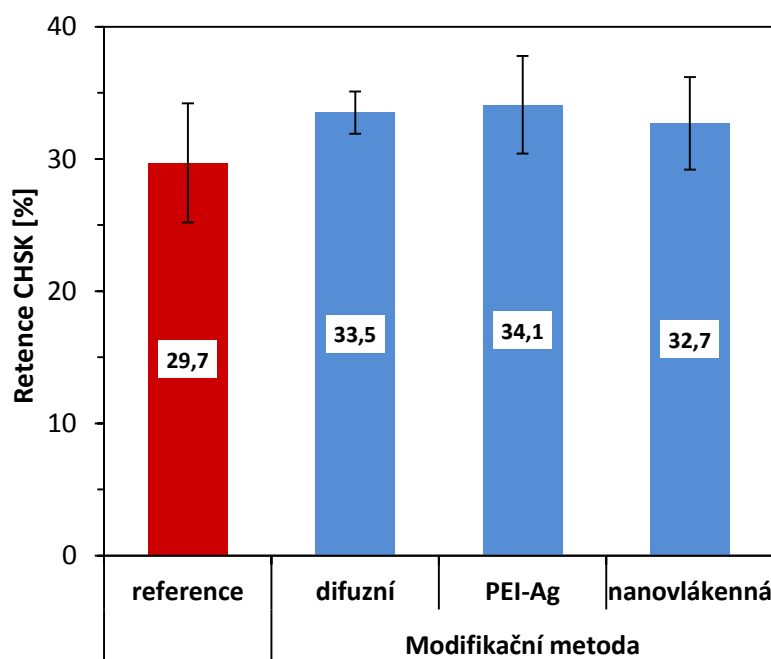
V případě difuzní a PEI-Ag modifikace mohlo dojít v první fázi filtrační zkoušky k nanesení tenké vrstvy a tedy k interakci nebo i částečné fixaci mezi sloučeninami z odpadní vody a povrchem membrány. Se zvyšující se dobou filtrace však začala být biologická interakce a formace filtračního koláče výraznější pro referenční membrány. Vysvětlením tohoto rozdílného chování jsou antimikrobiální a zlepšené hydrofilní vlastnosti modifikovaných membránových povrchů. Ve srovnání s referenčními bylo u modifikovaných membrán pozorováno značné zlepšení filtračních charakteristik v průběhu času.

Nanovláknny modifikované membrány vykazovaly nejníže propustnost na počátku filtračního testu, až o 50 % horší než u membrán referenčních. Tyto membrány zároveň vykazovaly nejníže hodnoty permeability v průběhu zkoušky s demineralizovanou vodou (Obrázek 1). Nízká propustnost byla pravděpodobně způsobena vyšší tlakovou ztrátou způsobenou laminováním nanovláknenné vrstvy, nedokonalostmi ve struktuře pórů nebo jejich částečnou blokadou (Judd, 2010) a tím pádem i snížením efektivní porozity.

Prudký pokles propustnosti na začátku zkoušky by se dal vysvětlit rychlou fixací přítomných organických látek, které preferenčně uplývají na povrchu s nanovláknou. Díky zvýšené drsnosti povrchu nanovlákněné membrány dochází ke snazšímu přilnutí buněk a nerozpuštěných látek (sekce 3.5). Vzhledem ke zlepšování propustnosti nanovláknou modifikované membrány v pozdějších fázích filtračního testu, bylo rozhodnuto o jeho prodloužení. Výrazná změna v rozdílu permeabilit byla způsobena odstraněním části vzniklého filtračního koláče před zpětným proplachem.

Během filtračních testů byl hodnocen i účinek periodického proplachování, přičemž byl účinnější zpětný proplach modifikovaných membrán (Obrázek 5). Nízká reakce na zpětný proplach u nanovlákněných membrán byla důsledkem větší drsnosti povrchu membrány, stejně tak jako i fixací organických látek uvnitř struktury nanovlákněné vrstvy. Nicméně, na konci experimentu bylo pozorováno zlepšení, kdy byla vrstva filtračního koláče vytvořená v průběhu experimentu snadno odstraněna zpětným proplachem pravděpodobně v důsledku výraznějších antimikrobiálních vlastností (Obrázek 5). Je tedy možné říct, že modifikované membrány (s výjimkou nanovlákněné modifikace se stříbrem) vykazovaly vyšší tendenci k odstraňování povrchového zanášení.

Membrány modifikované nanovláknou se stříbrem nevykázaly žádné zřetelnější zlepšení v retenci organických sloučenin, zatímco membrány modifikované difuzní a PEI-Ag metodou vykazovaly mírné zlepšení (Obrázek 6). Pozorované změny však byly v rámci chyby měření $CHSK_{Cr}$.



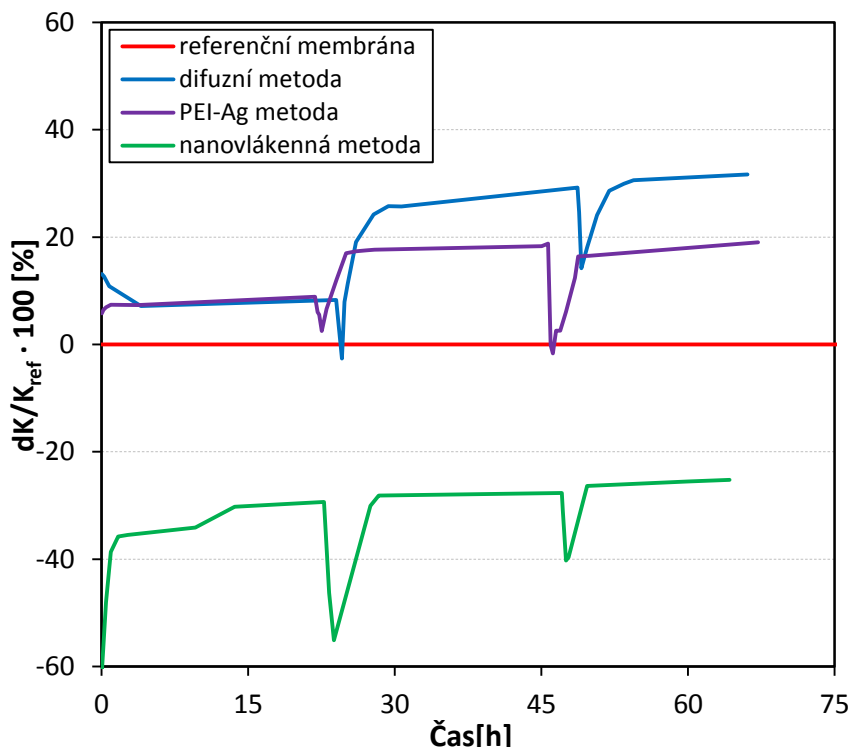
Obrázek 6: Střední hodnota $CHSK_{Cr}$ retence referenční a modifikovaných membrán. $CHSK_{Cr}$ nátok (odtok z ČOV) byla $25,6 \pm 0,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Před dalším filtračním testem byl přidán aktivovaný kal, odebraný ze shodné čistírny odpadních vod, do vstupní nádrže s cílem zvýšit obsah nerozpuštěných látek na koncentraci přibližně $250 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Filtrace s vyšším obsahem nerozpuštěných látek trvala dalších 60 hodin a oplach povrchu membrány byl proveden dvakrát v průběhu testu.

d) Test se zvýšeným obsahem nerozpuštěných látek

Stejně jako v předchozích filtračních testech byla propustnost membrán modifikovaných difuzní a PEI-Ag metodou zřetelně vyšší ve srovnání s referencí. Membrána modifikovaná difuzní metodou měla na konci testu propustnost o cca 30 % vyšší a membrána PEI-Ag o cca 20 % vyšší než membrána nemodifikovaná (Obrázek 7).

Na rozdíl od těchto dvou, měla membrána modifikovaná nanovlákný se stříbrem výrazně nižší propustnost a to i ve srovnání s membránou referenční. Jak již bylo uvedeno, byl příčinou nižší permeability zvýšený odpor transportní vrstvy s nanovlákný způsobený podmínkami tepelně-tlakové laminace společně se zvýšenou drsností povrchu nanovláken. Ta spolu s velkým specifickým povrchem poskytuje mnoho míst pro rychlé uchycení volných bakterií, malých vložek aktivovaného kalu nebo jiných frakcí přítomných na vstupu.



Obrázek 7: Rozdíl permeabilit (dK/K_{ref} ; %) modifikovaných membrán v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přidavkem aktivovaného kalu se zvýšeným obsahem nerozpuštěných látek (cca $250 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

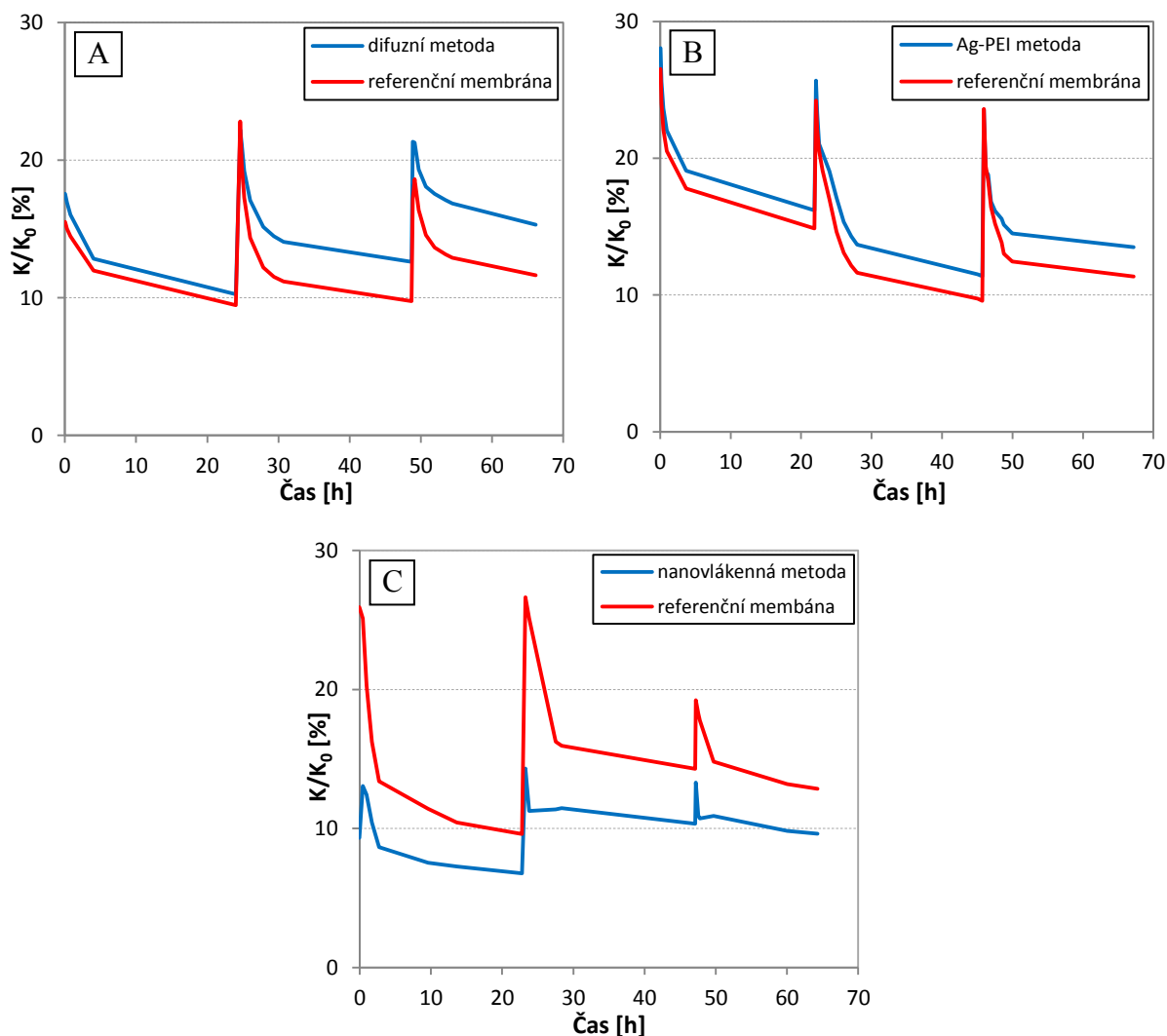
Ve skutečnosti mají bakterie i vločky kalu stálou tendenci přichytit se na zdrsňený povrch, i když povrch sám má antimikrobiální vlastnosti. V tomto testu byla část permeátu a retentátu recirkulována. Rychlost *cross-flow* proudění mohla zvyšovat míru frakcionace vloček, zatímco částečná recirkulace zvyšovala relativní množství malých frakcí, čímž se významně zvyšovala rychlost zanášení a to zejména u membrán s drsnými povrchy.

Naproti tomu hladší povrchy membrán modifikovaných difuzní a PEI-Ag metodou vykazují menší tendenci k zanášení povrchu, způsobenou jak nižší adhezí, tak i fixací organických látek. Ty lze pak snadněji odstranit působením příčného (tangenciálního) toku.

Permeabilita membrán modifikovaných nanovláknem se stříbrem vykazovala mírně lepší trend v čase, avšak na konci pokusu dosahovala o cca 25 % nižší hodnoty než u referenční membrány (Obrázek 7). Všechny modifikované membrány prokázaly postupné zlepšování propustnosti v průběhu času, kdy se stále více projevovali nové povrchové vlastnosti.

Kompletní výsledky filtračních testů s aktivovaným kalem jsou znázorněny pomocí podrobných grafů na obrázku 8 (A–C). V jednotlivých grafech je zobrazen vývoj permeability pro všechny modifikované a referenční membrány v průběhu času dělený počáteční hodnotou permeability (K_0) referenční membrány příslušného testu.

Po prvním ze dvou zpětných proplachů se zlepšila propustnost membrány modifikované difuzní metodou, stejně tak jako i pro membrány modifikované PEI-Ag metodou. Naopak, první zpětný proplach neměl téměř žádný vliv na membrány modifikované nanovláknem. Pravděpodobně v důsledku zdrsňeného povrchu způsobujícího pevnou fixaci foulingových látek ve vnitřní struktuře membrány. Druhý zpětný proplach měl pouze nepatrný vliv na propustnost ve všech případech. Absolutní hodnoty permeability pro membrány modifikované difuzní a PEI-Ag metodou však zůstaly po druhém zpětném proplachu vyšší nebo srovnatelné s referenční membránou (Obrázek 7 a 8). V případě membrán modifikovaných nanovláknem se stříbrem byla hodnota permeability v průběhu experimentu nižší než u referenční.



Obrázek 8: Hodnoty permeabilit (K) v procentech pro membrány modifikované A) difuzní, B) PEI-Ag, C) nanovláknennou metodou v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přidavkem aktivovaného kalu.

3.2 Měření dělicí schopnosti membrán

MWCO analýzy neprokázaly zhoršení separačních vlastností modifikovaných membrán (Tabulka 1). V případě membrán modifikovaných s nanovláknem došlo k nepatrnému zlepšení separačních vlastností pro referenční látku PVP 360. Naproti tomu 0,45 μm filtr, který sloužil jako srovnávací, zvolené standardy neseperoval. Retenci jednotlivých referenčních proteinů lze doložit i měřením velikosti pomocí metody rozptylu světla. Zatímco PVP 40 i PVP 360 mají téměř uniformní distribuci, reference D70 obsahuje jen 62 % frakce přibližně odpovídající udávané molekulové hmotnosti (Tabulka 1). Ačkoliv jsou si tedy reference PVP 40 a D70 na základě měření rozptylu světla velikostně blízké, D70 je zadržován více než PVP 40 z důvodu vyššího zastoupení větších frakcí u standardu D70.

Tabulka 1: Výsledky měření retence (%) jednotlivých standardů pro referenční (0,45 μm) a modifikované membrány.

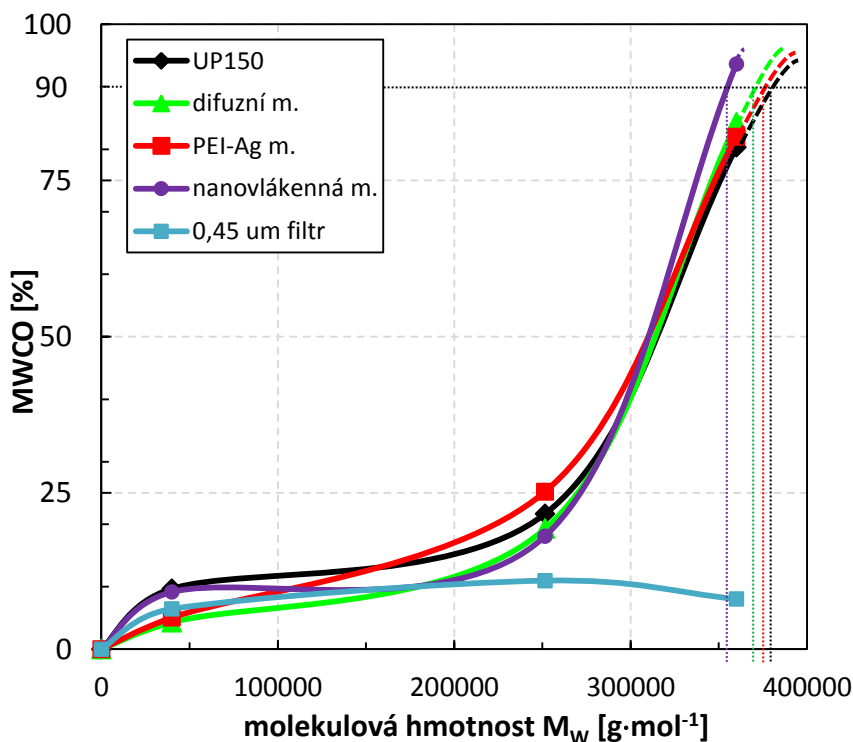
| membrána/standard | PVP 40 | D70 | PVP 360 |
|---------------------------------------|--------|---------|---------|
| reference | 9,7 | 21,7 | 80,3 |
| PEI-Ag m. | 5,1 | 25,2 | 82,0 |
| difuzní m. | 4,3 | 19,3 | 84,3 |
| nanovláknenná m. | 9,2 | 18,1 | 93,7 |
| 0,45 μm | 6,5 | 11,0 | 8,0 |
| Mw [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$] | 40 000 | 252 000 | 360 000 |

Naproti tomu, separaci PVP 360 lze přisoudit dělicím schopnostem membránového povrchu, jelikož tento protein obsahuje 96 % frakce o velikosti ~ 58 nm (Tabulka 2) zhruba odpovídající udávané molekulové hmotnosti této látky. Velikost pórů deklarovaná výrobcem pro UP150 membrány je $\sim 0,04$ μm (~ 150 kDa), nicméně z měření dělicích schopností vyplynula velikost pórů větší, dosahující hodnoty $\sim 0,06$ μm .

O retenci zvolených referencí nerozhoduje pouze tvar zaujímaný molekulami polymerního řetězce ve vodném prostředí, ale také afinita mezi membránou a molekulami v roztoku závisující například na hydrofilitě/hydrofobitě membrány a molekul v roztoku či na interakci funkčních skupin membrány a zadržovaných molekul. V této práci byla u hydrofilnějších povrchů modifikovaných membrán pozorována nezměněná retence pro reference na bázi polyvinylpyrrolidonů. Ani v tomto ohledu tedy nedošlo ke zhoršením separačních vlastností modifikovaných membrán. Afinita zbytkového polyvinylpyrrolidonu byla snížena filtrací demineralizované vody sloužící k vyplavení zbytkového množství tohoto pórtvorného činidla.

Zlepšenou retenci u membrán modifikovaných prostřednictvím nanovláken se stříbrem lze přisoudit dodatečné laminaci na povrch, která mohla způsobit částečný tok rozpouštědla a tím i částečné zaslepení pórové struktury. Další možností je komprese membránové struktury vedoucí ke snížení efektivní velikosti pórů.

Ve všech případech však byla reálná hodnota MWCO ($\sim 370\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) horší, než je uváděno výrobcem pro tento typ membrány ($\sim 150\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) (Obrázek 9). Příčinou může být výrobní rozptyl či nutnost delší tlaková komprese pro dosažení požadovaných separačních vlastností.

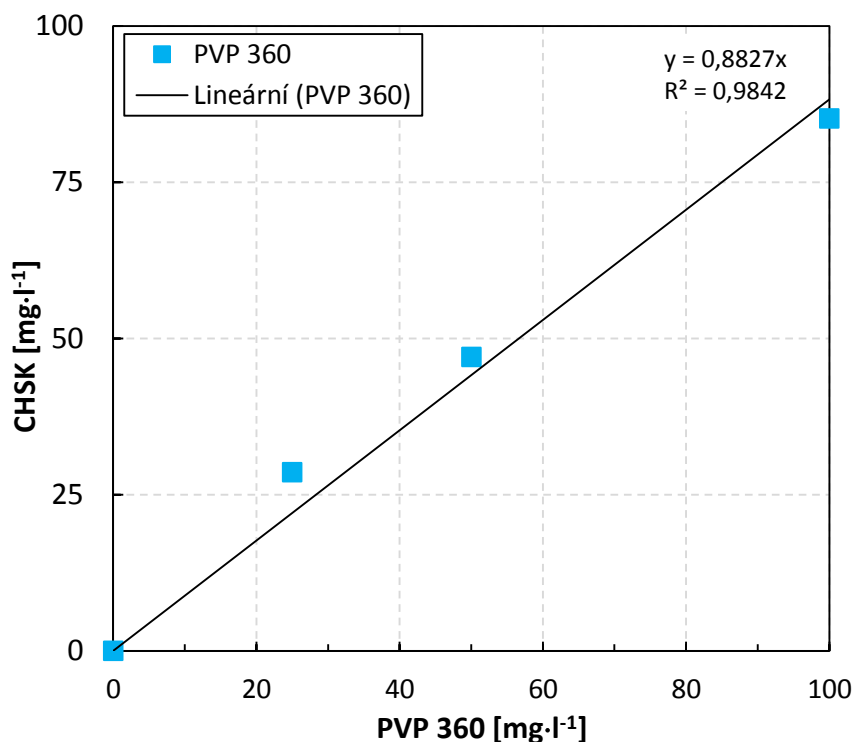


Obrázek 9: Graf závislosti retence (%) na molekulové hmotnosti s grafickým vyznačením 90% (MWCO) pro jednotlivé membrány.

Tabulka 2: Výsledky měření distribuce frakcí jednotlivých standardů pomocí metody rozptylu světla. Tabulka udává průměrnou hodnotu ($\bar{\phi}$) a plochu (S) vrcholů frakcí.

| standard (měření) | $\bar{\phi}$ vrcholu 1 [nm] | $\bar{\phi}$ vrcholu 2 [nm] | $\bar{\phi}$ vrchol 3 [nm] | S vrcholu 1 [%] | S vrcholu 2 [%] | S vrcholu 3 [%] |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| PVP 40 (1) | 12,0 | 147,4 | 3,2 | 84 | 12 | 4 |
| PVP 40 (2) | 12,3 | 215,0 | 0 | 88 | 12 | 0 |
| PVP 40 (3) | 13,1 | 404,3 | 0 | 84 | 16 | 0 |
| PVP 360 (1) | 55,3 | 11,0 | 0 | 95 | 5 | 0 |
| PVP 360 (2) | 57,7 | 9,1 | 0 | 97 | 3 | 0 |
| PVP 360 (3) | 61,9 | 4849 | 2,4 | 96 | 4 | 0 |
| D70 (1) | 13,5 | 202,1 | 4,6 | 64 | 35 | 1 |
| D70 (2) | 13,5 | 252,5 | 3,8 | 61 | 38 | 0 |
| D70 (3) | 13,1 | 252,4 | 3,9 | 60 | 39 | 1 |

Hodnoty CHSK pro měřený standard PVP 360 ve zvoleném rozsahu 0–100 mg·l⁻¹ byly téměř lineární (Obrázek 10), proto bylo měření MWCO založené na bilanci obsahu organických látek v nátoku a permeátu pomocí CHSK_{Cr} opodstatněné. Měření byla prováděna s použitím LCK 414 setu a s dvojnásobným ředěním.



Obrázek 10: Výsledky měření CHSK v závislosti na koncentraci PVP 360 a proložení lineární aproximací.

3.3 Antimikrobiální vlastnosti

Antimikrobiální kultivační testy potvrdily inhibiční vlastnosti stříbra vázaného na povrchy všech modifikovaných membrán. Na rozdíl od nemodifikované (referenční) membrány, která projevila nulovou inhibici po celou dobu zkoušky, byl antimikrobiální účinek u modifikovaných membrán zřejmý již po 3 hodinách kontaktu mikroorganismů reálné odpadní vody s povrchem membrány (Tabulka 3). Modifikované membrány vykazovaly téměř 100 % inhibici po 24 hodinách kontaktu. Hodnoty inhibice pro membrány modifikované pomocí PEI-Ag byly mírně nižší v porovnání s membránami modifikovanými difuzní metodou i pomocí nanovláken.

Membrána modifikovaná difuzní metodou měla jak nejsilnější inhibiční vlastnosti, tak i nejvyšší propustnost (Obrázek 1, 2, 5 a 7) ve všech filtračních testech. Ačkoli však tato membrána vykazovala nejsilnější antimikrobiální vlastnosti, celkové rozdíly zjištěné v antimikrobiálních testech byly zanedbatelné.

Tabulka 3: KTJ analýza antimikrobiálních vlastností modifikovaných membrán.

| kontaktní čas [h] | referenční membrána | | difuzně modif. membrána | | PEI-Ag modif. membrána | | nanovlákně modif. membrána s Ag | |
|-------------------|---------------------|--------------|-------------------------|--------------|------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|
| | KTJ | inhibice [%] | KTJ | inhibice [%] | KTJ | inhibice [%] | KTJ | inhibice [%] |
| 0 | >1 000 | – | >1 000 | – | >1 000 | – | >1 000 | – |
| 3 | >1 000 | – | 492 | 89 | 483 | 89 | 402 | 91 |
| 6 | >1 000 | – | 156 | 96 | 504 | 88 | 71 | 98 |
| 24 | >1 000 | – | 34 | 99 | 212 | 95 | 73 | 98 |

Po 3 hodinách inkubace vykázala nejsilnější inhibici membrána modifikovaná nanovláknky se stříbrem, pravděpodobně díky nejvyššímu obsahu stříbra vázaného na jejím povrchu (Tabulka 4, sekce 3.4). Přestože membrána modifikovaná nanovláknky prokázala výrazné antimikrobiální vlastnosti, měla ze všech nejnižší propustnost. Díky zvýšené hrubosti povrchu a tedy snadnější adhezi mikroorganismů, byla rychleji kolonizována, což vedlo k biologickému znečištění membránového povrchu.

K úplnému vyhodnocení antimikrobiálních vlastností i účinku povrchu membrán na mikroorganismy by měly být provedeny další studie založené například na respirometrii nebo molekulárně genetických metodách.

3.4 Test stability stříbra

EDX analýza provedená po difuzní modifikaci odhalila 2,9 hm% stříbra (množství stříbra vztaženého ke všem prvkům přítomným na povrchu) navázaného na povrchu membrány. Membrána modifikovaná pomocí PEI-Ag měla na svém povrchu 2,1 hm% navázaného stříbra. Naproti tomu, povrch membrány modifikované nanovláknky se stříbrem obsahoval 19,5 hm%, tedy podstatně více než ostatní testované membrány.

Membrána modifikovaná difuzní metodou vykázala výbornou stabilitu nanočástic stříbra, kdy se po 8 hodinách testování s demineralizovanou vodou vyplavilo pouze 1,8 hm% z celkového množství stříbra (Tabulka 4). Membrána modifikovaná PEI-Ag vykazovala pouze mírný pokles obsahu stříbra během testu, kdy došlo k 1,8% ztrátě stříbra po 4 hodinách a k 2,8% po 8 hodinách. V případě membrány modifikované nanovláknky se stříbrem došlo k poklesu o 1,4% po 30 minutách a k 3,2% poklesu na konci testu.

Tabulka 4: Kinetika vyplavování stříbra ($c(\text{Ag})$; $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$) a ztráty stříbra (% z celkového obsahu) modifikovaných membrán v čase.

| t [h] | difuzně modif. membrána | | PEI-Ag modif. membrána | | nanovlákně modif. membrána s Ag | |
|-----------------------|--|--------------------|--|--------------------|--|--------------------|
| | $c(\text{Ag})$ [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | ztráta stříbra [%] | $c(\text{Ag})$ [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | ztráta stříbra [%] | $c(\text{Ag})$ [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | ztráta stříbra [%] |
| 0,0 | <0,07 | 0,0 | <0,07 | 0,0 | <0,07 | 0,0 |
| 0,5 | $0,34 \pm 0,09$ | 0,7 | $0,00 \pm 0,00$ | 0,0 | $23,1 \pm 0,6$ | 1,4 |
| 2,0 | $0,42 \pm 0,17$ | 0,8 | $0,00 \pm 0,00$ | 0,0 | $38,2 \pm 1,1$ | 2,3 |
| 4,0 | $0,79 \pm 0,19$ | 1,5 | $0,54 \pm 0,10$ | 1,8 | $46,2 \pm 3,3$ | 2,8 |
| 8,0 | $0,92 \pm 0,32$ | 1,8 | $0,87 \pm 0,33$ | 2,8 | $52,9 \pm 4,7$ | 3,2 |
| celkový obsah stříbra | $50,34 \pm 4,02$ | – | $30,45 \pm 5,34$ | – | $1638,1 \pm 17,0$ | – |

Přítomnost stříbra na povrchu modifikovaných membrán byla potvrzena jak mikroskopickou tak i ICP analýzou. SEM snímky dále prokázaly vymytí větších částic stříbra po filtračním testu se zvýšenou koncentrací nerozpuštěných látek a naopak setrvání malých částic homogenně rozmístěných na povrchu. EDX snímky též dokládají homogenní rozmístění nanočástic stříbra na povrchu i po skončení filtračních testů (Obrázek 11).

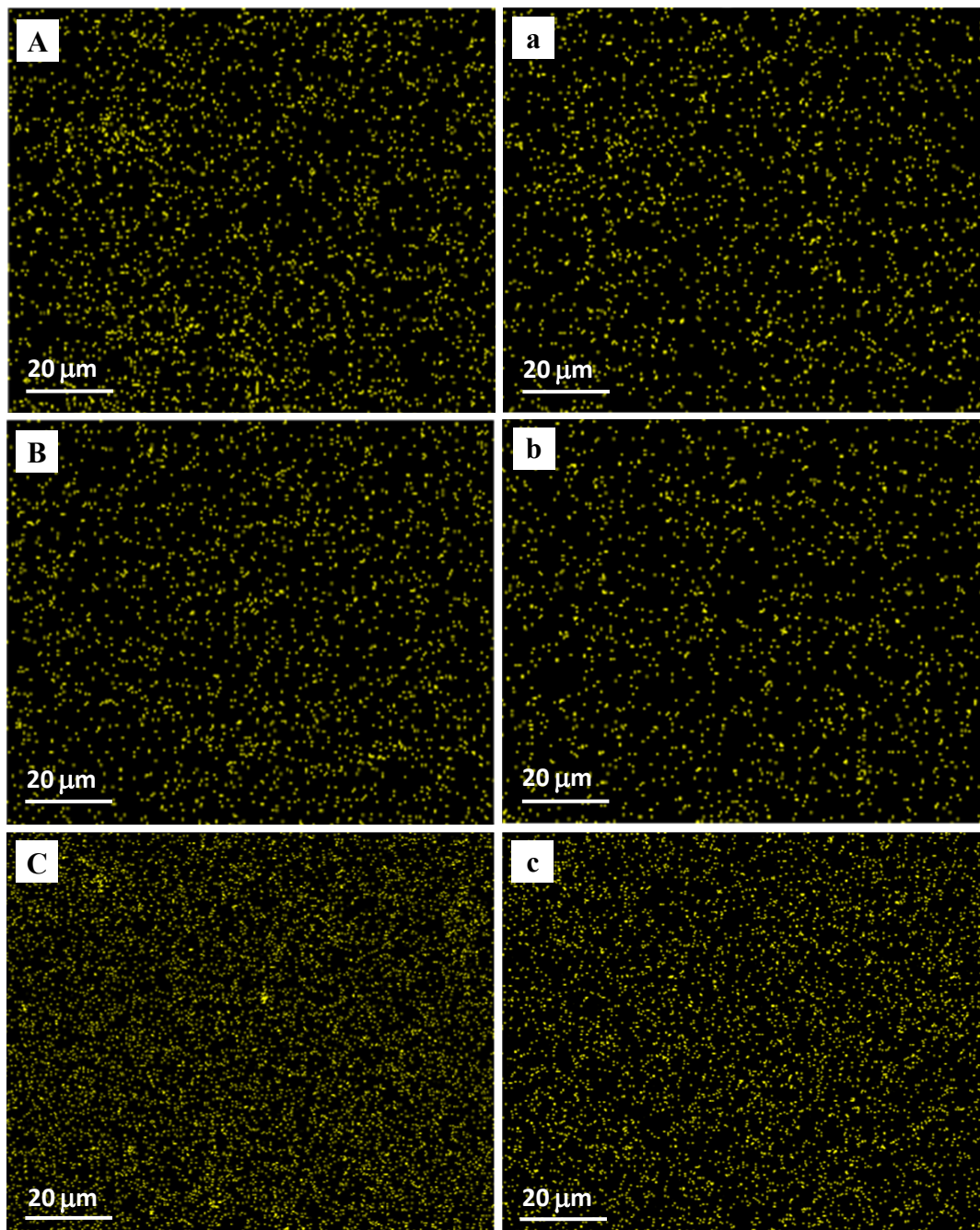
3.5 Studium morfolgie

SEM vizualizace povrchů a řezů

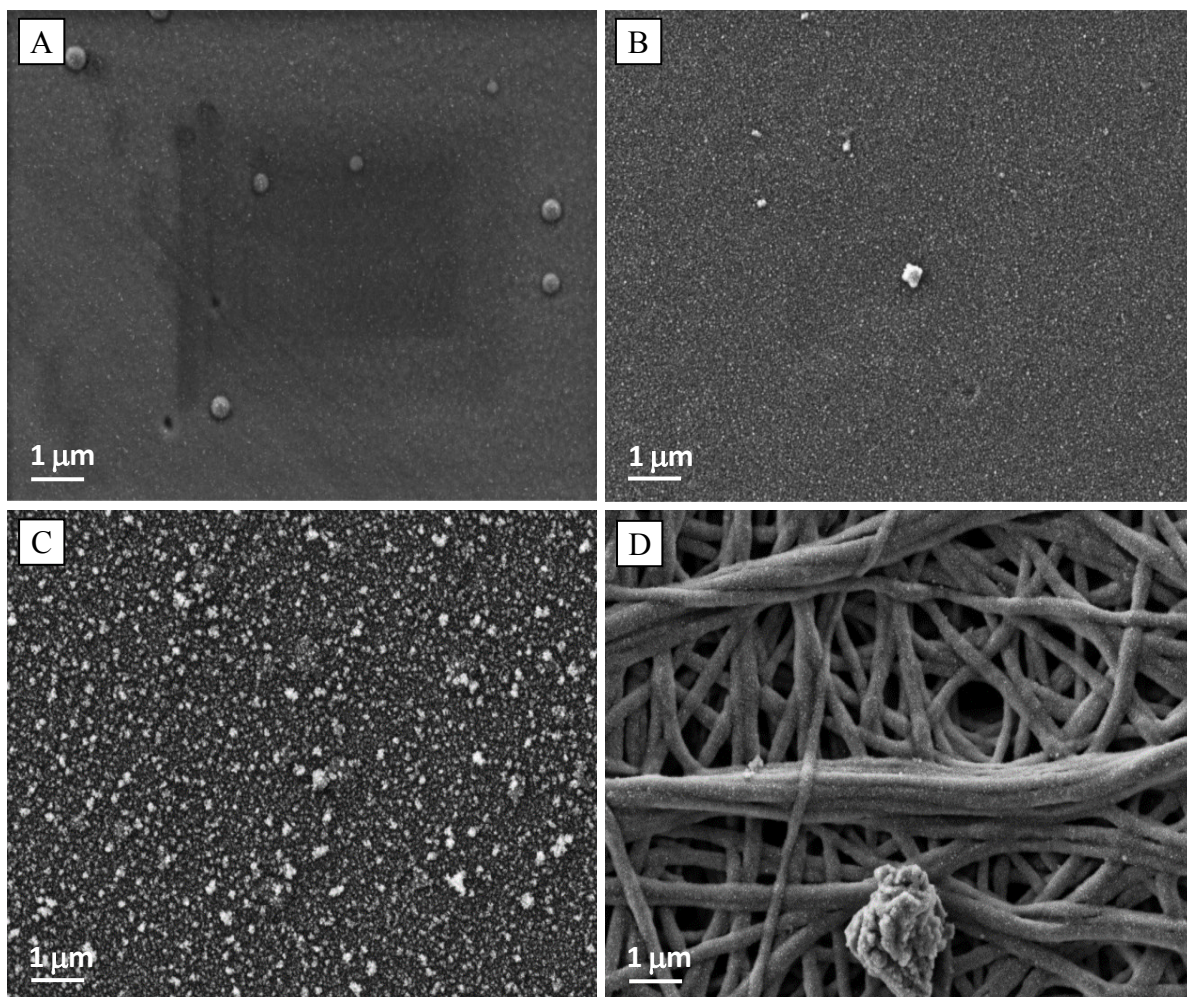
Nanočástice stříbra byly jasně detekovatelné u všech modifikovaných membrán (Obrázek 12B-D). Membrána modifikovaná difuzní metodou (Obrázek 12B) byla povrstvena menšími nanočásticemi než membrána modifikovaná PEI-Ag metodou (Obrázek 12C). Důvodem by mohla být jednak PEI imobilizace na povrchu membrány, ale i nedostatečný oplach povrchu membrány demineralizovanou vodou během procesu modifikace. Další fáze výzkumu by proto měly být cíleny na optimalizaci oplachu povrchu membrán po navázání PEI před přidáním prekurzoru stříbra.

Při větším zvětšení (Obrázek 13) byly u modifikovaných membrán detailněji pozorovány částicové struktury v nanoměřítku spolu s výrazným zvýšením drsnosti povrchu v porovnání s referencí (Obrázek 13A). Změna drsnosti membrán modifikovaných pomocí metody PEI-Ag byla vyšší než v případě difuzní membrány (Obrázek 13C). Naopak, difuzně modifikované membrány vykazovaly rovnoměrné rozložení částic bez výraznější tvorby agregátů (Obrázek 13B). Tato pozorování jsou v souladu s výsledky AFM mikroskopie indikující změny

hrubosti pro difuzně a PEI-Ag modifikované membrány. U referenční membrány byly pozorovány částičky prosvítající na povrch membrán, které lze vzhledem ke změřené selektivitě membrán (sekce 3.2) přisoudit polyvinylpyrolidonovým částicím.



