

# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



Příprava a studium antimikrobní aktivity málo rozpustných  
sloučenin stříbra

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

<b>Autor:</b>	<b>Bc. DENISA PŘIKRYLOVÁ</b>
<b>Studijní program:</b>	<b>N 1407 CHEMIE</b>
<b>Studijní obor:</b>	<b>Materiálová chemie</b>
<b>Forma studia:</b>	<b>Prezenční</b>
<b>Vedoucí práce:</b>	<b>RNDr. Aleš Panáček, Ph.D.</b>

**OLOMOUC 2014**

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Aleše Panáčka, Ph.D., a použila jsem pouze literaturu uvedenou v seznamu. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Katedry fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci, dne .....

.....  
Podpis

#### Poděkování:

Děkuji vedoucímu diplomové práce RNDr. Aleši Panáčkovi, Ph.D. za ochotu při vedení mé diplomové práce, za poskytnuté materiály, za jeho vstřícný přístup, cenné rady a podněty.

Také děkuji Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty UP za měření antimikrobní aktivity a poskytnutí kultivačního bujónu.

## Bibliografické údaje:

Jméno a příjmení autora:	Bc. Denisa Přikrylová
Název práce:	Příprava a studium antimikrobní aktivity málo rozpustných sloučenin stříbra
Typ práce:	Diplomová
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce:	RNDr. Aleš Panáček, Ph. D.
Rok obhajoby práce:	2014
Abstrakt:	Cílem diplomové práce je příprava málo rozpustných sloučenin stříbra a studium vlivu jejich rozpustnosti na antimikrobiální aktivitu. Málo rozpustné sloučeniny stříbra byly připraveny srážecími reakcemi. Dusičnan stříbrný byl srážen chloridem, bromidem, jodidem, thiokyanatanem, hydroxidem, síranem, uhličitánem a sulfidem. K charakterizaci připravených sloučenin byly využity snímky z TEM. U vybraných málo rozpustných sloučenin o koncentraci $2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l aniontu byla měřena antimikrobiální aktivita vůči gram-pozitivním a gram-negativním bakteriím.
Klíčová slova:	nanočástice stříbra, málo rozpustné sloučeniny stříbra, antimikrobiální aktivita
Počet stran:	64
Počet příloh:	0
Jazyk:	čeština

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Bc. Denisa Přikrylová

Title: Preparation and study of antimicrobial activity of poorly soluble silver compounds

Type of thesis: Master

Department: Department of Physical Chemistry

Supervisor: RNDr. Aleš Panáček, Ph.D.

The year of presentation: 2014

Abstract: The aim of this thesis is the preparation of poorly soluble compounds of silver, and the effect of solubility on antimicrobial activity. Slightly soluble silver compounds were prepared by precipitation reactions. Precipitated with silver nitrate with sodium chloride, bromide, iodide, thiocyanate, hydroxide, sulfate, carbonate and sulphide. The characterization of the prepared compounds were used in the TEM images. For selected poorly soluble compounds of koncentaci  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol / l anion was measured by antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria.

Keywords: Silver nanoparticles, poorly soluble compounds, antimicrobial activity

Number of pages: 64

Number of appendices: 0

Language: Czech

## OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>NANOTECHNOLOGIE A NANOMATERIÁLY.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Příprava nanočástic .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Využití nanotechnologií .....</b>	<b>11</b>
2.2.1	Elektronika .....	11
2.2.2	Doprava .....	11
2.2.3	Medicína.....	12
<b>3</b>	<b>DISPERZNÍ SOUSTAVY .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1</b>	<b>Rozdělení disperzních soustav .....</b>	<b>13</b>
3.1.1	Dělení dle velikosti dispergovaných částic .....	13
3.1.2	Dělení podle tvaru dispergovaných částic.....	13
3.1.3	Dělení dle skupenství disperzního podílu a prostředí .....	14
3.1.4	Dělení dle stálosti a způsobu vzniku.....	14
<b>3.2</b>	<b>Kinetické vlastnosti koloidních soustav .....</b>	<b>15</b>
3.2.1	Brownův pohyb .....	15
3.2.2	Difúze .....	15
3.2.3	Sedimentace .....	16
3.2.4	Osmóza.....	16
<b>3.3</b>	<b>Reologické vlastnosti koloidních soustav .....</b>	<b>17</b>
<b>3.4</b>	<b>Optické vlastnosti koloidních soustav .....</b>	<b>17</b>
3.4.1	Rozptyl světla.....	17
3.4.2	Absorpce záření.....	19
<b>3.5</b>	<b>Elektrické vlastnosti koloidních soustav .....</b>	<b>20</b>
3.5.1	Elektrická dvojvrstva .....	20
<b>3.6</b>	<b>Stabilita koloidních soustav.....</b>	<b>22</b>
<b>3.7</b>	<b>Příprava koloidních soustav.....</b>	<b>24</b>

3.7.1	Metody dispergační .....	24
3.7.2	Metody kondenzační .....	25
<b>4</b>	<b>KOLOIDNÍ STŘÍBRO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>Přípravy koloidního stříbra .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2</b>	<b>Vlastnosti a použití koloidního stříbra .....</b>	<b>28</b>
4.2.1	Katalytické účinky nanočástic stříbra .....	28
4.2.2	Použití v senzorech .....	28
4.2.3	Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) a povrchem zesílená rezonanční Ramanova spektroskopie (SERRS) .....	29
4.2.4	Antibakteriální aktivita .....	29
<b>5</b>	<b>CHEMIE MÁLO ROZPUSTNÝCH SLOUČENIN .....</b>	<b>32</b>
<b>5.1</b>	<b>Součin rozpustnosti .....</b>	<b>32</b>
<b>5.2</b>	<b>Výpočet rozpustnosti u čistých málo rozpustných látek .....</b>	<b>33</b>
<b>5.3</b>	<b>Galvanický článek .....</b>	<b>33</b>
	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>MATERIÁL A METODY .....</b>	<b>36</b>
<b>6.1</b>	<b>Použité chemikálie a biologický materiál .....</b>	<b>36</b>
<b>6.2</b>	<b>Použité přístroje a zařízení .....</b>	<b>36</b>
<b>6.3</b>	<b>Postup a přípravy .....</b>	<b>37</b>
6.3.1	Příprava málo rozpustných sloučenin stříbra .....	37
6.3.2	Příprava nanočástic stříbra .....	39
<b>6.4</b>	<b>Výsledky a diskuse .....</b>	<b>40</b>
6.4.1	Kalibrace .....	40
6.4.2	Vliv kultivačního bujónu na rozpustnost sloučenin .....	54
6.4.3	Výsledky antimikrobní aktivity .....	56
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>59</b>
<b>8</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>61</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>62</b>

# 1 Úvod

V minulém století došlo k celé řadě objevů v různých odvětvích vědy, tyto výtobytky moderní doby využíváme a jejich zvláštnost si vůbec neuvědomujeme. V polovině 20. století byl objeven obor nazvaný nanotechnologie, a v posledních letech se tato velmi rychle se rozvíjející technologie s velkou řadou aplikací stala nejčastěji diskutovaným tématem současnosti. Nanotechnologie se označuje jako vědní obor vývoje a výzkumu, zabývající se cíleným využíváním a vytvářením struktur materiálů, u nichž má alespoň jedna částice rozměr od 1 do 100 nm. [1]

Využití této technologie je velmi rozsáhlé. V současnosti nalézá uplatnění v celé řadě oblastí běžného života, jako je například v textilním průmyslu (hydrofobní a nešpinící se tkaniny), v elektronice (paměťová média, spintronika), ve zdravotnictví (umělé klouby a chlopně, cílená doprava léčiv), ve stavebnictví (samočisticí fasádní nátěry) a ve strojírenství (obráběcí stroje). [1]

Důležitou roli v oblasti nanotechnologie hrají nanočástice kovů, a to zejména ušlechtilých kovů. Jako typický příklad lze uvést nanočástice stříbra, odhaduje se, že jsou ze všech komerčních nanomateriálů nejvíce využívané. Toto specifické místo nenachází jen díky jejich poměrně jednoduché přípravě, ale také díky jejich velkému uplatnění v oblastech medicíny, při heterogenní katalýze, či v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii. [2, 3, 4, 5]

Nanočástice stříbra jsou také hojně využívány díky jejich antimikrobiálnímu účinku a setkáváme se s nimi v běžném životě v obvazech a mastech, v protézách a v podložkách z nanovláken. [6, 7, 8]

I přes stále častější používání nanočástic v komerčních produktech dosud nejsou přesně známy jejich účinky na živé organismy. Množství nanomateriálů dodaných na světový trh se odhaduje na 11 milionů tun. Rizika plynoucí z jejich využívání se začaly studovat přibližně před 10 lety na vodních organismech, velmi málo informací se prozatím ví např. o jejich působení na půdní organismy. [9, 10]

Cílem této diplomové práce je příprava málo rozpustných sloučenin stříbra a studium vlivu jejich rozpustnosti na antimikrobní aktivitu. Tyto vlastnosti jsou měřeny u následujících sloučenin stříbra: chloridu, jodidu, bromidu, rhodamidu, hydroxidu, síranu, uhličitanu a sulfidu. Antimikrobní aktivita je měřena diluční metodou, která se využívá ke stanovení nejnižší koncentrace antimikrobní látky inhibující růst daného



organismu. Antimikrobní aktivita se měří na Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty v Olomouci pomocí gram pozitivních a gram negativních bakterií.

## **TEORETICKÁ ČÁST**

## 2 Nanotechnologie a nanomateriály

Nanotechnologie je jedna z klíčových technologií současnosti, která velmi ovlivňuje ekonomiku v různých průmyslových odvětvích. Tato technologie se zabývá vývojem, vytvářením a využíváním nanočástic, které jsou charakterizované velikostí od 1 do 100 nm a prostorovým uspořádáním. V tomto rozměru mají částice odlišné vlastnosti. Při zmenšování částic dochází ke zvětšení povrchu a mění se povrchové jevy. Počet atomů na povrchu se zvětšuje, mění se adsorpce, viskozita, reaktivita a katalytické vlastnosti. Také nastává změna kvantových jevů. Díky kvantovým a povrchovým jevům se nanomateriály liší od mikromateriálů. [11]

Nanotechnologie je velmi rychle se rozvíjející vědní obor. Richard Feynman, nositel Nobelovi ceny, stál u počátků nanotechnologie a v roce 1959 na výročním zasedání American Physical Society prezentoval svou významnou přednášku „There's Plenty of Room at the Bottom“, na které zmínil možnost manipulace s objekty na úrovni atomů a molekul. [12]

V osmdesátých letech došlo k rozvoji zkoumání syntéz a vlastností částic v nanorozměrech. Významnou průmyslovou událostí se stalo vynalezení přístrojů umožňujících pozorování a manipulaci s těmito objekty. Jedná se o rastrovací tunelový mikroskop a mikroskop atomárních sil. [12]

Nanotechnologie má také v České republice již dlouhou historii. První záznamy o měření nanočástic jsou známé již od přelomu 40. a 50. let minulého století, když český profesor Armin Delong představil a uvedl do výroby první elektronový mikroskop. Profesor Armin Delong je proto celosvětově pokládán za zakladatele elektronové mikroskopie. Dalším důležitým představitelem nanotechnologie v České republice je profesor Oldřich Jirsák, který je autorem již více než 40 patentů v oboru netkané textilie a vlákna. [10, 13]

V současnosti lidstvo technologicky velmi výrazně pokročilo směrem k uskutečnění manipulací na molekulární úrovni. Díky schopnosti změřit, organizovat a manipulovat s hmotou v oblasti nanometrů došlo k objevení struktur, jako jsou například nanodráty, nanovlákna, uhlíkové nanotrubičky (které se dají považovat za protažený fulleren, přičemž délka vazby není omezena), nanokompozity a grafen. S atomy se dá hýbat do té míry, že se dají vytvořit tzv. kvantové tečky, což jsou útvary obsahující jen několik atomů. [5]

Ze strukturního hlediska lze nanomateriály dělit podle jejich dimenzionality na 0D (kvantová tečka, fulleren, atomové klastry uplatňující se například v katalýze), 1D (nanotrubičky, nanovlákná, nanodráty, které se uplatňují například jako spojovací elementy), 2D (grafen – monoatomární vrsta), 3D (velký krystal, nanoprášky, nanokompozity). [10, 11]

## **2.1 Příprava nanočástic**

Nanotechnologie je realizovaná nanoobjekty, které získáme následujícími způsoby. Zařízení nanometrových rozměrů lze zkonstruovat fyzikálním (inženýrským) přístupem pod názvem Top-down (shora dolů), znamená od větších k menším strukturám jako například litografické metody mikroelektroniky, nebo chemickým přístupem Bottom-up (zdola nahoru) je vytváření složitějších a větších struktur z menších základních prvků. [14, 15]

## **2.2 Využití nanotechnologií**

Nanotechnologie se využívají v celé řadě oblastí jako je například elektronika, zdravotnictví, strojírenství, stavebnictví, životní prostředí a průmysl (chemický, textilní, elektrotechnický, optický, automobilový, kosmický a vojenský). [16]

### **2.2.1 Elektronika**

Nanomateriály se v elektronice využívají na výrobu médií s vysokokapacitním záznamem, baterií, čidel, detektorů, palivových článků, fotomateriálů, fotočlánků, zobrazovacích médiích s vysokým rozlišením, displejů emitujících světlo pomocí organických diod (OLED), hrotů pro mikroskopy se skenující sondou a další.