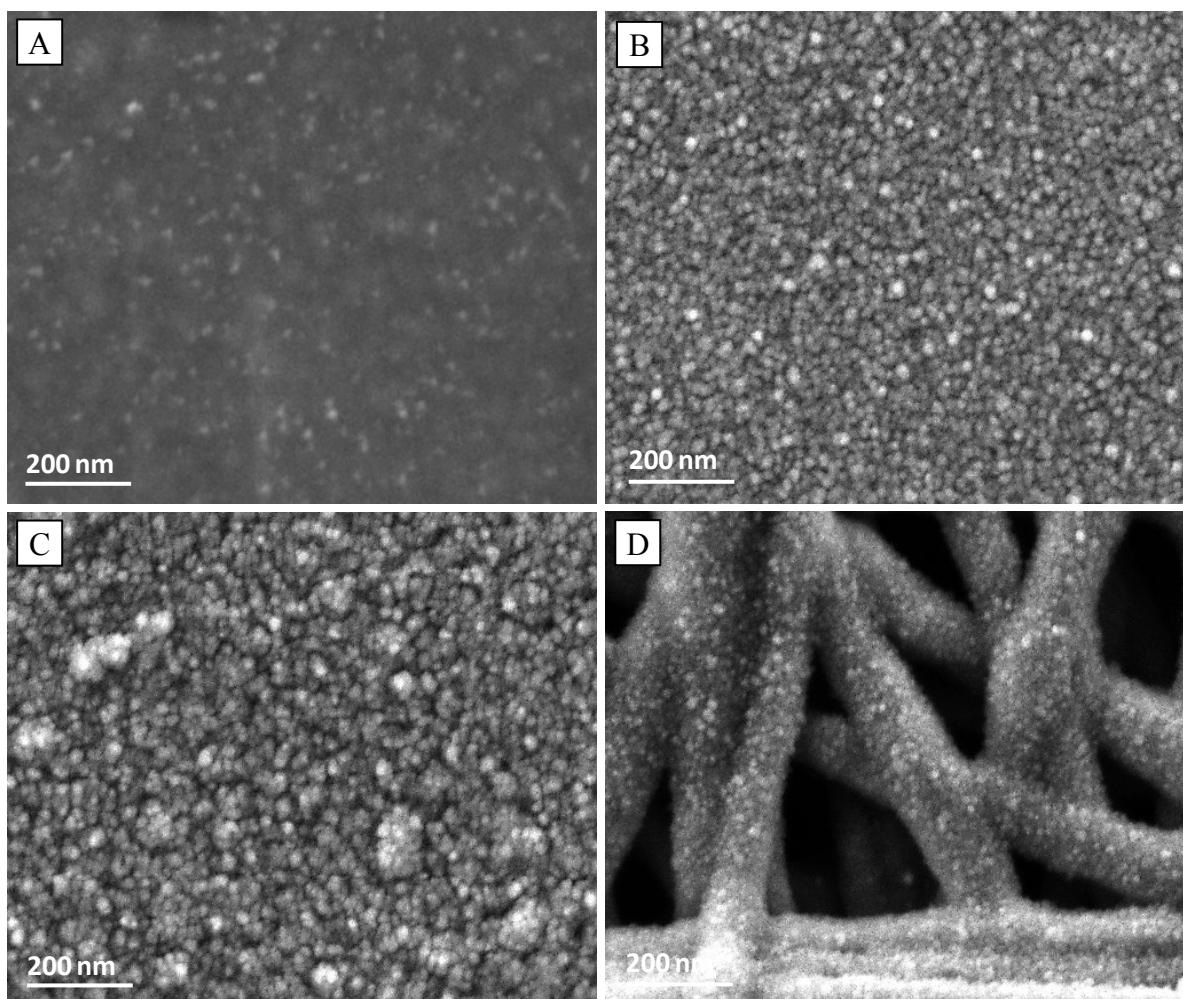
Obrázek 11: Distribuce nanočástic stříbra ($AgL\alpha$) na povrchu membrán před (A–C) a po filtraci (a–c). Membrány modifikované A & a) difuzní metodou; B & b) PEI-Ag metodou; C & c) nanovláknny se stříbrem; zvětšení 1 000×.



Obrázek 12: SEM snímky povrchů membrán po modifikaci se zvětšením 10 000×.
A) referenční; B) difuzní metodou; C) PEI-Ag metodou; D) nanovláknny se stříbrem.

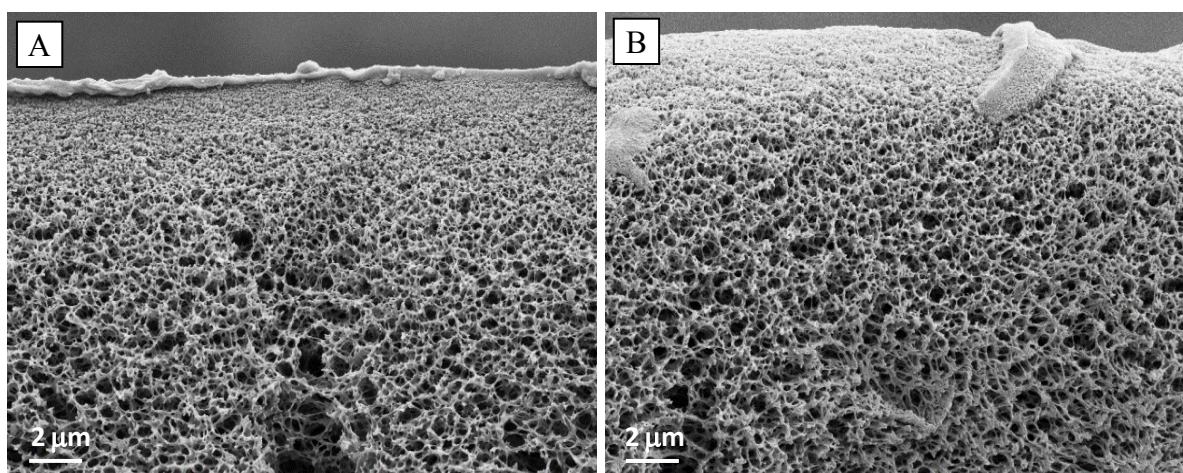
Největší změnu povrchové morfologie, vykazovala membrána modifikovaná pomocí nanovláken se stříbrem. Tato membrána měla nejnižší propustnost, přičemž hrubý povrch měl také za následek snadnější adhezi mikroorganismů vedoucí k rychlejší kolonizaci povrchu, přestože se pro tento typ membrán prokázaly výrazné antimikrobiální vlastnosti. V porovnání s membránami modifikovanými difuzní a PEI-Ag metodou byly účinky zpětného proplachu u membrány modifikované nanovláknny minimální, což též potvrzuje hluboké zanášení nanovláknenné vrstvy.

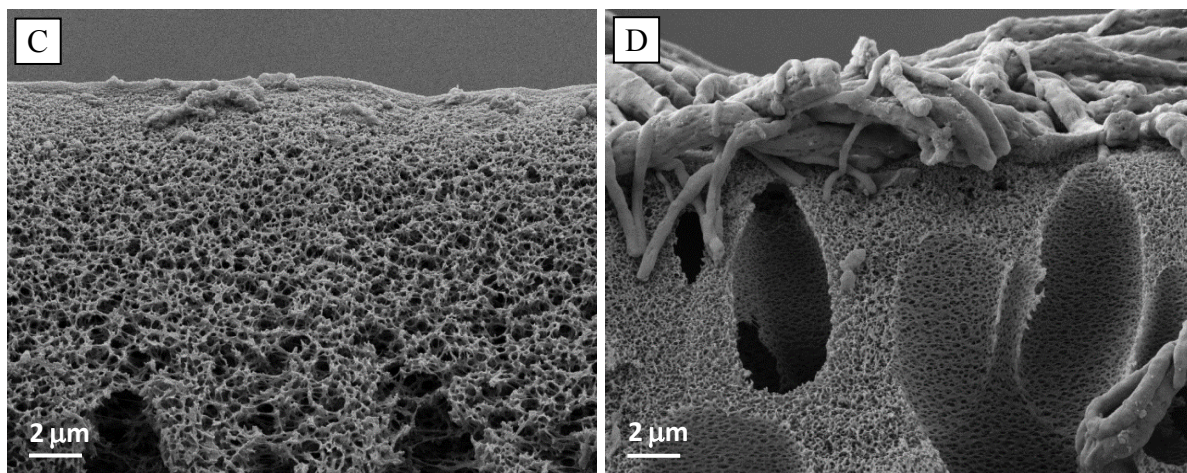
Modifikace pomocí difuzní a PEI-Ag metody neměly vliv na morfologii řezů membrán (Obrázek 14A-C). Membrány připravené metodou PEI-Ag vykazovaly při menším zvětšení drobné změny morfologie ve svrchní vrstvě (Obrázek 15C) nicméně způsobené nedokonalým zlomením v kapalném dusíku.



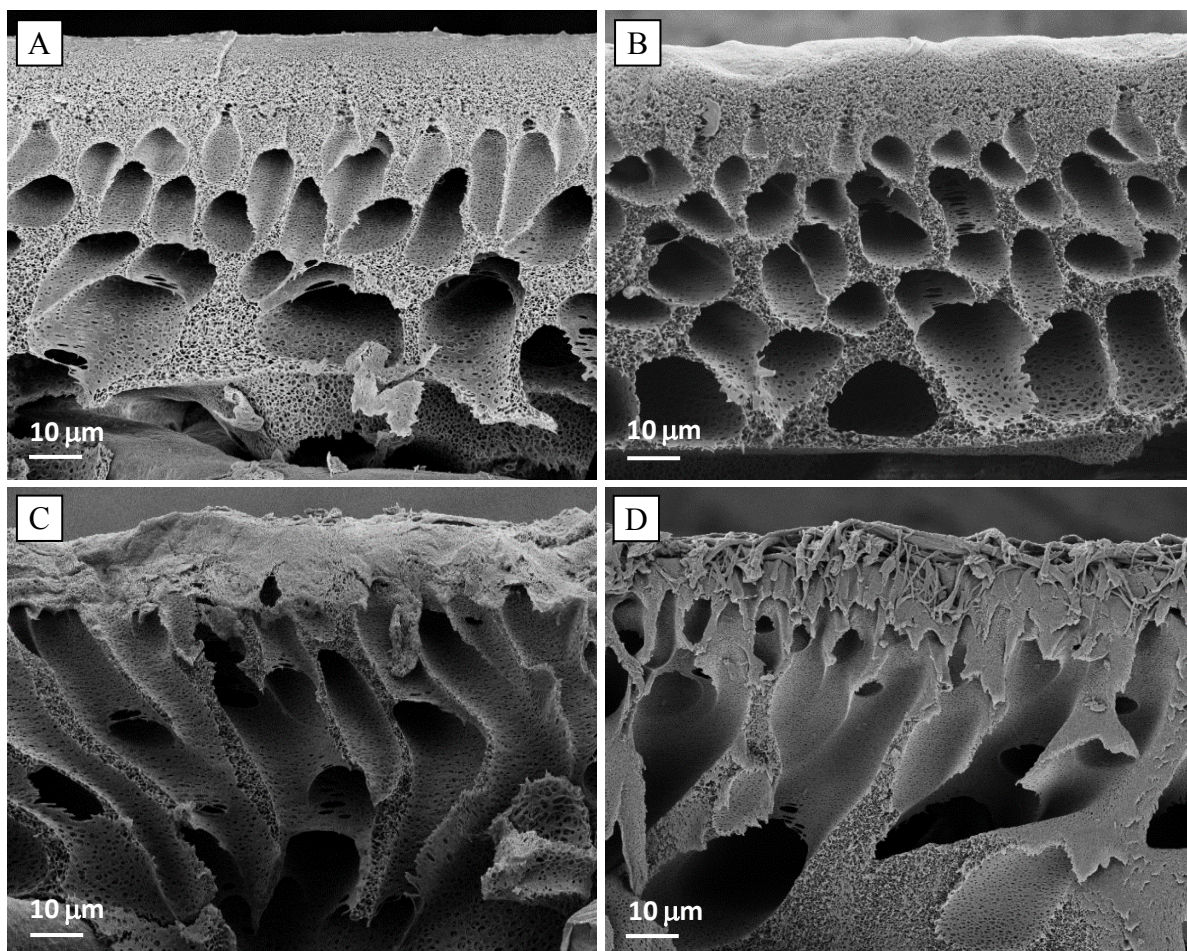
Obrázek 13: SEM snímky povrchů membrán po modifikaci se zvětšením 50 000×.
A) referenční; B) difuzní metodou; C) PEI-Ag metodou; D) nanovláknny se stříbrem.

Skutečné změny v morfologii řezů byly pozorovány pouze pro membránu modifikovanou nanovláknny se stříbrem, kde byla nanovláknenná vrstva patrná na povrchu aktivní vrstvy (Obrázek 14D a 15D). Zejména struktura a drsnost nanovláknenné vrstvy společně s nahrazením aktivní vrstvy způsobila větší odpor vedoucí k podstatným změnám filtračních vlastností.





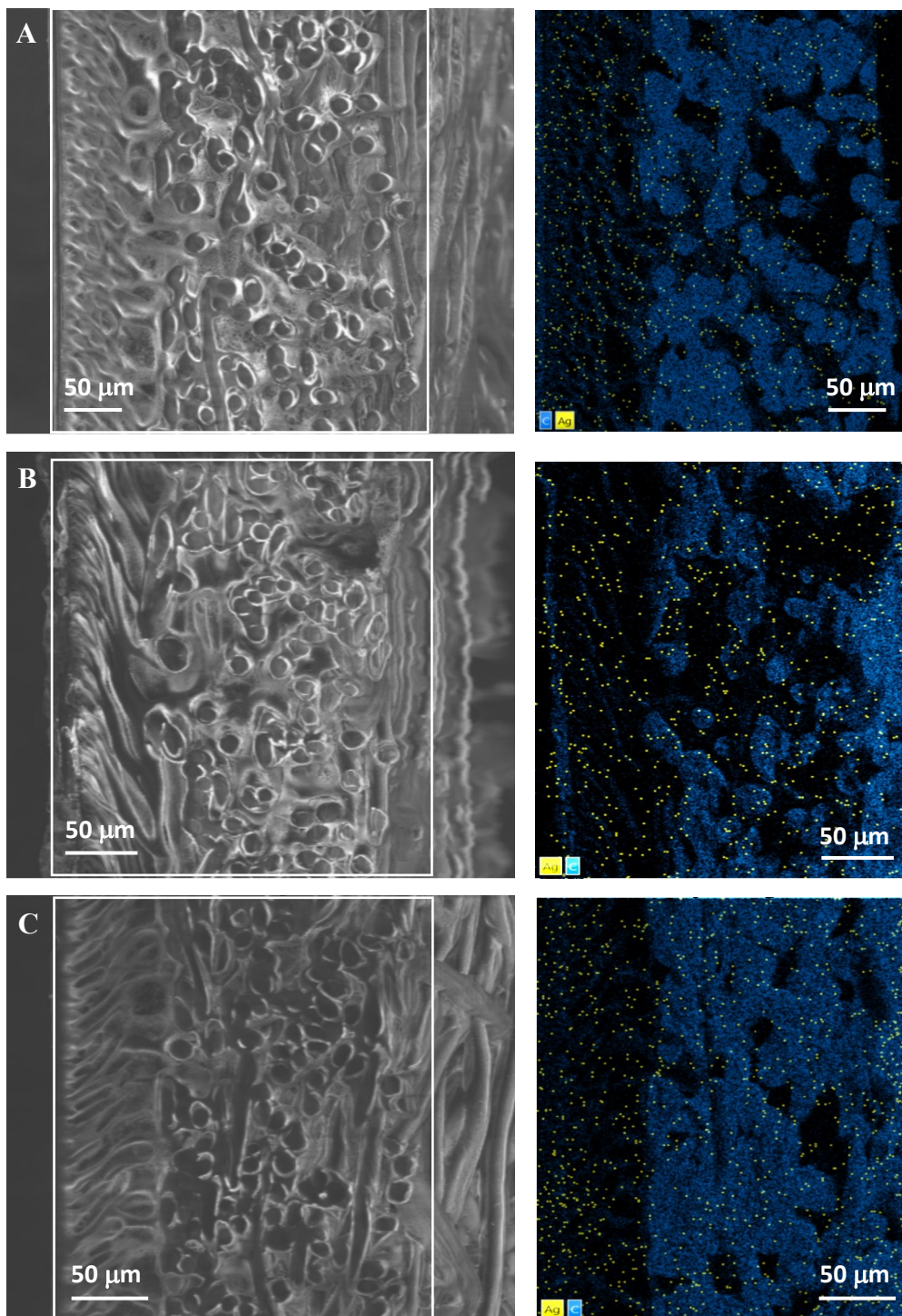
Obrázek 14: SEM snímky řezů modifikovaných membrán se zvětšením 5 000×. A) referenční; B) difuzní metodou; C) PEI-Ag metodou; D) nanovláknny se stříbrem.



Obrázek 15: SEM snímky řezů modifikovaných membrán se zvětšením 1 000×. A) referenční; B) difuzní metodou; C) PEI-Ag metodou; D) nanovláknny se stříbrem.

EDX analýza řezů

EDX analýza řezů membrán prokázala nejvyšší hustotu částic v blízkosti povrchu aktivní vrstvy pro modifikaci difuzní metodou (Obrázek 16A). Ve zbývajícím průřezu byly částice zastoupeny s menší četností.

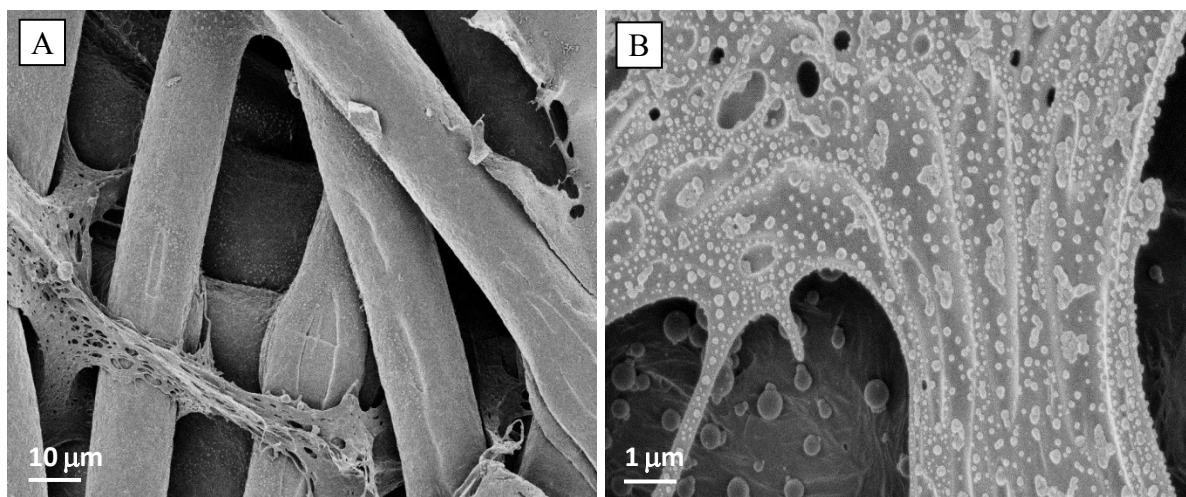


Obrázek 16: EDX analýza řezů modifikovaných membrán A) difuzní metodou; B) PEI-Ag metodou; C) nanovláknny se stříbrem. V levé části je zobrazená zkoumaná oblast, v pravé části detekované nanočástice stříbra na uhlíkovém pozadí. Snímky byly pořízeny se zvětšením 250×.

Tato skutečnost byla potvrzená i vizuálně, kdy druhá strana membrány nevykazovala typické žluté zbarvení. Naproti tomu, membrána modifikovaná pomocí PEI-Ag metody vykazovala rovnoměrné zastoupení částic napříč membránovým průřezem (Obrázek 16B). Tento jev byl opět potvrzen vizuálně, kdy takto modifikované membrány vykazovaly charakteristické zbarvení i ze strany podpůrné vrstvy.

Pro nanovlákný modifikované membrány byla největší hustota částic stříbra blízko obou membránových povrchů (Obrázek 16C). Pokles hustoty částic mezi oběma povrchy lze vysvětlit materiálem podpůrné vrstvy neumožňující průnik stříbrných nanočástic do vnitřní struktury. Vysokou hustotu částic na povrchu podpůrné vrstvy lze vysvětlit uvolněnými částicemi stříbra, které nebyly pevně uchyceny v nanovláknenné struktuře (Obrázek 17).

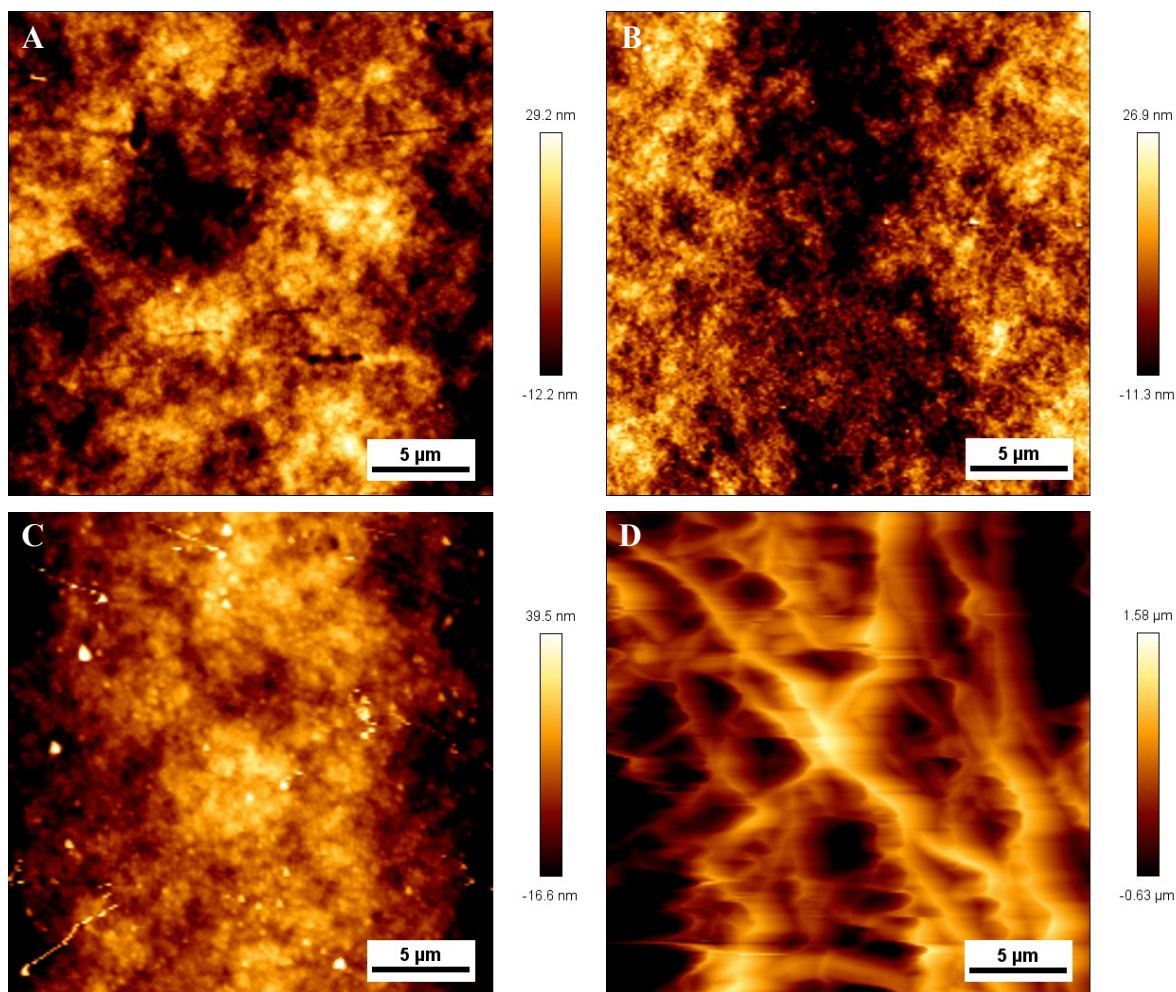
Limitujícím faktorem EDX analýzy je její přesnost, kdy při zvoleném zvětšení byly zachyceny jen částice v jednotkách μm , nikoliv v nanometrové škále. Naproti tomu EDX analýza povrchů byla provedena na sub-mikronové úrovni ($\sim 300\text{--}500\text{ nm}$).



Obrázek 17: SEM snímky podpůrné vrstvy membrány modifikované pomocí nanovláken indikující přítomnost stříbra; a) zvětšení 1 000× a b) 10 000×.

AFM mikroskopie

Výsledky měření hrubosti pomocí AFM prokázaly morfologické změny membránových povrchů (Obrázek 18). Průměrná drsnost referenční membrány měla hodnotu $R_a = 6\text{ nm}$. Membrána modifikovaná difuzní metodou vykazovala obdobnou hodnotu (Tabulka 5), nicméně ze zakřivení čáry opisující povrchový reliéf (obrázek neuveden) byla patrná vyšší členitost membránového povrchu. Tato skutečnost se částečně projevila i v trojrozměrném modelu (Obrázek 19B), kdy byl v porovnání s referenční membránou zkoumaný povrch lokálně jemněji členěn (Obrázek 19A).

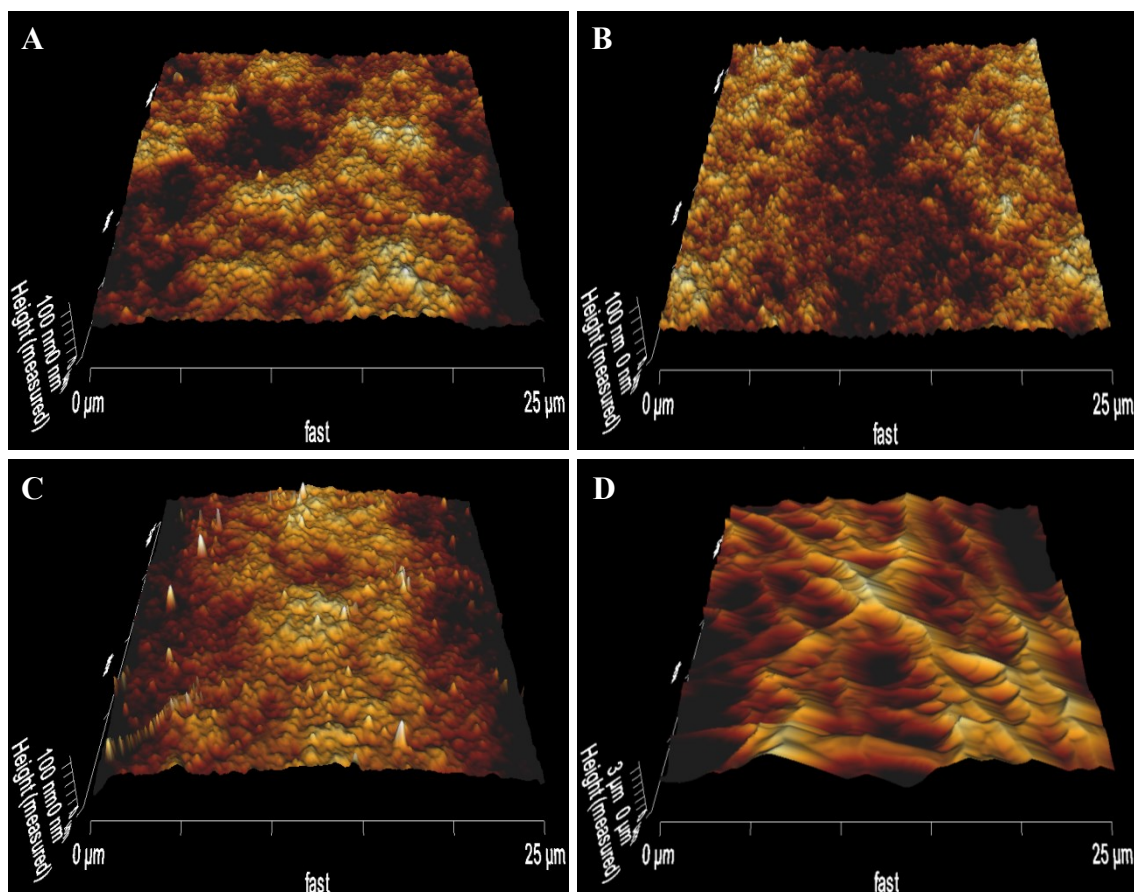


Obrázek 18: Mapa výškového profilu membrán A) referenční membrány a modifikované B) difuzní metodou; C) PEI-Ag metodou; D) nanovláknny se stříbrendifuzní; zvětšení 2 500×.

Membrána modifikovaná pomocí PEI-Ag metody vykazovala výrazně vyšší hodnoty u drsnosti (Obrázek 18C a 19C) i u průměrné drsnosti povrchu (Tabulka 5). Nejhrubší povrch vykazovala membrána modifikovaná pomocí nanovláken, kdy hodnota průměrné drsnosti dosahovala více jak 60ti násobku hodnot referenční membrány. Tato zvýšená hrubost byla doložena i SEM snímky povrchů (Obrázek 12D a 13D) a řezů (Obrázek 14D a 15D).

Tabulka 5: Výsledky měření vybraných parametrů drsnosti povrchů modifikovaných membrán v porovnání s referenční membránou.

| veličina/membrána | referenční | difuzní | PEI-Ag | nanovláknenná |
|--------------------------------------|------------|---------|--------|---------------|
| průměrná drsnost R_a [nm] | 6 | 8 | 15 | 380 |
| nejvyšší hloubka drsnosti R_t [nm] | 36 | 45 | 82 | 1870 |



Obrázek 19: Trojrozměrný model výškového profilu A) referenční membrány a modifikované B) difuzní metodou; C) PEI-Ag metodou; D) nanovlákný se stříbrem; zvětšení 2 500×.

Použití nanočástic je kromě antimikrobiálních vlastností typicky doprovázeno i zvýšením hydrofility modifikovaných membrán (Li et al., 2013; Ng et al., 2013). Toto zvýšení je způsobené změnou v povrchové mikrostruktuře samotnými nanočásticemi vedoucí ke zvýšené drsnosti membránových povrchů (Baghbanzadeh et al., 2015; Heidi Lynn et al., 2012). V případě membrán modifikovaných pomocí difuzní a PEI-Ag metody byla pozorována změna v drsnosti na submikronové úrovni ovlivňující hydrofilní vlastnosti i tendenci k zanášení. V případě nanovlákně modifikovaných membrán nevedly výrazné změny drsnosti ke zlepšení povrchových vlastností (sekce 3.1).

3.6 Měření kontaktního úhlu

Vyšší hydrofilita povrchu vede ke snížené tendenci k biologickému znečištění (Bae a Tak, 2005a; Gray et al., 2007). Měření kontaktního úhlu bylo provedeno s cílem vyhodnotit smáčivost povrchů modifikovaných membrán. Průměrný kontaktní úhel pro membrány modifikované difuzní a PEI-Ag metodou byl nižší než u referenční membrány (Tabulka 6), tedy tyto membrány

vykazovaly vyšší hydrofilitu, než referenční. Výsledky jsou v souladu s pozorováním Li et al. (2013), kteří studovali vliv nanočástic stříbra na hydrofilitu membrán. Z testovaných membrán měly nejnižší hydrofilitu membrány modifikované nanovlákný se stříbrem a to díky hydrofobní povaze polyurethanových nanovláken použitých pro povrchovou modifikaci. Zatímco Paul et al. (2013) prokázali zvýšenou hydrofilitu polyurethanových nanovláknenných vrstev s nanočásticemi stříbra, stříbrné nanočástice použité v této práci neměly výraznější účinek na hydrofilitu. (Tabulka 6).

Tabulka 6: Střední hodnota kontaktního úhlu pro modifikované a referenční membrány.

| membrána | referenční | metoda membránové modifikace | | |
|--------------------|-------------|------------------------------|------------|---------------|
| | | difuzní | PEI-Ag | nanovláknenná |
| kontaktní úhel [°] | 66,6 ± 10,2 | 52,6 ± 2,6 | 54,0 ± 6,3 | 80,6 ± 3,2 |

Měření kontaktního úhlu odpovídalo výsledkům filtračních testů, kdy membrány modifikované nanovlákný se stříbrem byly nejvíce hydrofobní a zároveň měly nejnižší propustnost. Naopak membrány modifikované difuzní metodou měly nejvyšší hydrofilitu a nejvyšší propustnost ve všech filtračních testech. Přestože je měření kontaktního úhlu jedním z nejobvyklejších měření používající se pro hodnocení smáčivosti membránových povrchů, nedokáže detailně charakterizovat interakce mezi povrchem membrány a látkami způsobujícími zanášení, zejména mechanismus vytváření filtračního koláče na povrchu membrány. Další fáze výzkumu se proto bude zabývat hodnocením zanášení v reálných podmínkách pomocí kombinace respirometrie a pokročilé mikroskopie.

4 ZÁVĚRY

Ultrafiltrační PES membrány byly modifikovány prostřednictvím tří postupů založených na inkorporaci nanočástic stříbra. Tyto postupy vedly k vytvoření membrán se silnými anti-mikrobiálními vlastnostmi s potenciálem snížit jejich biologické zanášení.

Filtrační testy prokázaly změny charakteristik při srovnání s původními membránami. Membrány modifikované difuzní a PEI-Ag metodou vykazovaly vyšší propustnost, zatímco membrány modifikované nanovlákný se stříbrem propustnost nižší. V případě testů s filtrací BSA proteinu vedlo zvýšení hydrofility u membrán modifikovaných pomocí difuzní a PEI-Ag metody ke snížené tendenci k proteinovému zanášení. U membrán modifikovaných pomocí nanovláken se stříbrem naopak nedošlo ke snížení proteinového zanášení pravděpodobně vlivem hydrofobní

povahy i adsorpčních vlastností nanovláken. V testech s reálnou odpadní vodou byla u membrán modifikovaných difuzní a PEI-Ag metodou pozorována snížená tendence k biologickému zanášení. Výsledky filtračních testů odpovídaly výsledkům měření kontaktního úhlu povrchů.

Všechny zkoumané postupy modifikace vedly k přípravě stabilních nanočástic stříbra vázaných na povrchy membrán i k nízké hodnotě vyplavování stříbra. V případě membrán modifikovaných pomocí difuzní a PEI-Ag metodou byla pozorována změna v drsnosti povrchu, zatímco v případě nanovlákeně modifikovaných membrán nevedly výrazné změny drsnosti k pozitivní změně povrchových vlastností. Pro membrány modifikované nanovláčky se stříbrem byly pozorovány znatelné změny v membránové struktuře, zatímco difuzní a PEI-Ag modifikace neměly žádný vliv na morfologii membránového průřezu.

Seznam použité literatury

Ahmed, F., Santos, C.M., Mangadla, J., Advincula, R., Rodrigues, D.F., 2013. Antimicrobial PVK:SWNT nanocomposite coated membrane for water purification: Performance and toxicity testing. *Water Res.* 47, 3966–3975. doi:10.1016/j.watres.2012.10.055

Asatekin, A., Menniti, A., Kang, S., Elimelech, M., Morgenroth, E., Mayes, A.M., 2006. Antifouling nanofiltration membranes for membrane bioreactors from self-assembling graft copolymers. *J. Membr. Sci.* 285, 81–89. doi:10.1016/j.memsci.2006.07.042

Bae, T.-H., Tak, T.-M., 2005a. Interpretation of fouling characteristics of ultrafiltration membranes during the filtration of membrane bioreactor mixed liquor. *J. Membr. Sci.* 264, 151–160. doi:10.1016/j.memsci.2005.04.037

Bae, T.-H., Tak, T.-M., 2005b. Preparation of TiO₂ self-assembled polymeric nanocomposite membranes and examination of their fouling mitigation effects in a membrane bioreactor system. *J. Membr. Sci.* 266, 1–5.

Baghbanzadeh, M., Rana, D., Matsuura, T., Lan, C.Q., 2015. Effects of hydrophilic CuO nanoparticles on properties and performance of PVDF VMD membranes. *Desalination* 369, 75–84.

Boyle-Gotla, A., Jensen, P.D., Yap, S.D., Pidou, M., Wang, Y., Batstone, D.J., 2014. Dynamic multidimensional modelling of submerged membrane bioreactor fouling. *J. Membr. Sci.* 467, 153–161. doi:10.1016/j.memsci.2014.05.028

Dalmau, M., Monclús, H., Gabarrón, S., Rodríguez-Roda, I., Comas, J., 2014. Towards integrated operation of membrane bioreactors: Effects of aeration on biological and filtration performance. *Bioresour. Technol.* 171, 103–112.

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2014. Biocide modification of ultrafiltration membranes using nanofiber structures. *Desalination Water Treat.* 1–7.

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978.

Dvořák, L., Gómez, M., Dvořáková, M., Růžičková, I., Wanner, J., 2011. The impact of different operating conditions on membrane fouling and EPS production. *Bioresour. Technol.* 102, 6870–6875. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.061

Fremrová, L., Čermák, O., 2000. Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium. ISO 62221999.

Gray, S.R., Ritchie, C., Tran, T., Bolto, B., 2007. Effect of NOM characteristics and membrane type on microfiltration performance. *Water Res.* 41, 3833–3841.

Green, J.-B.D., Fulghum, T., Nordhaus, M.A., 2011. A review of immobilized antimicrobial agents and methods for testing. *Biointerphases* 6, MR13–MR28. doi:10.1116/1.3645195

Haberkamp, J., Ruhl, A.S., Ernst, M., Jekel, M., 2007. Impact of coagulation and adsorption on DOC fractions of secondary effluent and resulting fouling behaviour in ultrafiltration. *Water Res.* 41, 3794–3802.

Hamid, N., Ismail, A.F., Matsuura, T., Zularisam, A., Lau, W.J., Yuliwati, E., Abdullah, M.S., 2011. Morphological and separation performance study of polysulfone/titanium dioxide (PSF/TiO₂) ultrafiltration membranes for humic acid removal. *Desalination* 273, 85–92.

Heidi Lynn, R., Priscilla GL, B., Emmanuel, I., 2012. Metal nanoparticle modified polysulfone membranes for use in wastewater treatment: a critical review. *J. Surf. Eng. Mater. Adv. Technol.* 2012.

Ho, K.K.K., Cole, N., Chen, R., Willcox, M.D., Rice, S.A., Kumar, N., 2012. Immobilization of antibacterial dihydropyrrrol-2-ones on functional polymer supports to prevent bacterial infections in vivo. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 1138–1141.

Jirsák, O., Sanetrník, F., Lukáš, D., Kotek, V., Martinová, L., Chaloupek, J., 2009. Method of nanofibres production from a polymer solution using electrostatic spinning and a device for carrying out the method. CZ Patent 294274 (B6).

Judd, S., 2010. *The MBR book: principles and applications of membrane bioreactors for water and wastewater treatment.* Elsevier.

Kull, K.R., Steen, M.L., Fisher, E.R., 2005. Surface modification with nitrogen-containing plasmas to produce hydrophilic, low-fouling membranes. *J. Membr. Sci.* 246, 203–215.

Li, J.-H., Shao, X.-S., Zhou, Q., Li, M.-Z., Zhang, Q.-Q., 2013. The double effects of silver nanoparticles on the PVDF membrane: Surface hydrophilicity and antifouling performance. *Appl. Surf. Sci.* 265, 663–670.

Li, X., Pang, R., Li, J., Sun, X., Shen, J., Han, W., Wang, L., 2013. In-situ formation of Ag nanoparticles in PVDF ultrafiltration membrane to mitigate organic and bacterial fouling. *Desalination* 324, 48–56.

Lyko, S., Al-Halbouni, D., Wintgens, T., Janot, A., Hollender, J., Dott, W., Melin, T., 2007. Polymeric compounds in activated sludge supernatant—characterisation and retention mechanisms at a full-scale municipal membrane bioreactor. *Water Res.* 41, 3894–3902.

Mansourpanah, Y., Madaeni, S., Rahimpour, A., Adeli, M., Hashemi, M., Moradian, M., 2011. Fabrication new PES-based mixed matrix nanocomposite membranes using polycaprolactone modified carbon nanotubes as the additive: property changes and morphological studies. *Desalination* 277, 171–177.

Ma, X., Su, Y., Sun, Q., Wang, Y., Jiang, Z., 2007a. Enhancing the antifouling property of polyethersulfone ultrafiltration membranes through surface adsorption-crosslinking of poly(vinyl alcohol). *J. Membr. Sci.* 300, 71–78. doi:10.1016/j.memsci.2007.05.008

Ma, X., Su, Y., Sun, Q., Wang, Y., Jiang, Z., 2007b. Preparation of protein-adsorption-resistant polyethersulfone ultrafiltration membranes through surface segregation of amphiphilic comb copolymer. *J. Membr. Sci.* 292, 116–124.