Spintronika využívá kromě elektrických vlastností elektronu také jeho magnetické vlastnosti (spin). Tato technika se již uplatňuje v pevných discích, v magnetických paměťových čípech. [16, 17]

### **2.2.2 Doprava**

Přední skla automobilů jsou opatřena povlakem obsahující tvrdé nanočástice, které zlepšují odolnost. Nanočástice se také nachází v autolaku, a při dešti díky lotosovému efektu dochází k samočištění a lak je chráněn před korozi. Povlak z nanočástic je také obsažen ve světlometech a zlaté nanočástice ve spojení s porezním materiálem vytváří katalyzátor. [16, 17]

### **2.2.3 Medicína**

Nanočástice se ve zdravotnictví využívají k cílenému doručení léčiva, díky tomu dojde k podání léčiva na postižené místo a zbytek organismu není léčivem zatížen. Magnetické nanočástice se využívají k léčbě rakoviny pomocí hypertermie, částice je navedena na postižené místo a díky vnějšímu elektromagnetickému poli se zahřeje a nádor se stane citlivější pro další léčbu. Nanočástice se také využívají jako kontrastní látky (fluoreskují díky laseru), k detoxikaci krve, k tvorbě implantátů, čištění enzymů a k výrobě farmaceutik. [16, 17]

### 3 Disperzní soustavy

Disperzní soustavy jsou tvořeny nejméně ze dvou fázově či chemicky odlišných složek. Rozlišujeme fázi dispergující (dispergens, disperzní prostředí), v níž je rovnoměrně rozptýlená dispergovaná (disperzní, disperzum) fáze. Jedná-li se o soustavu, ve které se nachází dvě fáze (disperzní fáze a prostředí), nazývá se tato soustava jako heterogenní (nestejnorodá). Jedná-li se o soustavu, kdy jedna složka tvoří disperzní prostředí a druhá disperzní fázi, nazývá se tato soustava homogenní (stejnorodá). Charakteristickou vlastností disperzních soustav je současné uplatnění různých typů vazeb, zvýraznění povrchových efektů a velikost dispergovaných částic, neměřitelných optickým mikroskopem. [18, 19]

#### 3.1 Rozdělení disperzních soustav

Disperzní soustavy dělíme podle několika různých hledisek např. dle velikosti a tvaru dispergovaných částic, disperzního fáze a prostředí a dle skupenství.

##### 3.1.1 Dělení dle velikosti dispergovaných částic

Významnou charakteristikou velikosti částic je stupeň disperzity  $s_d$  (jedná se o převrácenou hodnotu lineárního rozměru částice). Disperzní soustavy dělíme na *hrubě disperzní* (částice jsou větší než  $10^{-6}$  m), které se dále dělí na mikrodisperzní (částice jsou pozorovatelné pod mikroskopem) a na makrodisperzní (částice jsou pozorovatelné pouhým okem). *Koloidní disperze* (částice jsou mezi  $10^{-9}$  –  $10^{-6}$  m) jsou unikátní díky jejich fyzikálně chemickým vlastnostem, jejichž specifické chování souvisí mimo jiné s velkou plochou fázového rozhraní. *Analytické disperzní soustavy* (pravé roztoky nízkomolekulárních látek) obsahující ionty, molekuly a atomy v daném rozpouštědle. Přítomnost těchto složek lze zjistit pouze fyzikálně-chemickou analýzou. Mezi jednotlivými soustavami nejsou přesně vymezené hranice. Jsou to soustavy s velice širokým spektrem částic. [19, 20, 21]

##### 3.1.2 Dělení podle tvaru dispergovaných částic

Podle tvaru dělíme látky na *korpuskulárně dispergované*, částice jsou ve všech prostorových směrech přibližně stejného rozměru, považujeme je za izometrické. Na *laminárně dispergované*, které mají tvar destiček nebo lamel, a částice považujeme za anizometrické, kde převládají dva rozměry nad třetím. *Fibrilárně dispergované*, kde

mají částice tvar vláken nebo tyčinek, částice jsou také anizometrické, převládá zde jeden rozměr. [19, 20, 21]

### 3.1.3 Dělení dle skupenství disperzního podílu a prostředí

Je-li soustava méně koncentrovaná, rozhoduje o skupenství dispergens. Je-li soustava více koncentrovaná, rozhodují současně dispergens i disperzum. Koloidní soustavy podle skupenství můžeme rozdělit do osmi skupin (Tabulka 1).

Soustavy, u kterých jsou částice oddělené, volně pohyblivé nazýváme soly. Předpona aero (vzduch) pak označuje soustavu s plynným prostředím, předpona lyo (lyos znamená rozpouštědlo) označuje soustavu s kapalným prostředím. Vytvoří-li dispergens a disperzum pevné struktury dochází ke vzniku gelu.

U koloidních soustav se málo kdy nachází částice se stejnou velikostí. Soustavy, ve kterých jsou částice shodně velké, se nazývají monodisperzní, tyto soustavy jsou velmi vzácné a vznikají řízenou přípravou. Polydisperzní soustavy jsou daleko častější, zastoupení různě velkých částic popisuje distribuční křivka. [19, 20]

### 3.1.4 Dělení dle stálosti a způsobu vzniku

Podle stálosti a způsobu vzniku dělíme koloidy do následujících skupin. **Lyofobní** koloidy mají fázové rozhraní ostře vymezeno, jsou velmi málo rozpustné. Nevznikají samovolně, připraví se chemicky (srážením pomocí vhodného činidla) nebo mechanicky (rozptýlením, mícháním, ultrazvukem), které se ve většině případů musí stabilizovat, aby byly termodynamicky stálé. **Lyofilní** koloidy nemají vymezené fázové rozhraní. Tyto soustavy vznikají samovolným rozpouštěním disperzní fáze v disperzním prostředí, obvykle současně dochází ke zvětšování objemu. Soustavy jsou stabilní a termodynamicky stálé. Jsou tvořeny vysokomolekulárními látkami. Zánik těchto soustav se nazývá koagulace. Tvoří-li disperzní prostředí voda, používá se předpona hydro-(filní, fobní). **Asociativní koloidní soustavy** se vytváří spojením povrchově aktivních látek s koloidním rozměrem. Tyto soustavy nemají vymezené fázové rozhraní, jelikož zde dochází k neustálému přesunu povrchově aktivní látky mezi disperzním prostředím a disperzní fází. [19, 20]

**Tabulka 1:** Rozdělení koloidních soustav podle skupenského složení

Disperzní Prostředí	Disperzní Fáze	Označení koloidní disperze
Plyn	Plyn	Netvoří koloid
	Kapalina	Aerosoly
	Pevná látka	Aerosoly
Kapalina	Plyn	Pěny
	Kapalina	Emulze
	Pevná látka	Lyosoly
Pevná látka	Plyn	Tuhé emulze
	Kapalina	Tuhé emulze
	Pevná látka	Tuhé soly

Zdroj: Vlastní zdroj

## 3.2 Kinetické vlastnosti koloidních soustav

### 3.2.1 Brownův pohyb

Koloidní částice se neustále chaoticky pohybují v disperzním prostředí. K pohybu dochází díky nárazům částic disperzního prostředí a označuje se jako Brownův pohyb. Jeho intenzita klesá s rostoucí velikostí částic, a roste při vyšší teplotě. Vnitřní energie disperzního prostředí je hybnou silou tohoto pohybu. Brownův pohyb ovlivňuje transportní jevy (zejména difuzi), osmotický tlak, sedimentaci a velmi ovlivňuje stabilitu koloidních soustav. [19, 20, 21]

### 3.2.2 Difúze

Díky Brownovu pohybu dochází v soustavách k vyrovnávání koncentrací difuzí. Hybnou silou je *koncentrační gradient* (rozdíl chemických potenciálů). Ten současně určuje směr pohybu částic, z prostředí s vyšší koncentrací do prostředí s nižší koncentrací. Rychlost závisí na velikosti částic, klesá s rostoucím poloměrem částic a je popsána difúzním tokem (1). Ten je vyjádřen jako množství látky, které proteče jednotkovou plochou za 1 sekundu.

$$j_{dif} = -D \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

$j_{dif}$  je zde difúzní tok,  $D$  je difúzní koeficient a poměr  $dc/dx$  je koncentrační gradient. [19, 22]



### 3.2.3 Sedimentace

Vlivem gravitačního pole se u částic uskutečňuje pohyb ve směru působení síly, a dochází k sedimentaci částic. Rychlost sedimentace je dána druhou mocninou jejího poloměru. Částice s velkým rozměrem sedimentují rychleji. Rychlost sedimentace koloidních částic je malá, mnohdy neměřitelná, jelikož jsou částice kineticky stálé. Sedimentaci rovněž ovlivníme hmotností, hustotou, tvarem a také díky vlastnostem daného prostředí. Částice také ovlivňuje působení síly třecí a vztlakové. Stokesova rovnice (2) popisuje vztah již zmíněných sil:

$$F_g = F_{vztl} + F_{vis} \quad (2)$$

$F_g$  je zde gravitační síla,  $F_{vztl}$  je síla vztlaková a  $F_{vis}$  je třecí síla (viskozitní odpor). Rychlost sedimentace (3) také ovlivňuje velikost a hustota částic, viskozita a hustota prostředí a působení síly. Na základě toho lze určit velikost částic, či přímo rozdělit částice polydisperzní soustavy podle velikosti.

$$v = \frac{2r^2(\varphi - \varphi_0)g}{9\eta} \quad (3)$$

Kde  $\varphi$  je hustota dispergovaných částic,  $\varphi_0$  hustota disperzního prostředí,  $r$  je poloměr částice,  $g$  je gravitační zrychlení a  $\eta$  je viskozita prostředí. [19, 22, 23]

Rychlost sedimentace je nepřímo úměrná viskozitě prostředí a roste s rozdílem hustoty částice a prostředí a také s druhou mocninou velikosti částice.

Obsahuje-li disperzní systém dostatečně malé částice, působí proti sobě difúze a sedimentace. Na poměru rychlosti difúze a sedimentace závisí kinetická stálost. Částice menší než 100 nm nemají snahu sedimentovat, vlivem Brownova pohybu vyrovnávají koncentraci částic v celém systému a jsou tedy sedimentačně stálé.