Meng, F., Shi, B., Yang, F., Zhang, H., 2007. Effect of hydraulic retention time on membrane fouling and biomass characteristics in submerged membrane bioreactors. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 30, 359–367. doi:10.1007/s00449-007-0132-1

Menniti, A., Morgenroth, E., 2010. The influence of aeration intensity on predation and EPS production in membrane bioreactors. *Water Res.* 44, 2541–2553.

Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., Yacaman, M.J., 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 2346.

Ng, L.Y., Mohammad, A.W., Leo, C.P., Hilal, N., 2013. Polymeric membranes incorporated with metal/metal oxide nanoparticles: a comprehensive review. *Desalination* 308, 15–33.

Paul, D., Paul, S., Roohpour, N., Wilks, M., Vadgama, P., 2013. Antimicrobial, mechanical and thermal studies of silver particle-loaded polyurethane. *J. Funct. Biomater.* 4, 358–375.

Qin, J.-J., Oo, M.H., Li, Y., 2005. Development of high flux polyethersulfone hollow fiber ultrafiltration membranes from a low critical solution temperature dope via hypochlorite treatment. *J. Membr. Sci.* 247, 137–142.

Rahimpour, A., Madaeni, S.S., 2010. Improvement of performance and surface properties of nanoporous polyethersulfone (PES) membrane using hydrophilic monomers as additives in the casting solution. *J. Membr. Sci.* 360, 371–379.

Sun, M., Su, Y., Mu, C., Jiang, Z., 2009. Improved antifouling property of PES ultrafiltration membranes using additive of silica–PVP nanocomposite. *Ind. Eng. Chem. Res.* 49, 790–796.

Susanto, H., Ulbricht, M., 2005. Influence of ultrafiltration membrane characteristics on adsorptive fouling with dextrans. *J. Membr. Sci.* 266, 132–142.

Tang, C., Saquing, C.D., Sarin, P.K., Kelly, R.M., Khan, S.A., 2014. Nanofibrous membranes for single-step immobilization of hyperthermophilic enzymes. *J. Membr. Sci.* 472, 251–260.

Tang, Z.-Q., Li, W., Zhou, J., Yu, H.-Y., Huang, L., Yan, M.-G., Gu, J.-S., Wei, X.-W., 2009. Antifouling characteristics of sugar immobilized polypropylene microporous membrane by activated sludge and bovine serum albumin. *Sep. Purif. Technol.* 64, 332–336.

Tripathi, B.P., Dubey, N.C., Stamm, M., 2014. Polyethylene glycol cross-linked sulfonated polyethersulfone based filtration membranes with improved antifouling tendency. *J. Membr. Sci.* 453, 263–274. doi:10.1016/j.memsci.2013.11.007

Trussell, R.S., Merlo, R.P., Hermanowicz, S.W., Jenkins, D., 2006. The effect of organic loading on process performance and membrane fouling in a submerged membrane bioreactor treating municipal wastewater. *Water Res.* 40, 2675–2683.

Yoshikawa, C., Goto, A., Tsujii, Y., Fukuda, T., Kimura, T., Yamamoto, K., Kishida, A., 2006. Protein repellency of well-defined, concentrated poly(2-hydroxyethyl methacrylate) brushes by the size-exclusion effect. *Macromolecules* 39, 2284–2290.

Yu, H.-Y., Hu, M.-X., Xu, Z.-K., Wang, J.-L., Wang, S.-Y., 2005a. Surface modification of polypropylene microporous membranes to improve their antifouling property in MBR: NH₃ plasma treatment. *Sep. Purif. Technol.* 45, 8–15. doi:10.1016/j.seppur.2005.01.012

Yu, H.-Y., Liu, L.-Q., Tang, Z.-Q., Yan, M.-G., Gu, J.-S., Wei, X.-W., 2008. Surface modification of polypropylene microporous membrane to improve its antifouling characteristics in an SMBR: Air plasma treatment. *J. Membr. Sci.* 311, 216–224. doi:10.1016/j.memsci.2007.12.016

Yu, H.-Y., Xie, Y.-J., Hu, M.-X., Wang, J.-L., Wang, S.-Y., Xu, Z.-K., 2005b. Surface modification of polypropylene microporous membrane to improve its antifouling property in MBR: CO₂ plasma treatment. *J. Membr. Sci.* 254, 219–227. doi:10.1016/j.memsci.2005.01.010

Yu, H.-Y., Xu, Z.-K., Lei, H., Hu, M.-X., Yang, Q., 2007. Photoinduced graft polymerization of acrylamide on polypropylene microporous membranes for the improvement of antifouling characteristics in a submerged membrane-bioreactor. *Sep. Purif. Technol.* 53, 119–125. doi:10.1016/j.seppur.2006.07.002

Yu, H., Zhang, X., Zhang, Y., Liu, J., Zhang, H., 2013. Development of a hydrophilic PES ultrafiltration membrane containing SiO₂@N-Halamine nanoparticles with both organic antifouling and antibacterial properties. *Desalination* 326, 69–76.

Yu, L., Zhang, Y., Zhang, B., Liu, J., Zhang, H., Song, C., 2013. Preparation and characterization of HPEI-GO/PES ultrafiltration membrane with antifouling and antibacterial properties. *J. Membr. Sci.* 447, 452–462. doi:10.1016/j.memsci.2013.07.042

Zbořil, R., Soukupová, J., 2011. Method of immobilization of silver nanoparticles on solid substrates. CZ Patent 2011-549 (A3).

Zhu, L.-J., Zhu, L.-P., Jiang, J.-H., Yi, Z., Zhao, Y.-F., Zhu, B.-K., Xu, Y.-Y., 2014. Hydrophilic and anti-fouling polyethersulfone ultrafiltration membranes with poly (2-hydroxyethyl methacrylate) grafted silica nanoparticles as additive. *J. Membr. Sci.* 451, 157–168.

Zhu, L.-P., Zhang, X.-X., Xu, L., Du, C.-H., Zhu, B.-K., Xu, Y.-Y., 2007. Improved protein-adsorption resistance of polyethersulfone membranes via surface segregation of ultrahigh molecular weight poly (styrene-alt-maleic anhydride). *Colloids Surf. B Biointerfaces* 57, 189–197.

ČÁST V.

Příprava a charakterizace membrán se smíšenou
matricí s přídavkem nanočástic

Souhrn

Hlavním cílem této části disertační práce bylo připravit a charakterizovat nové membrány se smíšenou maticí. Použití různých typů nanočástic i disperzí mělo za cíl vyvinout membrány s vylepšenými antimikrobiálními vlastnostmi a zvýšenou hydrofilitou vedoucí ke snížení biologického zanášení. Jako základ polymerní matrice byl zvolen polyethersulfon s odpovídajícím přídatkem polyvinylpyrrolidonu a rozpouštědlem ve formě N-methyl-2-pyrrolidonu. Do polymerních roztoků byly postupně přidány komerčně dodávané nanočástice CuO, ZnO, TiO₂, i vícestěnné uhlíkové nanotrubičky spolu s organickými disperzemi behenátu stříbrného, nulmocných nanočástic stříbra nebo TiO₂-Ag. Membrány připravené metodou inverze fáze byly následně podrobeny testům propustnosti, selektivity, antimikrobiální a morfologické charakterizaci a dále testovány filtraceí aktivovaného kalu z čistírny odpadních vod.

Všechny nově syntetizované membrány měly v porovnání s referenční srovnatelnou selektivitu i propustnost. Analýza struktury i povrchů modifikovaných membrán pomocí SEM mikroskopie neodhalila odlišnosti od reference. Pouze membrány s vícestěnnými uhlíkovými nanotrubičkami měly drobné defekty v aktivní vrstvě. Měření kontaktního úhlu prokázalo zvýšení hydrofility po přidání nanočástic, stejně tak jako mikroskopie atomárních sil odhalující změny v povrchové morfologii, které by též mohly vést k jejímu zlepšení.

Nejslibnější výsledky vykazovaly membrány s nanočásticemi CuO a s disperzí TiO₂-Ag. U obou těchto variant bylo pozorováno minimální uvolňování aditiv z polymerní matrice v testu s demineralizovanou vodou společně se zlepšenými antimikrobiálními vlastnostmi a sníženým biologickým zanášením ve filtračním testu s aktivovaným kalem.

Klíčová slova: membrány se smíšenou maticí, nanočástice, disperze, antimikrobiální vlastnosti, hydrofilita, snížené biologické zanášení.

1 ÚVOD

Akumulace a adheze mikroorganismů i jejich metabolických produktů vede v případě jejich použití při úpravě odpadních vod k biologickému zanášení membrán způsobujícímu zároveň pokles jejich hydraulického výkonu a následné zvýšení provozních nákladů (Bixler a Bhushan, 2012; Meng et al., 2009) Výrazně se tím omezuje aplikace membránových technologií ve větším měřítku (Judd, 2010).

Biologické zanášení je komplexní proces ovlivněný mnoha faktory způsobující závažné komplikace, k dnešnímu dni byla proto navržena celá řada metod pro jeho snížení. Jmenovat lze například předúpravu vstupní vody (Fan et al., 2008), změny provozních podmínek (Meng et al., 2007) nebo dávkování látek zvyšujících tok membránou (Iversen et al., 2009). Tyto metody ovlivňují vlastnosti aktivovaného kalu interagujícího s membránovým povrchem.

Zmírnit biologické zanášení lze i metodami upravujícími přímo vlastnosti membrány. Takové metody mohou být rozděleny do dvou skupin:

- i) modifikace existujících membránových materiálů (Ho et al., 2012; Yu et al., 2014)
- ii) příprava nových membrán se se sníženou tendencí k zanášení (Kim a Van der Bruggen, 2010).

V současné době je k dispozici mnoho modifikačních technik, například imobilizace různých látek na povrch membrány (Moghimifar et al., 2014), použití kyseliny akrylové (Mansourpanah a Habili, 2013), ultrafialového (Yu et al., 2007) a gama záření (Shim et al., 2001) nebo plazmatické úpravy (Sadeghi et al., 2013). Hlavní nevýhodou těchto metod jsou obvykle vysoká energetická náročnost (Yu et al., 2005) a složitá výroba (Zhang et al., 2013).

Možností, jak zmírnit biologické zanášení, je i příprava nových materiálů ve formě membrán se smíšenou maticí. Skládají se ze základní polymerní matrice a různých organických nebo anorganických přísad například mikro- a nanočástic. Vlastnosti aditiv výrazně ovlivňují výsledné vlastnosti membrány, snahou je samozřejmě zlepšení antimikrobiálních vlastností i hydrofility (Daraei et al., 2013).

Povrchové modifikace mohou zlepšovat převážně vlastnosti vnější struktury, přičemž hlavní výhodou membrán se smíšenou maticí je možnost snížit biologické zanášení i ve vnitřní pórové struktuře. Další výhodou je příprava v jediném kroku metodou inverze fáze bez nutnosti dalších úprav a energetických požadavků. Rozhodujícím aspektem těchto membrán je stabilita aditiv v polymerní maticí (Bixler a Bhushan, 2012; Heidi Lynn et al., 2012; Meng et al., 2009).

K dnešnímu dni byly testovány různé mikro- i nanočástice spolu s různými podmínkami přípravy (Jhaveri a Murthy, 2016; Ng et al., 2013). Například Balta et al., (2012) testovali nanočástice ZnO, Vatanpour et al., (2012) hodnotili membrány s přídavkem nanočástic TiO₂ a Sonawane et al. (2015) zkoumali membrány se stříbrnými nanočásticemi.

Použití nanočástic s antimikrobiálními vlastnosti v membránách se smíšenou maticí je obvykle doprovázeno zvýšením hydrofility membránového povrchu (Li et al., 2013; Ng et al., 2013) způsobené změnami v povrchové struktuře vedoucími ke zvýšené drsnosti (Baghbanzadeh et al., 2015; Heidi Lynn et al., 2012; Hoek et al., 2011). Povrchová hydrofilita může být dále zvýšena začleněním nanočástic ve formě oxidu kovů s polární vazbou, např. ZrO₂, TiO₂, SiO₂, Al₂O₃ (Aerts et al., 2006; Vatanpour et al., 2012; Harun et al., 2014; Mojtahedi et al., 2013).

Kromě vylepšených antimikrobiálních vlastností a zvýšené hydrofility, poukazuje několik studií též na zlepšenou mechanickou stabilitu membrán se smíšenou maticí a to zejména při použití specifických nanočástic jako jsou Al₂O₃ (Kim a Van der Bruggen, 2010), měď (Hoek et al., 2011), nebo zeolity (Kim a Van der Bruggen, 2010). Na druhou stranu, přídavek nanočástic například ve formě mezoporézního SiO₂, vedl k horší selektivitě membrán a to v důsledku snížené stability polymeru v roztoku s nanočásticemi. Horší selektivita membrán je však obvykle doprovázena vyšším tokem (Hoek et al., 2011).

V rámci disertační práce byly připraveny nové membrány se smíšenou maticí na bázi polyethersulfonu. K polymerní matici byly přidány komerčně dostupné nanočástice, například CuO, ZnO, TiO₂ nebo vícestěnné uhlíkové nanotrubičky spolu s organickými disperzemi behenátu stříbrného, nulmocných nanočástic stříbra, stejně tak i TiO₂-Ag. U membrán byla testována jejich propustnost, selektivita, antimikrobiální vlastnosti, morfologie povrchů a řezů i stabilita nanočástic. Jednotlivé matrice byly dále testovány filtrací proteinu BSA a aktivovaného kalu z čistírny odpadních vod, přičemž došlo k posouzení membránového zanášení.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Metodika přípravy membrán se smíšenou maticí

V této práci byl jako základní materiál membránové matrice zvolen polyethersulfon (PES), který se běžně používá jako materiál pro mikro- i ultra-filtrační membrány pro své chemické, tepelné i mechanické vlastnosti (Zhao et al., 2013). Používaný PES (Ultrason® E 6020P, BASF, Německo) měl průměrnou molekulovou hmotnost 51 000 g·mol⁻¹. Jako rozpouštědlo polymeru byl použit N-methyl-2-pyrrolidon (NMP; ≥99%, Sigma-Aldrich, USA) s objemovou hustotou

$1,028 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, činidlem pro tvorbu pórů byl polyvinylpyrrolidon (PVP; Sigma-Aldrich, USA) o průměrné molekulové hmotnosti $40\,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ rozpustný jak v polymerním roztoku NMP, tak i v demineralizované vodě představující koagulační lázeň.

Základní roztok se skládal z PES s koncentrací 10 hm%, PVP s koncentrací 6 hm%, NMP s koncentrací 84 hm% a aditiva s koncentrací 2 hm%. Roztok vážící 30,0 gramů tedy vznikl smísením 3,0 g PES; 1,8 g PVP; 25,14 g NMP a 0,06 g komerčně dostupných nanočástic. Pro roztok s behenátem stříbrným bylo použito 1,2 g disperze a 24,0 g NMP při zachování hmotnosti ostatních složek. Do roztoku s nulmocných nanočástic stříbra bylo přidáno 0,8 g disperze a 24,4 g NMP. Pro roztok $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ bylo přidáno 6,0 g disperze a 19,2 g NMP.

Příprava roztoků probíhala v několika krocích:

- Navážení příslušného aditiva, k němuž bylo přidáno rozpouštědlo. Pro referenční membrány došlo pouze k navážení samotného rozpouštědla
- Míchání: komerční nanočástice byly míchány 15 min mechanickým homogenizátorem MICCRA D-9 s nástavcem Pico (MICCRA GmbH, Německo) na střední výkon, disperze byly míchány 10 minut na vortexu Heidolph D-91126 (Heidolph, Německo) a následně 30 minut v ultrazvukové lázni Ultrasonic cleaner VGT2013QT (Shenzhen VGT, Čína) o teplotě 65°C .
- Přidání PVP a míchání vzniklého roztoku po dobu 24 hodin na horizontální třepače s frekvencí $200 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$
- Míchání: 15 min mechanickým homogenizátorem na střední výkon v případě komerčních nanočástic, v případě disperzí pomocí ultrazvuku po dobu 30 minut při teplotě 65°C a následně pomocí vortexu po dobu 10 minut.
- Přidání PES s následným mícháním po dobu 24 hodin na horizontální třepače s frekvencí $200 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$.
- Míchání mechanickým homogenizátorem po dobu 5 minut na nejnižší výkon v případě komerčních nanočástic, v případě disperzí ultrazvukem po dobu 30 minut při 65°C s následným 10 minutovým mícháním na vortexu.
- Před vynesemím membrán se z roztoků odstranily vzduchové bublinky vzniklé při míchání.

Membrány byly vyneseny pomocí membránového nože s výškou čepele $200 \mu\text{m}$ nad podložkou vyrobeného na zakázku na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Membrány byly

připravovány metodou inverze fáze založené na difundování organického rozpouštědla z polymerního roztoku do koagulační lázně ve formě demineralizované vody a opačně. Při tomto procesu dojde k vysrážení tuhého polymeru ve formě porézní vrstvy.

Po vynesení na skleněný podklad byla membrána umístěna na vzduch na dobu 1 minuty, následovalo 5 minut v koagulační lázni a 2 minuty relaxace na vzduchu.

Takto připravené membrány byly ponořeny do demineralizované vody a ohřívány na teplotu 70–80 °C po dobu 48 hodin. Poté následovalo intenzivní promytí demineralizovanou vodou. Připravené membrány byly uskladněny pro další použití v demineralizované vodě tak, aby byl zachován jejich tok, v opačném případě by došlo k jejich vysušení a tedy nevratnému snížení toku (Susanto a Ulbricht, 2009).

2.2 Charakterizace použitých aditiv

a) Komerčně dostupné nanočástice

Vybrána byla následující aditiva na bázi komerčně dostupných nanočástic:

- CuO (oxid měďnatý) – nanoprášek <50 nm (Sigma-Aldrich, USA)
- ZnO (oxid zinečnatý) – nanoprášek <100 nm (Sigma-Aldrich, USA)
- TiO₂ (oxid titaničitý) – nanoprášek <100 nm, směs rutilu a anatasu (Sigma-Aldrich, USA)
- vícestěnné karbonové nanotrubičky NC3150 (short thin multi-wall carbon nanotubes, MWCNT) s průměrem 9,5 nm, délkou <1 μm (Nanocyl, Belgium).

b) Disperzní aditiva

Jako disperzní aditivum byl vybrán behenát stříbrný v N-ethyl-2-pyrrolidonu s koncentrací 5 hm% (Agfa, Belgie), zároveň použitý při přípravě polyurethanových nanovláken s prokázaným sníženým vyplavováním i s antimikrobiálními účinky v části 2.

Další použitá disperze nanočástic stříbra v DMF s koncentrací 8 hm% byla připravená na základě modifikovaného postupu popsaného v Deivaraj et al. (2005). Tato disperze byla použita v nanovlákněném výzkumu se snížením vyplavování nanočástic. Detailní popis její přípravy lze nalézt v části 2.

Posledním zkoumaným disperzním systémem byly nanočástice TiO₂-Ag připravené na základě metodiky popsané v Harikishore et al. (2014). Tyto krystalické nanočástice mají zlepšenou fotokatalytickou aktivitu za viditelného světla a zároveň vykazují silnější antimikrobiální vlastnosti

než samotné nanočástice TiO_2 . Postup přípravy je založen na rozpuštění titaničitanu tetra n-butoxidu (Sigma-Aldrich, USA) v kyselině octové (Penta Chemicals, Česká republika), ke kterým se po kapkách přidá 0,05 molární roztok AgNO_3 (Penta Chemicals, Česká republika) v demineralizované vodě. Molární poměr prekurzoru TiO_2 , CH_3COOH a H_2O byl 1:10:100. Takto vyniklý roztok se nechal míchat na horizontální třepačce s frekvencí $200 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ po dobu 24 hodin a poté vysušit při teplotě $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Následovalo žihání při teplotě $500 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 5 hodin. Vzniklý prášek byl dispergován do NMP a přidán do membránového roztoku.

Použitá aditiva byla charakterizována na zařízení ZetaSizer nano ZS (Malvern, Velká Británie) změřením velikosti a zeta-potenciálu. Zeta-potenciál je parametr charakterizující povrchové napětí a sílu iontového pole částic; zároveň ukazuje stabilitu disperzí. Analýza použitých nanočástic v roztoku NMP probíhala po 5 minutovém třepání na vortexu, které následovalo bezprostředně po jejich přidání. Koncentrace disperzních nanočástic v NMP byla vzhledem k limitacím metody při analýze $10\times$ nižší. Měření velikosti nanočástic ve výsledném roztoku nebylo možné změřit vzhledem k jeho neznámým refrakčním vlastnostem.

2.3 Měření permeability

Permeabilita membrán byla hodnocena filtrací demineralizované vody přes kruhovou membránu s průměrem 4,1 cm odpovídající ploše $13,4 \text{ cm}^2$. Aparatura sestavená ze dvou Nalgene 300 (Fisher Scientific, Czech Republic) filtračních cel umožňovala odečítání hmotnosti permeátu na digitálních vahách Kern 440–49A (Kern, Německo). Při kontinuálním měření filtrované kapaliny bylo možné hmotnost zaznamenávat přímo na PC a ihned přepočítat na permeabilitu. Hnací silou *dead-end* cely bez míchání byl podtlak vytvořený laboratorní vývěvou KNF Neuberger (KNF, Německo) a měřený analogovým manometrem 233.50 (Wika, USA).

Testování membrán probíhalo 15 minut se zaznamenávacím časem 2 sekundy. Permeabilita membrán byla vypočtena v čase 10 sekund, 1, 2, 4, 6, 10 a 15 minut. Testování permeability probíhalo vždy na pěti vzorcích membrán s daným aditivem.

2.4 Měření kontaktního úhlu

Smáčivost povrchu modifikovaných membrán byla hodnocena na základě měření kontaktního úhlů pomocí přenosného přístroje See System E (Advex Instruments, Česká republika). Testovaná kapka vznikla nanesením $2 \mu\text{l}$ demineralizované vody na povrch membrány. Analyzovaný obrázek byl pořízen vestavěným fotoaparátem s periodou 0,5 sekundy. Kontaktní úhel vzniklý po ustálení kapky na povrchu membrány byl vyhodnocen softwarem přístroje.

2.5 Měření účinnosti odstranění organického znečištění

Při testu účinnosti odstranění organického znečištění membrán byl filtrován odtok a 100× naředěný aktivovaný kal z čistírny odpadních vod (ČOV). Odstranění zbytkové organiky v membránách před započítáním testu bylo dosaženo filtrací 250 ml demineralizované vody. Účinnost odstranění byla stanovena měřením obsahu organického uhlíku (TOC) v nátoku i permeátu a na jejich vzájemné bilanci. Měření bylo provedeno na zařízení multi N/C® 2100 S (Analytik Jena, Německo) s přesností $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

2.6 Měření dělicí schopnosti membrán

Měření dělicí schopnosti membrán se smíšenou maticí na základě separace molekulové hmotnosti (molecular weight cut-off; MWCO) bylo provedeno filtrací látek s definovanou molekulovou hmotností, Dextranem D70 (Pharmacia Chemicals, Švédsko), polyvinylpyrrolidonem PVP 40 (Sigma-Aldrich, USA) a PVP 360. Detailní popis testovací procedury lze nalézt v části 4 (sekce 1.1). Kromě referenční membrány bez přídavku nanočástic byla jako srovnávací použita membrána na bázi nitrátu celulózy (NC45) s velikostí pórů $0,45 \mu\text{m}$.

2.7 BSA testy

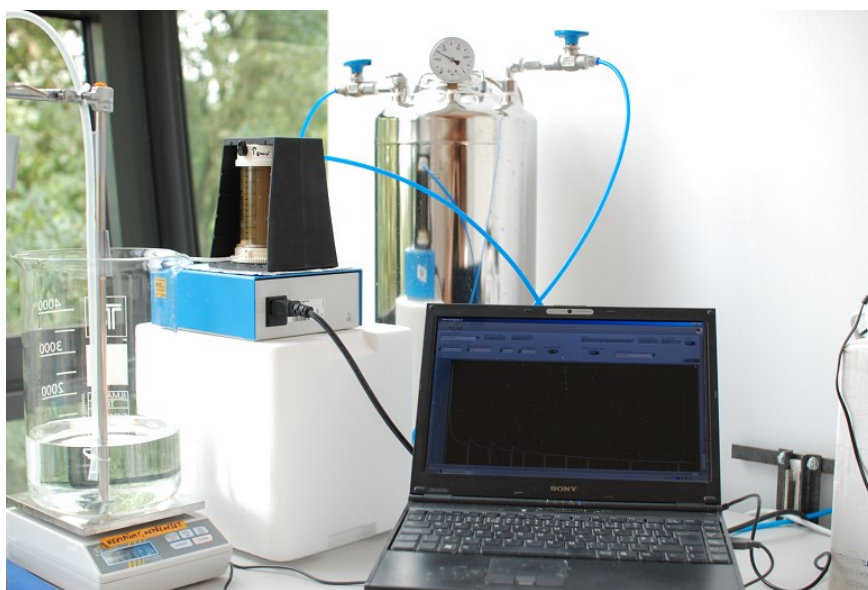
Adsorpce proteinů na membránový povrch nebo do vnitřní struktury má za následek snížení hydraulického výkonu. Membrány se smíšenou maticí spolu s referenčními byly tedy podrobeny testům proteinového zanášení. Stejně jako v případě povrchové modifikace ultrafiltračních membrán byl vybrán referenční protein BSA s molekulovou hmotností $66\,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Detailní popis metodiky, včetně jednotlivých veličin charakterizujících proteinového zanášení lze nalézt v sekci 2.2 čtvrté části disertační práce.

2.8 Filtrační testy s aktivovaným kalem

Před započítáním testu byly všechny testované membrány promyty demineralizovanou vodou. Membrány s komerčními nanočásticemi byly před testy louženy 14 měsíců v demineralizované vodě, membrány s disperzními nanočásticemi po dobu 6 měsíců. Filtrační test probíhal v cele Amicon 8400 (Millipore, USA) s kontinuálním mícháním. Do filtrační cely bylo nadávkováno 250 ml, fyziologickým roztokem 1:1 naředěného, aktivovaného kalu. Aktivovaný kal odebraný z ČOV byl používán nejdéle po dobu tří následujících dnů. Zajištění reprodukovatelnosti testu bylo dosaženo nasazením dvou referenčních membrán ve dvou po sobě následujících dnech při identických podmínkách testování. Filtrační test trval 24 hodin za stálého míchání s frekvencí $300 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$, s konstantní hladinou v měřené cele, tlakem 0,3 bar a při laboratorní teplotě.

Do zásobní nádrže sloužící k udržování konstantního objemu a tím i konstantní koncentrace nerozpuštěných látek byl umístěn fyziologický roztok, aby nedošlo k poničení buněčných membrán vlivem různého osmotického tlaku. Permeabilita byla měřena prostřednictvím přírůstků hmotnosti na váze Kern 440–49A a vyhodnocena pomocí programu LabView (National Instruments, USA). Snímek měřící aparatury je uveden na obrázku 1.

V časech 2, 4, 6 a 22 hodin došlo k relaxaci membrány spočívající v odstranění tlaku nad membránou za frekvence míchání zvýšené z 300 na 400 ot·min⁻¹. Relaxace trvající 5 minut byla provedena k posouzení vlivu periodického čištění membrán se smíšenou maticí na odstranění zanášení. Zároveň simulovala reálné provozy, ve kterých dochází k tomuto periodickému čištění. Následně došlo k opětovnému připojení tlakového rozvodu a snížení frekvenci míchání na 300 ot·min⁻¹. V čase 6 a 22 hodin byly během probíhající relaxace stanoveny hodnoty organických látek v permeátu metodou CHSK_{Cr} s využitím spektrofotometru DR6000 a LCK414 setů (Hach-Lange, Německo). Zároveň byly gravimetricky stanoveny i nerozpuštěné látky v aktivovaném kalu.



Obrázek 1: Fotografický snímek měřící aparatury pro filtrační test s aktivovaným kalem.

2.9 Stanovení stability aditiv v membráně

Test stability aditiv v membránách se smíšenou maticí byl rozdělen na dvě sady. V první sadě byla měřena kinetika uvolňování v prvních 168 hodinách, v druhé pak dlouhodobá stabilita po dobu 64 dní. Před testem byla přes membrány o průměru 4,1 cm filtrována 15 minut demineralizovaná voda s cílem odstranit aditiva, která nebyla pevně ukotvena v polymerní matici. Následně byly membrány míchány na horizontální třepačce ve 100 ml demineralizované vody

s frekvencí $200 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$. Odběr 5 ml vzorků v první sadě testů probíhal v časech 1, 3, 7, 24, 48, 72, 96 a 168 hodin. Pokaždé bylo přidáno 5 ml demineralizované vody a 0,17 ml HNO_3 s koncentrací 65% sloužící k okyselení.

Analýza probíhala metodou ICP-OPES s využitím přístroje Optima 2100 DV (Perkin Elmer, USA), s mezemi detekce $\text{Cu} < 0,01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{Zn} < 0,02 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{Ti} < 0,005 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{Ag} < 0,005 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Chyba měření v případě koncentrací blízkých detekčnímu limitu byla $\sim 20 \%$. Tímto postupem byly stanoveny koncentrace jak uvolněných částic, tak i iontů uvolněných do roztoku. Stabilita MWCNT byla měřena pomocí metody TOC na přístroji multi N/C® 2100 S (Analytik Jena, Německo) na neředěných vzorcích.

Dlouhodobé testování stability probíhající stejným postupem sloužilo ke zjištění bilance vyplaveného aditiva vůči celkovému, metodou loužení vzorků v demineralizované vodě po dobu 64 dní. Celková koncentrace byla stanovena demineralizací membrán pomocí HNO_3 přidané po skončení testu v poměru 5 ml kyseliny s koncentrací 65% a 20 ml demineralizované vody. V případě membrán s přídavkem TiO_2 a disperze $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ bylo navíc k získání celkové koncentrace TiO_2 využito koncentrované H_2SO_4 . Vzorky byly míchány 24 hodin na horizontální třepačce s frekvencí $200 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ a následně analyzovány metodou ICP-OES. Celková koncentrace byla daná součtem koncentrace aditiva vyplaveného po 64 dnech loužení a získaného demineralizací.

2.10 Antimikrobiální testy

Antimikrobiální vlastnosti testovaných membrán byly testovány kontaktní metodou. Před vlastním testem bylo stanoveno mikrobiální oživení v odtoku z ČOV. Na základě ředící řady ve fyziologickém roztoku a s použitím normy pro stanovení počtu kultivovatelných mikroorganismů (ČSN EN ISO 6222, 2000) byla určena jejich koncentrace ($\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$). Kultivace mikroorganismů probíhala při teplotě $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 44 h.

Odtok z ČOV použitý při vlastním testu byl naředěn pomocí sterilního fyziologického roztoku na koncentraci přibližně 10^3 KTJ dle výsledků předběžného testu. Zvolená koncentrace mikroorganismů sloužila nejen k prokázání antimikrobiálních vlastností, ale zároveň zabraňovala navrstvení mikroorganismů a tím znehodnocení testu. Před započítáním byla přes membrány 15 minut filtrována demineralizovaná voda, aby došlo k odstranění zbytkového rozpouštědla a volných aditiv. Mikrobiální oživení použitého odtoku z ČOV bylo též stanoveno kultivační metodou.

Testování membrán proběhlo filtrací 100 ml naředěného odtoku z ČOV. Membrány byly následně inkubovány po dobu 0; 3; 6 a 24 hodin v uzavřených a navlhčených Petriho miskách, aby se zabránilo kontaminaci z okolí a zároveň nedošlo k vysychání membrán.

Po uplynutí doby inkubace byly membrány otisknuty aktivní vrstvou na agarové plotny. Po 30 minutách kontaktu s agarem byly membrány sejmuty a plotny umístěny do inkubátorů. Kultivovace probíhala 72 h při teplotě 22 °C, následně došlo k vyhodnocení.

2.11 Mikroskopické hodnocení

SEM analýza

Struktura membrán byla hodnocena pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu Carl Zeiss ULTRA Plus (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Německo). Charakterizovány byly jako řezy jednotlivých membrán, tak i jejich povrchy. Zlomení membrán bylo prováděno v kapalném dusíku. Vzorky povrchů a lomů byly před mikroskopickou charakterizací umístěny do pokovovací komory, kde byla na povrch vzorků nanесena tenká vrstva zlata (z důvodu vodivosti vzorků a vyšší kontrastnosti snímků).

EDX analýza

Homogenita rozložení aditiv a chemické složení membrán byly charakterizovány pomocí EDX analýzy (Energy Dispersive X-ray spectroscopy) detektorem X-MAX 20 (Oxford Instruments, Velká Británie), který je součástí použitého SEM. Interference zlata s analyzovaným chemickým složením nedovolovala pokovení vzorků.

AFM mikroskopie

Vliv smíšené matrice na hrubost membránového povrchu byl analyzován pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM). Měření bylo provedeno na ploše $25 \times 25 \mu\text{m}$ v kontaktním režimu s využitím mikroskopu Nanowizard III (JPK Instruments, Německo). Snímky byly vyhodnoceny pomocí programu JPK data processing (JPK Instruments, Německo). Mikroskopická analýza povrchů byla převedena do trojrozměrného modelu výškového profilu. Dále byla stanovena průměrná drsnost reliéfu a nejvyšší hloubka drsnosti.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Příprava membrán se smíšenou maticí

Základní polymerní matrice byla získána smísením 10 hm% PES, 6 hm% PVP (40 kDa) a 84 hm% NMP. Zvolené složení představuje kompromis mezi propustností a selektivitou při přípravě membrán vhodných například pro filtraci aktivovaného kalu. PVP použitý jako činidlo pro tvorbu pórů dodává vzniklé membráně hydrofilní vlastnosti a ta tak lépe odolává zanášení (Vatsha et al., 2014). Výsledné membrány měly výbornou propustnost a selektivitu získanou na úkor mírného zhoršení mechanických vlastností. Dlouhodobé použití membrán by nicméně vyžadovalo roztok s vyšším obsahem polymeru, nebo membránu nanesenou na podpurnou vrstvu zajišťující dostatečnou mechanickou podporu.

Membrány se smíšenou maticí byly vytvořeny smísením základního roztoku doplněného o přídavek komerčních či disperzních nanočástic. Reprodukovatelnost jednotlivých testů byla zajištěna vynesemím dostatečného množství membrán. Podmínky přípravy membrán metodou inverze fáze byly standartizovány, bylo tedy možné posoudit vliv smíšené matrice na membránové charakteristiky. Membrány s aditivou ve formě komerčně dostupných nanočástic byly vynášeny v prostředí s relativní vlhkostí $RH = 27\text{--}29\%$ a teplotou $T = 22\text{--}23\text{ }^{\circ}\text{C}$, zatímco membrány s přídavkem disperzí při $RH = 38\text{--}42\%$ a teplotě $T = 21\text{--}22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Vynesené membrány se, s výjimkou MWCNT modifikace, jevily homogenní, tedy bez viditelných defektů. Nehomogenita MWCNT membrány byla způsobena obtížnou dispergací více-stěnných uhlíkových nanotrubiček a zároveň i jejich agregací.

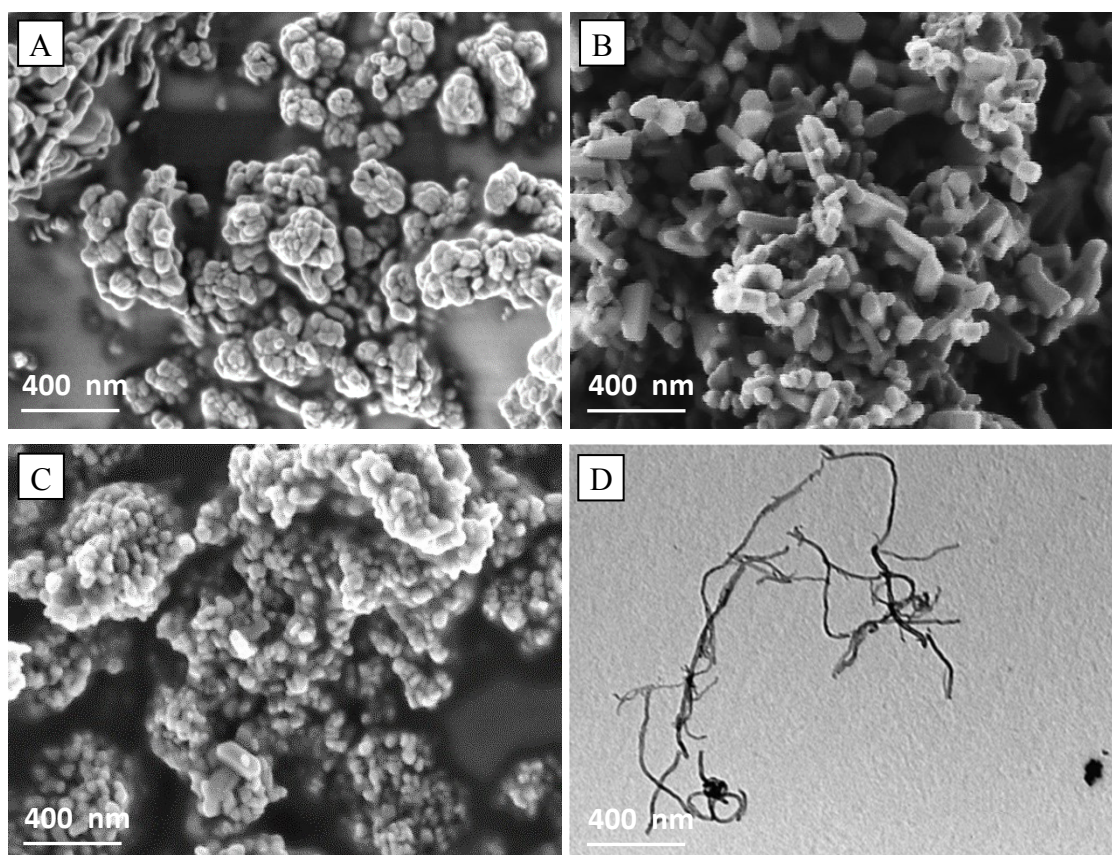
3.2 Charakterizace použitých aditiv

A) Komerčně dostupné nanočástice

Komerčně dostupné nanočástice byly vybrány na základě jejich vlastností potencionálně snižovat membránové zanášení. Oxidy kovů CuO a ZnO byly primárně voleny jako antimikrobiální aditivum. TiO₂ byl vybrán s cílem zvýšit hydrofilitu membrány, nikoliv z důvodů fotokatalytických vlastností, které se díky nedostatku ultrafialového světla ve vodě nemohou projevit. Aditivum MWCNT bylo vybráno opět díky antimikrobiálním vlastnostem vznikajícím prostřednictvím mechanických interakcí CNT v roztoku (Hajipour et al., 2012). Cílem experimentů bylo posoudit, zdali předpokládané vlastnosti přetrvávají i po navázání aditiv do membránové struktury.

Obrázek 2 ukazuje mikroskopické snímky nanočástic. Nanočástice CuO, ZnO, TiO₂ dodané ve formě nanoprášku vykazovaly částicově-kryсталickou strukturu, CuO a TiO₂ byly sférické, ZnO

spíše ve formě krátkých tyčinek. MWCNT vykazovaly dlouhý uhlíkatý řetězec minimální šířky ~15 nm.



Obrázek 2: SEM snímky použitých nanočástic a) CuO, b) ZnO, c) TiO₂, d) MWCNT; zvětšení 50 000×.