V praxi se však k ustálení rovnováhy využívá centrifugy, kde je gravitační síla nahrazena odstředivou silou. Díky podstatně větším silám se v centrifuze rovnováha ustanovuje podstatně rychleji a rozdělení částic zde závisí na druhé mocnině úhlové rychlosti. [19]

### 3.2.4 Osmóza

Osmóza nastává díky vyrovnávání koncentrací roztoků, které jsou odděleny polopropustnou (semipermeabilní) membránou. Touto membránou mohou procházet pouze molekuly rozpouštědla, nikoli částice větších rozměrů. Hybnou silou je osmotický tlak označován písmenem řecké abecedy  $\pi$ . Je popsán van't Hoffovou rovnicí (4):

$$\pi = cRT \quad (4)$$

$c$  je zde molární koncentrace,  $R$  je univerzální plynová konstanta a  $T$  je termodynamická teplota. Osmotický tlak závisí na počtu částic, jedná se o koligativní vlastnost, s větším počtem částic roste. [19, 22]

### 3.3 **Reologické vlastnosti koloidních soustav**

Reologie popisuje tok a deformaci hmoty ovlivněnou vnějšími mechanickými silami. Možné jsou tři typy chování. U elastického chování dojde vlivem vnějšího pole k deformaci, která po ukončení silového působení vymizí. Teče-li hmota vlivem působení síly (nevratná deformace) a tok se neobráť po odstranění síly, jedná se o látky s viskozním chováním. Mezi těmito extrémami se nachází viskoelastické chování, odezvu síly ovlivňuje doba působení. [19, 22]

### 3.4 **Optické vlastnosti koloidních soustav**

Při dopadu paprsku na disperzní soustavu dochází ke snížení intenzity paprsků světla díky *rozptylu dopadajícího záření* (záření je emitováno ve formě světelné energie) a *pravé adsorpci* (vnitřní energie molekul se vlivem pohlceného záření zvýší a změní se v teplo). Charakter disperzní soustavy a vlnová délka světla určují, který z jevů převládá. Oba efekty výrazně ovlivňuje velikost částic disperzní soustavy, u částic koloidních a větších rozměrů dochází k rozptylu světla, u analytických disperzí dochází k pravé adsorpci. [19]

#### 3.4.1 **Rozptyl světla**

Tento jev můžeme pozorovat pouze u systémů, ve kterých jsou různé indexy lomu disperzního prostředí a částic. Jak již bylo zmíněno, rozptyl světla je dobře pozorovatelný u hrubé disperze, naproti tomu koloidní soustavy jsou po průchodu světla průhledné. Část procházejícího světla rozptyluje do stran a díky tomu dochází ke snížení intenzity primárního paprsku. Tento jev je velmi složitý, charakterizuje ho odraz, ohyb, lom a interference světla. Jeho intenzitu měříme fotometricky, která roste s velikostí částic. U částic s velkým rozměrem a indexem lomu může docházet k viditelné opalescenci. Pozorujeme-li tento systém na temném pozadí kolmo k dopadajícímu záření, projevuje se jemný zákal. Tento jev je nejnápadnější při bočním osvětlení těsným svazkem paprsků, ze kterého se stane světelný kužel, který označujeme po jeho objeviteli Tyndallův. Princip tohoto jevu se zakládá na indukci elektrického dipólu v částici způsobeného elektromagnetickým polem dopadajícího záření. Indukovaný

dipól vysílá záření o vlnové délce dopadajícího záření. Současně také u odraženého paprsku dochází k částečné polarizaci. Úbytek intenzity dopadajícího záření způsobené rozptylem světla popisuje analogie Lambert-Beerova zákona (5):

$$-\log \frac{I}{I_0} = \tau d \quad (5)$$

$I$  je intenzita procházejícího světla a  $I_0$  je intenzita dopadajícího světla,  $\tau$  je zde turbidita soustavy,  $d$  je tloušťka kyvety. Turbidita je stupněm úhrnné energie, která se po průchodu světelným paprskem suspendující vrstvou o dané tloušťce rozšíří všemi směry od vstupujícího paprsku. Velikost turbidity závisí na vlnové délce, stupni disperzity, a optických vlastnostech disperzní soustavy. Turbidita (6) u malých částic je přímo úměrná

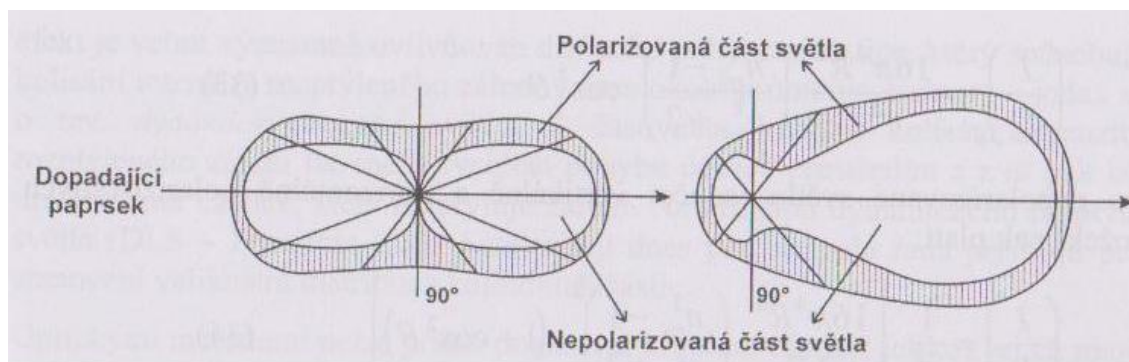
Rayleighovu poměru:

$$\tau = \frac{16\pi}{3} \cdot R_\theta \quad (6)$$

$\tau$  je zde turbidita soustavy,  $R_\theta$  je Rayleighův poměr. Rayleigh v roce 1871 popsal rozptyl záření. Tento popis je však omezen pouze na přijatelně malé izotropní kulové částice, u kterých nedochází k absorpci světla a mají od sebe dostatečnou vzdálenost. Tato úvaha vede ke vztahu pro intenzitu rozptýleného záření vertikálně polarizované složky světla (7), která je nepřímo úměrná  $\lambda^4$  a přímo úměrná polarizabilitě částice  $\alpha$ :

$$\left( \frac{I}{I_0} \right)_v = \frac{16\pi^4}{r^2 \lambda^4} \left( -\frac{\alpha}{4\pi\epsilon_0} \right)^2 \quad (7)$$

Kde  $I$  je intenzita procházejícího světla a  $I_0$  je intenzita dopadajícího světla,  $r$  je zde vzdálenost od detektoru,  $\epsilon_0$  je permitivita vakua a  $\lambda$  je vlnová délka rozptýleného a primárního záření. Z rovnice je zřejmé, že rozptyl záření s klesající vlnovou délkou roste. Rozptyl záření lze také zobrazit pomocí Mieových diagramů, u kterých se intenzita polarizovaného a nepolarizovaného světla vynáší pomocí radius vektorů mířících všemi směry od bodu, který znázorňuje částici (Obrázek č. 1).



Obrázek č. 1: Mieovy diagramy pro rozptyl světla [19]

Z obrázku je patrné, že u malých částic je intenzita rozptýleného záření nejmenší pod úhlem  $90^\circ$  a ve směru a proti směru dopadajícího paprsku je největší. U větších částic je pro úhly větší než  $90^\circ$  intenzita rozptýleného nejmenší.

Při měření rozptylu zjistíme také informace o velikosti a koncentraci částic. Při nahrazení klasického zdroje světla (výbojka či žárovka) laserem (zdroj koherentního záření), v jistém směru nastává interference rozptýleného záření, která zesiluje intenzitu rozptýleného záření. Díky interferenci pak dojde k zesílení intenzity rozptýleného záření. Tento jev tzv. dynamický rozptyl světla (DLS – Dynamic Light Scattering) je zřetelně ovlivňován Brownovým pohybem částic, ten současně zapříčiňuje fluktuaci intenzity kolem průměrné hodnoty. Díky časovému postupu kolísající intenzity zjistíme rychlost pohybující se částice, ze které se stanoví rozměr částice rozptylující záření. Mnoho přístrojů určující velikostní distribuci koloidních částic pracuje s mechanismem DLS. [19, 22, 24]

### 3.4.2 Absorpce záření

Je-li záření absorbováno hmotou, dochází k pohlcení elektromagnetického záření, což vede ke změně energetických stavů u vazebných a valenčních elektronů. Absorpce tedy zvyšuje vnitřní energii molekul, která se mění v tepelnou energii. Lamert- Beerův zákon (8) popisuje adsorpci světla látkou:

$$A = \log \frac{I}{I_0} = \epsilon cd \quad (8)$$

$I$  je zde intenzita prošlého  $I_0$  dopadajícího světla na látku,  $\epsilon$  je molární absorpční koeficient,  $c$  je koncentrace látky a  $d$  je tloušťka vrstvy, kterou látka prochází. [18]

### 3.5 *Elektrické vlastnosti koloidních soustav*

Typickým znakem koloidních soustav je elektrický náboj na povrchu dispergované fáze. Tento náboj je zodpovědný za migraci koloidních částic v elektrickém poli. Vlastnosti elektricky nabitých částic disperzní fáze, které se pohybují vůči disperznímu prostředí, označujeme jako elektrokinetické jevy. Mezi tyto jevy se řadí elektroforéza, elektroosmóza, sedimentační potenciál a potenciál proudění. Vznik elektrokinetických jevu je podmíněn přítomností rozvinutého fázového rozhraní disperzních soustav a částic disperzní fáze. Tyto jevy vyvolává elektrický náboj na fázovém rozhraní mezi disperzní fází a disperzním prostředím, což vede k uspořádání opačných nábojů a to vede ke vzniku elektrické dvojvrstvy. Chování soustavy při adsorpci elektrolytů souvisí s charakterem coulombovských (elektrostatických) sil, působících do značných vzdáleností oproti van der Waalovým interakcím molekul. To způsobuje velkou „rozmazanost“ mezifázových vrstev, tvořených ionty a díky tomu nabývá fázové rozhraní výrazné tloušťky. [19, 23]

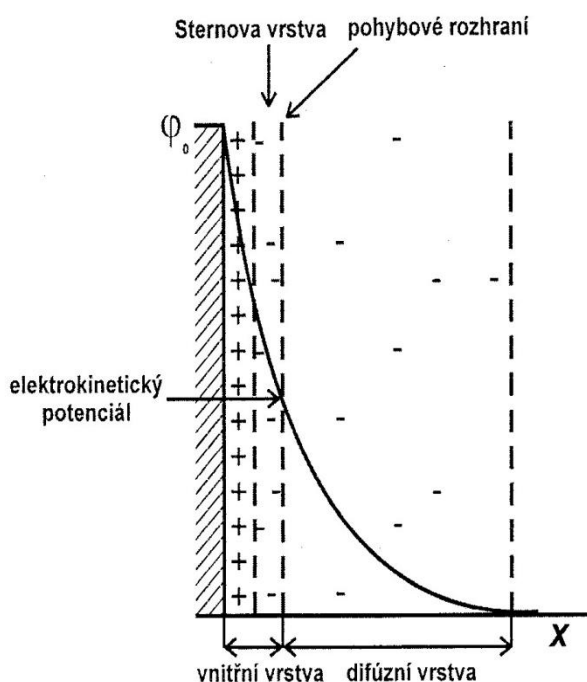
#### 3.5.1 **Elektrická dvojvrstva**

Gradient elektrického napětí vzniká na rozhraní mezi roztokem elektrolytu a pevné fáze. Vyvolává ho nepravidelné rozmístění kationtů a aniontů ve vrstvě roztoku přilehlé na povrch pevné fáze. Účinky elektrické dvojvrstvy se projeví u soustav s velkým povrchem při současném pohybu pevné a kapalné fáze. [19, 23]

##### 3.5.1.1 **Modely elektrické dvojvrstvy**

Elektrický náboj vzniká na povrchu částic dvěma způsoby, prvním je ionizace funkčních skupin povrchových molekul a druhým je adsorpce iontů disperzního prostředí. Povrch nabitě částice k sobě přitahuje náboj s opačným znaménkem. Tím dojde k vytvoření elektrické dvojvrstvy. Základní teorii uspořádání popsal Helmholtz, využil podobnosti s deskovým kondenzátorem, kde jsou od sebe desky oddělené mezivrstvou disperzního prostředí o efektivní tloušťce. Jednu desku tvoří ionty fixované na povrchu a druhou desku tvoří protionty obsažené v prostředí, náboje tvořící vrstvy se zde zcela vykompenzují. Tuto představu, která neodpovídala skutečnosti, později doplnili Gouy, Chapman a Stern, podle jejich teorie ionty na povrchu částice nemohou vázat určité množství protiontů z protivrstvy, kvůli jejich pohybu způsobeného difuzí a rozptylují se do celého objemu kapalné fáze. Ke kompaktní (vnitřní) vrstvě iontů určující povrchový náboj částic je poután ekvivalentní počet protiontů a k difuzní

(vnější) vrstvě je poutána zbývající část opačně nabitých iontů. Tato teorie bohužel také selhávala, protože autoři nepočítali se skutečnými rozměry iontů. Novou teorii, která zahrnovala specifické neelektrické interakce iontů a jejich konečné rozměry, vypracoval Stern. Sternovu vrstvu (Obrázek č. 2), což je k povrchu úzce přiléhající vrstva protiontů, tvoří ionty vázané adsorpčními silami, která společně s ionty poutanými na povrchu částice tvoří kompaktní vrstvu. Kompaktní vrstva iontů se s částicí elektrickou dvojvrstvou pohybuje, zatím co difuzní vrstva se nehýbe. Rozhraní, které odděluje tyto části elektrické dvojvrstvy je označováno jako pohyblivé. Za interakce s vnějším elektrickým polem způsobující elektrokinetické jevy je zodpovědný elektrokinetický (zeta) potenciál. Ten závisí na teplotě soustavy, rychlosti relativního pohybu částic prostředím, druhu dispersumu a koncentraci. O jeho znaménku pak rozhoduje specifická adsorpce iontů. Zeta potenciál je nerovnovážná veličina, uplatňující se u dějů v disperzní soustavě. [19, 20, 22, 23, 25]