Měření velikosti komerčních nanočástic přidaných do rozpouštědla NMP prokázalo odchylky od oficiálně uváděných dat (sekce 2.2), kromě vyšší střední hodnoty byl u částic zjištěn i značný rozptyl (Tabulka 1). Zeta-potenciál měřených nanočástic ukazoval na nestabilitu částic v intervalu -30 mV až 30 mV, přičemž největší stabilitu vykazovaly nanočástice CuO (Tabulka 2). Tato skutečnost se projevila i na velikosti nanočástic v organickém rozpouštědlu, CuO odpovídaly 268 nm, zatímco ZnO dosahovaly hodnot 1120 nm. Nejnižší stabilitu vyjádřenou hodnotou zeta-potenciálu měly MWCNT indikující vzájemnou interakci uhlíkových nanotrubiček. Vzhledem k tyčinkovému tvaru MWCNT nemohlo být měření velikosti na přístroji Zetasizer provedeno, přístroj je určen pouze pro měření částic kulového tvaru (Obrázek 2).

Tabulka 1: Průměrná velikost a rozptyl komerčně dostupných nanočástic v NMP.

| nanočástice | TiO ₂ | CuO | ZnO |
|---------------|------------------|---------|----------|
| velikost [nm] | 460±181 | 268±148 | 1120±241 |

Tabulka 2: Průměrné hodnoty zeta-potenciálu komerčních nanočástic v NMP.

| nanočástice | CuO | ZnO | TiO ₂ | MWCNT |
|----------------------------|-------|-------|------------------|-------|
| zeta-potenciál [mV] | -19,9 | -17,3 | -17,8 | -13,7 |

B) Disperzní nanočástice

Zvolená disperze behenátu stříbrného v NEP prokázala antimikrobiální vlastnosti (část 2) a zároveň kompatibilitu NEP s NMP. Disperze nanočástic stříbra v DMF s povrchových stabilizátorem PVP byla vhodnou kombinací pro modifikaci základního roztoku membrány s prokázanými antimikrobiálními účinky. Posledním zkoumaným systémem byly nanočástice TiO₂-Ag, které byly dispergovány do NMP a následně přidány do membránových roztoků. Příslibem této disperze měly být jak zvýšená hydrofilita tak i antimikrobiální vlastnosti připravených membrán.

Střední velikost behenátu stříbrného v NEP rozdispergovaném v NMP byla 575 nm (Tabulka 3), což je násobně vyšší hodnota než je udávaná výrobcem (15 nm). Dodaná disperze v NEP měla být stabilní i v NMP, jelikož jsou si tyto látky strukturálně i chemicky velmi podobné. Měření zeta-potenciálu nicméně odhalilo nestabilitu disperze (Tabulka 4). Jednou z příčin mohlo být stárnutí, respektive použití disperze starší více než 4 roky. V případě disperze nulmocných nanočástic stříbra byla změřena střední velikost 117 nm. Stejně jako v případě behenátu stříbrného byla pozorována nestabilita disperze v NMP. Možným vysvětlením je interakce povrchového stabilizátoru nanočástic PVP s rozpouštědlem NMP a tedy jejich zvýšená agregace.

Měření velikosti a zeta-potenciálu následovalo po míchání na vortexu. Příprava membránových roztoků (sekce 2.1) využívala také ultrazvukového míchání s předpokládaným pozitivním vlivem na agregaci i výslednou distribuci nanočástic. V případě disperze TiO₂-Ag byla zjištěna střední velikost částic 267 nm (Tabulka 3) a zároveň byla pozorována jejich stabilita v roztoku s NMP (Tabulka 4). Tyto vlastnosti řadí TiO₂-Ag mezi nejvhodnější aditiva.

Tabulka 3: Průměrná velikost disperzních aditiv membrán se smíšenou maticí.

| disperze | AgBeh | Ag0 | TiO ₂ -Ag |
|----------------------|---------|--------|----------------------|
| velikost [nm] | 575±149 | 117±50 | 267±83 |

Tabulka 4: Průměrné hodnoty zeta-potenciálu disperzních aditiv.

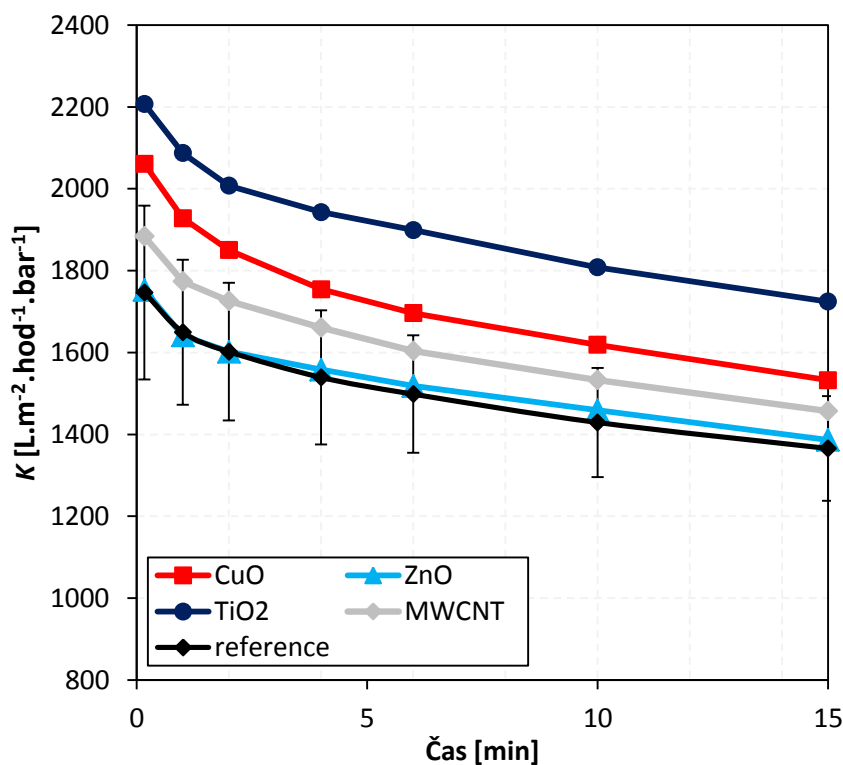
| disperze | AgBeh | Ag0 | TiO ₂ -Ag |
|----------------------------|-------|------|----------------------|
| zeta-potenciál [mV] | -9,8 | -4,5 | -31,0 |

3.3 Měření permeability

a) Membrány s komerčními nanočásticemi

Permeabilita ultrafiltračních membrán je jednou z nejdůležitějších veličin charakterizující tokové vlastnosti membrán. Reproducibility měření bylo dosaženo testováním 5 membrán pro každou variantu. Referenční membrána bez nanočástic dosahovala po 15 min průměrné hodnoty permeability $\sim 1400 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{hod}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$. Membrány s přídavkem ZnO a MWCNT dosahovaly hodnot srovnatelných s referenční membránou, pohybujících se v rámci směrodatné odchylky. Při měření membrán s MWCNT bylo nutné vybrat ty, které nevykazovaly žádné defekty. Membrány s přídavkem TiO_2 a CuO vykazovaly vyšší hodnoty permeability (Obrázek 3). Hodnoty směrodatných odchylek permeabilit se na konci měření pohybovaly v rozmezí 9–15 %, kdy nejmenšího rozptylu hodnot bylo dosaženo pro referenční membránu, největšího naopak pro membrány s přídavkem MWCNT a TiO_2 .

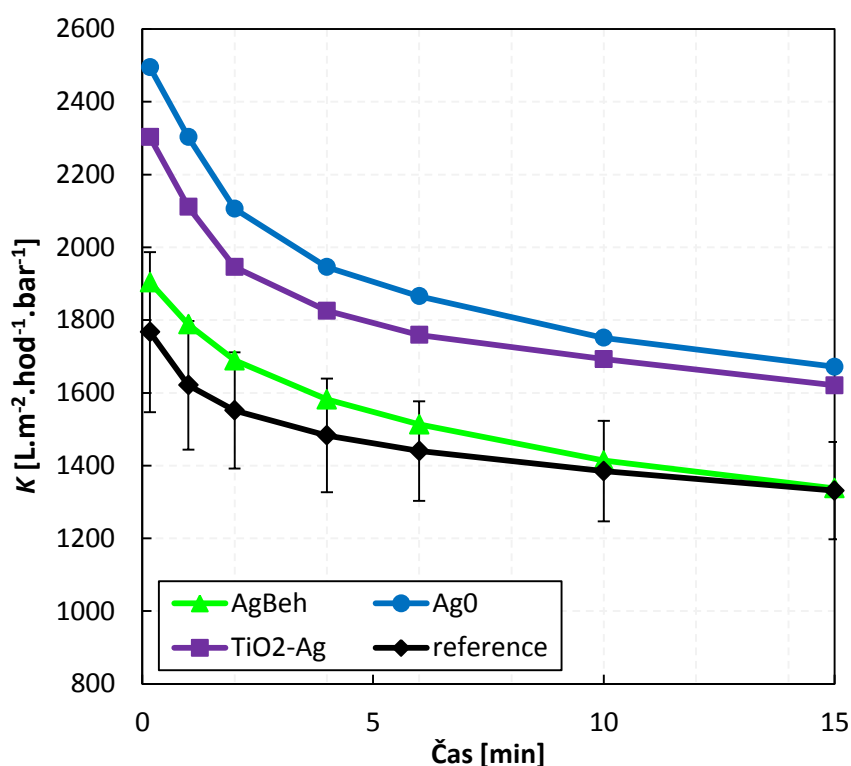
Závislost permeability na čase vykazuje patrný pokles způsobený kompresí membrán při aplikovaném transmembránovém tlaku 0,84 bar vedoucím ke snížení hydraulického výkonu. Není tedy vhodné porovnávat hodnoty permeabilit na začátku měření, kdy kromě strukturálních vlastností může měření ovlivnit i materiálová komprese.



Obrázek 3: Vývoj permeability membrán modifikovaných nanočásticemi v porovnání s referenční, na které jsou vyznačené směrodatné odchylky

b) Membrány s disperzními nanočásticemi

Zvýšená permeabilita byla pozorována u membrán s přidavkem nulmocných nanočástic stříbra a $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Naopak permeabilita membrány s přidavkem behenátu stříbrného vykazovala hodnotu srovnatelnou s referencí (Obrázek 4). Směrodatné odchylky měření se pohybovaly v rozmezí 6-10 %, nejnižší hodnota byla naměřena pro membrány s přidavkem $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, nejvyšší naopak pro membrány s behenátem stříbrným. Referenční membrána dosahovala, stejně jako v předchozím případě, odchylky okolo 9 %.



Obrázek 4: Vývoj permeability membrán modifikovaných přidavkem disperzí v porovnání s referenční, na které jsou vyznačené směrodatné odchylky.

3.4 Měření kontaktního úhlu

Měření kontaktního úhlu sloužilo ke zjištění vlivu smíšené matrice na změnu hydrofilnosti membránových povrchů. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách 5 a 6.

Všechny membrány s aditivou měly menší kontaktní úhel než membrána referenční. Nejnižší kontaktní úhel měly membrány s přidavkem MWCNT, nicméně hodnota 44° nemusí znamenat zvýšení hydrofilních vlastností, jelikož měly membrány okem pozorovatelné strukturální defekty. Tomu odpovídá i vysoký rozptyl naměřených hodnot kontaktního úhlu.

Membrány s přidavkem CuO, TiO₂, ZnO měly přibližně srovnatelný kontaktní úhel 53–54°, použití nanočástic tedy mělo vliv na smáčivost membránového povrchu. Největšího rozptylu naměřených hodnot, vyjma membrán s MWCNT, dosahovaly membrány s TiO₂, nejmenšího rozptylu naopak membrány referenční.

Zvýšení hydrofility membránových povrchů může být způsobeno jak změnou chemické povahy povrchu, zejména v případě nanočástic ve formě oxidu kovů s polární vazbou (Harun et al., 2014), tak i změnou v drsnosti membránového povrchu (sekce 3.11), která může být vyvolána právě aditivou ve formě nanočástic (Ochoa et al., 2001; Rajabi et al., 2015).

Měření kontaktních úhlu povrchů je ve shodě s měřením permeability a to zejména v případě membrán s TiO₂ a CuO vykazující vyšší hodnoty než reference. Srovnání měření kontaktního úhlu s měřením permeability je nutné brát s určitou rezervou, jelikož se v případě měření kontaktního úhlu jedná o statický test, kdy membrány nejsou tlakově ani hydrodynamicky namáhány. Z tohoto důvodu se reálné hydrofilní vlastnosti membrán mohou od měření lišit.

Tabulka 5: Výsledky měření kontaktních úhlů membrán se smíšenou maticí s přidavkem komerčních nanočástic.

| měření | CuO [°] | ZnO [°] | TiO ₂ [°] | MWCNT [°] | REF [°] |
|-------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|
| 1 | 44,4 | 56,3 | 45,7 | 57,7 | 63,2 |
| 2 | 53,9 | 47,8 | 60,8 | 48,1 | 68,6 |
| 3 | 51,0 | 61,2 | 56,3 | 46,3 | 67,2 |
| 4 | 59,5 | 49,8 | 61,3 | 43,0 | 63,6 |
| 5 | 57,6 | 57,3 | 47,7 | 26,9 | 66,4 |
| průměr [°] | 53,3±5,3 | 54,5±5,0 | 54,4±6,5 | 44,4±10,0 | 65,8±2,1 |

Snížení kontaktního úhlu bylo pozorováno v případě membrán s nulmocnými nanočásticemi stříbra a TiO₂-Ag (Tabulka 6). Naopak, membrány s přidavkem behenátu stříbrného nevykazovaly výraznou změnu ve smáčivosti membránového povrchu. Výsledky měření zhruba odpovídají i měření permeability, s jediným rozdílem, kdy membrány s přidavkem nulmocných nanočástic stříbra měly vyšší hodnoty permeability v porovnání s TiO₂-Ag a pro kontaktní úhel bylo jejich pořadí prohozené.

Zvýšené hodnoty permeability a snížení kontaktního úhlu naznačující zlepšené povrchové vlastnosti vybraných membrán nemusí znamenat zlepšení membránových vlastností závislých též na selektivitě (sekce 3.5 & 3.6) a stabilitě aditiv (sekce 3.9).

Tabulka 6: Výsledky měření kontaktních úhlů membrán se smíšenou maticí s přidavkem disperzních nanočástic.

| měření | AgBeh [°] | Ag0 [°] | TiO ₂ -Ag [°] | REF [°] |
|-------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|-----------------|
| 1 | 65,4 | 58,6 | 64,8 | 71,6 |
| 2 | 64,4 | 64,6 | 58,6 | 66,5 |
| 3 | 63,2 | 60,2 | 62,8 | 74,2 |
| 4 | 71,5 | 64,7 | 61,5 | 63,5 |
| 5 | 66,7 | 67,3 | 50,9 | 62,4 |
| průměr [°] | 66,2±2,9 | 63,1±3,2 | 59,7±4,9 | 67,6±4,6 |

3.5 Měření účinnosti odstranění organického znečištění

Separační vlastnosti membrán byly testovány filtrací odtoku a zředěného aktivovaného kalu z ČOV. Měření bylo založeno na stanovení obsahu organického uhlíku (TOC) v nátoku i permeátu sloužících ke zjištění separačních vlastností. Membrány se smíšenou maticí s přidavkem komerčních nanočástic, při zohlednění chyby měření 15 %, dosahovaly úrovně selektivity srovnatelné s referenční membránou jak pro odtok, tak i pro zředěný aktivovaný kal (Tabulka 7). Jen nepatrně zhoršených výsledků při filtraci dosáhla membrána s MWCNT, pravděpodobně vlivem strukturálních defektů. Hodnoty TOC permeátu u všech připravených membrán, včetně MWCNT, byly srovnatelné s oběma referenčními membránami, referenční bez nanočástic i komerční na bázi Nylonu s velikostí pórů 0,2 μm.

Tabulka 7: Hodnoty TOC v permeátu membrán s komerčními nanočásticemi, odtoku a aktivovaného kalu z ČOV.

| membrána | TOC [mg·l ⁻¹] | membrána | TOC [mg·l ⁻¹] |
|--------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
| CuO | 9,4 | CuO | 4,9 |
| ZnO | 8,0 | ZnO | 5,9 |
| TiO ₂ | 7,9 | TiO ₂ | 4,8 |
| MWCNT | 10,0 | MWCNT | 5,4 |
| reference | 9,1 | reference | 4,4 |
| 0,2 μm membr. | 9,3 | 0,2 μm membr. | 5,5 |
| odtok z ČOV | 14,4 | aktiv. kal z ČOV | 14,5 |
| deminer. voda | <0,5 | deminer. voda | <0,5 |

Membrány modifikované disperzními nanočásticemi dosahovaly srovnatelných separačních vlastností jako referenční membrány (Tabulka 8). Nepatrně lepších výsledků bylo dosaženo pro membrány s přídavkem TiO₂-Ag. Stejně jako v předchozím případě byly separační vlastnosti všech připravených membrán srovnatelné s komerčně dostupnou 0,2 μm membránou.

Odtok i aktivovaný kal z ČOV byl pro experimenty s membránami komerčními nanočásticemi odebrán v jiném čase, než pro experimenty s disperzními nanočásticemi. To vysvětluje i rozdílné hodnoty TOC na vstupu (Tabulka 7 a 8).

Tabulka 8: Hodnoty TOC v permeátu membrán s disperzními nanočásticemi, odtoku a aktivovaného kalu z ČOV.

| membrána | TOC [mg·l ⁻¹] | membrána | TOC [mg·l ⁻¹] |
|----------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
| AgBeh | 7,2 | AgBeh | 2,0 |
| Ag(0) | 6,9 | Ag(0) | 2,1 |
| TiO ₂ -Ag | 6,5 | TiO ₂ -Ag | 1,7 |
| reference | 6,6 | reference | 1,7 |
| 0,2 μm membr. | 6,9 | 0,2 μm membr. | 1,9 |
| odtok z ČOV | 9,6 | aktiv. kal z ČOV | 8,8 |
| deminer. voda | <0,5 | deminer. voda | <0,5 |

3.6 Měření dělicí schopnosti membrán

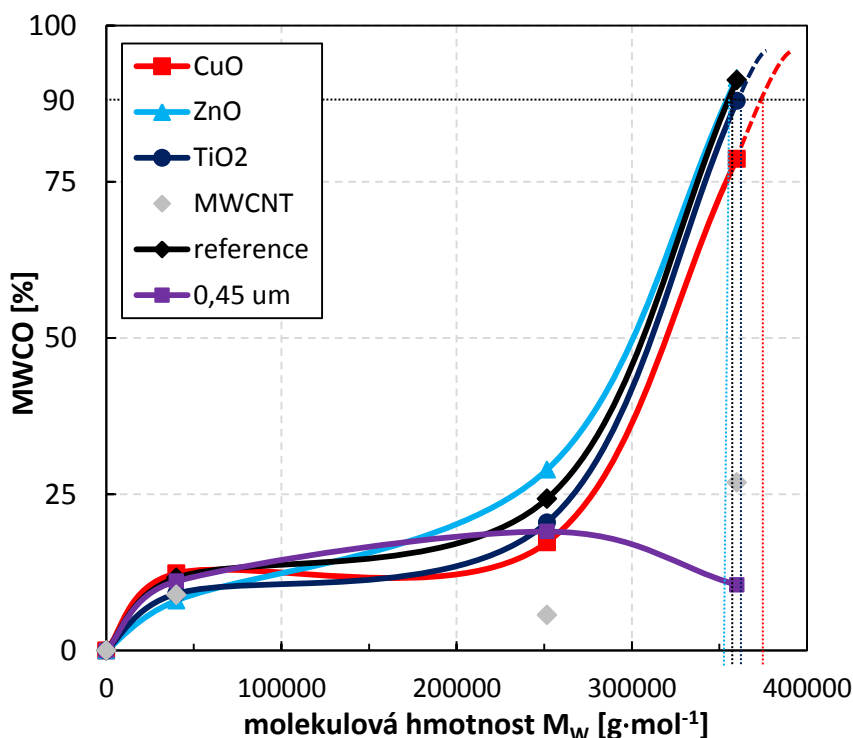
a) Membrány s komerčními nanočásticemi

Membrány se smíšenou maticí modifikované komerčně dostupnými nanočásticemi nezhoršovaly selektivní vlastnosti. Jedinou výjimkou byly membrány s MWCNT u nichž roztoková nehomogenita vedla k defektům aktivní vrstvy a tudíž ke zhoršeným retenčním vlastnostem (Tabulka 9).

Tabulka 9: Výsledky měření retence (%) jednotlivých standardů pro membrány referenční a modifikované pomocí komerčně dostupných nanočástic.

| membrána/standard | PVP 40 | D70 | PVP 360 |
|---------------------------|--------|---------|---------|
| CuO | 12,4 | 17,3 | 78,7 |
| ZnO | 8,0 | 28,9 | 91,6 |
| TiO ₂ | 9,1 | 20,5 | 87,9 |
| MWCNT | 8,9 | 5,7 | 26,9 |
| reference | 11,6 | 24,3 | 91,3 |
| 0,45 μm | 11,1 | 19,0 | 10,5 |
| Mw [g·mol ⁻¹] | 40 000 | 252 000 | 360 000 |

Připravené membrány nevykazovaly významný rozdíl MWCO (350 000–380 000 g·mol⁻¹) analýzy v porovnání s výsledky komerční Nadir® UP150 membrány (část 4.). Kontrolní membrána NC45 s velikostí póru 0,45 μm, dle předpokladů, jednotlivé reference výrazněji neseperovala (Obrázek 5).

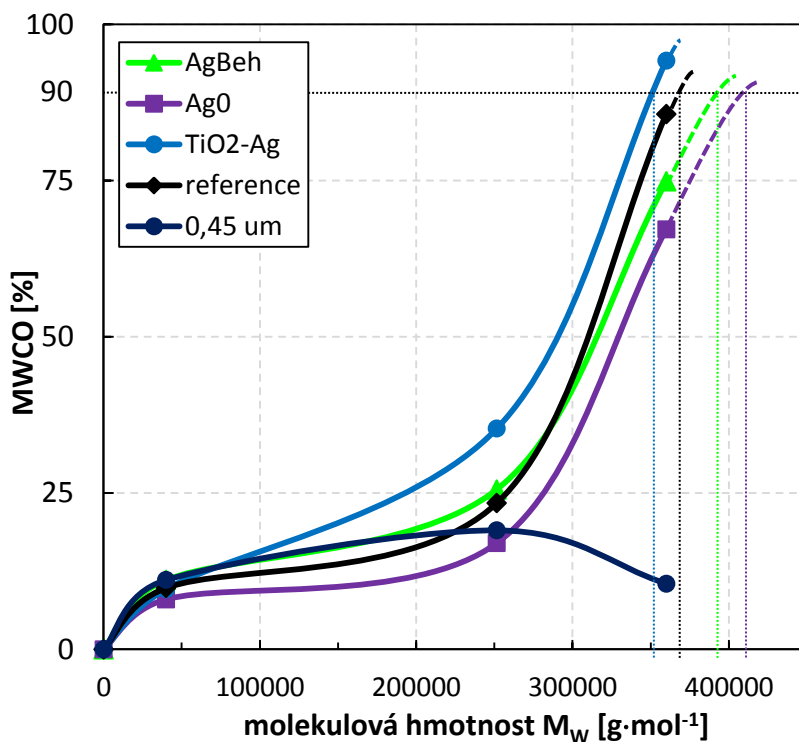


Obrázek 5: Odstranění filtrovaných standardů v závislosti na molekulové hmotnosti s vyznačením MWCO pro membrány modifikované komerčně dostupnými nanočásticemi.

b) Membrány s disperzními nanočásticemi

V případě membrán dotovaných disperzními nanočásticemi byly nejlepší výsledky pozorovány pro TiO₂-Ag modifikaci (Tabulka 10). Částečně horších separačních výsledků bylo dosaženo pro modifikaci disperzí behenátu stříbrného a nulmocných nanočástic stříbra (Obrázek 6).

Možným vysvětlením je povrchová stabilizace těchto disperzních systémů pomocí PVP. V případě nulmocných částic stříbra mohl vést tento přídavek k otevřenější struktuře aktivní vrstvy (sekce 3.11). Vysoký poměr PVP k PES polymeru (3:5) použitý při přípravě referenčních membrán vedl ke zlepšení tokových a zachování selektivních vlastností. Dalším navýšením PVP mohlo dojít ke zhoršení selektivních vlastností a vyšší propustnosti. V praxi se používají daleko nižší poměry PVP:PES například 1:4 (Rahimpour et al., 2012). V našem případě došlo k přípravě referenčních membrán zaručujících optimum v separačních vlastnostech a hydraulickém výkonu, které bylo částečně na úkor mechanických vlastností.



Obrázek 6: Odstranění filtrovaných standardů v závislosti na molekulové hmotnosti s vyznačením MWCO pro membrány s disperzními nanočásticemi.

Tabulka 10: Výsledky měření retence (%) jednotlivých standardů pro membrány referenční a modifikované pomocí disperzních nanočástic.

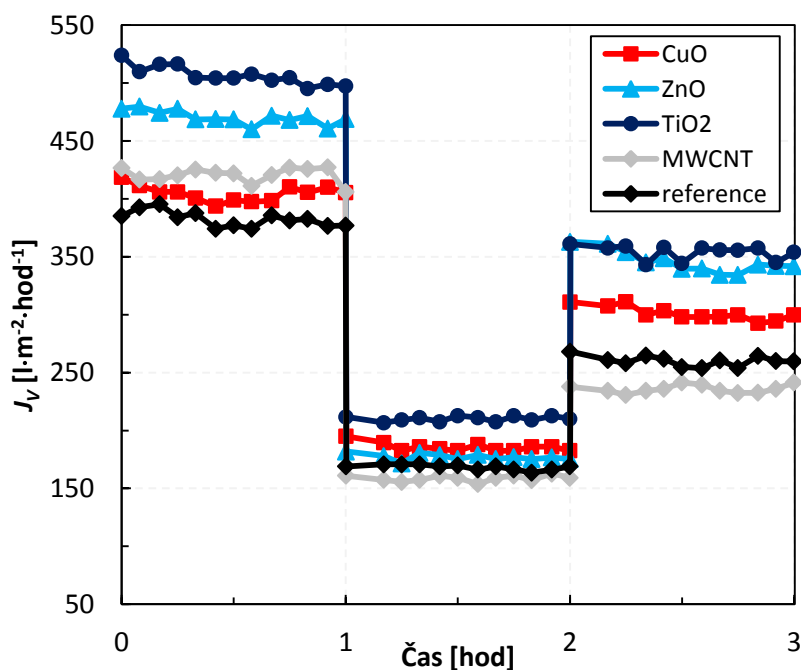
| membrána/standard | PVP 40 | D70 | PVP 360 |
|---------------------------|--------|---------|---------|
| AgBeh | 11,1 | 25,6 | 74,9 |
| Ag0 | 8,0 | 17,0 | 67,2 |
| TiO ₂ -Ag | 9,6 | 35,3 | 94,2 |
| reference | 9,8 | 23,4 | 85,7 |
| 0,45 um | 11,1 | 19,0 | 10,5 |
| Mw [g·mol ⁻¹] | 40 000 | 252 000 | 360 000 |

3.7 BSA testy

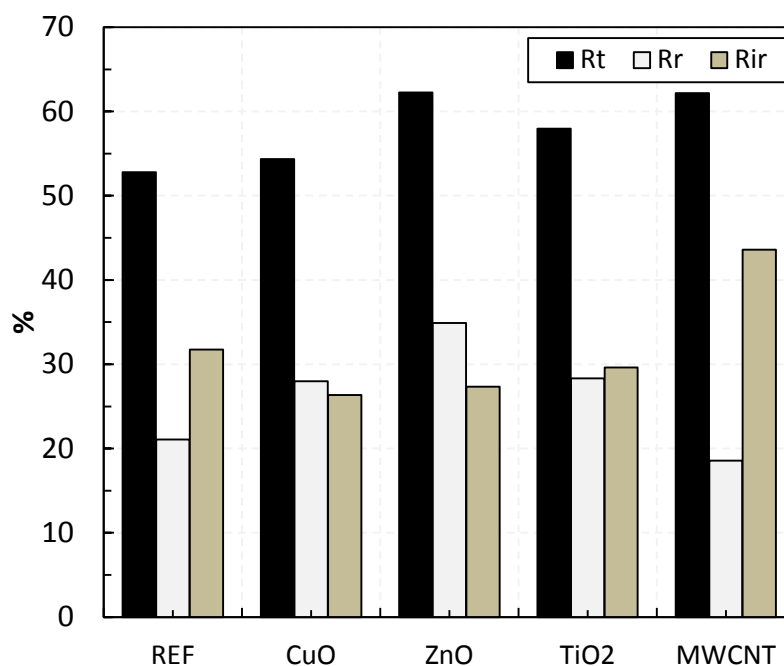
A) Membrány s komerčními nanočásticemi

Nejlepších výsledků dosáhla membrána s přídavkem CuO (Obrázek 7), která vykazovala srovnatelnou hodnotu poklesu toku vlivem celkového zanášení R_t a zároveň nižší hodnotu ireverzibilní poklesu toku R_{ir} , značící vyšší schopnost hydraulického čištění tohoto typu membrány po proteinovém zanášení (Obrázek 8). Naproti tomu nejhorších výsledků dosáhla membrána s přídavkem MWCNT dosahující vysokých hodnot R_t a zároveň i nejvyšší hodnoty R_{ir} (Obrázek 8). Membrány s přídavkem ZnO a TiO₂ dosahovaly horších výsledků R_t než referenční membrána, v obou případech však bylo pozorováno nižší ireverzibilní zanášení, nicméně se nedá hovořit o zlepšeném proteinovém zanášení. Vyšší hodnota R_t v porovnání s referencí mohla být způsobena vyšším tokem těchto membrán, pozorovaným při filtraci demineralizované vody (Obrázek 7) a tím i vyšším tokem BSA proteinu.

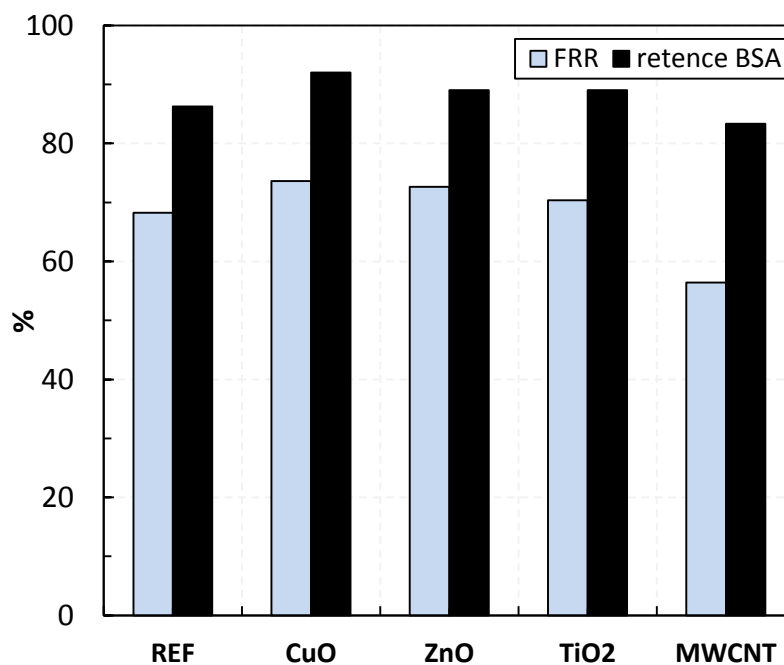
Z hlediska parametrů obnovení toku (FRR) a retence BSA byly opět nejlepší výsledky pozorovány pro membrány s přídavkem CuO. Hodnota FRR dosahovala 74 % při BSA retenci 92 % (Obrázek 9) v porovnání s referencí, kdy FRR byla 68 % a BSA retence 86 %. Zvýšená retence BSA zlepšuje odolnost vůči nevratnému znečištění (Sun et al., 2009), což je v souladu s dosaženými výsledky. Naopak, membrána s MWCNT dosahovala hodnot FRR pouhých 56 % při BSA retenci 83 %.



Obrázek 7: Časový vývoj toku membrán s přídavkem komerčních nanočástic a referenci. V čase 0–1 a 2–3 hodiny byla filtrovaná demineralizovaná voda, v čase 1–2 hodiny BSA protein.



Obrázek 8: Parametry celkového (R_t), reverzibilního (R_r) a ireverzibilního (R_{ir}) zanášení membrán s přidavkem komerčních nanočástic a referenční membrány.



Obrázek 9: Poměru toku před a po filtraci (FRR) a retence BSA (%) pro referenční membránu a membrány s přidavkem komerčních nanočástic.

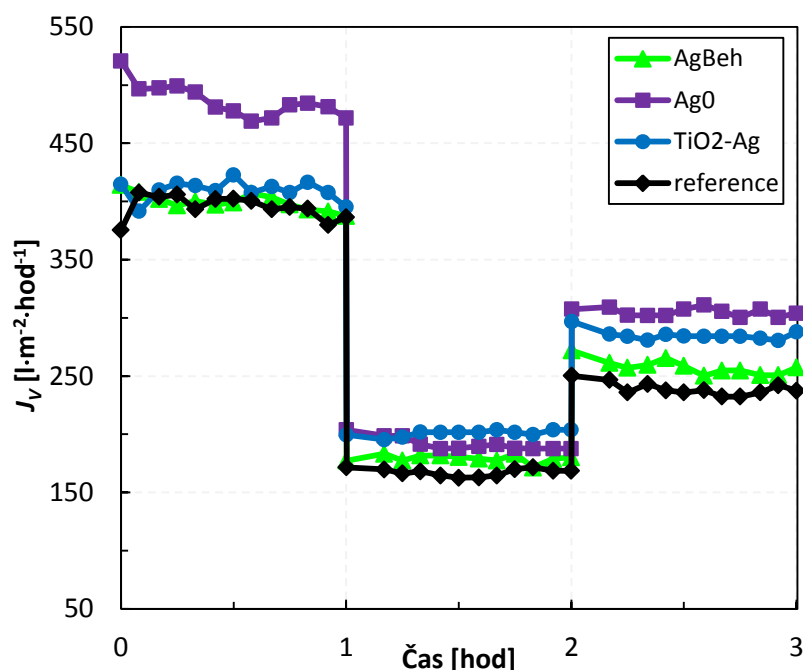
A) Membrány s disperzními nanočásticemi

Pro membrány s přídavkem disperzních nanočástic potvrdily proteinové filtrační testy pozitivní vliv smíšené matrice (Obrázek 10).

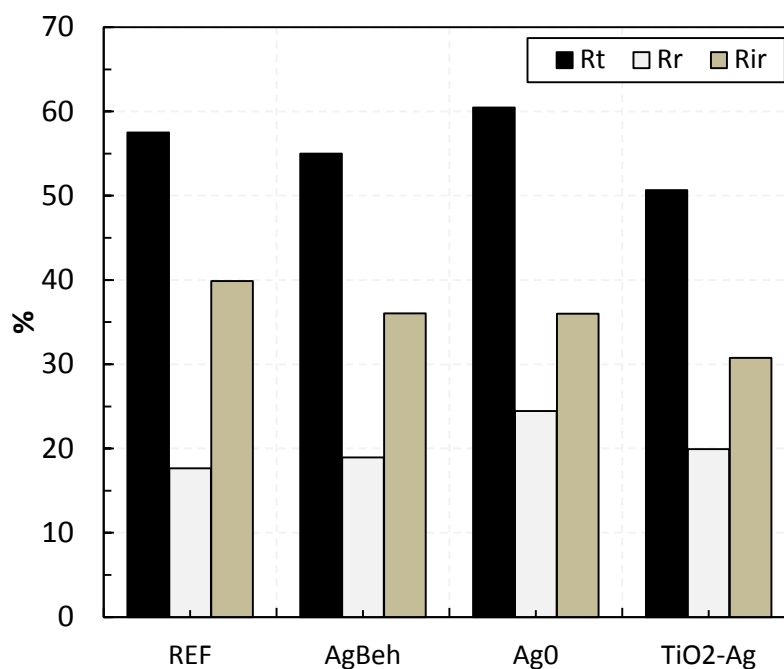
Nejlepších výsledků bylo dosaženo pro membrány s přídavkem disperze $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, pro které byla pozorována nejnižší hodnota parametru celkového zanášení R_t , spolu s nejnižší hodnotou ireverzibilního parametru R_{ir} (Obrázek 11). Zároveň byla pro tento typ membrán pozorována i nejvyšší hodnota BSA retence 91 % oproti referenci (84 %).

Membrány s přídavkem disperze behenátu stříbrného vykazovaly jen nepatrné změny vůči referenci, indikující minimální vliv membránové matrice na proteinové zanášení.

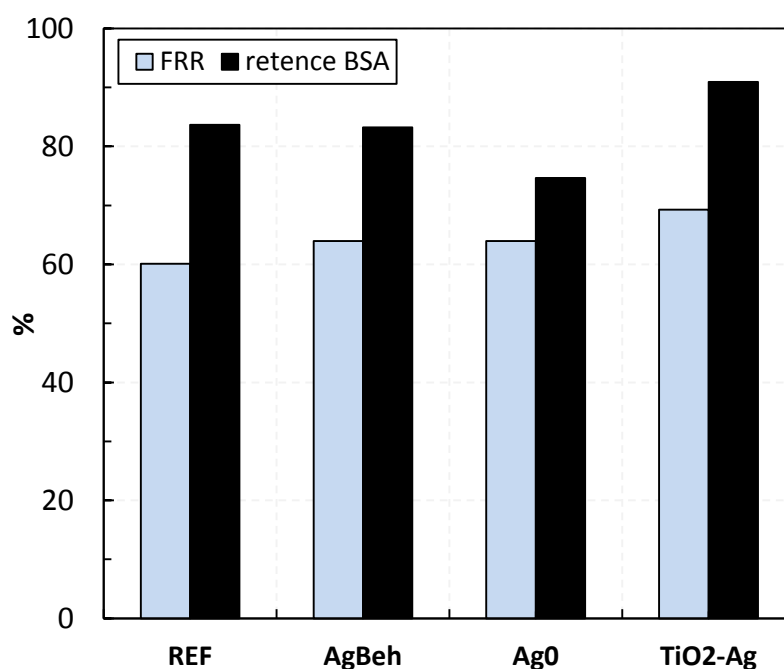
Membrány s přídavkem disperze nulmocných nanočástic stříbra vykazovaly v porovnání s referenční membránou nepatrně vyšší hodnotu R_t , způsobenou pravděpodobně vyšším tokem membrány spolu s nižší selektivitou pro BSA protein (Obrázek 12). Nicméně vyšší hodnota R_t byla balancována vyšší hodnotou reverzibilního zanášení a hodnotou FRR , která dosahovala 64 % oproti referenci s hodnotou FRR 60 %.



Obrázek 10: Časový vývoj toku membrán s přídavkem disperzních nanočástic a referenci pro filtrační test s BSA proteinem.



Obrázek 11: Parametry celkového (R_t), reverzibilního (R_r) a ireverzibilního (R_{ir}) zanášení membrán s přidavkem disperzních nanočástic a referenční membrány.



Obrázek 12: Poměru toku před a po filtraci (FRR) a retence BSA (%) pro referenční membránu a membrány s přidavkem disperzních nanočástic.

3.8 Filtrační testy s aktivovaným kalem

A) Membrány s komerčními nanočásticemi

Na rozdíl od filtračního testu s referenčním proteinem diskutovaného v minulé sekci, představují filtrace aktivovaného kalu testy s reálnou odpadní vodou. Tím je možné posoudit vliv smíšené matrice na filtraci vody obsahující kromě proteinů i mikrobiální složku spolu s jejími produkty ve formě extracelulárních látek (Dvořák et al., 2011). Navržen byl dynamický test s periodickými relaxacemi v kontinuálně míchané cele tak, aby bylo možné posoudit vliv membránové matrice na snížené zanášení.