Obrázek č. 2: Sternův model elektrické dvojvrstvy [19]

### 3.5.1.2 Elektrokinetické jevy

Příčinou elektrokinetických jevů je rozložení nábojů v elektrické dvojvrstvě. Tyto jevy se rozdělují do dvou hlavních skupin. V první skupině pohyb fází způsobuje vnější elektrické pole a v druhém případě pohyb způsobuje vnější mechanická síla. Mezi hlavní elektrokinetické jevy se řadí elektroforéza, elektroosmóza, sedimentační

potenciál a potenciál proudění. Elektroforéza je z těchto jevů nejvýznamnější, částice, které mají nenulový povrch, se v závislosti na znaménku náboje a díky vnějšímu poli pohybují ke kladné či záporné elektrodě. Tvoří-li disperzní prostředí nepohyblivá tuhá fáze, dojde díky vnějšímu elektrickému poli k pohybu u kapalně fáze, tomu jevu je říká elektroosmóza. Opačným jevem k elektroosmóze je potenciál proudění. Jedná se o protlačování kapaliny kapilárou pomocí mechanických sil. Sedimentační potenciál je opačný jev elektroforézy a vytváří se při sedimentaci částic díky gravitaci. [19, 20, 23]

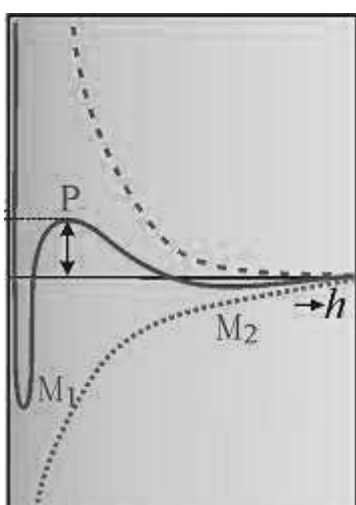
### 3.6 *Stabilita koloidních soustav*

Koloidní soustavy mají v důsledku velkého povrchu částic disperzní fáze nadbytek povrchové energie a díky tomu jsou termodynamicky nestálé. Nacházejí se v tzv. metastabilním stavu, což je stav se zvýšenou energií. Soustavy se také mohou nacházet ve stavu s nízkou povrchovou energií, musí však překonat energetickou bariéru. Energie nutná k překonání bariéry se nazývá aktivační. Pokud soustava není nějakým vhodným způsobem stabilizována, dochází v ní k procesům, které snižují stupeň disperzity, což vede k destrukci soustavy. Stabilitu soustavy tedy ovlivníme dostatečně velkou bariérou, která zabrání spojování částic a tím nedojde k poklesu energie soustavy. Stabilita je pojem, který popisuje schopnost soustavy bránit se průběhu dějů, změnám její struktury, stupně disperzity či změně rozdělení částic dle rozměrů. V systému probíhají pochody, které nevedou k viditelným změnám a označují se stárnutí. U disperzních soustav N. P. Peskov navrhl rozdělení na sedimentační a agregátní stabilitu. Agregátní stabilita je popisována jako schopnost soustavy bránit se procesům vedoucím k poklesu Helmholtzovy energie na rozhraní disperzního prostředí a fáze. Sedimentační stabilita je popisována jako stálost soustavy vůči poklesu potenciální energie částic disperzní fáze při sedimentaci způsobenou gravitací. Mezi částicemi disperzní soustavy se uplatňují přitažlivé a odpudivé interakce. Křivka integrační energie je výsledkem zkoumání těchto sil (Obrázek č. 3). Na křivce se nacházejí body jako H, což je vzdálenost částic, a M1 je první minimum, v tomto bodě se koloidní částice spojují díky slabým přitažlivým silám a do koloidní formy je již zpět nelze převést. Toto spojení se označuje koagulace a vytvořený útvar koagulát. Dosáhne-li křivka maxima P je soustava stabilní, a toto maximum současně odpovídá bariéře zabraňující spojování částic. Na křivce se může vyskytnout sekundární minimum M2, kdy vlivem flokulace vznikají flokuláty, částice jsou poutány slabými silami a je možné je převést zpět do koloidní formy. Pojem agregace je souhrnný název pro koagulaci a

flokulaci částic a vzniklé útvary se označují jako agregáty. Van der Waalsovy interakce vyvolávají přitažlivé síly mezi molekulami, ty s šestou mocninou vzdálenosti částic klesají. Bornovy repulze vyvolávají odpudivé interakce a ty s dvanáctou mocninou vzdálenosti částic klesají. Z toho je zřejmé, že přitažlivé síly mají silnější dosah než síly odpudivé. Coulombův zákon (9) popisuje elektrostatické odpuzování dvou částic, které nesou elektrický náboj.

$$F = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \cdot \frac{q_1q_2}{r^2} \quad (9)$$

$\epsilon_0$  je permitivita vakua,  $\epsilon_r$  je permitivita prostředí a  $r$  je vzdálenost mezi částicemi.



Obrázek č. 3: Křivka integrační energie [22]

Koloidní soustavy se také stabilizují pomocí lyofilních koloidů, které se označují jako ochranné, což je například želatina či polymery. Přidáním těchto látek se na povrchu částic vytvoří silná adsorpční vrstva, která zabraňuje agregaci. Tento druh stabilizace se označuje jako stérická stabilizace. Další možností je stabilizace pomocí povrchově aktivních látek, ty mohou způsobit zvýšení nábojové či stérické bariéry.

Soustava se stabilizuje také pomocí elektrické dvojvrstvy, která se vytvoří kolem částic. Pohybující částice na ní ponechávají část protiontů vnější difuzní vrstvy, a díky tomu se částice zdají elektricky nabitě. Částice shodné látky ve shodném disperzním prostředí mají náboj se shodným znaménkem, a díky tomu se při srážce dvou částic uplatní odpudivé síly a nedojde k agregaci. Takto stabilizovanou soustavu může ovlivnit řada faktorů, např. přidáním elektrolytu dojde ke snížení zeta potenciálu, ztenčení dvojvrstvy a někdy k úplné destabilizaci soustavy. Stabilizaci soustavy také ovlivníme teplotou a koncentrací disperzního systému.



Derjagin a Landau vypracovali teorii elektrostatického stabilizačního faktoru, kterou později nezávisle na nich vypracovali i nizozemští vědci Verwey a Overbeek, a je označována počátečními písmeny těchto autorů DVLO. Teorie je ustavena na pozorování odpuzivých elektrostatických sil nabitých disperzních částic a přitažlivých mezimolekulových interakcí. Je to tedy popis koagulace disperzních částic vlivem elektrolytů. Teorie DVLO vyjadřuje závislost mezi vzdáleností nabitých povrchů  $h$  a energií související s překryvem elektrických dvojevrstev. Podle teorie přidávek elektrolytu do elektrostaticky stabilizované soustavy způsobuje pokles hodnoty zeta potenciálu a současně kompresi elektrické dvojevrstvy, která tvoří energetickou bariéru zabráňující destabilizaci systému. Ke srážení částic tedy dojde pouze po překročení koagulačního prahu, což je nejmenší koncentrace elektrolytu nutná k vyvolání koagulace. Koagulační práh závisí na koncentraci elektrolytu, poloměru a náboji protiiontu. DVLO popisuje dva druhy koagulace. Jedním je neutralizační koagulace závislé na adsorpčních jevech. Tato teorie byla popsána Derjaginem a díky ní je možné zjistit kritickou hodnotu elektrického potenciálu (10), při kterém dojde k odstranění energetické bariéry.

$$\varphi_{krit} = \sqrt{\frac{CA}{4\pi\epsilon}} h \quad (10)$$

$C$  je konstanta,  $A$  konstanta přitažlivosti mezi částicemi,  $\epsilon$  je permitivita roztoku a  $h$  je tloušťka difuzní vrstvy elektrické dvojevrstvy. Koncentrační koagulaci způsobuje stlačení elektrické dvojevrstvy. [19, 22, 23, 25]

### 3.7 **Příprava koloidních soustav**

Koloidní soustavy se připravují dvěma způsoby. Jednou z možností je příprava z látky makroskopických rozměrů dispergací, díky mechanickému či vibračnímu rozmělnění (např. ultrazvukem). Opakem je druhá možnost, kdy z analytických disperzí připravujeme koloidní soustavy pomocí chemických reakcí či změnou rozpouštědla. [19, 22]

#### 3.7.1 **Metody dispergační**

Jelikož dispergace neprobíhá samovolně, je na přípravu koloidních soustav potřebná práce. Při fyzikálních postupech je tato práce označována jako mechanická, k přípravě se využívají mlýny či ultrazvuk. Avšak novější metodou přípravy je použití paprsku elektromagnetického záření (laserová ablace) na vhodný materiál.

Mletí, při kterém se využívá kulových mlýnů, se považuje za typickou dispergační metodu. Vysokého stupně disperzity je ale možné dosáhnout pouze po přidání pomocných látek. Další nevýhodou je kontaminace roztoku materiálem z vnitřní části mlýnku, která vzniká při rozměňování otěrem, což může negativně ovlivnit vlastnosti připravovaných nanočástic.

K přípravě koloidních roztoků se využívá také rozměňování pomocí ultrazvuku. Využívá se ultrazvuku s frekvencí nad 20 kHz, který v látce vyvolá periodické stlačování a expanzi. Což u málo pevných látek může vytvořit trhliny a následně může dojít k rozpadu na částice koloidních rozměrů.

Mezi dispergační metody se řadí i ty, které využívají elektrického proudu. Principem elektrického rozprašování je odtrhávání částic z elektrod vlivem elektrického oblouku vznikajícího mezi elektrodami. Zároveň však dochází k odpařování materiálu z povrchu elektrody a následně ke kondenzaci. Tato metoda je tedy spojením metod kondenzačních a dispergačních. Elektrického rozprašování lze využít pouze pro vodivé materiály.

Podobně jako u elektrického rozprašování dochází i u této metody k současnému odpaření materiálu a následně ke kondenzaci. Tato metoda je označována jako laserová ablace, využívá laserový paprsek s velmi vysokou energií, kterým působí na povrch pevné fáze, kde dochází k lokálnímu přehřátí a vzniká velký tlak, který odtrhává z povrchu koloidní částice.

Využívá se také peptizace, díky níž lze převést sraženinu vzniklou koagulací zpět do koloidní formy. Mnohdy postačí pouhé promytí sraženiny vodou, dojde k odstranění elektrolytu způsobujícího koagulaci. Pokud nepostačuje promývání vodou, přidává se peptizátor, což je látka absorbující se na povrchu částic a tím dochází ke stabilizaci koloidní soustavy. [19]

### **3.7.2 Metody kondenzační**

Pomocí kondenzačních metod lze připravit vysoce dispergované a poměrně monodisperzní koloidní soustavy. Kondenzačních metod přípravy se dá dosáhnout buď fyzikálními metodami či chemickými reakcemi.

U fyzikálních kondenzačních postupů je ke vzniku koloidních částic nutná změna rozpustnosti látek, čehož se dosáhne změnou rozpouštědla, v němž má daná látka nízkou rozpustnost.

Podstatně využívanější jsou chemické postupy, ty totiž umožňují přípravu většího počtu koloidních soustav s různým chemickým složením. Vhodnou chemickou reakcí lze z původně rozpustné látky vytvořit látku, která je v daném prostředí nerozpustná.

Srážecími reakcemi je například možné připravovat halogenidy kovů. Smísením dusičnanu stříbrného a jodidu draselného je možné připravit částice jodid stříbrný koloidních rozměrů, které mají kladný i záporný povrchový náboj, o čemž rozhoduje nadbytek jedné z reakčních komponent.