Membrány modifikované CuO nanočásticemi vykazovaly nejlepší výsledky (Obrázek 13). Pozorovány byly vyšší hodnoty permeability s pozvolným nárůstem po periodické relaxaci. Výsledky v časech 6–22 hodin prokázaly udržení rozdílu permeabilit dosahující nárůstu 5–7 %, po poslední relaxaci došlo dokonce k navýšení tohoto rozdílu na hodnotu okolo 10 % (Obrázek 14). V průběhu testu byla naměřena také vyšší selektivita v porovnání s referencí (Tabulka 11) indikující velmi dobré separační vlastnosti pro složky aktivovaného kalu. I přesto, že membrány s přídavkem CuO nevykázaly výrazné antimikrobiální účinky v testech s reálnou odpadní vodou (sekce 3.10), jejich zvýšená hydrofilita (sekce 3.4) a povrchová morfologie (sekce 3.11) společně s výsledky v krátkodobém filtračním testu indikují, že lze tento typ membrán podstoupit dlouhodobějšímu testování v navazujícím výzkumu.

Membrány s přídavkem ZnO neprokázaly pozitivní výsledky membránového zanášení ve filtračním testu s aktivovaným kalem (Obrázek 15) vykazující nižší hodnoty permeability prakticky v celém průběhu (Obrázek 16). Vysvětlením by mohla být ztráta aditiv vlivem vyplavování (sekce 3.9) a tím i nepatrně horší zanášení, která vedlo ke ztrátě počátečních antimikrobiálních i hydrofilních vlastností. Studium morfologie povrchů ZnO membrán po dlouhodobém loužení odhalilo minimální změny vůči referenční membráně indikující minimální vliv aditiva na drsnost povrchu. Dalším možným vysvětlením bylo vyplavení části hydrofilního PVP, které by za normálních okolností zůstalo součástí polymerní matrice. Selektivita membrán s přídavkem ZnO v testu s aktivovaným kalem byla celkově srovnatelná s referenční membránou (Tabulka 11).

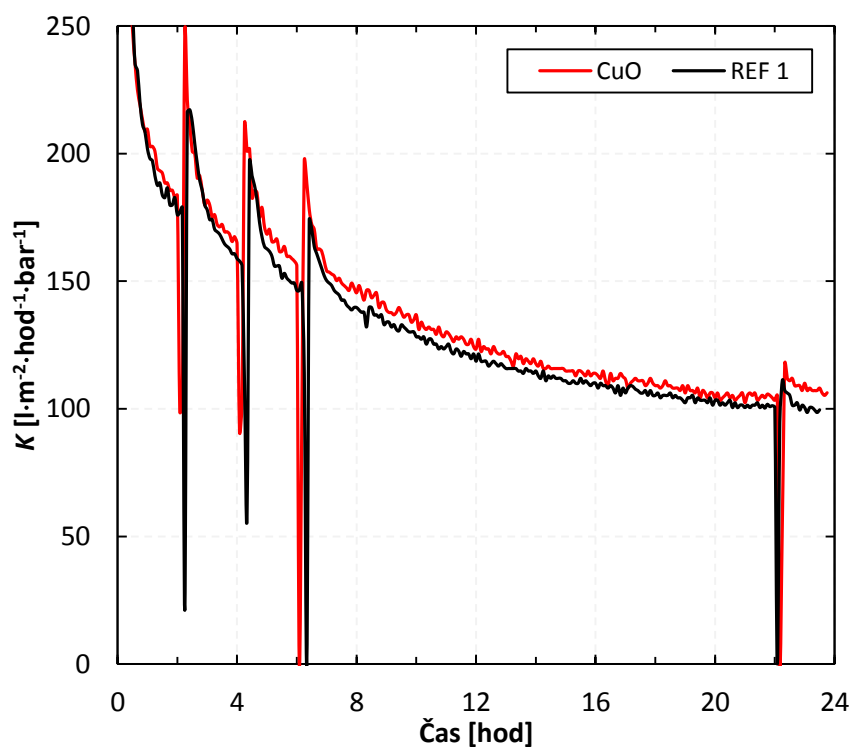
Pro membrány s přídavkem TiO₂ byl pozorován trend s časem se zlepšující permeability, kdy hodnoty pozorované v průběhu první části testu byly nižší než v případě reference (Obrázek 17). Pozorován byl nárůst permeability v časech 6–22 hodin indikující částečný vliv smíšené matrice (Obrázek 18). Měření kontaktního úhlu pro tento typ membrán indikovalo zvýšenou hydrofilitu

(sekce 3.4). Analýza povrchu pomocí AFM mikroskopie prokázala zvýšenou drsnost (sekce 3.11). Dle dostupných studií však ovlivňuje hydrofilitu membránového povrchu vedoucí ke sníženému zanášení spíše rovnoměrná změna hrubosti na submikronové a nanoúrovni (Baghbanzadeh et al., 2015), než změna vlivem větších agregátů pozorovaných AFM mikroskopii. Celkový hydraulický výkon TiO_2 membrán byl srovnatelný s referenční membránou, přičemž po poslední relaxaci nedošlo k výraznější změně vůči referenci. Nebyly potvrzeny antimikrobiální vlastnosti TiO_2 membrán testované s reálnou odpadní vodou pozitivně ovlivňující zanášení (sekce 3.10). Membrána měla též nepatrně horší selektivní vlastnosti pro složky aktivovaného kalu v porovnání s referencí hodnocené pomocí obsahu organických látek (Tabulka 11).

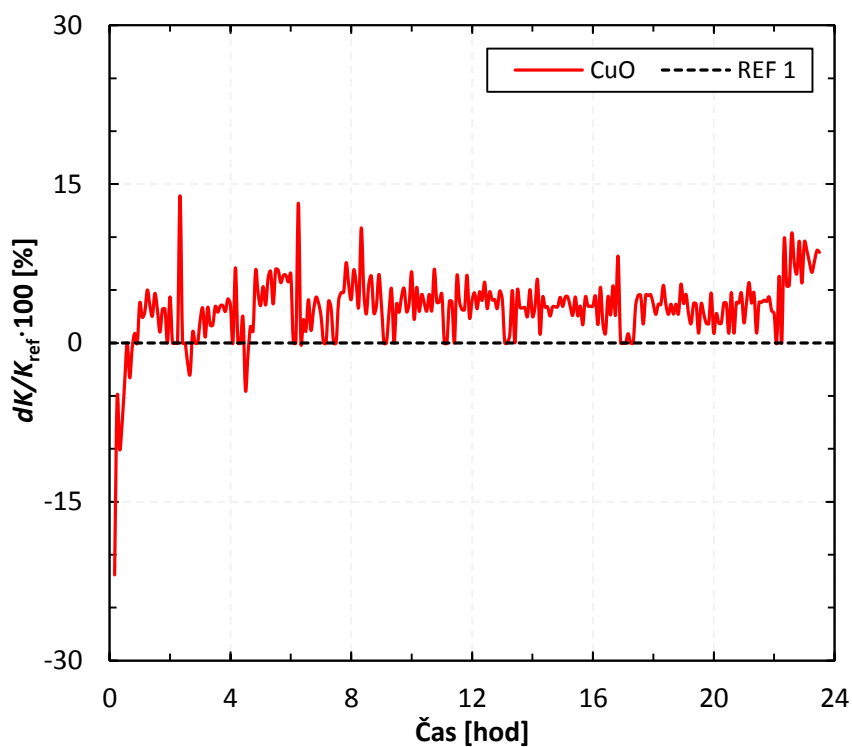
Membrány s přídavkem MWCNT vykázaly ve filtračním testu s aktivovaným kalem zhoršené výsledky oproti referenci (Obrázek 19). Kromě vyšší počáteční hodnoty permeability byl také hydraulický výkon v průběhu celého testu zhruba o 8-10 % nižší (Obrázek 20). Při filtraci referenčního proteinu se potvrdilo zvýšené zanášení jejich povrchu. Tyto výsledky jsou naopak v rozporu s výsledky měření kontaktního úhlu (sekce 3.4) i drsnosti povrchu (sekce 3.11) indikující částečně pozitivní vliv MWCNT na hrubost membrán.

Zatímco snížení kontaktního úhlu mohlo být způsobeno lokálními defekty membrán a bylo indikováno vysokým rozptylem naměřených hodnot, vliv částečně zvýšené drsnosti zůstává nejasný. Možným vysvětlením by mohla být interakce MWCNT s membránou matricí (sekce 3.11) včetně hydrofilního PVP, který pokud je součástí polymerní matrice pozitivně ovlivňuje membránové zanášení (Vatsha et al., 2014). Takováto změna chemického složení matrice by mohla ovlivnit zanášení.

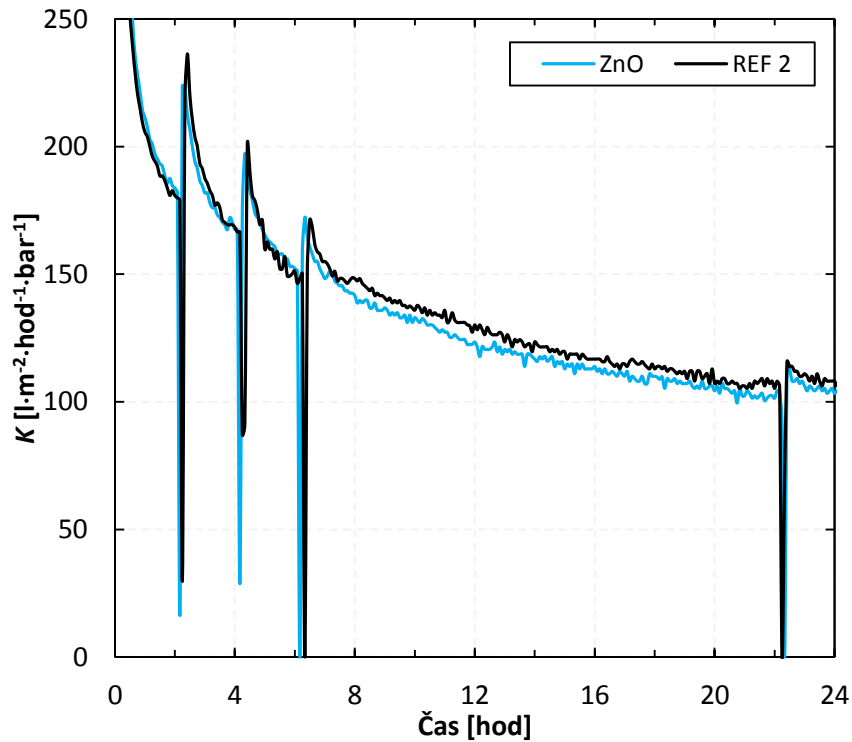
V první části experimentu byla pozorována nepatrně nižší selektivita složek aktivovaného kalu vůči referenci (Tabulka 11), potvrzující závěry zhoršené selektivity (sekce 3.6). Nicméně v druhé části experimentu byla selektivita vyšší než u referenční membrány indikující interakci smíšené matrice se složkami aktivovaného kalu a vytvoření dodatečné separační vrstvy. Tento předpoklad je podpořen sníženými hodnotami permeability v průběhu filtračního testu (Obrázek 20). Shrnutí naměřených hodnot obsahu organických látek permeátu jednotlivých membrán jsou uvedeny v tabulce 11.



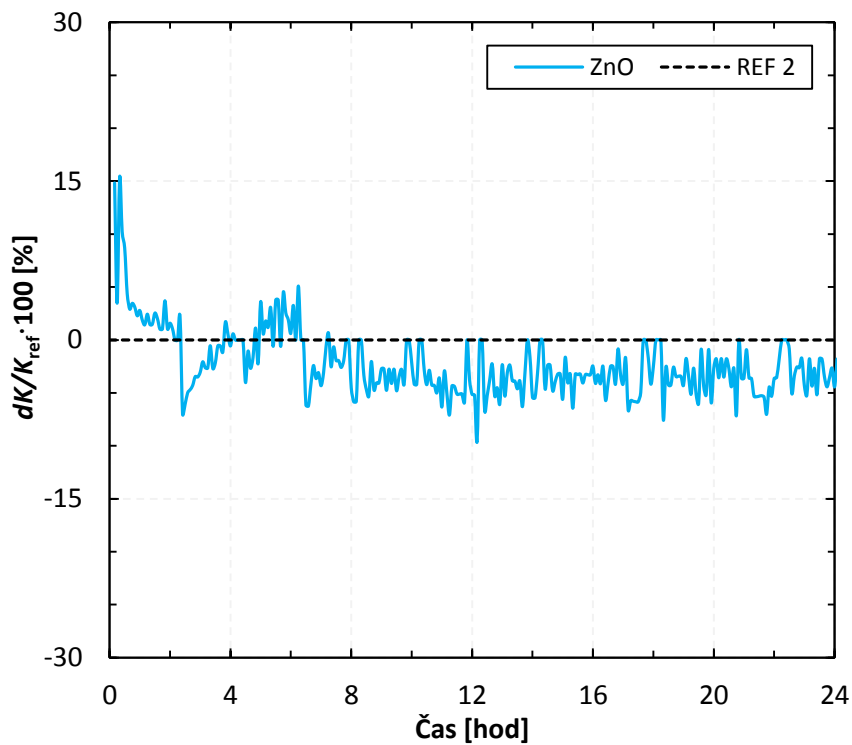
Obrázek 13: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přídavkem CuO a referenční membránu.



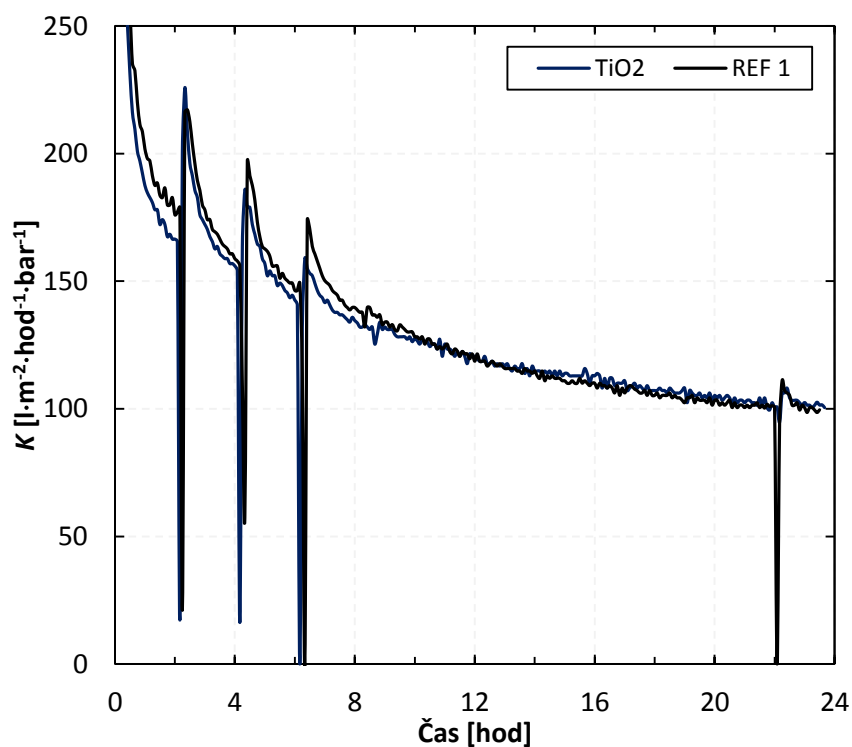
Obrázek 14: Rozdíl permeabilit ($dK/K_{\text{ref}}; \%$) membrány s CuO v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přídavkem aktivovaného kalu.



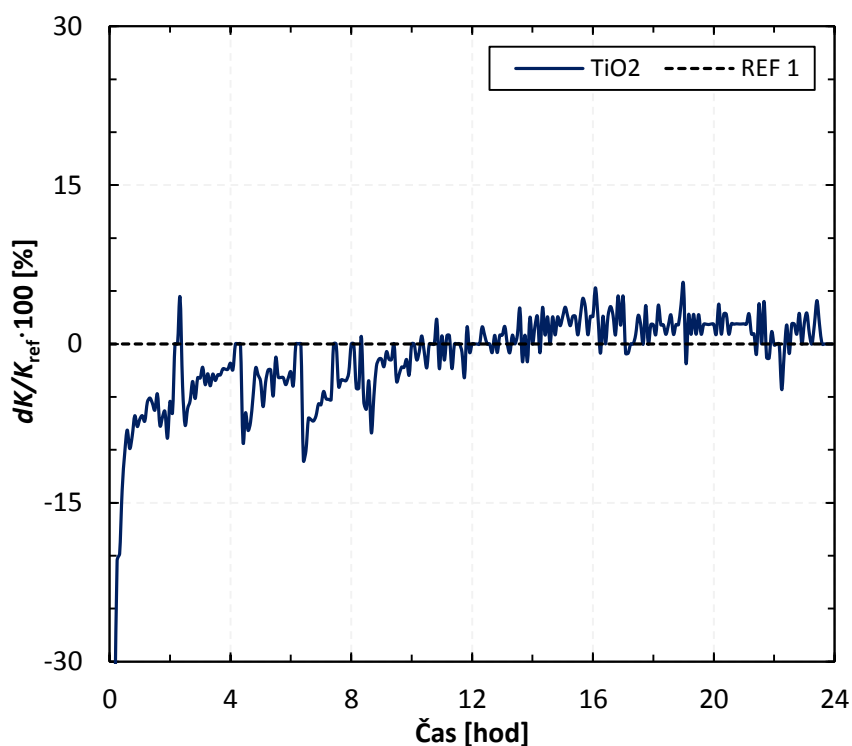
Obrázek 15: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přidavkem ZnO a referenční membránu.



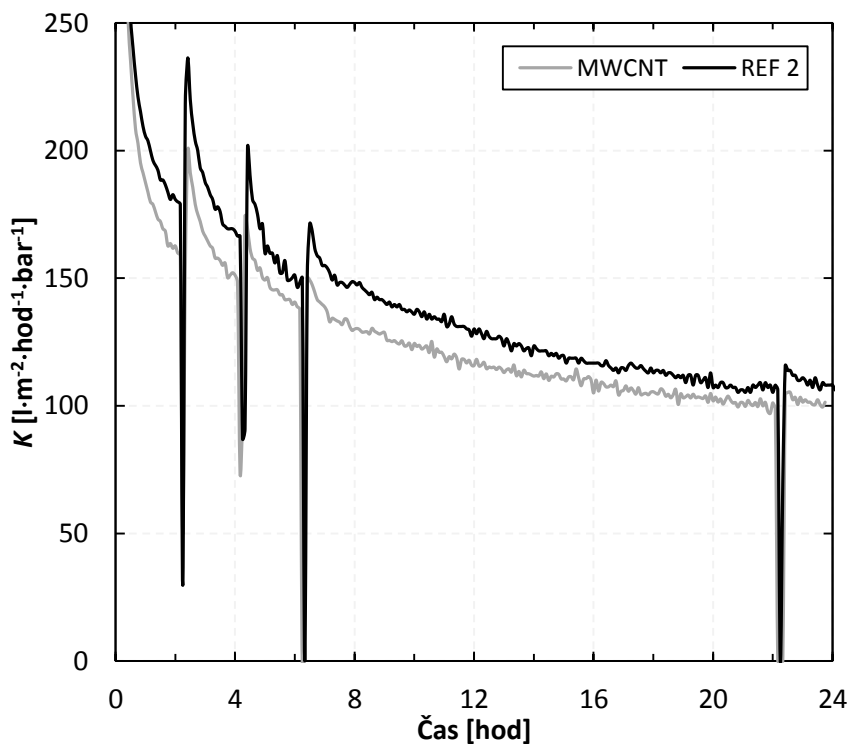
Obrázek 16: Rozdíl permeabilit (dK/K_{ref} ; %) ZnO membrány v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přidavkem aktivovaného kalu.



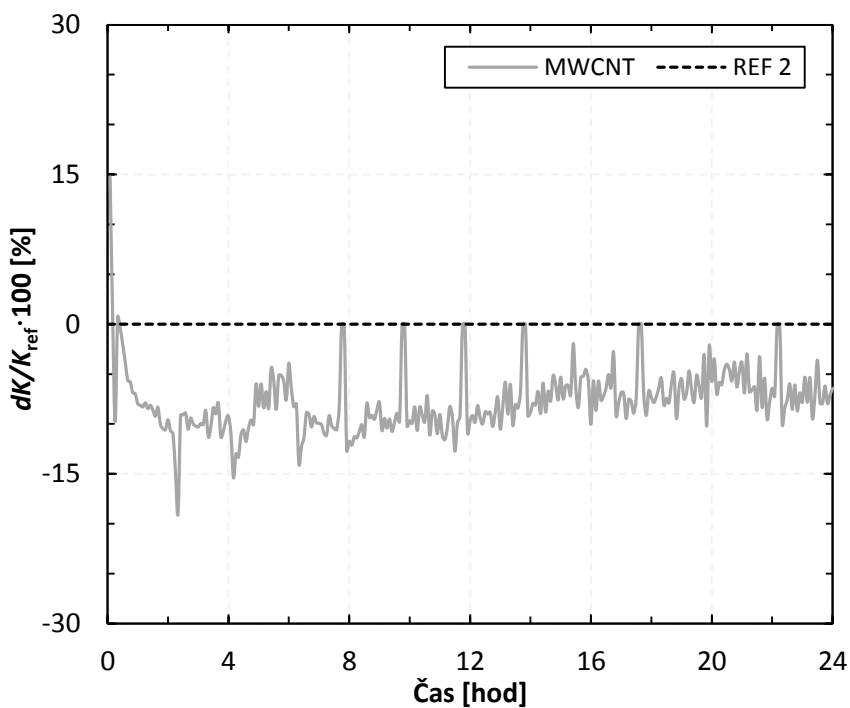
Obrázek 17: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přidavkem TiO_2 a referenční membránu.



Obrázek 18: Rozdíl permeabilit (dK/K_{ref} ; %) membrány s TiO_2 v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přidavkem aktivovaného kalu.



Obrázek 19: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přidavkem MWCNT a referenční membránu.



Obrázek 20: Rozdíl permeabilit (dK/K_{ref} ; %) membrány s MWCNT v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přidavkem aktivovaného kalu.

Tabulka 11: Výsledky měření obsahu organických látek (CHSK_{Cr}) v permeátu a hodnoty nerozpuštěných látek (NL) aktivovaného kalu pro membrány s přidavkem komečných nanočástic.

| membrána | NL [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] | CHSK_{Cr} 6 h. [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] | CHSK_{Cr} 24 h. [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|------------------|---|---|--|
| CuO | | 7,4 | 6,4 |
| TiO ₂ | 4485 ± 85 | 10,2 | 9,7 |
| reference 1 | | 9,2 | 7,6 |
| ZnO | | 9,0 | 8,1 |
| MWCNT | 4240 ± 80 | 11,1 | 4,8 |
| reference 2 | | 10,1 | 6,8 |

B) Membrány s disperzními nanočásticemi

Membrána s přidavkem disperze behenátu stříbrného nevykazovala zlepšené vlastnosti oproti referenční membráně (Obrázek 21) a tento trend se výrazněji nezlepšil ani s probíhajícím časem testu (Obrázek 22). Toto pozorování podporuje měření kontaktního úhlu (sekce 3.4) neindikující zvýšené hydrofilní vlastnosti i test s referenčním proteinem (sekce 3.7) neprokazující výraznější tendenci snižovat proteinové zanášení.

Velmi dobré antimikrobiální vlastnosti těchto membrán prokázané v kontaktním testu (sekce 3.10) výrazněji nepřispěly ke sníženému zanášení při filtraci reálné odpadní vody. Důvodem by mohla být rodilné mikrobiální oživení, zatímco kontaktní testy probíhaly s řádovou koncentrací bakterií $4 \cdot 10^3 \text{ KTJ}\cdot\text{ml}^{-1}$, počet bakterií v aktivovaném kalu je o mnoho řádu vyšší (Jenkins a Wanner, 2014). Vliv na snížené zanášení při filtraci aktivovaného kalu mají spíše hydrofilní než antimikrobiální vlastnosti smíšené matrice. Selektivita pozorovaná při filtraci aktivovaného kalu byla srovnatelná s referencí (Tabulka 12).

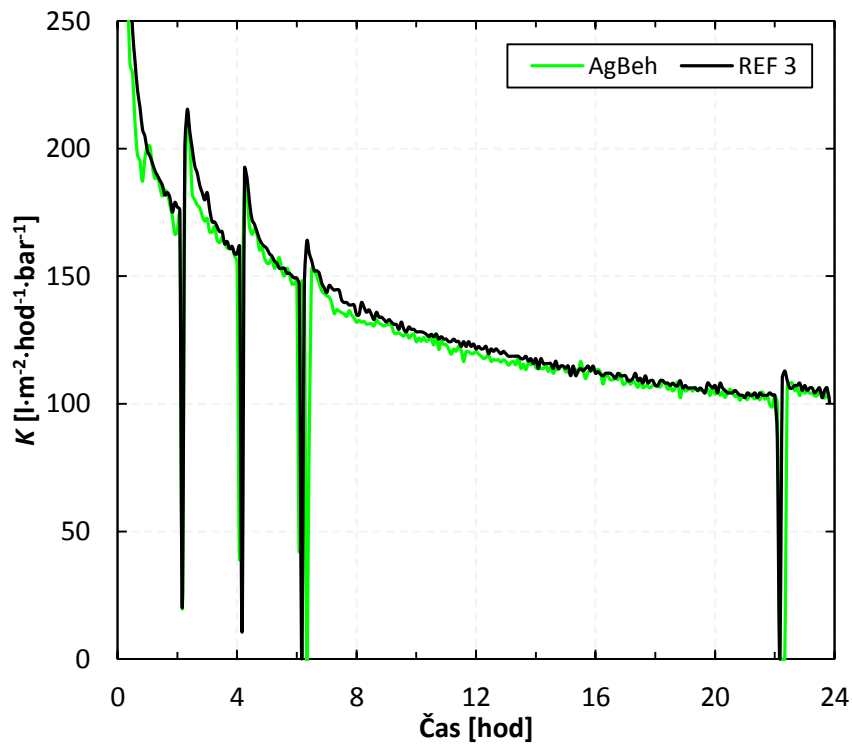
Membrány s přidavkem disperze nulmocných nanočástic stříbra vykazovaly zvýšené hodnoty permeability vůči referenci (Obrázek 23) způsobené nižší selektivitou těchto membrán zejména v první části experimentu (Tabulka 12). V průběhu testu došlo k postupnému stírání rozdílů v hodnotách permeabilit, kdy hodnota změny před poslední relaxací byla 5 % ve prospěch modifikovaných membrán. Po této relaxaci došlo k dalšímu nepatrnému navýšení tohoto rozdílu (Obrázek 24). Membrány tedy přinášejí určité zlepšení indikované jednak zvýšenou hydrofilitou (sekce 3.4), ale i změnou povrchové drsnosti (sekce 3.11). Nicméně vyšší permeabilita byla částečně na úkor nižší selektivity.

Nejlepších výsledků při filtraci aktivovaného kalu bylo dosaženo pro membrány s přídavkem disperzního roztoku $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Hodnoty permeability se zvyšovaly v čase s rostoucím počtem relaxací (Obrázek 25). K ustálení rozdílu permeability došlo při hodnotách o 7–10 % vyšších než v případě membrány referenční (Obrázek 26). I po poslední povedené relaxaci po 22 hodinách byla permeabilita vyšší cca o 8 %. Příčinou pozitivních výsledků mohla být kombinace zvýšených hydrofilních vlastností a změn v drsnosti povrchu v nanoměřítku.

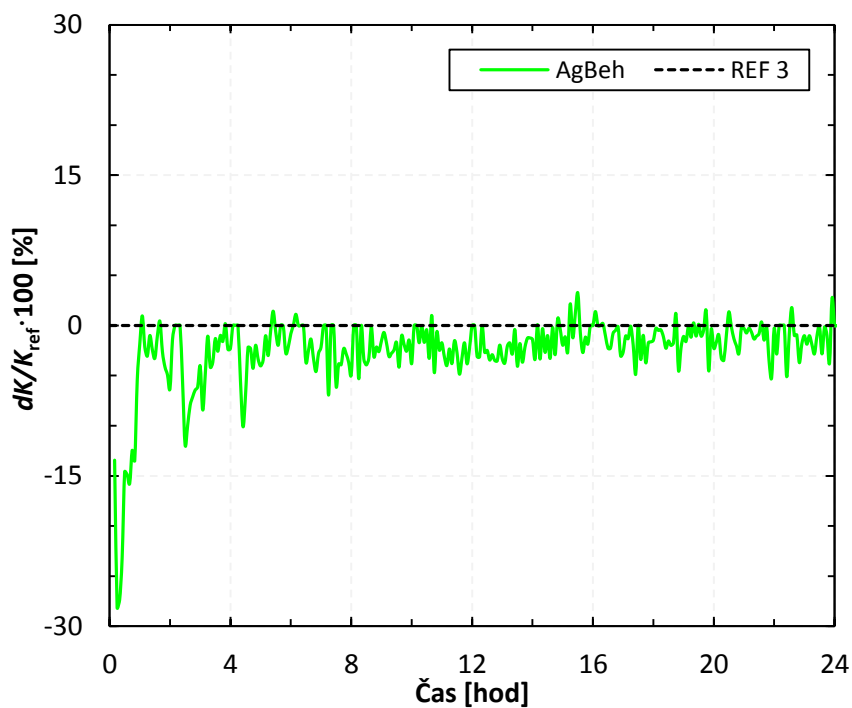
Testovány byly též antimikrobiální vlastnosti (sekce 3.10), nicméně jejich vliv na mikrobiální složku aktivovaného kalu je diskutabilní. Membrány dále vykazovaly zlepšenou selektivitu (sekce 3.6) a zároveň i vyšší permeabilitu v porovnání s referenčními membránami. Při filtraci aktivovaného kalu byla pozorována nepatrně vyšší selektivita v porovnání s referenční membránou (Tabulka 12). Při porovnání s membránami s přídavkem komerčního TiO_2 se jeví přídavek stříbra jako vhodným doplňkem, nicméně hlavní důvod zlepšených povrchových vlastností lze spatřovat v menších částicích $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ v porovnání s TiO_2 (Tabulka 3). Postup přípravy popsáný v Harikishore et al. (2014) tvoří nanokrystaly TiO_2 výhradně v anatasové formě, přičemž by krystalická forma zároveň mohla vést ke zvýšené stabilitě stříbra. Výsledky filtračního testu s aktivovaným kalem prokázaly právě tuto modifikaci jako vhodnou pro další studium, zejména formou dlouhodobých filtračních testů s reálnou odpadní vodou.

Reprodukovatelnost i nejistota výsledků testů byla zajištěna pomocí po sobě následujících testech referenční membrány probíhajících za identických podmínek testování. Hodnota nerozpuštěných látek v aktivovaném kalu byla $3760 \pm 280 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, hodnoty CHSK_{Cr} permeátu byly prakticky shodné.

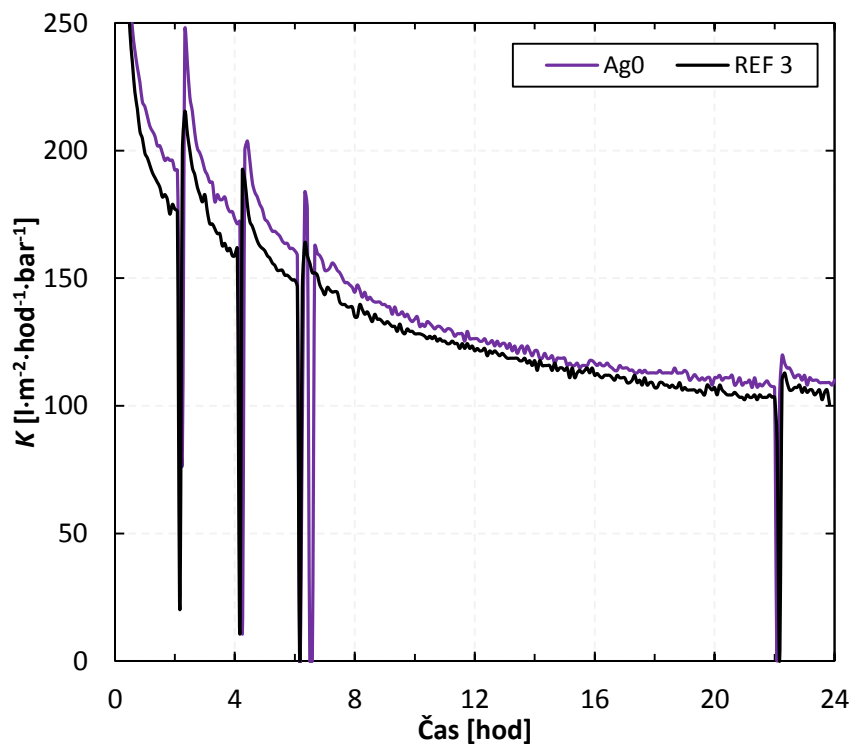
Průměrný rozdíl permeability v čase 6–24 byl menší než 2 % (-1,6 % pro referenční membránu testovanou druhý den), indikující vliv smíšené matrice na filtrační vlastnosti v testu s aktivovaným kalem u vyšších odchylek. Konkrétně se jednalo membrány s přídavkem CuO (+3,8 %), ZnO (-3,3 %), MWCNT (-7,5 %). V případě disperzních nanočástic se vliv smíšené matrice nad rámec odchylky projevil u membrán s nulmocnými nanočásticemi stříbra (+3,9 %) a $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ (+5,8 %).



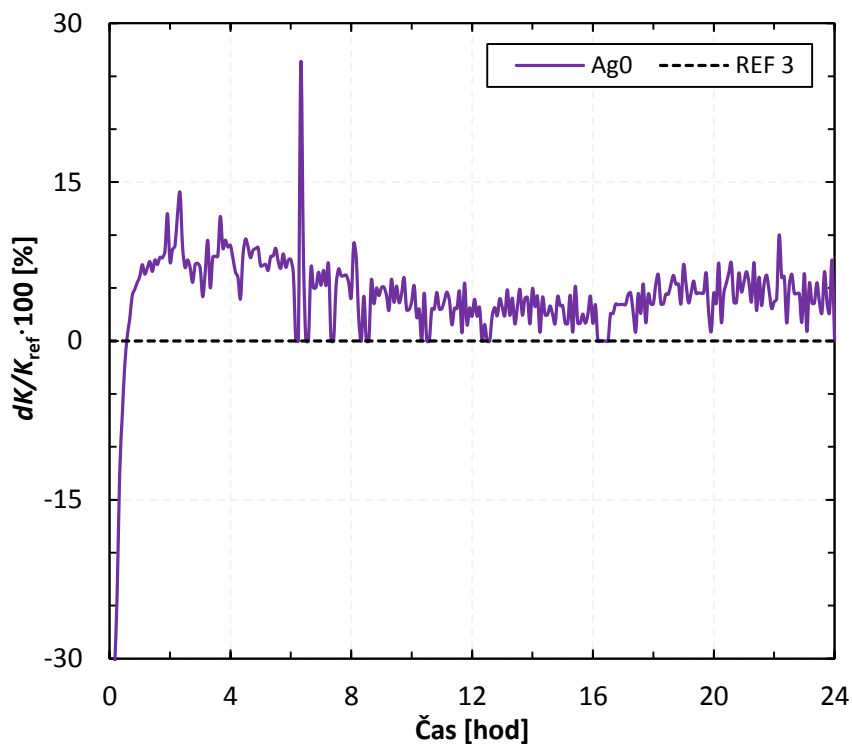
Obrázek 21: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přidavkem disperze behenátu stříbrného a referenční membránu.



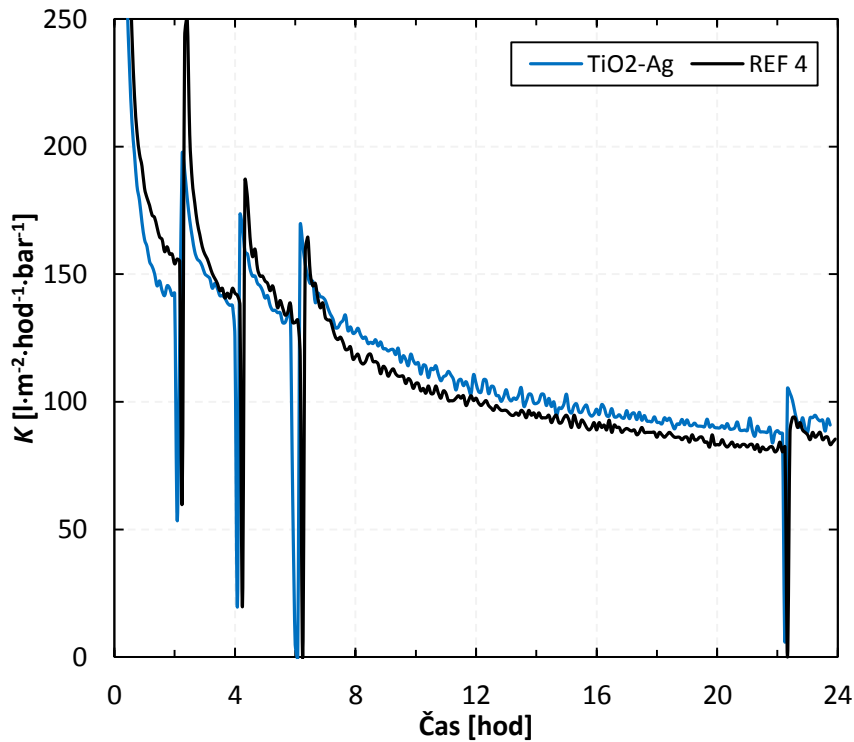
Obrázek 22: Rozdíl permeabilit (dK/K_{ref} ; %) membrány s disperzí behenátu stříbrného v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přidavkem aktivovaného kalu.



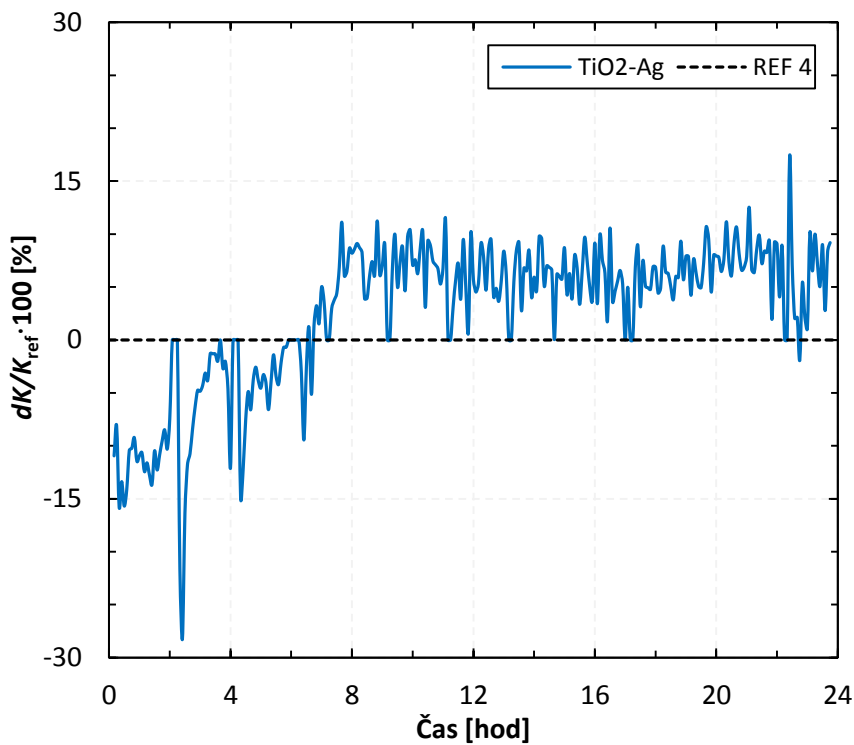
Obrázek 23: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přídavkem disperze nulmocných nanočástic stříbra a referenční membránu.



Obrázek 24: Rozdíl permeabilit ($dK/K_{\text{ref.}}$; %) membrány s disperzí nulmocného stříbra v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přídavkem aktivovaného kalu.