Oxidačně-redukčními reakcemi se připravují koloidní částice kovů (redukční děje) a nekovů (oxidační děje). Například koloidní částice zlata se připravují redukcí zlatité soli formaldehydem. Částice stříbra se připravují redukcí stříbrné soli vodíkem či železnatými ionty. Koloidní síra se připravuje redukcí sirovodíku kyslíkem. [19]

## 4 Kolloidní stříbro

Studium a příprava nanočástic kovů je velmi důležitá nejenom kvůli technologickému hledisku. Všechny jedinečné vlastnosti se odvíjí od velikosti nanočástic. Díky tomu jsou nanočástice velmi využívané v různých oblastech, například jako biosenzory, v povrchově zesílené spektroskopii či do elektro-optických součástek. [27]

### 4.1 Přípravy kolloidního stříbra

K přípravě kolloidního stříbra se využívají vybrané dispergační či kondenzační metody. Dispergace v elektrickém oblouku a laserová ablace jsou nejvhodnější z dispergačních metod. Častěji jsou však využívány kondenzační metody, které jsou časově i materiálně méně náročné a různými obměnami lze připravit nanočástice o požadované velikosti. Nejpoužívanější kondenzační metoda k přípravě nanočástic stříbra je chemická redukce. Nejčastěji se jako redukční činidlo používá tetrahydridoboritan sodný. [43]

Nanočástice stříbra lze připravit přes halogenidy obměnou Tollensova procesu. Zpočátku dojde k přípravě amoniakálního komplexu stříbra, pomocí hydroxidu sodného se upraví jeho pH, a potom se do redukčního systému přidá jodid či bromid sodný společně s redukujícím sacharidem. Z experimentálně získaných dat vyplývá, že při použití bromidového aniontu vznikají menší částice než za použití iontového aniontu. [44]

Možná metoda přípravy bromidu stříbrného využívá reakce dusičnanu stříbrného s povrchově aktivní látkou cetyltrimethylamonium bromidem (CTAB), který systému dodává bromidový aniont. V systému dojde k vytvoření komplexní sloučeniny (CTABS), a následně za dodání dostatečně vysoké teploty dojde k vytvoření nanočástic bromidu stříbrného. Z experimentů vyplývá, že teplota nutná k tvorbě nanočástic je kolem 80°C. [45]

K přípravě chloridu stříbrného se využívají hedvábná vlákna jako tzv. nosiče, na nichž dochází k tvorbě a růstu nanokrystalů. Příprava spočívá v ponořování hedvábných vláken nejméně na jednu minutu do dusičnanu stříbrného a poté do roztoku chloridu sodného, což se desetkrát opakuje. Po každém cyklu je nutné promytí v destilované vodě. Následně pak dojde ke vzniku krychlových nanokrystalů s velikostí desítek nanometrů. [46]

Je možné připravit také jodidy stříbra, ty se připravují reakcí jodidu draselného s dusičnanem stříbrným v přítomnosti polyelektrolytů PAS (sodná sůl kyseliny polyakrylové), PSS [poly(4-styrensulfonyl sodný)], PDADMAC [poly(diallyldimethylamonim chlorid)]. Nanočástice připravené s použitím těchto polymerů mají následné velikosti 100 nm (PAS), 50 nm (PSS), 300 nm (PDADMAC). [47]

## 4.2 *Vlastnosti a použití koloidního stříbra*

Koloidní stříbro díky svým specifickým vlastnostem nachází široké uplatnění v mnoha odvětvích, např. v biologii, farmacii, optometrii a medicíně. Uplatnění nachází také v textilním průmyslu při výrobě ponožek, triček a funkčního prádla, a kosmetickém průmyslu na výrobu zubních kartáčků, pleťových vod, krémů a deodorantů. Těchto vlastností se také využívá při úpravě vod. Optické vlastnosti se nejčastěji využívají při výrobě biosenzorů a v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii. Jeho fyzikální vlastnosti se uplatňují v katalyzátorech. V současné době je předmětem intenzivního zkoumání antimikrobiální vlastnost koloidního stříbra, které se využívá jako přírodní antibiotikum.

### 4.2.1 **Katalytické účinky nanočástic stříbra**

Kovové nanočástice mají díky svému velkému povrchu uplatnění v oblasti heterogenní katalýzy. Tyto nanočástice se běžně používají jako redukční katalyzátory, pouze okrajově jako katalyzátory oxidační. Výjimkou je však koloidní stříbro, které se více používá jako katalyzátor oxidace, například u přípravy etylenoxidu z etylenu. Pro tuto přípravu byla zjištěna nová metoda, která využívá polyvinylpyrolidonu (PVP) jako stabilizátoru při redukci chloristanu stříbrného ethanolem. Koloidy připravené touto metodou mají průměrnou velikost okolo 3 nm a oproti komerčním koloidům mají větší katalytickou účinnost. Katalytických účinků nanočástic stříbra se také využívá při rozkladu chlorovaných derivátů a fenolických sloučenin, a také napomáhají při snižování emisí oxidu uhelnatého a oxidu dusnatého ve výfukových plynech u automobilů. [27, 32, 33, 34]

### 4.2.2 **Použití v senzorech**

U nanočástic kovů je díky jejich optickým vlastnostem charakteristický absorpční pás, který nemůžeme sledovat u kovů větších rozměrů. Při výrobě vysoce citlivých senzorů se využívá jev, který se nazývá povrchová plazmová rezonance. Jedná

se o kmitání elektronů ve valenční vrstvě částic, které způsobuje elektromagnetické záření. Tvar a poloha absorpčního pásu je ovlivněna velikostí a tvarem dané částice, vlnovou délkou dopadajícího záření, indexem lomu a také dielektrickými vlastnostmi okolí částice. Díky těmto vlastnostem je možné sestrojení senzoru s navázanými nanočásticemi, které reagují změnou tvaru absorpčního maxima či posunem na každou chemickou změnu okolí. Pomocí takto sestrojených biosenzorů se dají provádět imunologické testy, a také umožňují detekovat patogenní mikroorganismy. [27, 34, 35]

#### **4.2.3 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) a povrchem zesílená rezonanční Ramanova spektroskopie (SERRS)**

Přesná znalost složení analytu a detekce látek s velmi nízkou koncentrací je potřebná ve spoustě průmyslových odvětví. Z tohoto důvodu se vyvíjí extrémně citlivé metody, jako jsou povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) a povrchem zesílená rezonanční Ramanova spektroskopie, které umožňují detekci i spotového množství látky. Citlivost metody potvrzuje i detekční limit, který řádově leží v pikomolárních a femtomolárních koncentracích. Principem metody je adsorpce molekul na povrchu koloidních částic či na hrubém kovovém povrchu a tím dojde k růstu intenzity Ramanova rozptylu. Zatím však není zcela znám přesný mechanismus zesílení Ramanova signálu, přibližně ho je možné rozdělit na dva příspěvky, elektromagnetický a chemický. Principem chemického faktoru je výměna náboje mezi povrchem kovu a adsorbovanými molekulami. Elektromagnetický příspěvek odpovídá za povrchové zesílení Ramanova signálu díky extrémnímu zesílení elektromagnetického pole poblíž částice, které je způsobeno povrchovým plazmonem nanočástic. Zesilují-li oba tyto příspěvky, jedná se o povrchem zesílenou Ramanovu spektroskopii (SERRS), tato metoda může zesílit signál až  $10^7$  krát. Bylo prokázáno, že v oblasti viditelného světla je vhodné použít ušlechtilé materiály, a jako nejvhodnější bylo zvoleno stříbro. [27, 32, 34, 36]

#### **4.2.4 Antibakteriální aktivita**

Již v dobách antického Řecka a Říma bylo stříbro známé díky svým antimikrobiálním vlastnostem. Vyráběly se z něj stříbrné nádoby, které zajišťovaly delší životnost a nezávadnost tekutin. Panovníci konzumací potravin ze stříbrného nádobí posilovali své zdraví. Dusičnan stříbrný v krystalické formě tzv. pekelný kamínek byl používán k léčbě bradavic. Později ve středověku se mleté stříbro užívalo jako prevence proti infekcím. Pro tělo je stříbro v této makroskopické formě těžce stravitelné. Po užití

dochází k pálení v zažívacím ústrojí, což vede až k průjmu. Stříbrné ionty bývají také toxické a mohou srážet bílkoviny. Při dlouhodobém užívání se stříbro ukládá v orgánech a může dojít k chronické otravě stříbrem, tzv. argyrii. Ta se projevuje šedým až modročerným zbarvením sliznic, spojivek či kůže. Pravidelný přísun malého množství stříbra může vést k odbourávání železa, což vede k anémii. Bylo zjištěno, že dávka 2 g může vést k úmrtí. Díky těmto poznatkům se stříbro v makroskopické formě přestalo používat. Později se stříbro začalo užívat ve formě koloidních roztoků, které má při stejném povrchu několikanásobně menší koncentraci než makroskopické stříbro. Objev antibiotik, který byl prováděn sirem A. Flemingem na počátku dvacátého století zpomalil výzkum antibakteriálních vlastností stříbra. Výroba antibiotik byla totiž levnější, k léčbě bylo potřebné menší množství a ve formě tablet bylo možno antibiotika lépe dávkovat. V současné době se díky hojnému používání projevuje rezistenci (odolnost) mikroorganismů na léčbu antibiotiky, účinná látka nepomáhá a potíže přetrvávají. Díky tomu se opět využívá koloidní stříbro, na něj si totiž bakterie nemohou vytvořit resistenci a také je mnohem účinnější než antibiotika, protože ničí větší množství bakterií, plísni a virů. [26, 27]

Antifugální aktivita nanočástic stříbra připravených Tollensovým postupem byla testována na patogenní bakterii *Candida spp.* Studie prokázala, že nanočástice stříbra vykazují vysokou antifungální aktivitu proti tomuto patogenu již při koncentracích okolo 1 mg/l Ag. Antifugální aktivita nanočástic stříbra je shodná s aktivitou iontového stříbra, avšak nanočástice vykazují menší cytotoxický účinek než iontové stříbro. Z této studie vyplývá, že stříbrné nanočástice představují účinné antimikrobiální činidlo proti patogenním mikroorganismům. [28]

Antibakteriálního účinku se také využívá při léčbě popálenin, při operaci protéz a katétrů, stříbro zabrání vzniku infekce. Nanočástice stříbra či zlata se také přidávají do obvazových či krycích materiálů. [3, 26]

Zatím není zcela znám přesný mechanismus účinku nanočástic stříbra (a jiných ušlechtilých kovů jako je např. zlato). Nejčastějším vysvětlením jak koloidy působí na mikroorganismy je, že nanočástice stříbra atakuje povrch buněčné membrány, tím naruší její propustnost a zabrání dýchání. [29]

Bylo zjištěno, že antibakteriální aktivitu ovlivňuje velikost částic. Největší antibakteriální účinek vykazují částice s menším rozměrem (např. 25 nm), předpokládá se, že takto malé částice mohou vnikat dovnitř bakterie a působit zde destruktivně vůči mikroorganismu. Naopak menší účinek vykazují větší částice (např. 50 nm). Pokles

účinku zřejmě souvisí s klesající plochou, to vede ke snížení efektivního povrchu, který přichází do styku s bakteriemi. Částice o velikosti 25 nm připravené Tollensovou metodou, kdy redukčním činidlem byla maltosa, měly největší antibakteriální účinek. Testy antibakteriální aktivity byly prováděny na G-pozitivních a G-negativních bakteriích, které zahrnovaly i multirezistentní kmeny, což je např. *Staphylococcus aureus*. Avšak antibakteriální aktivita iontového stříbra je mírně vyšší než aktivita částice 25 nm. [29, 30, 42]

V nedávné době bylo prokázáno, že antibakteriální aktivitu nanočástic stříbra ovlivňuje také tvar částice. Např. částice ve tvaru trojúhelníku vykazovaly inhibiční vlastnosti na bakteriální růst již při obsahu 1 µg stříbra, avšak částice ve tvaru koule až při obsahu 12,5 µg stříbra a částice, jejichž tvar se podobá tyčince vykazovaly inhibici bakteriálního růstu až od 50 do 100 µg obsahu stříbra. [41]

Nanočástice stříbra se díky svým vlastnostem využívají k přípravě nanokompozitů s antibakteriálními účinky. Příprava těchto materiálů spočívá v adsorpci stříbrných nanočástic z roztoku na materiál s uhlíkovou bází jako je např. aktivní uhlí. Tyto materiály byly oxidovány pomocí kyseliny dusičné a posléze modifikovány pomocí polyethyleniminu. Nanokompozitní materiály vykazují větší antibakteriální aktivitu, než iontové stříbro a volně se pohybující nanočástice. [31]



## 5 Chemie málo rozpustných sloučenin

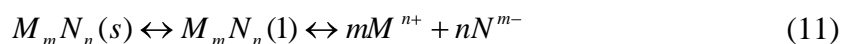
Málo rozpustné sloučeniny vznikají přeměnou rozpustných látek při srážecích reakcích a v roztoku se vylučují v tuhé fázi označované pojmem sraženina. Tyto reakce se využívají například k oddělování částí analyzované směsi před stanovením složky ve sraženině. Vlastnosti sraženiny ovlivňuje chemické složení reakční směsi a málo rozpustné látky. Při těchto reakcích je velmi důležité kvantitativní vyloučení složky z roztoku, sleduje se rozpustnost sraženiny, čistota, zbarvení, stálost a filtrovatelnost. Rozpustnost organických či anorganických sloučenin zpravidla vzrůstá díky stoupající teplotě, a ovlivňuje ji také iontová síla, pH a komplexotvorné látky. Jelikož se jedná o povrchový jev, tak rychlost rozpouštění ovlivňuje také velikost rozpouštěných částic. Jemnozrnné sraženiny se rozpouštějí rychleji než hrubozrnné sraženiny. [37, 38, 39, 48]

Málo rozpustné sloučeniny vznikají například při srážení dusičnanu stříbrného s halogenidovými anionty. Při srážení dusičnanu stříbrného s chloridovým aniontem vzniká bílá sraženina chloridu stříbrného, která je nerozpustná ve vodě a ve zředěných kyselinách. Při srážení dusičnanu stříbrného s bromidovým aniontem vzniká žlutavá sraženina bromidu stříbrného, která je opět nerozpustná ve vodě a ve zředěných kyselinách. Při srážení s jodidem vzniká žlutý jodid stříbrný, ten je těžko rozpustný ve vodě a nerozpustný v kyselině dusičné a amoniaku.

Málo rozpustné sloučeniny vznikají také při srážení dusičnanu stříbrného s dalšími anionty. Například při srážení s rhodamidovými anionty vzniká bílý rhodamid stříbrný, který je nerozpustný ve zředěné kyselině dusičné. Při srážení s koncentrovaným roztokem síranu vzniká bílá krystalická sraženina. Srážením s uhličitanovými anionty dojde ke vzniku bílé sraženiny, která bývá zbarvena stopami hnědého oxidu stříbrného. Při srážení dusičnanu stříbrného a sulfidového aniontu dojde ke vzniku černé sraženiny. Při srážení dusičnanu stříbrného s hydroxidovým aniontem vzniká bílá sraženina, která se zbarvuje do hněda kvůli oxidu stříbrnému. [48]

### 5.1 *Součin rozpustnosti*

Mezi pevnou látkou a jejím nasyceným roztokem se ustanovuje rozpouštěcí rovnováha (11)



Rozpouštíme-li silné elektrolyty v polárním rozpouštědle (např. ve vodě) jsou v rovnováze s pevnou fází přímo ionty v roztoku, naopak v nepolárním rozpouštědle je

rovnováha mezi nedisociovanými molekulami a pevnou fází. Rovnováhu vyjadřuje rovnovážná konstanta (12)

$$K = \frac{(a_{M^{n+}})^m (a_{N^{m-}})^n}{a_{(M_m N_n)}} \quad (12)$$

Zahrnutím jednotkových aktivit tuhé fáze do konstanty, se získá jednodušší vztah (13)

$$K_{s, a} = (a_{M^{n+}})^m (a_{N^{m-}})^n \quad (13)$$

kde  $K_{s, a}$  označuje součin rozpustnosti, a označuje aktivitu iontů.

U velmi málo rozpustných elektrolytů nahrazením aktivit iontů  $M^{n+}$  a  $N^{m-}$  jejich rovnovážnými koncentracemi  $[M^{n+}]$  a  $[N^{m-}]$  získáme nový tvar rovnice součinu rozpustnosti (14).

$$K_{s, c} = [M^{n+}]^m [N^{m-}]^n \quad (14)$$

Z tohoto vztahu je patrné, že sraženina se v roztoku vylučuje pouze, je-li překročena hodnota součinu rozpustnosti. Pokud tato hodnota není překročena, ionty v roztoku zůstávají a nedojde k vytvoření sraženiny. [37, 38]

## 5.2 Výpočet rozpustnosti u čistých málo rozpustných látek

Jedná-li se o saturovaný roztok málo rozpustného elektrolytu  $M_m N_n$ , který ve vodném roztoku disociuje podle rovnice (15)



hodnotu molární rozpustnosti (c), což je počet molů látky, je možné vypočítat z hodnoty součinu rozpustnosti (16)

$$K_{s, c} = [M^{n+}]^m [N^{m-}]^n = (mc)^m (nc)^n \quad (16)$$

Odtud získáme vztah (17), který platí pro čistý elektrolyt bez jiných iontů v roztoku.

$$c = \sqrt[m+n]{\frac{K_{s, c}}{m^m n^n}} \quad (17)$$

K výpočtu se používají hodnoty součinu rozpustnosti při teplotě 25°C. [38]

## 5.3 Galvanický článek

Transformace chemické energie na elektrickou energii je známá již od éry Luigiho Galvaniho (1791), Alessandra Volty (1800) a Humphry Davyho (1802). Prvním impulsem byly Galvaniho pokusy na preparovaných žabích svalech. Fakt, že se mezi dvěma kovovými materiály, propojenými kapalným vodičem, vyvíjí elektrické



## **EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

## 6 Materiál a Metody

### 6.1 Použité chemikálie a biologický materiál

K přípravě málo rozpustných sloučenin stříbra byly použity tyto chemikálie: chlorid draselný – KCl (p. a., Lachema), bromid draselný – KBr (p. a., Lachema), thiokyanatan draselný – KSCN (p. a., Lachema), jodid draselný – KI (p. a., Lachner), hydroxid sodný – NaOH (p. a., Lachner), uhličitan draselný -  $K_2CO_3$  (p. a., Lachner), síran draselný –  $K_2SO_4$  (p. a., Lachema), sulfid sodný –  $Na_2S$  (p. a., Lachema) a dusičnan stříbrný –  $AgNO_3$  (p. a., Fagron), který byl také použit k přípravě koloidního stříbra, koloidní disperze s polyakrilovou kyselinou a také k přípravě referentního roztoku k potenciometrickému měření.

K naplnění solného můstku byl použit dusičnan draselný –  $KNO_3$  (p. a., Lachema).

K přípravě koloidního stříbra byl použit hydroxid sodný - NaOH (p. a., Lachner), D(+)-maltosa monohydrát (Sigma-Aldrich) a amoniak –  $NH_3$  (28-30% vodný roztok, Sigma-Aldrich).

K přípravě koloidní disperze s polyakrylátem sodným byla použita sodná sůl polyakrylové kyseliny (Sigma-Aldrich) a tetrahydridoboritan sodný (p.a., Fagron).

K testování antimikrobní aktivity bylo použito Mueller-Hinton médium (Difco Bedston Dickinson, Francie). K testování antimikrobní aktivity byly použity referentní sbírkové mikrobiální kmeny: *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Escherichia coli* CCM 3954, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 (Česká sbírka mikrorganismů, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně) a kmeny izolované z krve pacientů Fakultní nemocnice v Olomouci (Česká republika): *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* 1, *Staphylococcus epidermidis* 2, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium* (VRE), *Klebsiella pneumoniae* (ESBL).

### 6.2 Použité přístroje a zařízení

Velikost nanočástic stříbrančásteček byla měřena na přístroji Zeta Potential Analyzer Zeta Plus (Brookhaven Instruments Corporation, USA), který pracuje na principu DLS (dynamického rozptylu světla). Velikost částic připravených sloučenin

stříbra byla ověřena na transmisním elektronovém mikroskopu JEM 2010 (Jeol 2010, Japan).

Elektromotorické napětí bylo měřeno na potenciometru PHM 210 Standart P (MeterLab) se stříbrnými elektrodami a solným můstkem, který je naplněn nasyceným roztokem dusičnanu draselného.

### 6.3 *Postup a přípravy*

#### 6.3.1 Příprava málo rozpustných sloučenin stříbra

Příprava málo rozpustných sloučenin AgCl, AgBr, AgI, AgSCN, AgOH, Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Ag<sub>2</sub>S ve formě koloidních disperzí spočívala v provedení srážecí reakce iontů stříbra s vybranými anionty. Do kádinky bylo odpipetováno 5 ml zásobního roztoku 5.10<sup>-3</sup> mol/l AgNO<sub>3</sub> a doplněno destilovanou vodou tak, aby po přidavku aniontu byl konečný objem reakční směsi 25 ml. Poté byl za intenzivního míchání proveden nástřik roztoku příslušného aniontu o takovém objemu, aby byla dosažena zvolená finální koncentrace aniontu v reakční směsi. Málo rozpustné sloučeniny stříbra byly připravovány při pěti různých koncentracích aniontu v reakční směsi: 1.10<sup>-2</sup>, 5.10<sup>-3</sup>, 2,5.10<sup>-3</sup>, 1,25.10<sup>-3</sup> a 1.10<sup>-3</sup> mol/l. Po přípravě sloučenin byla ihned změřena jejich velikost pomocí DLS měření a také elektromotorické napětí článku pro určení rovnovážné koncentrace iontového stříbra v disperzi.

#### **Stanovení rovnovážné koncentrace iontového stříbra v disperzi**

Ihned po přípravě disperzí málo rozpustných sloučenin stříbra byla stanovována rovnovážná koncentrace iontového stříbra uvolňovaného ze sraženiny naředěné destilovanou vodou v poměru 1:1 pomocí měření EMN galvanického článku. Rovnovážná koncentrace iontového stříbra byla touto metodou také ověřována v kultivačním bujónu také v poměru 1:1. Galvanický článek byl sestaven z referenčního elektrolytu AgNO<sub>3</sub> o koncentraci 1.10<sup>-3</sup> mol/l, v němž byla ponořena stříbrná elektroda. Druhým poločlánkem byla disperze málo rozpustné sloučeniny stříbra, v níž byla ponořena druhá stříbrná elektroda. Článek byl vodivě propojen solným můstkem obsahujícím nasycený roztok KNO<sub>3</sub>. Po ustanovení rovnováhy a získání stabilní hodnoty EMN článku (cca po 20 min) byla odečtena hodnota EMN sledovaných sloučenin. Získané hodnoty EMN byly poté vneseny do rovnice lineární regrese z kalibrační křivky, z níž byly určeny rovnovážné koncentrace iontového stříbra.

Kalibrační křivka byla sestavena z hodnot rovnovážné koncentrace iontového stříbra u málo rozpustných sloučenin AgCl, AgBr, AgSCN a AgI. Celková koncentrace stříbra a aniontu při přípravě sloučenin pro kalibraci byla  $10^{-5}$  mol/l, resp.  $10^{-3}$  mol/l. Po přípravě sraženin bylo změřeno EMN a hodnota EMN pak byla vynesena do kalibračního grafu v závislosti na rovnovážné koncentraci iontového stříbra, která byla určena výpočtem. Rovnovážná koncentrace  $\text{Ag}^+$  ( $\text{AgX} \leftrightarrow \text{Ag}^+ + \text{X}^-$ ) se spočítala ze součinu rozpustnosti podle rovnice 18.

$$K_s = [\text{Ag}^+][\text{X}^-] \cdot f_{\text{Ag}^+} \cdot f_{\text{X}^-} \quad (18)$$

$f$  je zde aktivitní koeficient, který zjistíme z rovnice 19

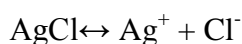
$$-\log f = 0,509 \cdot z^+ \cdot z^- \cdot \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} \quad (19)$$

$I$  je iontová síla, kterou zjistíme z rovnice 20

$$I = 0,5 \cdot \sum c_i z_i^2 \quad (20)$$

Výsledné hodnoty pro  $\text{Ag}^+$  o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l jsou vyneseny do kalibrační křivky (Graf č. 1).

Vzorový výpočet koncentrace  $\text{Ag}^+$  pro AgCl:



Rovnici č. 18 upravíme do tvaru, ze kterého zjistíme koncentraci volného stříbra.

$$[\text{Ag}^+] = \frac{K_s}{[\text{Cl}^-]} \cdot f_{\text{Ag}^+}$$

Víme, že součin rozpustnosti pro AgCl je  $1,78 \cdot 10^{-10}$  a koncentrace  $\text{Cl}^-$  je  $1 \cdot 10^{-2}$  mol/l, aktivitní koeficient vypočítáme z rovnice č. 19, do kterého je potřeba vypočítat hodnotu iontové síly, kterou zjistíme z rovnice č. 20. Po dosazení vypočítáme hodnotu koncentrace volného  $\text{Ag}^+$ . Obdobně postupujeme u ostatních sloučenin.

$$\text{AgCl} \leftrightarrow \text{Ag}^+ + \text{Cl}^- \quad -\log f = 0,509 \cdot z^+ \cdot z^- \cdot \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}}$$

$$K_s = [\text{Ag}^+][\text{Cl}^-] \cdot f_{\text{Ag}^+} \quad f = 1,000585887$$

$$[\text{Ag}^+] = \frac{K_s}{[\text{Cl}^-]} \cdot f_{\text{Ag}^+}$$

$$[\text{Ag}^+] = \frac{1,78 \cdot 10^{-10}}{1 \cdot 10^{-2}} \cdot 1,000585887^2 \quad I = 0,5 \cdot \sum c_i z_i^2$$

$$[Ag^-] = 1,782 \cdot 10^{-8} \text{ mol/l}$$

$$I = 0,5 \cdot [Ag^-]^2 + c_{Cl^-} \cdot [Ag^-]$$

$$I = 0,000505$$

### 6.3.2 Příprava nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra s různou velikostí byly připraveny pomocí dvou různých redukčních metod. Částice s vyšší průměrnou velikostí 28 nm byly připraveny modifikovanou Tollensovou metodou, která spočívá v redukcí diaminstříbrného komplexu sacharidy, v tomto případě maltosou, v zásaditém prostředí. K přípravě koloidní disperze o celkové koncentraci stříbra 108 mg/l byly použity chemikálie o následujících koncentracích: dusičnan stříbrný  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l, amoniak  $5 \cdot 10^{-3}$  mol/l, hydroxid sodný  $9,6 \cdot 10^{-3}$  mol/l a D-maltosa  $1 \cdot 10^{-2}$  mol/l. Reakční systém byl po dobu tří minut od nástřiku redukční látky míchán na magnetické míchačce. Příprava koloidní disperze probíhala za laboratorní teploty.