Obrázek 25: Hodnoty permeabilit (K) v závislosti na čase při filtraci aktivovaného kalu přes membránu s přídavkem disperze $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ a referenční membránu.



Obrázek 26: Rozdíl permeabilit ($dK/K_{\text{ref}}; \%$) membrány s disperzí $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ v porovnání s referenční membránou během filtračního testu s přídavkem aktivovaného kalu.

Tabulka 12: Výsledky měření obsahu organických látek (CHSK_{Cr}) v permeátu a hodnoty nerozpuštěných látek (NL) aktivovaného kalu pro membrány s disperzními nanočásticemi.

| Membrána | NL [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] | CHSK_{Cr} 6 h. [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] | CHSK_{Cr} 22 h. [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|----------------------|---|---|--|
| AgBeh | | 10,9 | 7,6 |
| Ag0 | 5200 ± 40 | 12,8 | 8,5 |
| reference 3 | | 10,3 | 6,8 |
| TiO ₂ -Ag | | 10,6 | 6,4 |
| reference 4 | 4040 ± 160 | 11,4 | 7,7 |

3.9 Stabilita aditiv v membráně

A) Membrány s komerčně dostupnými nanočásticemi

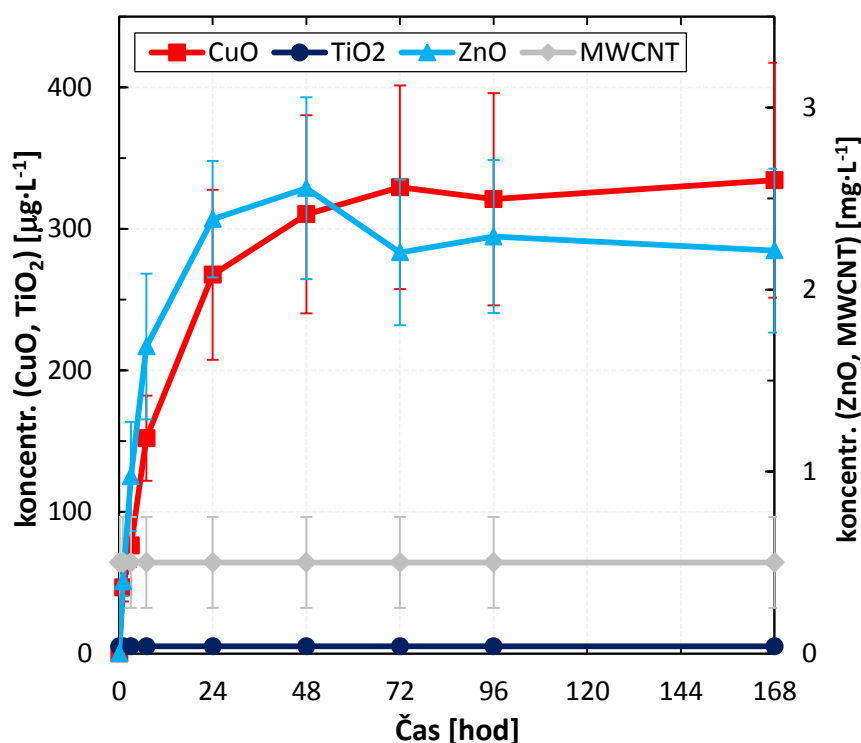
Stabilita aditiv je jedním z nedůležitých parametrů membrán se smíšenou maticí, která může prodloužit vliv polymerní matrice na membránové zanášení a zároveň i vést ke stabilitě samotné matrice v případě vyšší koncentrace aditiv. Ověřování tohoto parametru probíhalo testy s demineralizovanou vodou. Výsledky měření během 168 hodinového loužení membrány s přidavkem komerčních nanočástic získaných metodou ICP-OES jsou uvedeny na obrázku 27. Z časového vývoje vyplývá nejvyšší měřitelné vyplavování aditiv v prvních 24–48 hodinách, následně dochází ke stabilizaci vyplavování.

Pro membrány s přidavkem CuO se změřené hodnoty Cu pohybovaly blízko detekčních limitů, přičemž hodnoty roztokové koncentrace $330 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ po 168 hodinách loužení indikovaly vysokou stabilitu aditiva v polymerní matici. Naměřená data korelují s rozpustností ve vodě, přičemž CuO ve vodě rozpustné není. Při zásaditém pH však může velmi malé množství přejít na hydroxokomplexy, které ve vodě částečně rozpustné jsou (Pitter, 1999). Hodnoty koncentrace aditiv po 64 dnech loužení prokázaly vyplavení 4 % CuO z celkového obsahu $272 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$ (Tabulka 13). Stabilita byla též potvrzena vizuálně před započítím testu s filtrací aktivovaného kalu, kdy membrány stále vykazovaly charakteristické zbarvení, a to i po 14 měsíčním loužení v demineralizované vodě.

V případě ZnO membrán došlo naopak k výraznému vyplavování, kdy po 168 hodinách dosáhla roztoková koncentrace ZnO $\sim 2,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Po skončení dlouhodobého loužení vyplynula 84% ztráta tohoto aditiva z celkového obsahu $175 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Rozpustnost ZnO ve vodě odpovídá $1,6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Pitter, 1999), což je hodnota blízká změřené roztokové koncentraci.

Porovnáním celkového množství aditiva na m^2 membrány a z plošné hmotnosti ($30 \pm 2 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ suché membrány) dále vyplynul výskyt 49 % CuO a 32 % ZnO z původního roztokového množství aditiv. Zbytek aditiv byl tedy ztracen v průběhu přípravy či při filtraci před započítáním testu.

Všechny hodnoty pro titan v membránách s TiO_2 , stejně tak i hodnoty TOC pro membrány s MWCNT byly pod mezí detekce indikující stabilitu těchto aditiv v polymerní matici. Data opět korelují s rozpustností aditiv ve vodě, kdy TiO_2 je ve vodě nerozpustné. V případě MWCNT se předpokládá jak stabilita ve vodě, tak i silná interakce s polymerní maticí zvyšující jejich stabilitu. Hodnoty celkové koncentrace pro MWCNT byly pouze odhadnuty (Tabulka 13), protože nebyl nalezen způsob jak tyto karbonové struktury znovu oddělit od polymerní matrice.



Obrázek 27: Koncentrace uvolněných aditiv z membrán s přidavkem komerčních nanočástic během 168 hodinového testu.

Tabulka 13: Stabilita aditiv v $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ po 64 dnech loužení pro membrány s komerčními nanočásticemi.

| aditivum | CuO | ZnO | TiO ₂ | MWCNT |
|---|------|------|------------------|-------|
| vyplavené [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | 10,0 | 147 | <0,76 | <37,9 |
| celkové [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | 272 | 175 | 114 | 290* |
| vyplavené [%] | 3,67 | 84,0 | <0,67 | <13,1 |

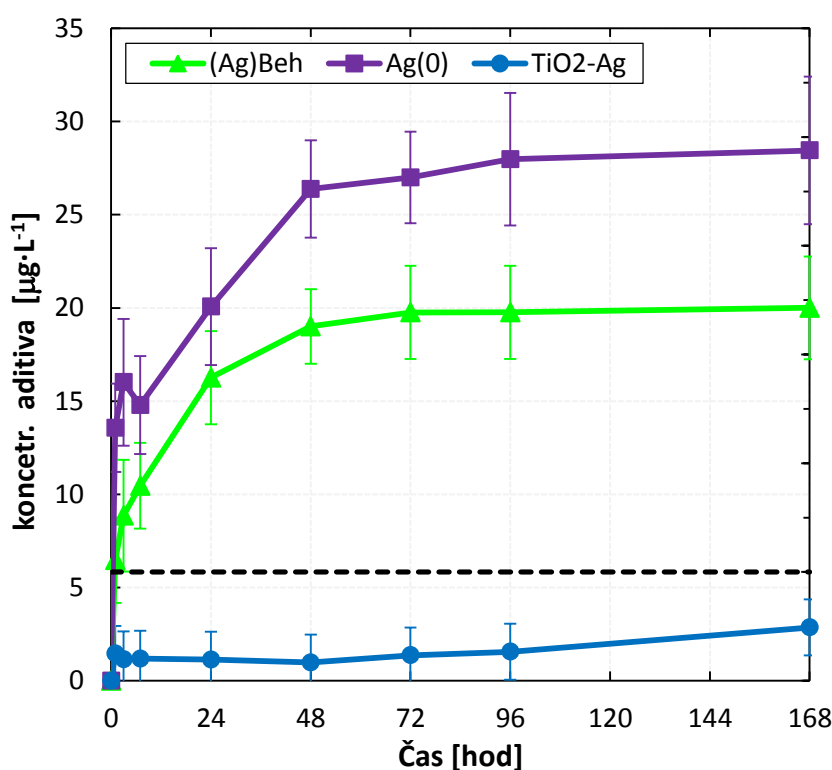
*Odhad celkové koncentrace z roztokové koncentrace při předpokladu 50% ztráty aditiva v průběhu přípravy.

B) Membrány s disperzními nanočásticemi

Membrány s disperzními nanočásticemi vykazovaly velmi dobrou stabilitu aditiv v membránové matrici. Nejvýraznější uvolňování nanočástic nebo iontů bylo pozorováno v prvních 48 hodinách, poté došlo k jeho stabilizaci. Pro membrány s přidavkem behenátu stříbrného dosahovala roztoková koncentrace stříbra $20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Obrázek 28) a celkový úbytek stříbra po 64 dnech loužení v demineralizované vodě byl pouze 7 % z $60 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$.

V případě disperze nulmocných nanočástic stříbra dosahovala roztoková koncentrace $29 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, tedy po dlouhodobém loužení došlo k úbytku 5 % z celkového stříbra v membráně (Tabulka 14). Výsledky obou disperzí lze porovnat s nano-vlákenným výzkumem části 2 disertační práce. Zatímco disperze behenátu stříbrného dosahovala obdobné stability, stabilita disperze nulmocných nanočástic stříbra byla v případě PES membrán značně vyšší. Nepřímé potvrzení stability bylo též učiněno vizuálně, kdy ani po šestiměsíčním loužení membrán v demineralizované vodě nedošlo ke ztrátě jejich charakteristického zabarvení.

Pro disperzi $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ byly oba měřené prvky, Ti i Ag, pod mezí detekce indikující stabilitu oxidu titaničitého zároveň s možnou stabilizací stříbra v polymerní matrici spolu s TiO_2 .



Obrázek 28: Koncentrace uvolněných aditiv z membrán přidavkem disperzních nanočástic v průběhu 168 hodinového testu s vyznačenou mezí detekce.

Tabulka 14: Stabilita aditiv v $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ po 64 dnech testu membrán s disperzními nanočásticemi.

| aditivum | Ag(Beh) | Ag(0) | TiO ₂ -(Ag) | (TiO ₂)-Ag |
|---|---------|-------|------------------------|------------------------|
| vyplavené [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | 4,17 | 5,91 | <0,80 | <0,80 |
| celkové [$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$] | 60,1 | 114 | 98,0 | 15,2 |
| vyplavené [%] | 6,94 | 5,17 | <0,82 | <5,26 |

Přes zjevnou stabilitu aditiv ve formě CuO, TiO₂, MWCNT i disperzních nanočástic je třeba, kromě výhod spočívajících v jednoduchosti testu a periodickém doplňováním demineralizované vody, pojmenovat i nedostatky zvolené metodiky. Prvním nedostatkem bylo loužení bez tlakového namáhání membrán. Dalším nedostatkem je pak možnost adsorpce uvolněných nanočástic, tento nedostatek byl však minimalizován poměrně intenzivním mícháním. Nicméně i přes zmíněné nedostatky poskytují výsledky na základě zvolené metodiky dobrou indikaci stability/nestability použitých aditiv v membránové matici.

3.10 Testování antimikrobiálních vlastností

Antimikrobiální vlastnosti membrán mohou omezit zanášení membránového povrchu živými mikroorganismy tím, že inhibují jejich aktivitu nebo vedou k jejich úhynu. Testovací metoda byla založena na kontaktu naředěné suspenze mikroorganismů reálné odpadní vody s membránovým povrchem.

Výsledná koncentrace bakterií v odtoku ČOV dosahovala $1,4 \cdot 10^5 \text{ KTJ}\cdot\text{ml}^{-1}$ v případě testů membrán s komerčními nanočásticemi a $2,1 \cdot 10^5 \text{ KTJ}\cdot\text{ml}^{-1}$ při testech membrán s přidavkem disperzních nanočástic. V prvním případě došlo k filtraci 100 ml 4000× zředěné vody, což odpovídalo přibližně $3500 \text{ bakterií}\cdot\text{ml}^{-1}$ nanesených na povrchu membrán. V druhém případě byl odtok naředěn 5000×, což odpovídalo přibližně $4200 \text{ bakterií}\cdot\text{ml}^{-1}$ nanesených na povrch membrány.

Snímky otisků membránových povrchů, modifikovaných nanočásticemi, po různě dlouhém kontaktu mikroorganismů s membránovým povrchem jsou uvedeny na obrázku 29. Membrány s přidavkem CuO vykazovaly navzdory předpokladům (Ren et al., 2009) pouze průměrný antimikrobiální vliv, kdy byla pozorována cca 53% inhibice po 24 hodinách. Možné příčiny lze hledat v použití kultivovatelných mikroorganismů, na které nemusí mít přídavek CuO tak výrazný vliv, jako na nekultivovatelné mikroorganismy reálné odpadní vody. Další možnou příčinou jsou skutečně nižší účinky oxidu měďnatého na reálná mikrobiální společenství.

Membrány s přidavkem ZnO naopak vykazovaly výrazný antimikrobiální vliv, kdy dokonce již v kontaktním čase nula docházelo k inhibici růstu (Tabulka 15). To mohlo být způsobeno uvol-

něním nanočástic ZnO na agar, jelikož se při experimentech stability ukázalo, že tento typ aditiva není pevnou součástí polymerní matrice.

Teoreticky byl také předpokládán částečný vliv smíšené matrice s TiO₂ na antimikrobiální vlastnosti (Hajipour et al., 2012) a to i bez intenzivního ultrafialového záření. Nicméně, kromě 6 hodinového kontaktního času, nebyly pozorovány znatelné inhibiční účinky. V případě karbonových nanotrubiček jsou v literatuře zmiňovány jejich antimikrobiální vlastnosti (Hajipour et al., 2012). Jejich vliv spočívá v přímém mechanickém působení na buněčné membrány, kdy dochází k jejich narušení. V případě kontaktních testů se však antimikrobiální vlastnosti neprojeví a výsledky byly srovnatelné, či dokonce horší, než u referenční membrány (Tabulka 15). Vysvětlením mohla být snížená interakce MWCNT s bakteriálními membránami vlivem fixace MWCNT do polymerní matrice.

Shrnutí hodnot KTJ pro membrány s přidavkem komerčních nanočástic je uvedeno v tabulce 15. Výsledky nad 300 KTJ udávají pouze řádový počet, tudíž slouží pouze jako odhad inhibičního účinku (Rybak et al., 1998).

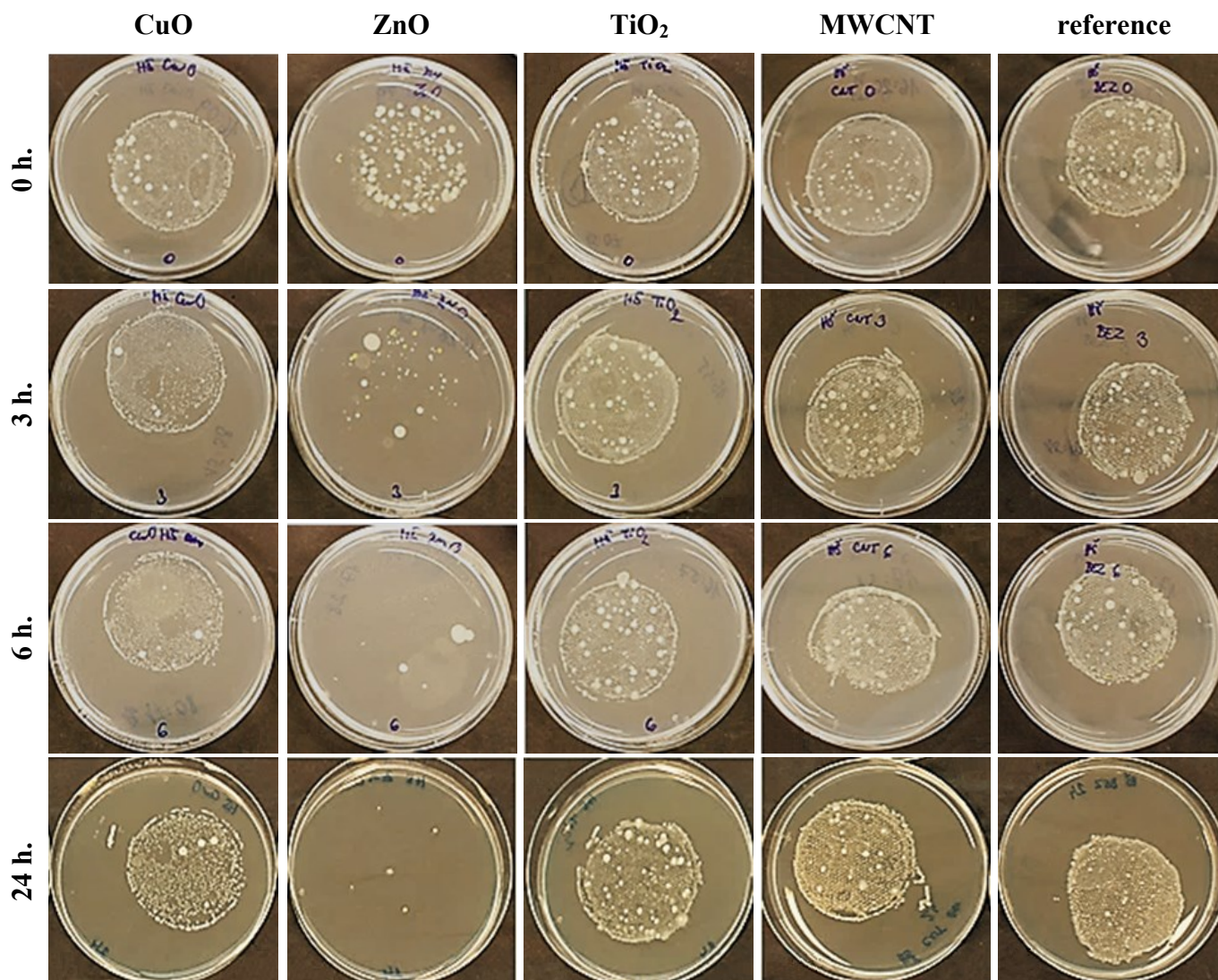
Tabulka 15: Výsledky kultivačního testu pro různé kontaktní časy bakterií reálné odpadní vody s povrchem membrán s přidavkem komerčních nanočástic.

| čas kontaktu [h] | CuO | ZnO | TiO ₂ | MWCNT | reference |
|------------------|-------|-----|------------------|-------|-----------|
| 0 | 2 800 | 295 | 3 600 | 3 500 | 2 900 |
| 3 | 3 500 | 88 | 2 960 | 2 500 | 1 400 |
| 6 | 2 200 | 10 | 1 900 | 2 800 | 2 900 |
| 24 | 1 700 | 5 | 3 700 | 3 900 | 3 600 |

Membrány s disperzními nanočásticemi vykazovaly pozitivní výsledky v průběhu antimikrobiálních testů. Největšího inhibičního účinku bylo dosaženo u membrán s behenátem stříbrným, kdy se výrazné inhibiční účinky projeví již po 3 hodinách kontaktního času a celkový počet kultivovatelných mikroorganismů byl pro tuto membránu v průběhu testu nejmenší (Tabulka 16).

Velmi dobrých výsledků bylo dosaženo i u membrán s přidavkem nulmocných nanočástic stříbra. I zde došlo k částečné inhibici po 3 hodinách kontaktu a inhibiční účinek se s postupujícím časem zvyšoval (Obrázek 30).

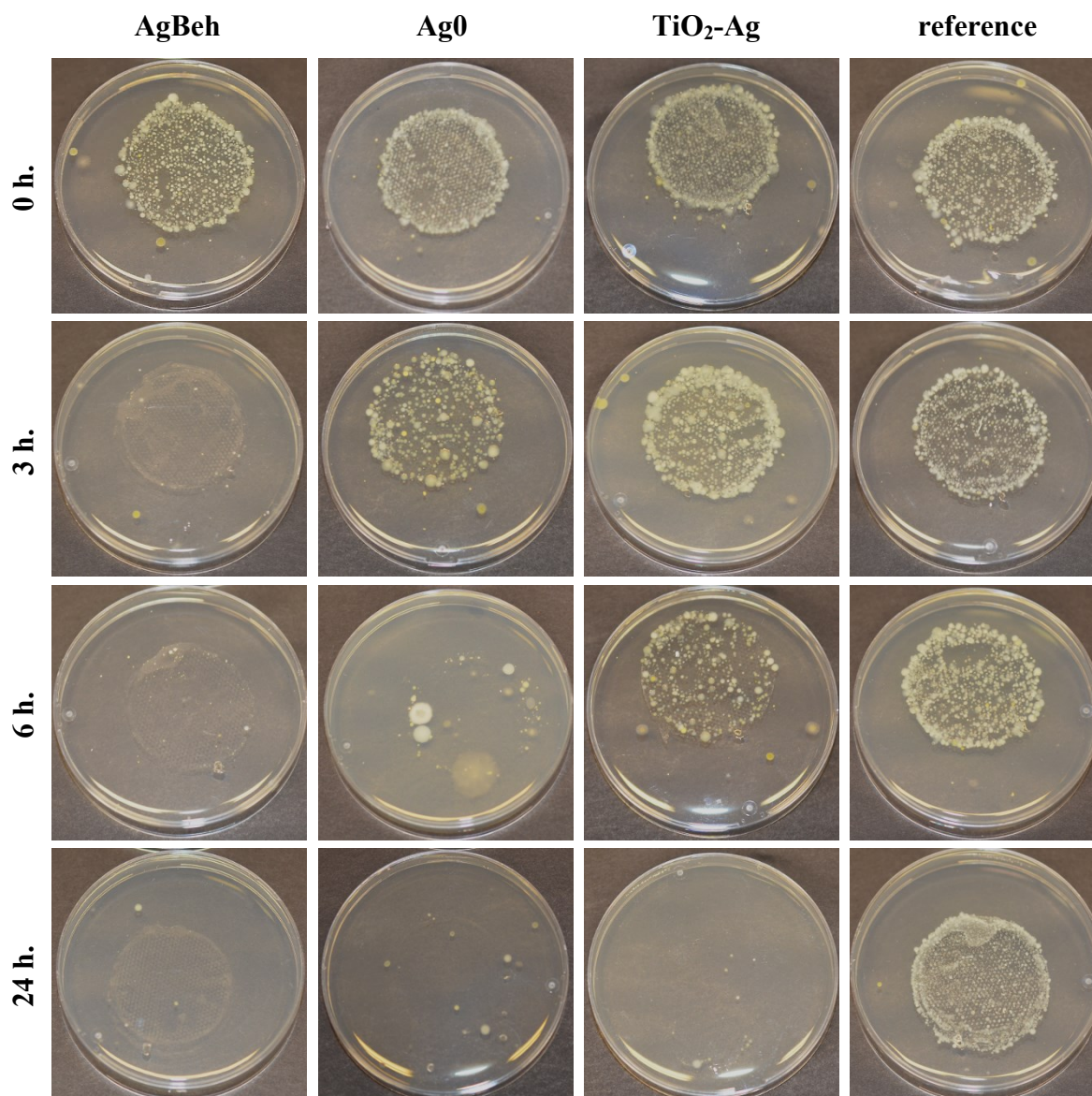
Překvapivě dobrých výsledků bylo dosaženo i u membrány s přidavkem TiO₂-Ag. Inhibiční účinek membrán byl pomalejší než v prvních dvou případech, výraznější inhibice se začala projevovat až po 6 hodinové inkubaci. Nicméně po 24 hodinovém kontaktu bylo dosaženo výsledků srovnatelných s membránami s nulmocnými nanočásticemi stříbra.



Obrázek 29: Snímky agarových ploten během kontaktního testu pro membrány s komerčními nanočásticemi.

Přídavek stříbra a zvolený postup syntézy vedl ke zlepšení antimikrobiálních účinků membrán v porovnání s přidavkem komerčních nanočástic TiO₂. Dle předpokladu nevykazovala referenční membrána výraznější inhibiční účinky.

Shrnutí počtu KTJ pro membrány s disperzními nanočásticemi a různou dobou kontaktu je uvedeno v tabulce 16.



Obrázek 30: Snímky agarových misek ploten během kontaktního testu v čase 0–24 hodin pro membrány s disperzními nanočásticemi.

Tabulka 16: Výsledky kultivace pro různé kontaktní časy membrán s přidavkem disperzních nanočástic s bakteriemi reálné odpadní vody.

| čas kontaktu [h] | AgBeh | Ag(0) | TiO ₂ -Ag | reference |
|------------------|-------|-------|----------------------|-----------|
| 0 | 2 500 | 3 900 | 4 300 | 3 400 |
| 3 | 224 | 1 150 | 1 800 | 2 400 |
| 6 | 260 | 610 | 1 250 | 2 100 |
| 24 | 58 | 330 | 229 | 3 800 |

3.11 Mikroskopické hodnocení

SEM mikroskopie

A) Membrány s komerčními nanočásticemi

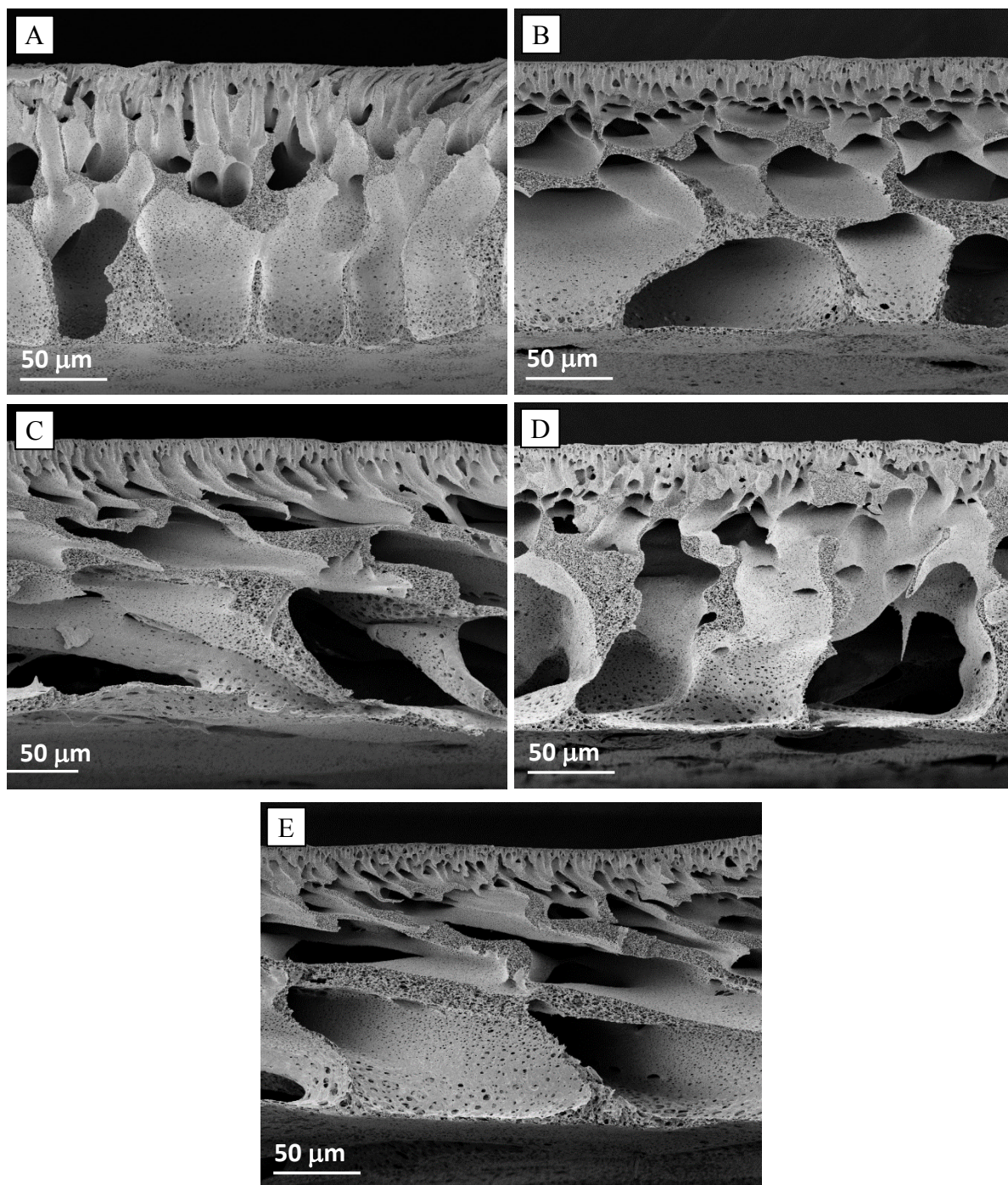
Charakterizace morfologie membrán probíhala SEM analýzou řezů i povrchů membrán se smíšenou maticí. Snímky řezů membrán i jejich porovnání s referenční membránou jsou uvedeny na obrázku 31. Membrány s přídavkem aditiv vykazovaly srovnatelné morfologické vlastnosti jako membrána referenční. Připravené membrány vykazovaly asymetrickou strukturu bez defektů s aktivní vrstvou silnou 100–200 nm s postupně se zvětšujícími póry přecházejícími až do makroporézní struktury.

Jedinou výjimkou byly membrány s MWCNT, u kterých byly pozorovány defekty v částech aktivní vrstvy, která je závislé jak na limitní koncentraci PVP, tak i na podmínkách přípravy. Aktivní vrstva má funkci separační, vysoce porézní struktura naproti tomu podpůrnou jen z malé části podílející se na selektivních vlastnostech.

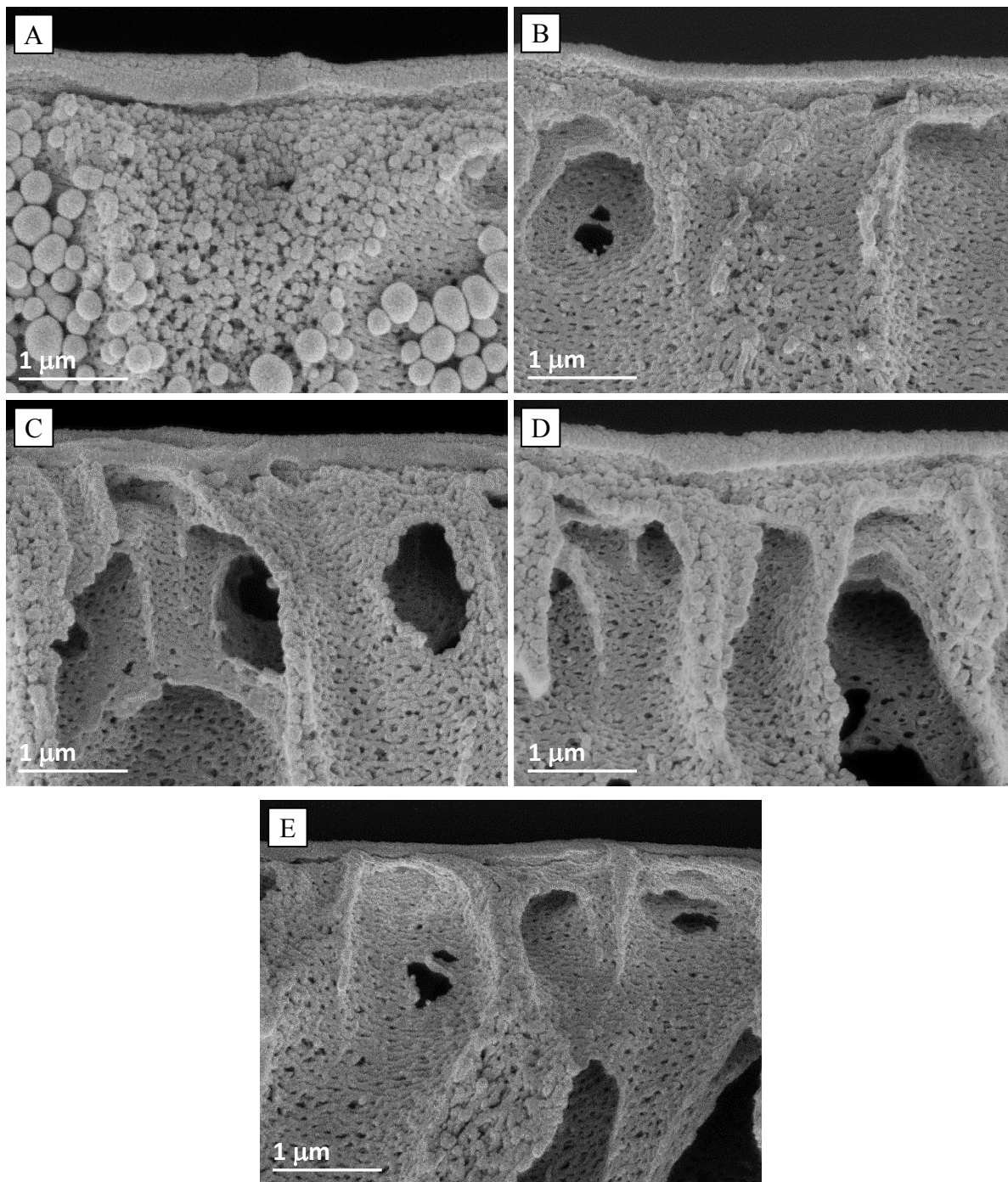
Zjištěná asymetrická struktura je charakteristická pro PES membrány připravené metodou inverze fáze. Tloušťka membrán se pohybovala okolo 150 μm , což byla hodnota nižší než tloušťka vynášecího nože (200 μm). Tento jev lze vysvětlit smrštěním PES membrán s PVP v průběhu přípravy, čehož se využívá k tvorbě membrán s velmi malými póry (Ochoa et al., 2001). Dalším vysvětlením je pak vysušení vzorku před mikroskopickou analýzou.

Detailní snímky řezů odhalily morfologické změny v blízkosti aktivní vrstvy u membrán s přídavkem CuO, kdy byla pozorována struktura globulí. Částečnou změnu vykazovaly membrány s přídavkem MWCNT s hrubější pórovou strukturou v porovnání s referencí (Obrázek 32). Membrány s přídavkem TiO₂ a ZnO nevykazovaly žádné výraznější morfologické změny vrchní vrstvy. Ani v jednom případě nebylo možné přímo rozlišit dotované částice ve smíšené maticí.

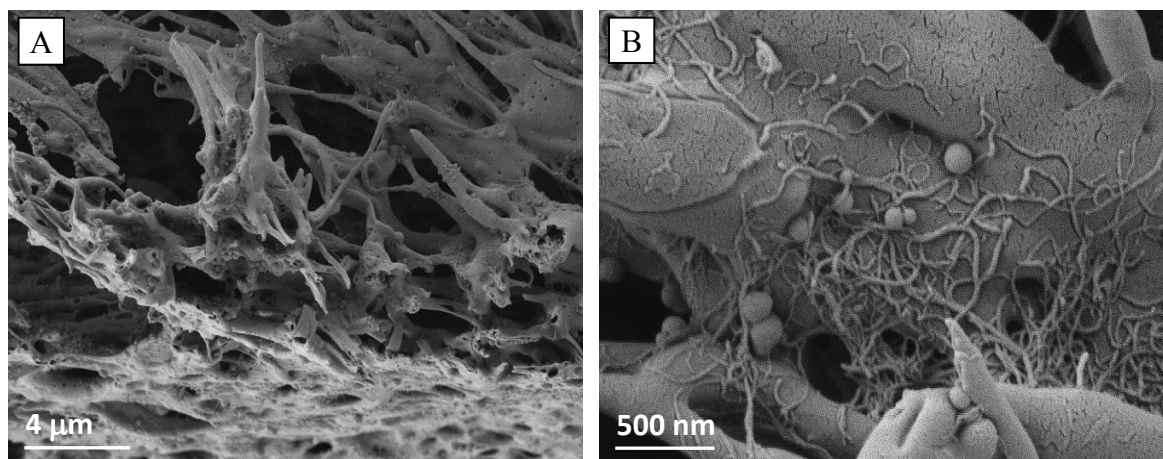
Obrázek 33 znázorňuje detailní strukturu řezu membrán s MWCNT v oblasti makroporézní vrstvy. Z obrázku je patrné jak zapracování uhlíkových nanotrubiček do struktury membrány, tak i vliv na její morfologii.



Obrázek 31: Morfologie řezu membrán s přidavkem nanočástic A) CuO, B) ZnO, C) TiO₂, D) MWCNT a E) referenční membrána (zvětšení 400×).



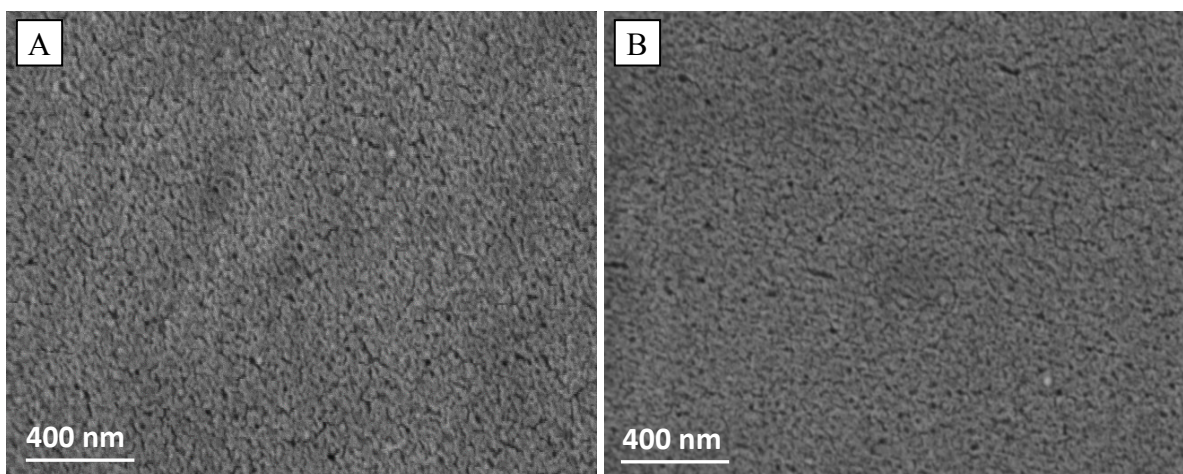
Obrázek 32: Morfologie žezu pro membrány s přidavkem A) CuO, B) ZnO C) TiO₂,
D) MWCNT a E) referenční membránu. (zvětšení 25 000×)

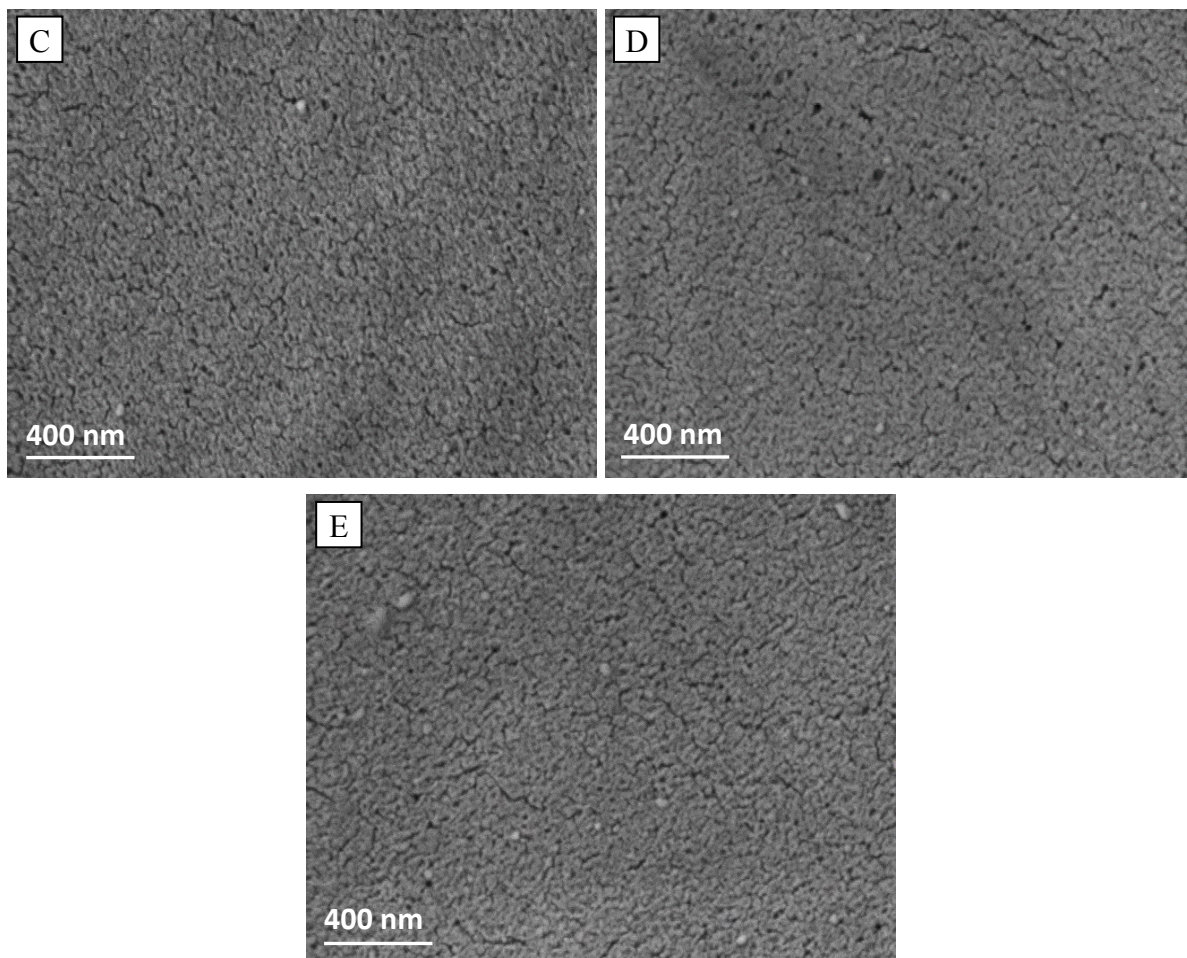


Obrázek 33: Membrána s MWCNT, zvětšení A) 5 000×, B) 35 000×.