Částice stříbra s menší průměrnou velikostí 10 nm byly připraveny redukcí dusičnanu stříbrného pomocí silného redukčního činidla  $NaBH_4$  v přítomnosti polymerního stabilizátoru (sodná sůl polyakrylové kyseliny). K přípravě koloidní disperze nanočástic stříbra v objemu 25 ml bylo použito následujících sloučenin: 5 ml dusičnanu stříbrného v 0,1272 g, 0,3 ml 30% amoniaku, 14,4 ml destilované vody, 0,3 ml sodné soli kyseliny polyakrylové s molekulovou hmotností 1200 g/l a 0,01 g tetrahydridoboritanu sodného rozpuštěného v 5 ml vody.

#### Stanovení antimikrobní aktivity

Antimikrobní aktivita byla sledována u všech málo rozpustných sloučenin stříbra připravených při koncentraci stříbra  $10^{-3}$  mol/l (108 mg/l) a  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l aniontu. Rovněž byla posuzována antimikrobní aktivita připravených koloidních částic stříbra. Antimikrobní aktivita byla určována pomocí diluční mikrometody, která spočívá ve stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) testované látky vedoucí k viditelné inhibici růstu testovaného mikroorganismu. Vzorčky málo rozpustných sloučenin stříbra byly ředěny kultivačním bujónem geometrickou řadou v jamkách mikrotitrační destičky, výsledné celkové koncentrace stříbra po naředění v kultivačním bujónu byly následující: 54; 27; 13,5; 6,75; 3,34; 1,69; 0,84 mg/l a to jak v případě sloučenin, tak i v případě koloidních částic stříbra. Kultivace probíhala 24 hod. při 37°C.



## 6.4 Výsledky a diskuse

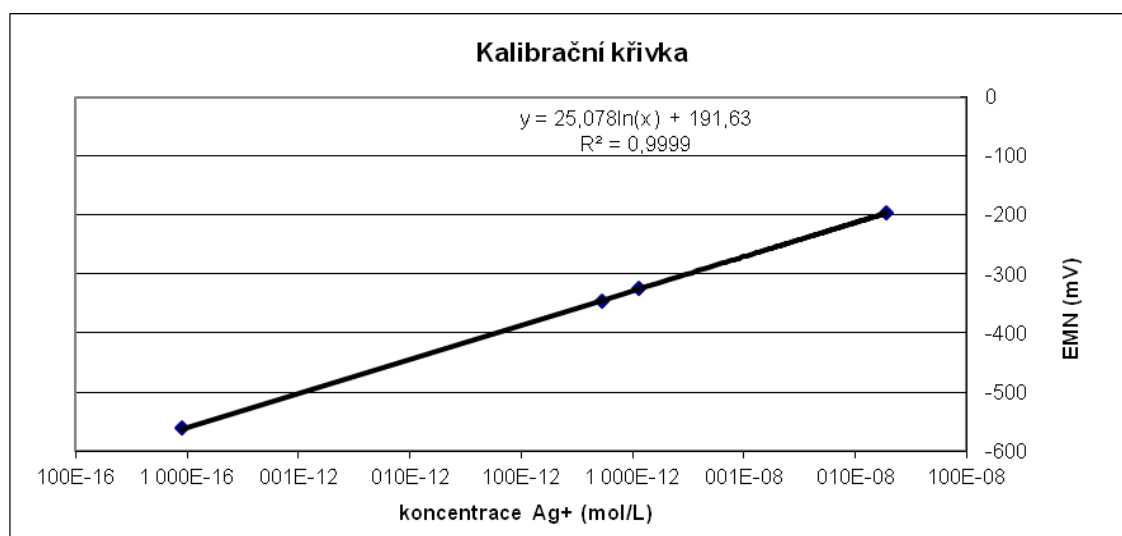
### 6.4.1 Kalibrace

Ze získaných hodnot elektromotorického napětí v závislosti na rovnovážné koncentraci iontového stříbra určené výpočtem byla sestavena kalibrační křivka. V tabulce č. 2 jsou hodnoty EMN získané měřením, součin rozpustnosti daných málo rozpustných sloučenin stříbra a hodnoty rovnovážných koncentrací volného stříbra.

**Tabulka 2:** Vypočítané hodnoty koncentrace volného  $\text{Ag}^+$

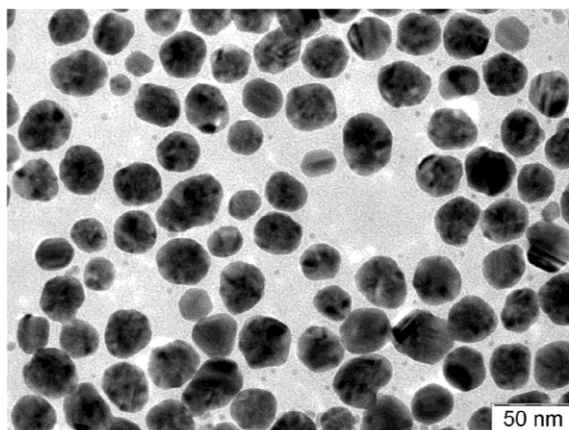
	EMN [mV]	$K_s$	$C_{\text{ag}}$ [mol/l]
AgCl	-195	$1,78 \cdot 10^{-10}$	$1,78 \cdot 10^{-8}$
AgBr	-346	$4,89 \cdot 10^{-13}$	$4,96 \cdot 10^{-11}$
AgI	-561	$8,32 \cdot 10^{-17}$	$8,42 \cdot 10^{-15}$
AgSCN	-325	$1,07 \cdot 10^{-12}$	$1,08 \cdot 10^{-10}$

**Graf č. 1:** Kalibrační křivka závislosti elektromotorického napětí na koncentraci  $\text{Ag}^+$

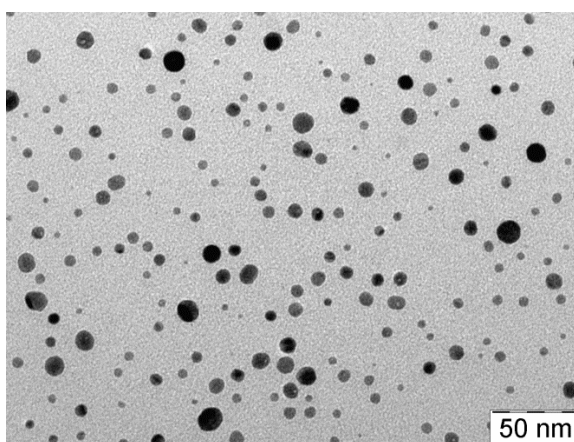


#### 6.4.1.1 Příprava koloidních částic stříbra

Velikosti nanočástic v koloidní disperzi připravené Tollensovou metodou se pohybovaly okolo 28 nm, což potvrzuje snímek z transmisního elektronového mikroskopu (Obrázek č. 6). Velikost nanočástic připravených redukcí  $\text{AgNO}_3$  pomocí silného redukčního činidla  $\text{NaBH}_4$  v přítomnosti polymerního stabilizátoru (sodná sůl polyakrylové kyseliny) se pohybovala okolo 10 nm, což potvrzuje (Obrázek č. 7)



Obrázek č. 6: TEM snímek nanočástic stříbra připravených redukcí maltosou



Obrázek č. 7: TEM snímek nanočástic stříbra připravených redukcí borohydridem sodným

#### 6.4.1.2 Příprava koloidů málo rozpustných sloučenin stříbra

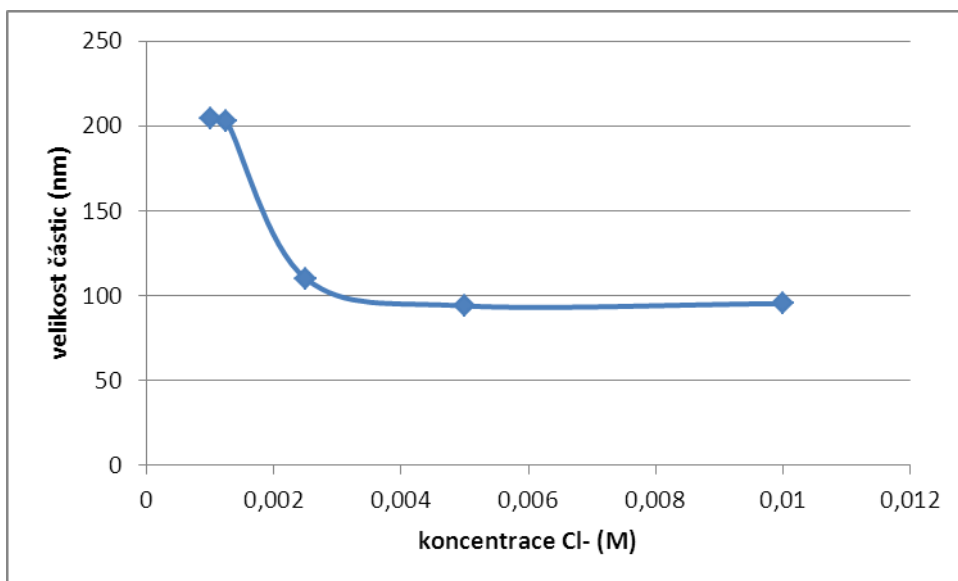
- **Chlorid stříbrný**

Velikost částic chloridu stříbrného se pohybovala od 90 do 200 nm v závislosti na koncentraci chloridových iontů v reakčním systému. S rostoucí koncentrací chloridových iontů klesala velikost částic chloridu stříbrného (graf č. 2). Vznikající částice AgCl jsou stabilizovány chloridovými ionty, které se adsorbují na povrchu částice AgCl v případě, že jsou v nadbytku oproti koncentraci stříbrných iontů. Adsorbované chloridové ionty pak udílí částicím záporný náboj, který je stabilizuje proti agregaci. Dostatečný nadbytek chloridových iontů pro vznik stabilních částic byl dosažen v případě koncentrací  $1 \cdot 10^{-2}$  mol/l až  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l  $\text{Cl}^-$  v reakčním systému. Při

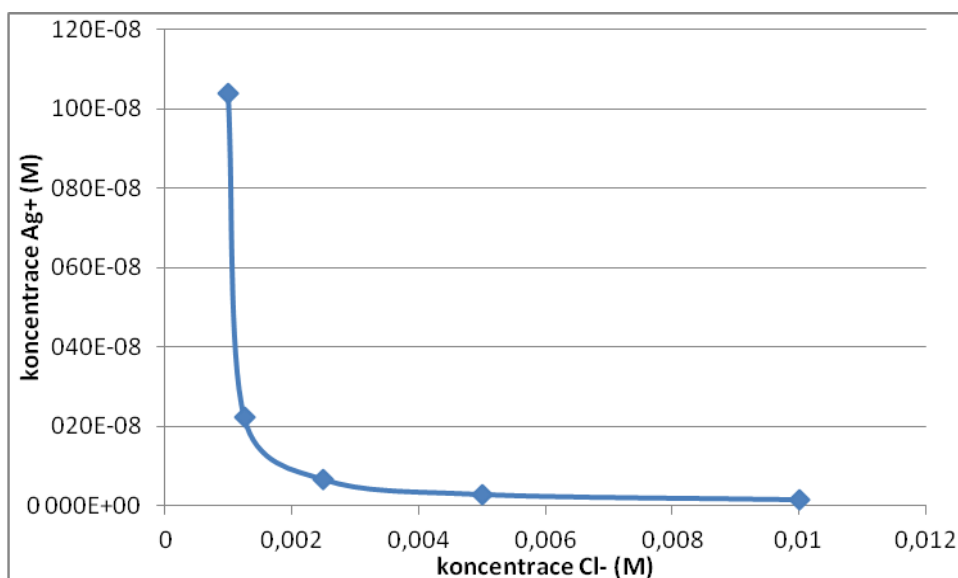
takovýchto koncentracích vznikaly částice s velikostí okolo 90 nm. Naopak při nízké koncentraci chloridových iontů nejsou částice AgCl dostatečně stabilizovány a velice rychle agregují za vzniku rozměrnějších částic, které při nejnižší koncentraci chloridových iontů v systému následně sedimentují ( $1,25 \cdot 10^{-3}$  mol/l a  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l). Nejmenší velikost tedy měly částice v disperzi s koncentrací chloridových iontů  $1 \cdot 10^{-2}$  mol/l a největší velikost měly částice v disperzi s koncentrací chloridových iontů  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l. Nicméně k postupné agregaci docházelo i v případě částic AgCl připravených při nejvyšší koncentraci chloridových iontů, jak potvrdilo měření stability v delším časovém úseku. Po 24 hodinách se velikost částic pohybovala okolo 230 nm pro nejvyšší koncentrace chloridových iontů, u částic s nejnižší koncentrací chloridových iontů měly částice velikost okolo 300 nm. Z grafu č. 3, na kterém je znázorněna závislost koncentrace volného  $\text{Ag}^+$  na koncentraci  $\text{Cl}^-$  získané z měření, můžeme pozorovat pokles rozpustnosti AgCl s rostoucí koncentrací chloridových iontů, což je v souladu s upraveným vztahem č. 18, ze kterého zjistíme koncentraci volného stříbra. V měření po 24 hodinách nedošlo k výrazným změnám v rozpustnosti částic AgCl, koncentrace volného stříbra v závislosti na koncentraci chloridových iontů byly stejné jako v případě měření ihned po jejich přípravě. V tabulce č. 3 jsou uvedeny průměrné hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 3:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $\text{Cl}^-$ .