SEM snímky povrchů jednotlivých modifikací prokázaly morfologii membránových povrchů podobnou referenční membráně (Obrázek 34). Vyjimku tvořila MWCNT membrána s pozorovanými lokálními defekty. Tomu odpovídalo i měření selektivity membrán, potvrzující nezměněné separační vlastnosti u většiny membrán s přidavkem komerčních nanočástic v porovnání s referencí.

Částicová dotace povrchu nebyla i přes charakteristické zbarvení rozlišitelná a to zejména z důvodu nabíjení nepokoveného povrchu. Dalším důvodem by mohlo být vysušení membrán vedoucí k zatažení membránové struktury. Metoda inverze fáze vede k povrchům, ve kterých sice částice nejsou výrazněji deponovány na povrchu, ale i přesto mohou vést ke změnám povrchové morfologie (viz AFM mikroskopie).



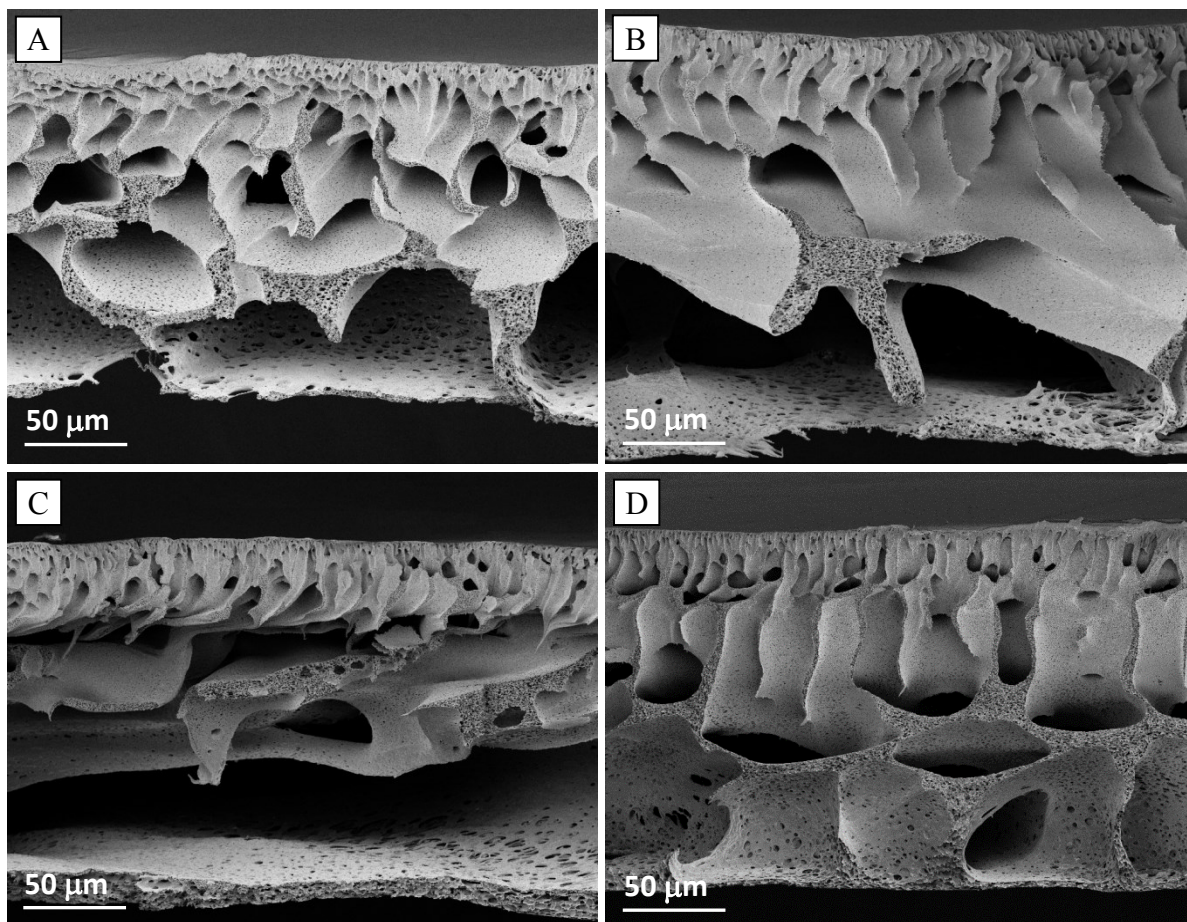


Obrázek 34: Povrchová vrstva membrán (zvětšení 50 000×) pro membrány s A) CuO, B) ZnO, C) TiO₂, D) MWCNT a E) referenční membrána.

B) Membrány s disperzními nanočásticemi

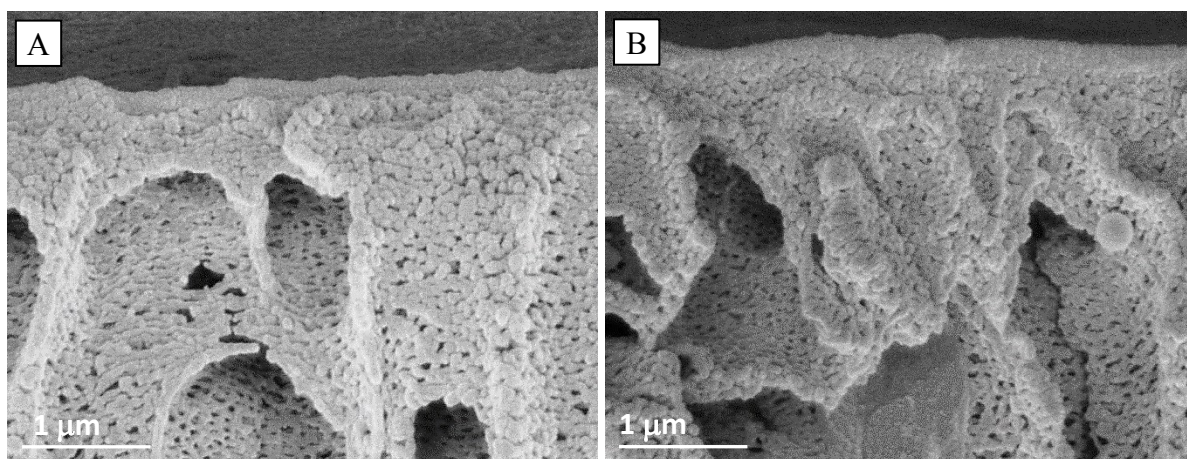
Snímky řezů odhalily asymetrické struktury bez zjevných defektů membrán s přidavkem disperzních nanočástic (Obrázek 35). Membrány byly opět tvořeny aktivní vrstvou na vrchní straně a dále vysoce makroporézní vrstvou vzniklou pomocí inverze fáze. Tloušťka membrán se pohybovala v rozmezí 160–180 μm .

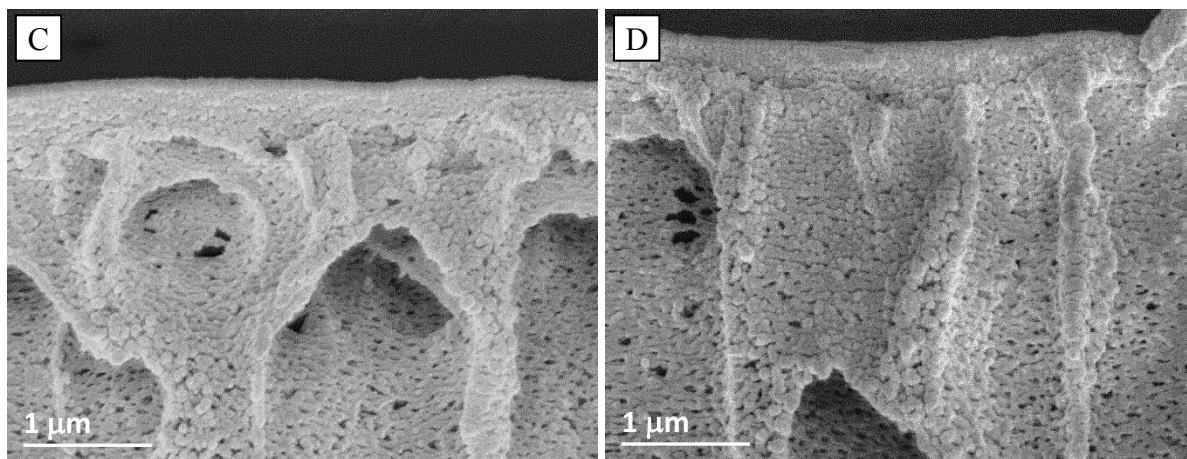
Membrány s přidavkem TiO₂-Ag vykazovaly rychlejší přechod k otevřenější makroporézní struktuře, což mohlo vést k vyšší permeabilitě. Rychlost transportu respektive odpor membrán ovlivňuje kromě tloušťky aktivní vrstvy i makroporézní struktura (Mulder, 1996). Při testech s reálnou odpadní vodou vedoucích k zanášení membránového povrchu, se však primárně projevují vlastnosti aktivní nikoliv podpůrné vrstvy. V případě detailních snímků průřezů membrán z blízkosti aktivní vrstvy (Obrázek 36) nebylo možné dostatečně rozlišit vliv smíšené matrice na změnu morfologie.



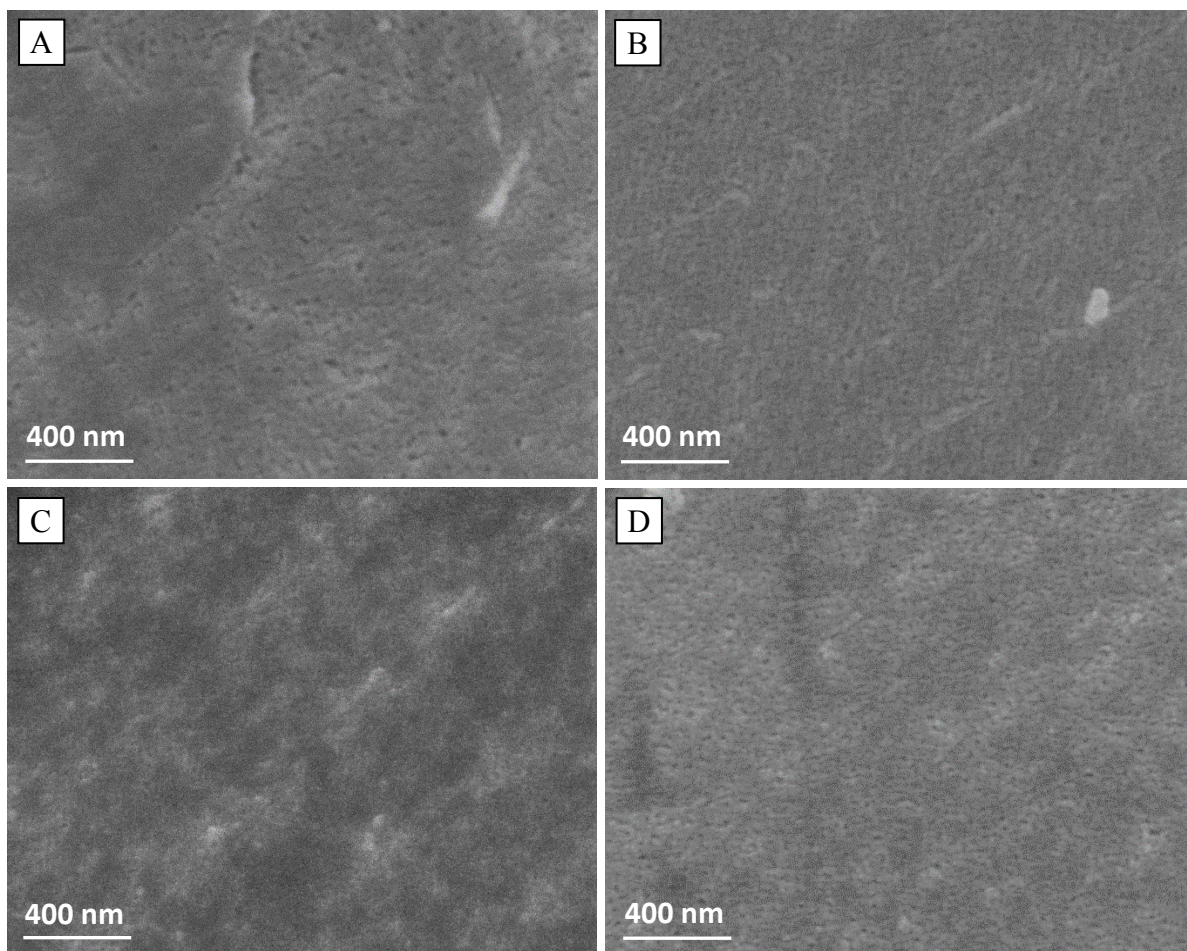
Obrázek 35: Morfologie řezů membrán s přidavkem disperzních nanočástic A) AgBeh, B) Ag₀, C) TiO₂-Ag, a D) referenční membrána (zvětšení 400×).

V případě snímků povrchů byly zaznamenány změny morfologie membrán se smíšenou maticí. Zatímco povrchy membrány s přidavkem disperze behenátu stříbrného a nulmocných nanočástic měly strukturu s většími póry (Obrázek 37 A, B) než reference, membrána s přidavkem TiO₂-Ag měla povrch s menšími těžko rozeznatelnými póry (Obrázek 37C). Toto pozorování potvrzuje i měření selektivity potvrzující zlepšenou selektivitu v testech filtrace referenčních látek (sekce 3.6).





Obrázek 36: Morfologie řezů membrán s přidavkem disperzních nanočástic A) AgBeh, B) Ag0 C) TiO₂-Ag a D) referenční membrána (zvětšení 25 000×)



Obrázek 37: Povrchová morfologie aktivní vrstvy membrán s přidavkem disperzních nanočástic A) AgBeh, B) Ag0 C) TiO₂-Ag a D) referenční membrána (zvětšení 50 000×)

EDX analýza

A) Membrány s komerčními nanočásticemi

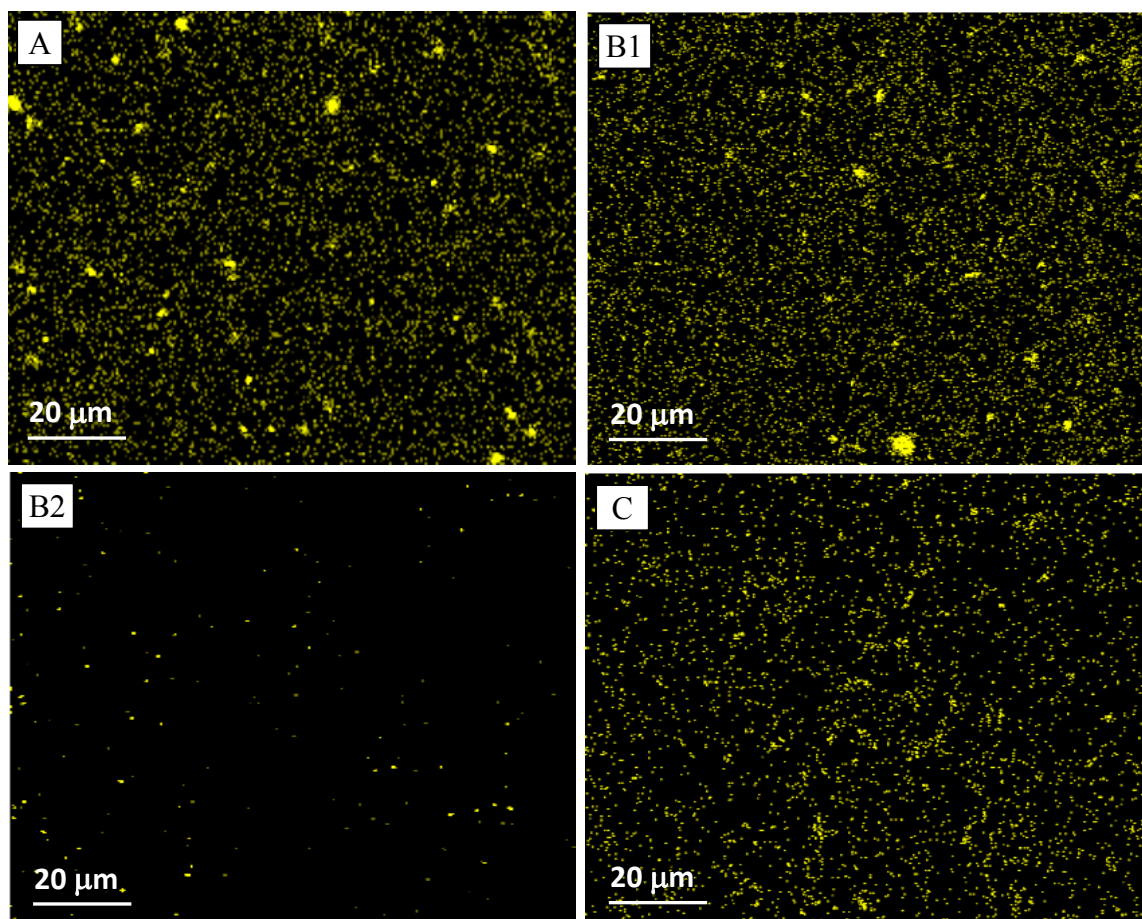
Charakterizace chemického složení pomocí EDX analýzy odhalila povrchovou homogenitu částic mědi (Obrázek 38A) u aditiva ve formě CuO. Analýza povrchu ukázala neměnicí se hmotnostní poměr mědi (Tabulka 17) před a po loužení v demineralizované vodě trvajícím více jak 14 měsíců (Tabulka 18). Procentní obsah mědi (0,6 hm%) na povrchu membrány byl stejně jako v případě ostatních aditiv nižší než roztokové množství (1,6 hm%). Důvodem mohla být ztráta aditiv v průběhu přípravy, obalení nanočástic polymerní maticí nebo omezená přesnost EDX analýzy. Rozlišovací schopnost EDX mikroskopie byla v případě povrchové analýzy odhadnuta na $\sim 0,5 \mu\text{m}$, což je velikost srovnatelná s velikostí částic CuO v rozpouštědle (Tabulka 1). Analýza chemického složení řezu po dlouhodobém loužení (Obrázek 39A) opětovně odhalila rovnoměrnou distribuci a stabilitu CuO při rozlišovací schopnosti $\sim 1 \mu\text{m}$.

V případě aditiva ve formě ZnO bylo zjištěno vysoké povrchové pokrytí částicemi zinku (Obrázek 38B1). Po dlouhodobém loužení bylo však pokrytí a distribuce částicemi výrazně nižší (Obrázek 38B2) potvrzující nestabilitu ZnO v polymerní maticí.

Z chemické analýzy povrchů před a po loužení vyplynuly rozdílné poměry sledovaných částic. Počáteční poměr zinku na povrchu odpovídal 0,95 hm% (Tabulka 17) při roztokovém množství 1,6 hm%, po dlouhodobém loužení byl poměr pouhých 0,07 hm% (Tabulka 18). Snímky řezů rovněž odhalily značný úbytek zinku a zhoršenou distribuci po dlouhodobém loužení (Obrázek 39B).

Membrány s přídavkem TiO₂ vykazovaly rovnoměrnou distribuci částic na povrchu i v řezu (Obrázek 38C a 39C). Hodnoty prvkového zastoupení odhalily jen nepatrný úbytek v hmotnostním poměru titanu před a po dlouhodobém loužení přičemž se atomární poměr lišil pouze o 0,02 % indikující stabilitu TiO₂ v polymerní maticí. Roztokové množství titanu odpovídalo 1,2 hm%, zjištěné množství na povrchu bylo 0,8 hm%. Před analýzou povrchového zastoupení jednotlivých prvků po dlouhodobém loužení byl povrch membrány intenzivně propláchnut demineralizovanou vodou k případné minimalizaci povrchových usazenin ovlivňující analýzu.

Obrázek 38 a 39 shrnuje výsledky EDX analýzy povrchu i řezu u membrán s přídavkem komerčních nanočástic. Snímky povrchů byly pořízeny těsně po jejich přípravě, s výjimkou snímku B1 pořízeného po dlouhodobém loužení v demineralizované vodě. V Tabulce 17 a 18 jsou uvedeny prvkové analýzy membrán s přídavkem komerčních nanočástic těsně po přípravě a po 14 měsíčním loužení v demineralizované vodě.



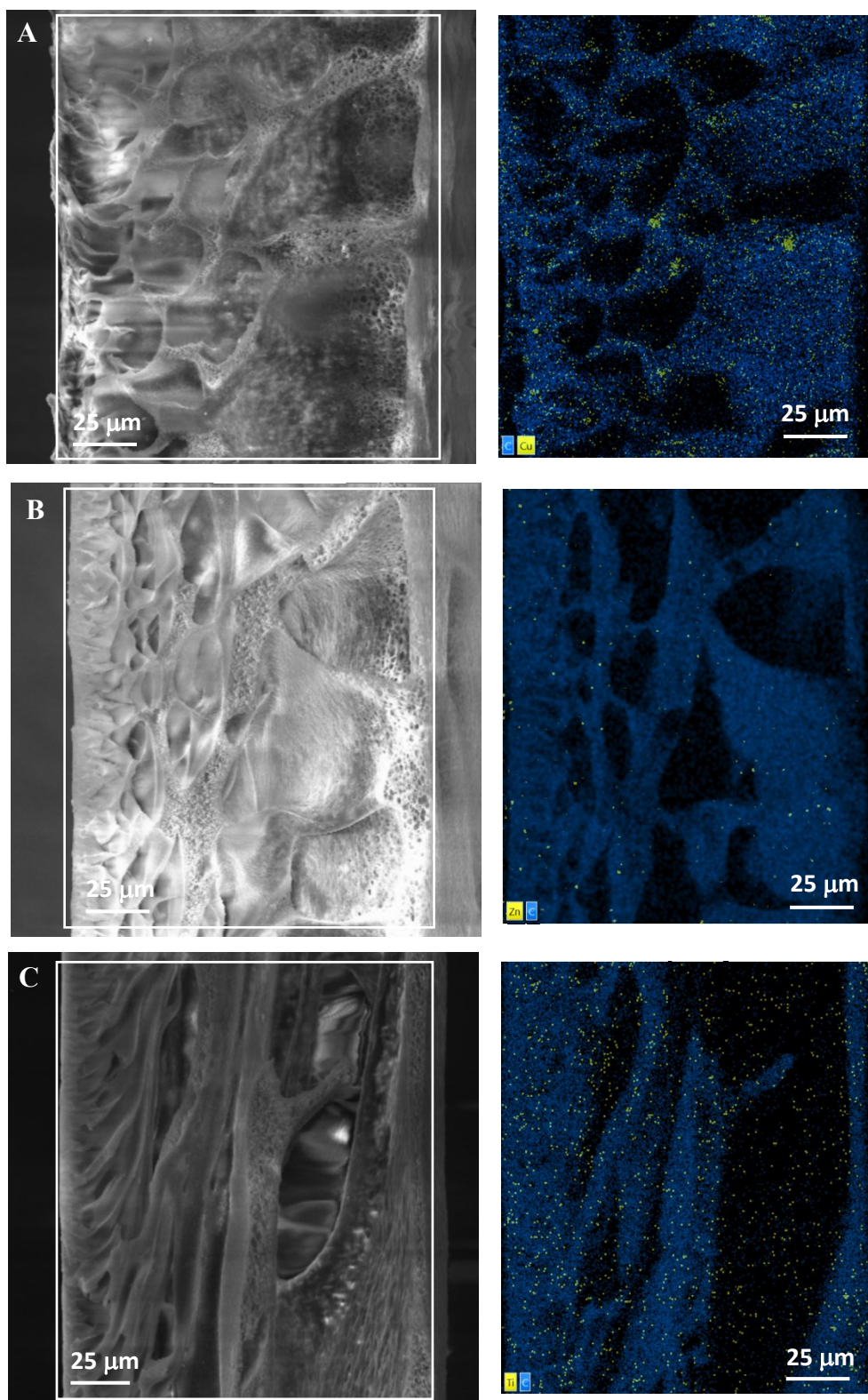
Obrázek 38: Chemická analýza povrchu membrány pro A) $\text{Cu(O)}_{(L\alpha_{1,2})}$, B1) $\text{Zn(O)}_{(L\alpha_{1,2})}$ před loužením, B2) $\text{Zn(O)}_{(L\alpha_{1,2})}$ po loužení, C) $\text{Ti(O}_2)_{(K\alpha_1)}$; zvětšení 1 000×.

Tabulka 17: Prvková analýza povrchů membrán s komerčními nanočásticemi před loužením.

| prvek | hm% | δ hm% | atomový poměr % |
|------------------|------|--------------|-----------------|
| $\text{Ti(O}_2)$ | 0,92 | 0,13 | 0,26 |
| Cu(O) | 0,63 | 0,05 | 0,14 |
| Zn(O) | 0,95 | 0,05 | 0,19 |

Tabulka 18: Prvková analýza povrchů membrán s komerčními nanočásticemi po loužení v demineralizované vodě.

| prvek | hm% | δ hm% | atomový poměr % |
|------------------|------|--------------|-----------------|
| $\text{Ti(O}_2)$ | 0,81 | 0,09 | 0,24 |
| Cu(O) | 0,60 | 0,07 | 0,13 |
| Zn(O) | 0,07 | 0,05 | 0,01 |



Obrázek 39: Chemická analýza řezů membrán pro aditiva A) $\text{Cu}(\text{O})$ ($\text{La}_{1,2}$), B) $\text{Zn}(\text{O})$ ($\text{La}_{1,2}$), C) $\text{Ti}(\text{O}_2)$ (Ka_1), na uhlíkovém pozadí s vyznačením místa analýzy (zvětšení 500×).

B) Membrány s disperzními nanočásticemi

EDX analýza membrán s přídavkem disperze behenátu stříbrného ukázala rovnoměrné povrchové pokrytí nanočástic po dlouhodobém loužení (Obrázek 40). Poměr hmotnosti stříbra k celkovému odpovídal 0,23 hm% (Tabulka 19), zatímco v roztoku před vynesemím membrány bylo 0,48 hm%. Možným vysvětlením mohla být ztráta aditiva v průběhu přípravy nebo limitace EDX analýzy. Analýza průřezů membrán stejně jako v případě povrchů prokázala rovnoměrnou distribuci bez preferenčních oblastí (Obrázek 41).

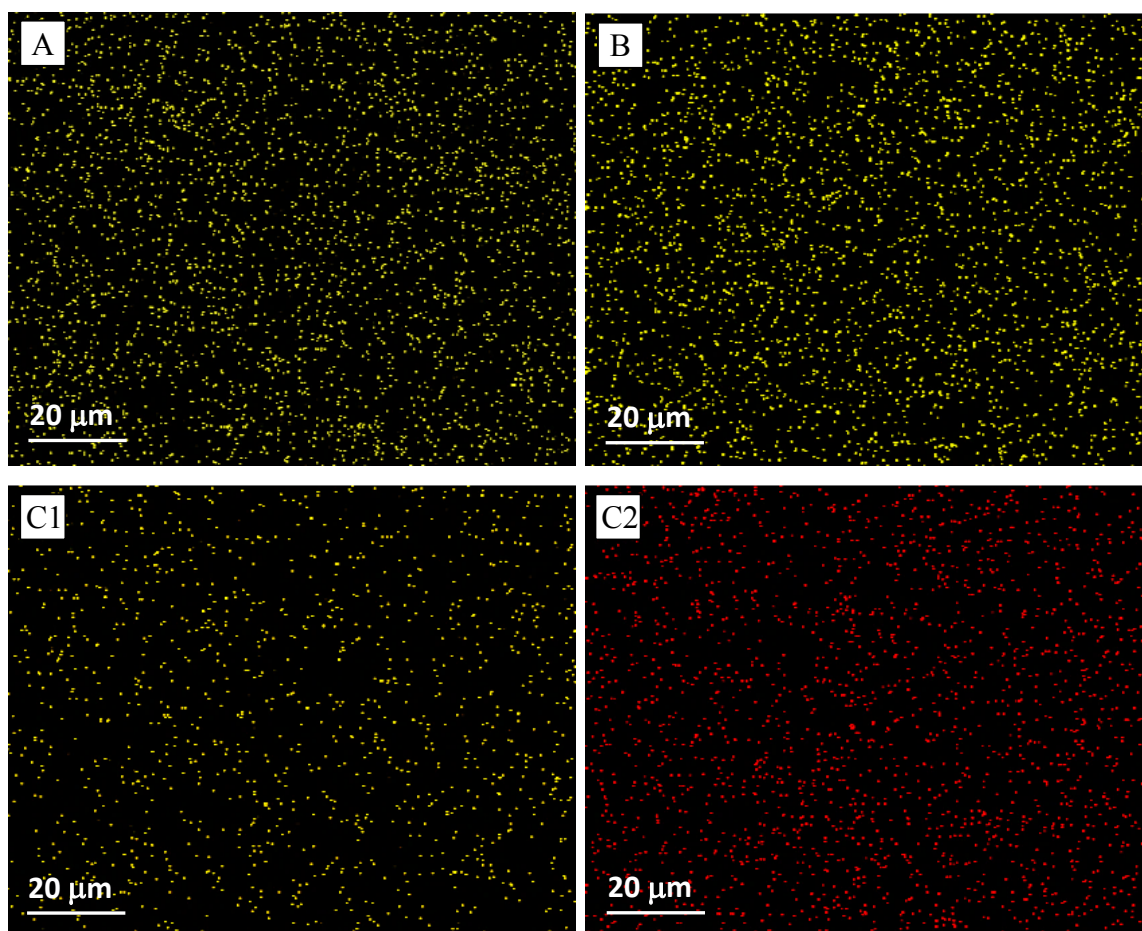
Disperze s nulmocnými nanočásticemi vykazovala při obou analýzách, povrchu i řezu, homogenní pokrytí. Zjištěný hmotnostní poměr stříbra odpovídal 0,8 hm% při roztokové koncentraci 2,0 hm%. Koncentrace stříbra na povrchu byla tedy vyšší než v případě behenátu stříbrného, nicméně poměr k roztokové koncentraci byl nižší, indikující vyšší ztráty disperzního stříbra v průběhu přípravy. Tato skutečnost byla potvrzena i demineralizací vzorků při testech stability (sekce 3.9).

V případě $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ bylo kromě rovnoměrné distribuce částic na povrchu i v řezu zjištěno i částečné překrytí stříbra a titanu (Obrázek 40C a Obrázek 41C). Prvková analýza prokázala 0,18 hm% prvků na povrchu membrány ve formě stříbra, což zhruba odpovídalo roztokové koncentraci 0,22 hm%. V případě titanu byla zjištěna hodnota 0,13 hm% na povrchu, respektive 0,33 hm% v řezu, tedy výrazně nižší než 1,0 hm% koncentrace titanu v roztoku. Tato skutečnost je obtížně vysvětlitelná a bude předmětem dalšího výzkumu. Svoji roli však mohla hrát poměrně nízká rozlišovací schopnost EDX analýzy při daném zvětšení vzhledem ke zjištěné velikosti částic (Tabulka 3). Přesnější zjištění krystalické formy oxidu titaničitého by mohla posloužit například rentgenová difrakční analýza, nebo Ramanova spektroskopie, nicméně i tyto metody mají v případě membránových povrchů svá omezení převážně ve velikosti snímané plochy a citlivosti metody.

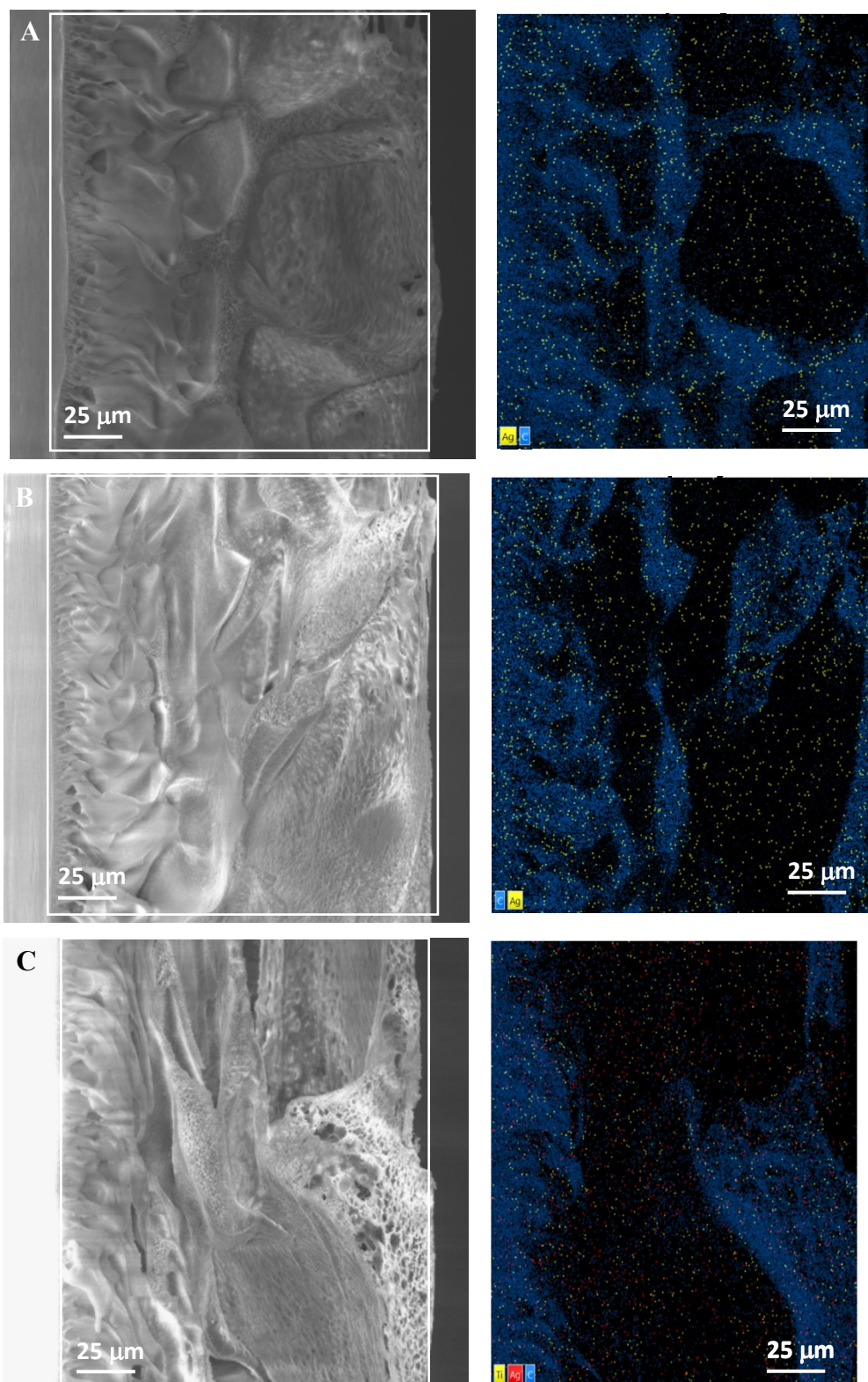
Obrázky 40 i 41 ukazují výsledky EDX analýzy povrchu a řezu u membrán s přídavkem disperzních nanočástic. V tabulce 19 jsou pak uvedeny % hodnoty prvkové analýzy. Snímky povrchů a řezu, stejně tak i prvková analýza byly pořízeny po 6 měsíčním loužení v demineralizované vodě.

Tabulka 19: Prvková analýza povrchů membrán s disperzními nanočásticemi pomocí metody EDX po loužení v demineralizované vodě.

| prvek | hm% | δ hm% | atomový poměr % |
|------------------------|------|--------------|-----------------|
| Ag(Beh) | 0,28 | 0,10 | 0,04 |
| Ag(0) | 0,75 | 0,08 | 0,10 |
| Ti(O ₂ -Ag) | 0,13 | 0,05 | 0,04 |
| Ag(-TiO ₂) | 0,18 | 0,07 | 0,02 |



Obrázek 40: Chemická analýza povrchu membrány pro A) Ag(Beh) (L_{a1}), B) Ag(0) (L_{a1}), C1) Ti(O₂)-Ag (K_{a1}), C2) TiO₂-Ag (L_{a1}), zvětšení 1 000×.



Obrázek 41: Chemická analýza řezů membrán pro disperzní aditiva A) $\text{Ag}(\text{Beh})$ ($L\alpha_1$), B) $\text{Ag}(0)$ ($L\alpha_1$), C) $\text{Ti}(\text{O}_2\text{-Ag})$ ($K\alpha_1$) a $(\text{TiO}_2)\text{-Ag}$ ($L\alpha_1$) na uhlíkovém pozadí s vyznačením místa analýzy (zvětšení 500 \times).

AFM mikroskopie

A) Membrány s komerčními nanočásticemi

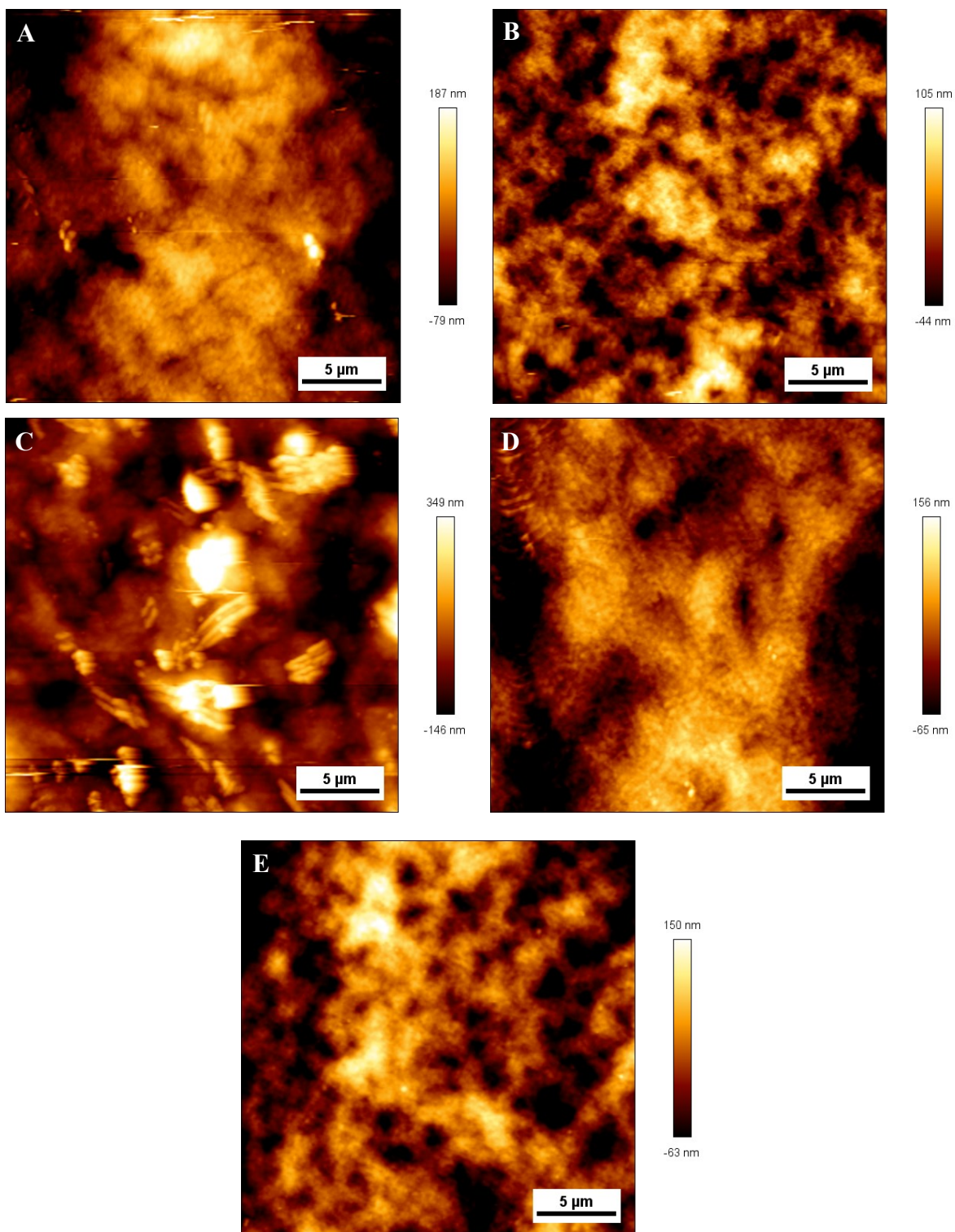
Membrány se smíšenou maticí vykazovaly rozdílnou povrchovou morfologii při porovnání s referencí (Obrázek 42). Největší změny způsobené velkými částicemi nikoliv změnou sub-mikronové drsnosti byly pozorovány u membrány s dotací TiO_2 .

Membrány s dotací ZnO se strukturou povrchu prakticky nelišily od referenční, pravděpodobně vlivem uvolnění ZnO a tím i snížením jejich vlivu na drsnost membránového povrchu. Membrány s MWCNT vykazovaly částečně vyšší drsnost, která se projevila vyšší členitostí zejména v trojrozměrné projekci povrchové drsnosti (Obrázek 43). Zvýšenou členitost povrchu lze přičíst vlivu interakce víceštěnných karbonových trubiček s polymerní maticí doloženou také SEM analýzou (Obrázek 32).

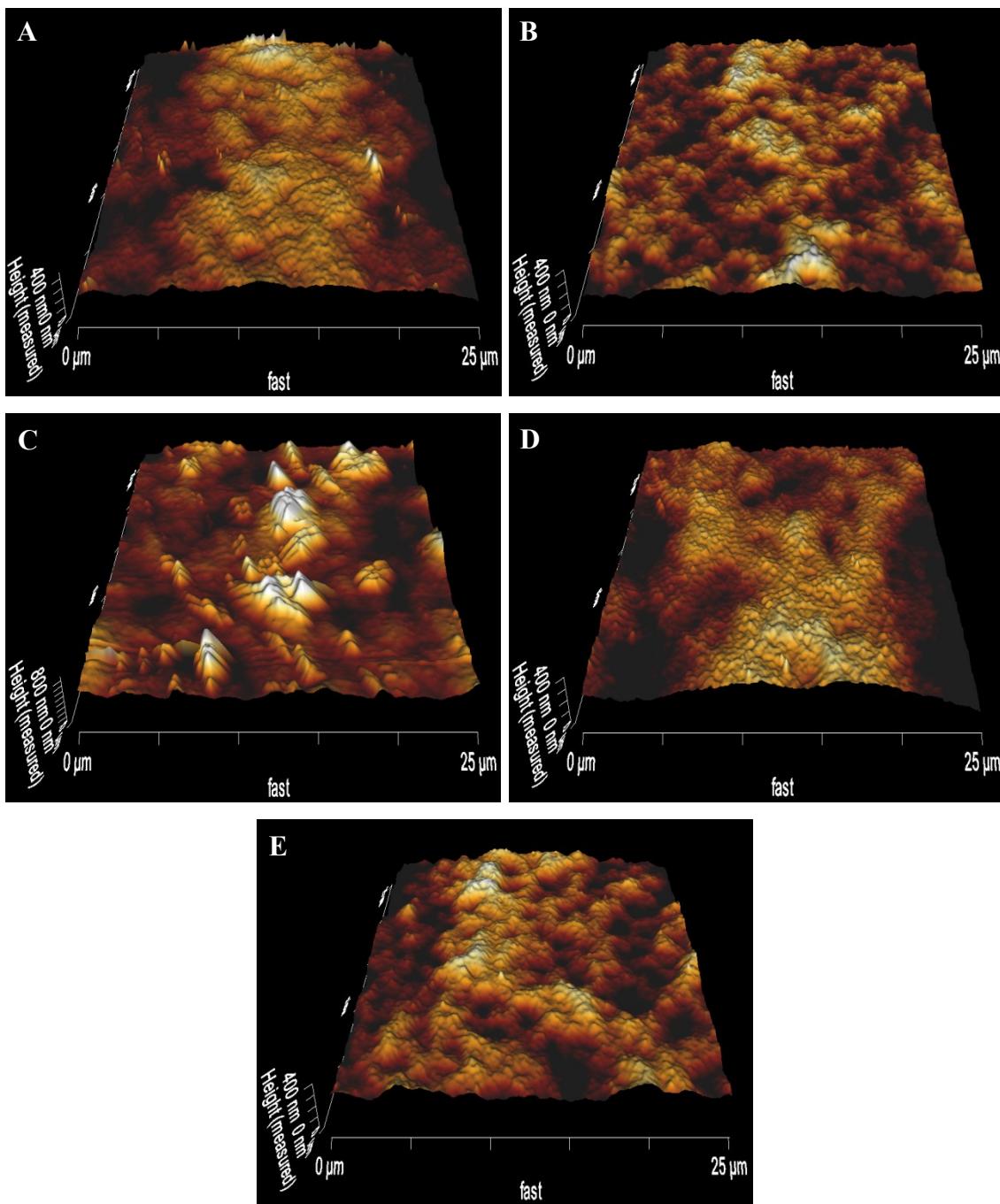
Největší pozitivní změnu povrchové drsnosti lze vypočítat u membrán s přídavkem CuO, kdy průměrná drsnost dosahovala $R_a = 45 \text{ nm}$ v porovnání s $R_a = 29 \text{ nm}$ u referenční membrány (Tabulka 20). Výsledky získané filtrací aktivovaného kalu potvrzují závěry mikroskopických analýz, kdy změny povrchové drsnosti mohly vést k vyšší hydrofilitě povrchu a tím pádem i k nižší interakci se složkami aktivovaného kalu. Obrázek 42 zobrazuje povrchový profil jednotlivých membrán. Tabulka 20 shrnuje parametry drsnosti diagonálně vedené linie v mapované čtvercové oblasti. Trojrozměrný model zobrazující povrchové zakřivení je uveden na obrázku 43.

Tabulka 20: Shrnutí vybraných parametrů drsnosti povrchů membrán s komerčními nanočásticemi v porovnání s referenční membránou.

| veličina/membrána | CuO | ZnO | TiO ₂ | MWCNT | reference |
|----------------------------------|-----|-----|------------------|-------|-----------|
| průměrná drsnost R_a [nm] | 45 | 27 | 105 | 32 | 29 |
| max. hloubka drsnosti R_t [nm] | 253 | 182 | 597 | 190 | 186 |



Obrázek 42: Mapa výškového profilu membrán se smíšenou maticí s přidavkem komerčních nanočástic ve formě A) CuO, B) ZnO, C) TiO₂, D) MWCNT a E) referenční membránu (zvětšení 2 500×).

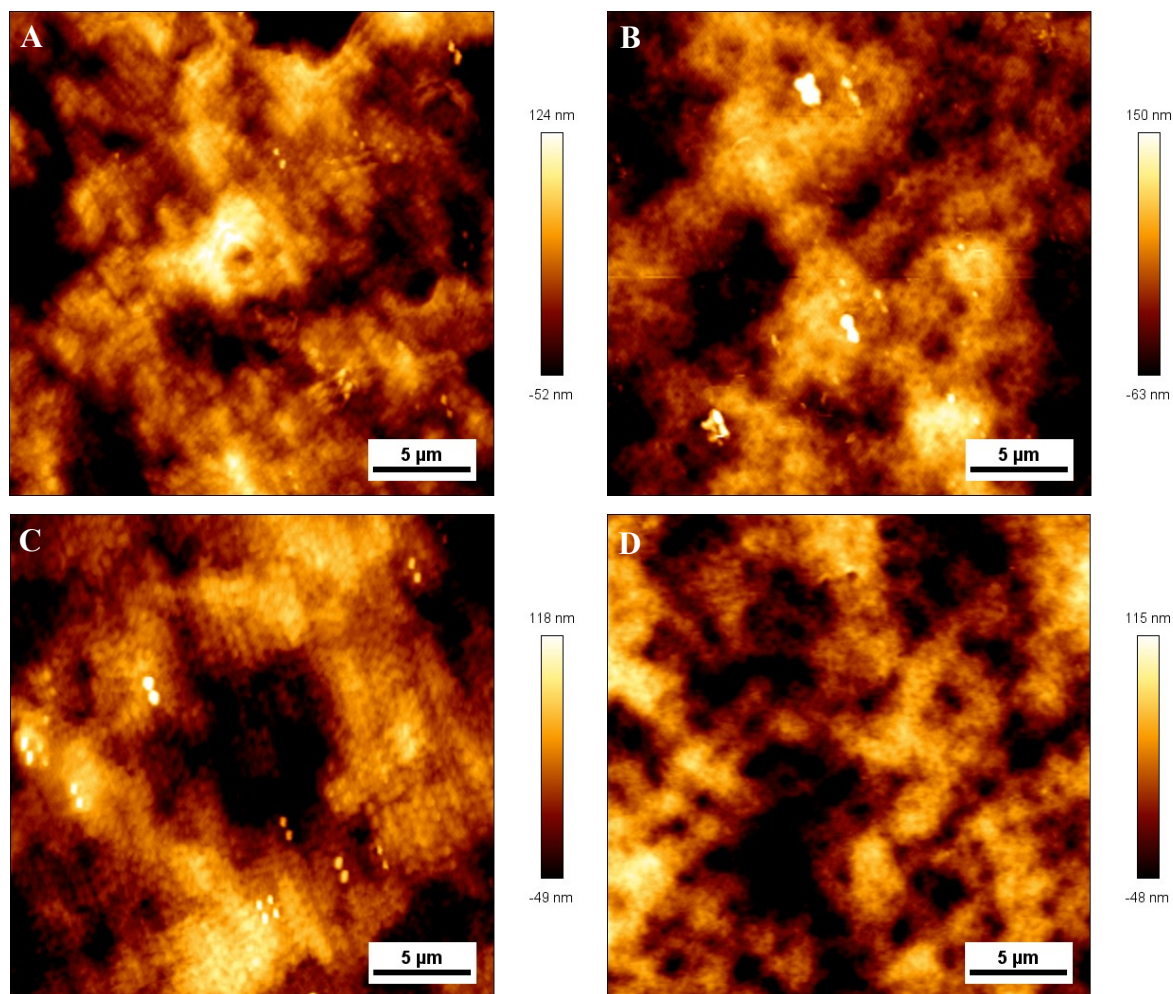


Obrázek 43: Trojrozměrný model výškového profilu pro membrány s přidavkem nanočástic A) CuO, B) ZnO, C) TiO₂, D) MWCNT a E) referenční membrána (zvětšení 2 500×).

B) Membrány s disperzními nanočásticemi

Membrány s disperzními nanočásticemi vykazovaly jen nepatrné změny parametrů drsnosti (Tabulka 21). Membrány s behenátem stříbrným měly hodnoty průměrné drsnosti a maximální hloubky drsnosti prakticky totožné. Nicméně z analýzy povrchové morfologie (Obrázek 44) i její trojrozměrné projekce (Obrázek 45) byly přeci jen patrné drobné změny, které však nelze příliš

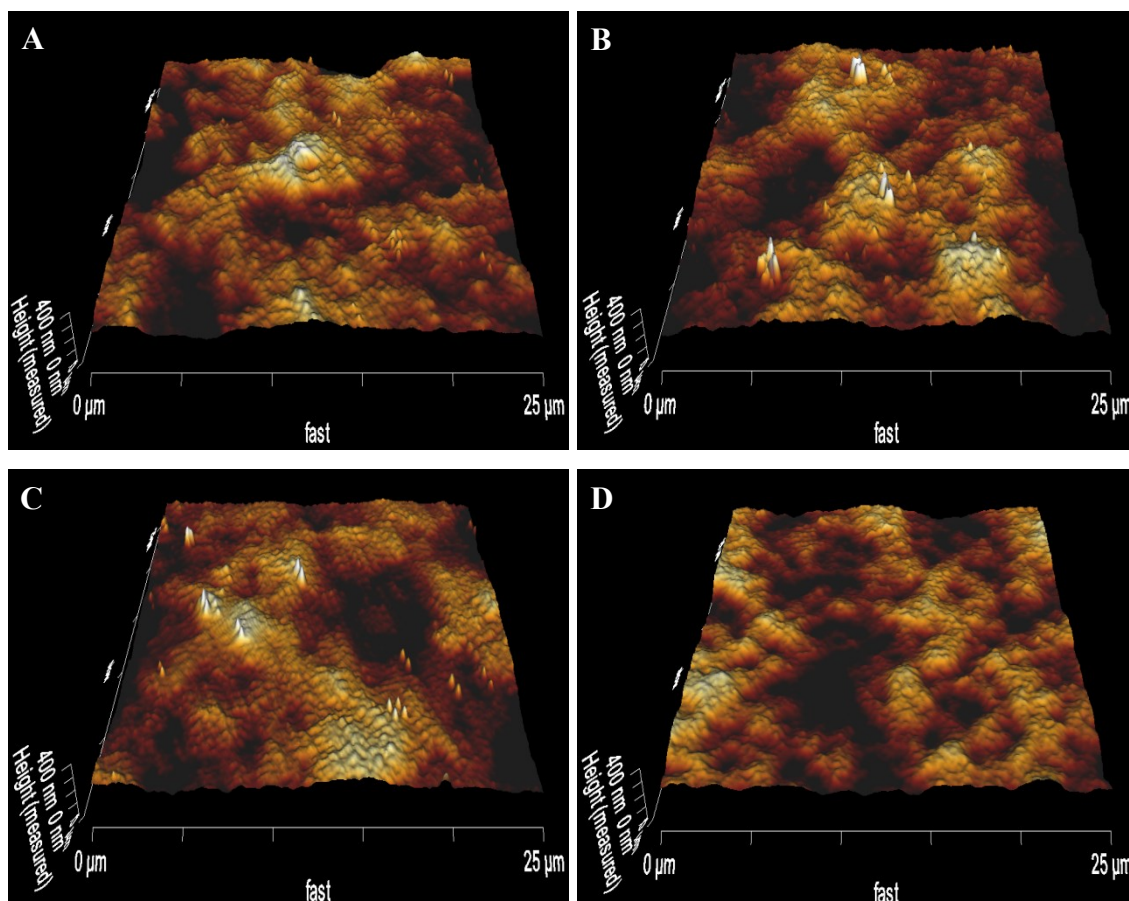
dobře kvantifikovat zvolenými „globálními“ parametry. Při porovnání povrchové morfologie s referenční membránou byla patrná vyšší členitost na menším úseku. Mezi vzorky membrán s disperzními nanočásticemi lze však jen obtížně říct, který z povrchů je více lokálně členěný. Z výsledků všech provedených experimentů lze vyvodit pozitivní vliv membrán s přídavkem $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ na membránové zanášení a to pravděpodobně díky chemismu i morfologii povrchu. Mikroskopie atomárních sil nicméně přímou příčinu pozitivních výsledků této disperzní modifikace neodhalila.



Obrázek 44: Mapa výškového profilu membrán se smíšenou maticí s přídavkem disperzních nanočástic ve formě A) AgBeh, B) Ag₀, C) TiO₂-Ag v porovnání s D) referenční membránou (zvětšení 2 500×).

Tabulka 21: Parametry drsnosti povrchů membrán s disperzními nanočásticemi.

| veličina/membrána | AgBeh | Ag ₀ | TiO ₂ -Ag | reference |
|----------------------------------|-------|-----------------|----------------------|-----------|
| průměrná drsnost R_a [nm] | 25 | 33 | 28 | 25 |
| max. hloubka drsnosti R_t [nm] | 159 | 197 | 154 | 155 |



Obrázek 45: Trojrozměrný model výškového profilu pro membrány s přidavkem disperzních nanočástic A) AgBeh, B) Ag₀, C) TiO₂-Ag a D) referenční membrána (zvětšení 2 500×).

4 ZÁVĚRY

Závěrečná část disertační práce se zabývala přípravou a charakterizací polyethersulfonových membrán s přidavkem polyvinylpyrrolidonu (PVP) se smíšenou maticí. Hlavním cílem přitom bylo nalezení jak vhodného aditiva, tak i příprava membrán s minimálním zanášením. Testována byla široká škála aditiv ve formě komerčně dostupných nanočástic CuO, ZnO, TiO₂ i vícečetné uhlíkové nanotrubičky (MWCNT) a dále pak disperze behenátu stříbrného, nulmocných nanočástic stříbra a oxidu titaničitého se stříbrem (TiO₂-Ag).

Připravené membrány byly podrobeny detailní charakterizaci. Jmenovitě testům permeability, selektivity, proteinového zanášení, dále pak testu s odtokem z ČOV i aktivovaného kalu. Hodnocena byla stabilita použitých aditiv, antimikrobiální vlastnosti, měřen byl kontaktního úhel i morfologie membrán. Cílem testů byla odpověď na otázku: „které ze zkoumaných aditiv snižuje membránového zanášení“. Aplikační potenciál spatřuji v membránových bioreaktorech, kde je požadována dlouhodobá výkonnost membrán s nízkým zanášením.

Membrány připravené metodou inverze fáze dosahovaly, až na výjimky, požadované ultrafiltrační selektivity s typickou asymetrickou strukturou a zároveň s vysokými hodnotami permeability. Testy kontaktních úhlu spolu s mikroskopií atomárních sil potvrdily změny v povrchové morfologii i hydrofilitě membrán se smíšenou maticí. Antimikrobiální testy potvrdily inhibiční vliv ZnO, částečně CuO a disperzních aditiv na mikroorganismy reálné odpadní vody. Testy stability nicméně odhalily vysokou rozpustnost ZnO ve vodě vedoucí ke ztrátě požadovaných vlastností membránové matrice.

Výsledku proteinového zanášení pomocí referenčního BSA proteinu zjistily pozitivní vliv membránové matrice s přidavkem CuO, disperze nulmocných nanočástic Ag i TiO₂-Ag. Tyto membrány vykazaly pozitivní výsledky i při filtraci aktivovaného kalu z ČOV s periodickou relaxací. Membrány s disperzí nulmocných nanočástic Ag nicméně vykazovaly zhoršenou selektivitu pravděpodobně vlivem přidaného PVP.

Membrány s přidavkem CuO a TiO₂-Ag splňují požadavky stability aditiv v polymerní matici a zároveň vykazují schopnost sníženého zanášení membrán při filtraci reálné odpadní vody se zachováním požadované selektivity. Tyto membrány proto představují zajímavou alternativu k základní membránové matici a připravuje se podstoupení těchto membrán k dlouhodobějšímu testování. Dalším zajímavým zjištěním je závislost zanášení membrán během filtrace aktivovaného kalu na povrchové morfologii a chemické povaze vedoucí ke zvýšení hydrofility a tím snížení hydrofobních interakcí spíše než na antimikrobiálních vlastnostech.

Dalším směrem výzkumu v této problematice by mohlo být testování vlastností membrán v závislosti na různých koncentracích použitých aditiv. Dále například testy membrán v *cross-flow* režimu či dlouhodobém provozu nebo posouzení chemického čištění na stabilitu aditiv. V neposlední řadě také vliv dotace nanočástic na dlouhodobé mechanické vlastnosti a životnost membrán.

Seznam použité literatury

Aerts, P., Kuypers, S., Genne, I., Leysen, R., Mewis, J., Vankelecom, I., Jacobs, P., 2006. Polysulfone-ZrO₂ surface interactions. The influence on formation, morphology and properties of zirconium membranes. *J. Phys. Chem. B* 110, 7425–7430.

Baghbanzadeh, M., Rana, D., Matsuura, T., Lan, C.Q., 2015. Effects of hydrophilic CuO nanoparticles on properties and performance of PVDF VMD membranes. *Desalination* 369, 75–84.

Balta, S., Sotto, A., Luis, P., Benea, L., Van der Bruggen, B., Kim, J., 2012. A new outlook on membrane enhancement with nanoparticles: the alternative of ZnO. *J. Membr. Sci.* 389, 155–161.

Bixler, G.D., Bhushan, B., 2012. Biofouling: lessons from nature. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Math. Phys. Eng. Sci.* 370, 2381–2417.

Choi, O., Hu, Z., 2008. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4583–4588.

Daraei, P., Madaeni, S.S., Ghaemi, N., Khadivi, M.A., Astinchap, B., Moradian, R., 2013. Fouling resistant mixed matrix polyethersulfone membranes blended with magnetic nanoparticles: study of magnetic field induced casting. *Sep. Purif. Technol.* 109, 111–121.

Deivaraj, T., Lala, N.L., Lee, J.Y., 2005. Solvent-induced shape evolution of PVP protected spherical silver nanoparticles into triangular nanoplates and nanorods. *J. Colloid Interface Sci.* 289, 402–409.

Dvořák, L., Gómez, M., Dvořáková, M., Růžičková, I., Wanner, J., 2011. The impact of different operating conditions on membrane fouling and EPS production. *Bioresour. Technol.* 102, 6870–6875. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.061

Fan, L., Nguyen, T., Roddick, F.A., Harris, J.L., 2008. Low-pressure membrane filtration of secondary effluent in water reuse: pre-treatment for fouling reduction. *J. Membr. Sci.* 320, 135–142.

Hajipour, M.J., Fromm, K.M., Ashkarran, A.A., de Aberasturi, D.J., de Larramendi, I.R., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W.J., Mahmoudi, M., 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 30, 499–511.

Harikishore, M., Sandhyarani, M., Venkateswarlu, K., Nellaippan, T., Rameshbabu, N., 2014. Effect of Ag doping on antibacterial and photocatalytic activity of nanocrystalline TiO₂. *Procedia Mater. Sci.* 6, 557–566.

Harun, Z., Shohur, M.F., Jamalludin, M.R., Yunus, M.Z., Basri, H., 2014. Hydrophilicity Effect of Rice Husk Silica on Mixed Matrix PSF Membrane Properties. *J. Teknol.* 70.

Heidi Lynn, R., Priscilla GL, B., Emmanuel, I., 2012. Metal nanoparticle modified polysulfone membranes for use in wastewater treatment: a critical review. *J. Surf. Eng. Mater. Adv. Technol.* 2012.

Hoek, E.M., Ghosh, A.K., Huang, X., Liong, M., Zink, J.I., 2011. Physical–chemical properties, separation performance, and fouling resistance of mixed-matrix ultrafiltration membranes. *Desalination* 283, 89–99.

Ho, K.K.K., Cole, N., Chen, R., Willcox, M.D., Rice, S.A., Kumar, N., 2012. Immobilization of antibacterial dihydropyrrol-2-ones on functional polymer supports to prevent bacterial infections in vivo. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 1138–1141.

Iversen, V., Koseoglu, H., Yigit, N.O., Drews, A., Kitis, M., Lesjean, B., Kraume, M., 2009. Impacts of membrane flux enhancers on activated sludge respiration and nutrient removal in MBRs. *Water Res.* 43, 822–830.

Jenkins, D., Wanner, J., 2014. *Activated Sludge-100 Years and Counting*. IWA Publishing.

Jhaveri, J.H., Murthy, Z., 2016. A comprehensive review on anti-fouling nanocomposite membranes for pressure driven membrane separation processes. *Desalination* 379, 137–154.

Judd, S., 2010. *The MBR book: principles and applications of membrane bioreactors for water and wastewater treatment*. Elsevier.

Kim, J., Van der Bruggen, B., 2010. The use of nanoparticles in polymeric and ceramic membrane structures: review of manufacturing procedures and performance improvement for water treatment. *Environ. Pollut.* 158, 2335–2349.

Li, J.-H., Shao, X.-S., Zhou, Q., Li, M.-Z., Zhang, Q.-Q., 2013. The double effects of silver nanoparticles on the PVDF membrane: Surface hydrophilicity and antifouling performance. *Appl. Surf. Sci.* 265, 663–670.

Mansourpanah, Y., Habili, E.M., 2013. Preparation and modification of thin film PA membranes with improved antifouling property using acrylic acid and UV irradiation. *J. Membr. Sci.* 430, 158–166.

Meng, F., Chae, S.-R., Drews, A., Kraume, M., Shin, H.-S., Yang, F., 2009. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water Res.* 43, 1489–1512. doi:10.1016/j.watres.2008.12.044

Meng, F., Shi, B., Yang, F., Zhang, H., 2007. Effect of hydraulic retention time on membrane fouling and biomass characteristics in submerged membrane bioreactors. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 30, 359–367. doi:10.1007/s00449-007-0132-1

MoghimiFar, V., Raisi, A., Aroujalian, A., 2014. Surface modification of polyethersulfone ultrafiltration membranes by corona plasma-assisted coating TiO₂ nanoparticles. *J. Membr. Sci.* 461, 69–80.

Mojtahedi, Y.M., Mehrnia, M.R., Homayoonfal, M., 2013. Fabrication of Al₂O₃/PSf nanocomposite membranes: efficiency comparison of coating and blending methods in modification of filtration performance. *Desalination Water Treat.* 51, 6736–6742.

Mulder, M., 1996. *Basic principles of membrane technology*. Springer Science & Business Media.

Ng, L.Y., Mohammad, A.W., Leo, C.P., Hilal, N., 2013. Polymeric membranes incorporated with metal/metal oxide nanoparticles: a comprehensive review. *Desalination* 308, 15–33.

Ochoa, N., Pradanos, P., Palacio, L., Pagliero, C., Marchese, J., Hernandez, A., 2001. Pore size distributions based on AFM imaging and retention of multidisperse polymer solutes: characterisation of polyethersulfone UF membranes with dopes containing different PVP. *J. Membr. Sci.* 187, 227–237.

Pitter, P., 1999. *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT.

Rahimpour, A., Jahanshahi, M., Khalili, S., Mollahosseini, A., Zirepour, A., Rajaeian, B., 2012. Novel functionalized carbon nanotubes for improving the surface properties and performance of polyethersulfone (PES) membrane. *Desalination* 286, 99–107.

Rajabi, H., Ghaemi, N., Madaeni, S.S., Daraei, P., Astinchap, B., Zinadini, S., Razavizadeh, S.H., 2015. Nano-ZnO embedded mixed matrix polyethersulfone (PES) membrane: Influence of nanofiller shape on characterization and fouling resistance. *Appl. Surf. Sci.* 349, 66–77.

Ren, G., Hu, D., Cheng, E.W., Vargas-Reus, M.A., Reip, P., Allaker, R.P., 2009. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *Int. J. Antimicrob. Agents* 33, 587–590.

Rybak, M.J., Cappelletty, D.M., Moldovan, T., Aeschlimann, J.R., Kaatz, G.W., 1998. Comparative in vitro activities and postantibiotic effects of the oxazolidinone compounds eperzolid (PNU-100592) and linezolid (PNU-100766) versus vancomycin against *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Enterococcus faecalis*, and *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, 721–724.

Sadeghi, I., Aroujalian, A., Raisi, A., Dabir, B., Fathizadeh, M., 2013. Surface modification of polyethersulfone ultrafiltration membranes by corona air plasma for separation of oil/water emulsions. *J. Membr. Sci.* 430, 24–36.

Shim, J.K., Na, H.S., Lee, Y.M., Huh, H., Nho, Y.C., 2001. Surface modification of polypropylene membranes by γ -ray induced graft copolymerization and their solute permeation characteristics. *J. Membr. Sci.* 190, 215–226. doi:10.1016/S0376-7388(01)00445-8

Sonawane, S.H., Terrien, A., Figueiredo, A.S., Clara Gonçalves, M., De Pinho, M.N., 2015. The role of silver nanoparticles on mixed matrix Ag/cellulose acetate asymmetric membranes. *Polym. Compos.*

Sun, M., Su, Y., Mu, C., Jiang, Z., 2009. Improved antifouling property of PES ultrafiltration membranes using additive of silica–PVP nanocomposite. *Ind. Eng. Chem. Res.* 49, 790–796.

Susanto, H., Ulbricht, M., 2009. Characteristics, performance and stability of polyethersulfone ultrafiltration membranes prepared by phase separation method using different macromolecular additives. *J. Membr. Sci.* 327, 125–135.

Vatanpour, V., Madaeni, S.S., Khataee, A.R., Salehi, E., Zinadini, S., Monfared, H.A., 2012. TiO₂ embedded mixed matrix PES nanocomposite membranes: influence of different sizes and types of nanoparticles on antifouling and performance. *Desalination* 292, 19–29.

Vatsha, B., Ngila, J.C., Moutloali, R.M., 2014. Preparation of antifouling polyvinylpyrrolidone (PVP 40K) modified polyethersulfone (PES) ultrafiltration (UF) membrane for water purification. *Phys. Chem. Earth Parts ABC* 67, 125–131.

Xie, Z., Wang, Z., Wang, Q., Zhu, C., Wu, Z., 2014. An anaerobic dynamic membrane bioreactor (AnDMBR) for landfill leachate treatment: Performance and microbial community identification. *Bioresour. Technol.* 161, 29–39. doi:10.1016/j.biortech.2014.03.014

Yu, H.-Y., Xie, Y.-J., Hu, M.-X., Wang, J.-L., Wang, S.-Y., Xu, Z.-K., 2005. Surface modification of polypropylene microporous membrane to improve its antifouling property in MBR: CO₂ plasma treatment. *J. Membr. Sci.* 254, 219–227. doi:10.1016/j.memsci.2005.01.010

Yu, H.-Y., Xu, Z.-K., Lei, H., Hu, M.-X., Yang, Q., 2007. Photoinduced graft polymerization of acrylamide on polypropylene microporous membranes for the improvement of antifouling characteristics in a submerged membrane-bioreactor. *Sep. Purif. Technol.* 53, 119–125. doi:10.1016/j.seppur.2006.07.002

Yu, H., Zhang, Y., Sun, X., Liu, J., Zhang, H., 2014. Improving the antifouling property of polyethersulfone ultrafiltration membrane by incorporation of dextran grafted halloysite nanotubes. *Chem. Eng. J.* 237, 322–328.

Zhang, F., Zhang, W., Yu, Y., Deng, B., Li, J., Jin, J., 2013. Sol–gel preparation of PAA-g-PVDF/TiO₂ nanocomposite hollow fiber membranes with extremely high water flux and improved antifouling property. *J. Membr. Sci.* 432, 25–32.

Zhao, C., Xue, J., Ran, F., Sun, S., 2013. Modification of polyethersulfone membranes—a review of methods. *Prog. Mater. Sci.* 58, 76–150.

Závěry disertační práce

Disertační práce se v první fázi zabývala modifikacemi komerčně dostupných ultrafiltračních membrán s využitím nanovláken dotovaných nanočásticemi stříbra. Zkoumány byly dva způsoby přípravy kompozitní ultrafiltrační membrány s antibakteriálními vlastnostmi, metoda tepelně-tlakové laminace a přímé depozice. Podařilo se připravit membránový kompozit s prokázanými antimikrobiálními vlastnosti, nicméně pro takto modifikované membrány byl zároveň pozorován pokles hydraulického výkonu.

V navazující části práce bylo řešeno zejména výrazné vyplavování stříbra z nanovlákněných struktur. Za tímto účelem byla, metodou elektrostatického zvlákňování z volné hladiny, připravena polyuretanová nanovláknina bez následných úprav s *in situ* dotací různými prekuzory a disperzemi nanočástic stříbra. Ze všech testovaných vzorků vykazovala nanovláknina dotovaná behenátem stříbrným nejnižší hodnoty vyplavování stříbra spolu s výraznými antimikrobiálními vlastnostmi. Tato nanovláknina navíc vykazovala homogenní pokrytí jejich povrchu sférickými nanočásticemi stříbra. Polyuretanová nanovláknina dotovaná behenátem stříbrným proto představují novou alternativu k biocidně modifikovaným nanovlákněným strukturám s *in situ* připraveným nulmocným stříbrem.

Součástí výzkumu nanovláken s antimikrobiálními vlastnostmi byla příprava kompozitních mikrofiltračních membrán kombinujících filtrační vlastnosti nanovláken a antimikrobiální vlastnosti nanočástic stříbra. Nanovlákněné membrány měly horší selektivitu při filtraci zředěné bakteriální suspenze, nicméně během filtrace aktivovaného kalu bylo dosaženo lepších výsledků permeability než pro symetrickou 0,45 μm membránu. Nanovlákněné mikrofiltrační membrány zaručující vhodný kompromis mezi propustností a separačními vlastnostmi, je tedy možné použít zejména pro filtraci odpadních vod s vyšším obsahem nerozpuštěných látek a biologické složky, například v membránových bioreaktorech. I přes prokázané filtrační a separační vlastnosti nanovlákněných membrán stále zůstala otevřena otázka jejich dlouhodobé životnosti a také efektivita čištění těchto strukturovaných materiálů v případě nevratného zanášení.

V další části disertační práce byla porovnána výše zmíněná modifikace komerční membrány pomocí antimikrobiálních nanovláken s dalšími postupy povrchové inkorporace nanočástic stříbra. Membrány modifikované pomocí difúzní metody vykazovaly vyšší propustnost než nemodifikované, s výjimkou modifikace nanovlákniny se stříbrem s nižší propustností a to i v případě filtrace reálné odpadní vody. Všechny membrány vykazovaly antimikrobiálními vlastnosti vůči mikroorganismům reálné odpadní vody. V případě difúzní a PEI-Ag metody vedly

i ke snížení biologického zanášení povrchu membrány. Nevýhodou povrchových modifikací je použití čistících roztoků, například chlornanu sodného, vedoucí k oxidaci nanočástic a následnému vyvráždění s chloridy. Z tohoto důvodu by bylo případné praktického nasazení vázáno na jiné čistící procesy nebo mechanismy. Z hlediska praxe se jako nejzajímavější metoda modifikace jevila difuzní metoda. Kromě nejlepších dosažených výsledků testování umožňovala teoreticky nejjednodušší postup, jak znovu funkcionalizovat základní materiál v případě vyčerpání antimikrobiálních vlastností nebo po chemickém čištění.

Poslední oblastí práce byla příprava polyethersulfonových membrán se smíšenou maticí obsahující nanočástice kovů a jeho oxidů s antimikrobiálními vlastnostmi a to, jak ve formě komerčně dostupných nanočástic, tak i ve formě připravených disperzí. Hlavním cílem této části byla volba vhodného aditiva a zároveň příprava nových membrán se smíšenou maticí s minimálním biologickým zanášením.

Membrány se smíšenou maticí dosahovaly požadované selektivity a v některých případech i zvýšené hydrofility, antimikrobiálních vlastností a stability aditiv. Modifikace pomocí oxidu měďnatého a oxidu titaničitého doplněného o stříbro splňují požadavky na antimikrobiální vlastnosti a zároveň i na stabilitu aditiv v polymerní matici. Vykazují také schopnost sníženého zanášení membrán při filtraci reálné odpadní vody.

I přes prokazané zlepšené vlastnosti, zůstává hlavní nevýhodou membrán se smíšenou maticí cena dotovaných nanočástic prozatím neumožňující jejich použití v malém měřítku. Nicméně s rostoucí výrobou a klesající cenou lze tento nedostatek eliminovat, protože nejvyšší cenovou položkou při výrobě membrány představují organická rozpouštědla. Další otevřenou otázkou je dlouhodobá stabilita a aktivita nanočástic při filtraci reálné odpadní vody. K plnému průmyslovému využití těchto hybridních membrán bude zapotřebí také optimalizovat čistící protokoly a navrhnout procesní podmínky umožňující plné využití jejich předností.

Výstupem disertační práce jsou zejména povrchové modifikace založené na difuzní a polyethyleniminové metodě u komerčních ultrafiltračních membrán. Dále byly vytvořeny membrány se smíšenou maticí s přídavkem oxidu měďnatého a oxidu titaničitého doplněného o stříbro. Povrchové modifikace jsou součástí ověřené technologie a spolu s membránami se smíšenou maticí budou v navazujícím výzkumu posouzeny jejich aplikovatelnosti v průmyslu.

I přes dosažené výsledky je potřeba brát nanomateriálové modifikace membrán stále jako relativně novou a rozvíjející se oblast výzkumu se spoustou nezodpovězených otázek. Je tedy nutné přistupovat obezřetně k aplikaci nanomateriálů a využít jejich potenciál jen v případě, kdy bude zodpovězena otázka jejich dlouhodobého účinku a vlivu na životní prostředí.

Seznam publikací

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2013. Membrane modification with nanofiber structures containing silver. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 13971–13978.

Dolina, J., Jiříček, T., Lederer, T., 2015. Biocide modification of ultrafiltration membranes using nanofiber structures. *Desalination Water Treat.*, 56(12), 3252-3258.

Dolina, J., Dlask, O., Lederer, T., Dvořák, L., 2015. Mitigation of membrane biofouling through surface modification with different forms of nanosilver. *Chem. Eng. J.*, 275, 125-133.

Dvořák, L., Gómez, M., Dolina, J., Černín, A., 2015. Anaerobic membrane bioreactors—a mini review with emphasis on industrial wastewater treatment: applications, limitations and perspectives. *Desalination Water Treat.*, 1-15.

Dolina, J., Dvořák, L., Lederer, T., Vacková, T., Mikmeková, Š., Šlouf, M., Černík, M., 2016. Characterisation of morphological, antimicrobial and leaching properties of in-situ prepared polyurethane nanofibres doped with silver behenate. *RSC Advances*, 6(28), 23816-23826.