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-263	11,36	$1,44 \cdot 10^{-8}$
0,005	-246	9,64	$2,78 \cdot 10^{-8}$
0,0025	-227	15,95	$6,56 \cdot 10^{-8}$
0,00125	-192	3,51	$2,23 \cdot 10^{-7}$
0,001	-159	19,66	$1,04 \cdot 10^{-6}$



**Graf č. 2:** Závislost velikosti částic AgCl na koncentraci chloridových aniontů



**Graf č. 3:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci chloridových aniontů

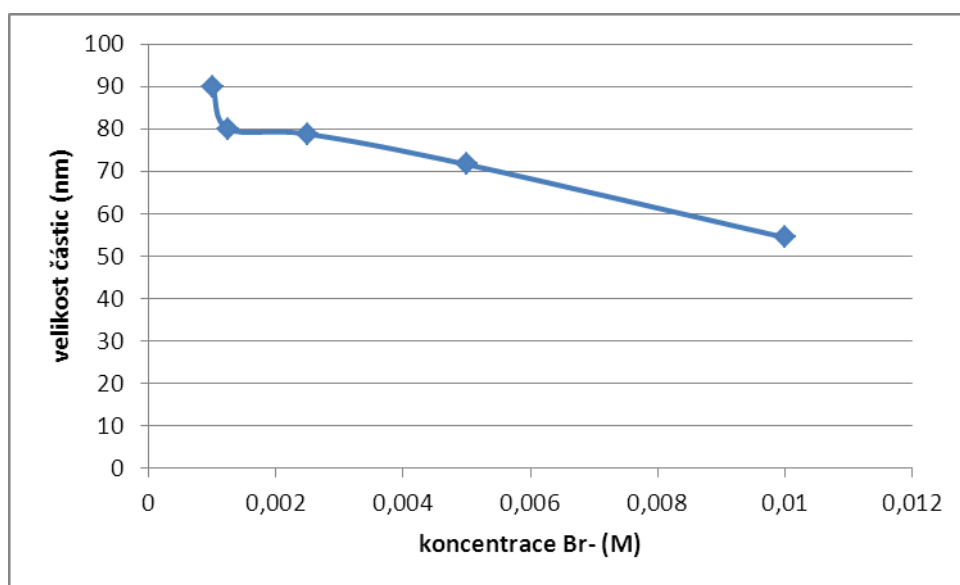
- **Bromid stříbrný**

Velikost částic bromidu stříbrného se pohybovala od 50 do 90 nm v závislosti na koncentraci bromidových iontů. Obdobně jako u chloridu stříbrného i v tomto případě velikost částic AgBr rostla s klesající koncentrací bromidových iontů, což potvrzuje graf č. 4. Ve srovnání s velikostí částic AgCl jsou částice AgBr menší, což je způsobeno nižší rozpustností částic AgBr oproti částicím AgCl. Dokonce v tomto případě vznikaly malé částice AgBr i při nejnižší koncentraci bromidových iontů v reakčním systému (0,001 mol/l). Ovšem již v průběhu jedné hodiny částice AgBr připravené při nejnižší

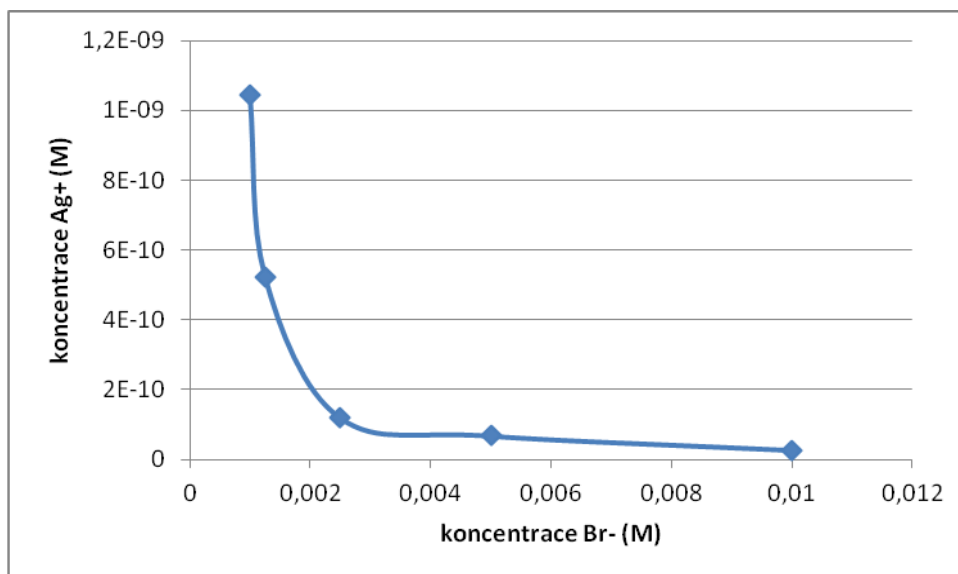
koncentraci bromidových iontů agregovaly a jejich velikost vzrostla na hodnotu 110 nm. Po 24 hodinách se velikost částic pohybovala okolo 70 nm pro nejvyšší koncentrace bromidových iontů, u částic s nejnižší koncentrací bromidových iontů měly částice velikost okolo 250 nm. S přidavkem bromidových iontů se také měnila rozpustnost částic, která rostla s klesající koncentrací bromidových iontů, což potvrzuje graf č. 5, na kterém je znázorněna závislost koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů na koncentraci aniontu  $\text{Br}^-$  získaná z měření. V měření po 24 hodinách nedošlo k výrazným změnám koncentrace volného stříbra v závislosti na koncentraci bromidových iontů. V tabulce č. 4 jsou průměrné hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 4:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $\text{Br}^-$

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-419	2,65	$2,67 \cdot 10^{-11}$
0,005	-396	3,21	$6,79 \cdot 10^{-11}$
0,0025	-382	8,14	$1,19 \cdot 10^{-10}$
0,00125	-338	10	$5,24 \cdot 10^{-10}$
0,001	-318	3,21	$1,05 \cdot 10^{-9}$



**Graf č. 4:** Závislost velikosti částic  $\text{AgBr}$  na koncentraci bromidových aniontů



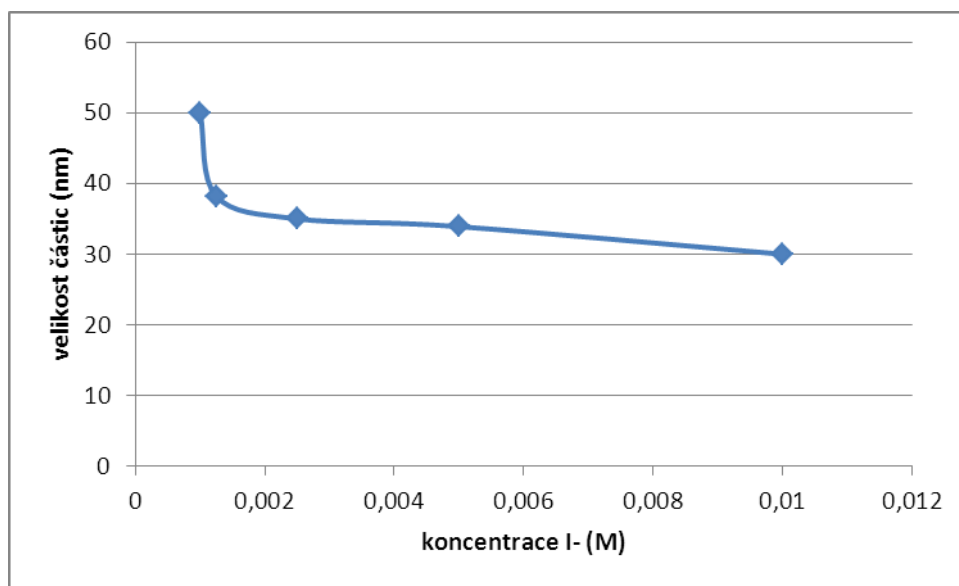
**Graf č. 5:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci bromidových aniontů

- **Jodid stříbrný**

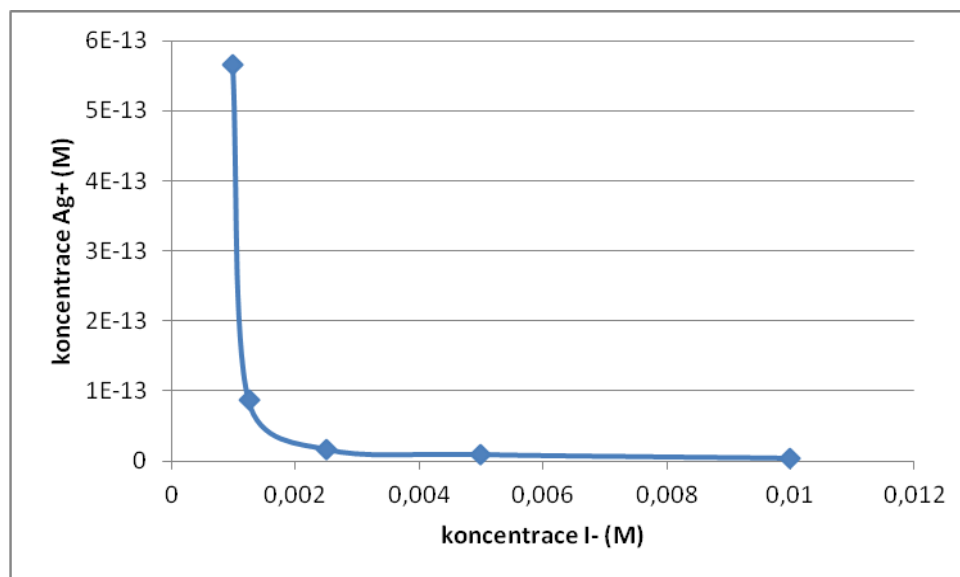
Velikost částic AgI se pohybovala od 30 do 50 nm v závislosti na koncentraci jodidových iontů. Obdobně jako u bromidu stříbrného byla velikost částic AgI menší než velikost částic AgCl a současně byla menší v porovnání s velikostí částic AgBr, což potvrzuje závislost velikosti vznikajících částic na rozpustnosti dané sloučeniny. Závislost velikosti vznikajících částic AgI byla opět stejná jako v případě částic AgCl a AgBr, tedy velikost částic AgI rostla s klesající koncentrací jodidových iontů (graf č. 6). Obdobný trend vykazovala i stabilita částic AgI, nejstabilnější byly částice připravené při nejvyšší použité koncentraci jodidových iontů, naopak nejméně stabilní byly částice AgI připravené při nejnižší koncentraci jodidových iontů. Po 24 hodinách od přípravy se velikost částic pohybovala okolo 50 nm pro nejvyšší koncentrace jodidových iontů, u částic s nejnižší koncentrací jodidových iontů měly částice velikost okolo 200 nm. S přidávkem jodidových iontů se také měnila rozpustnost částic, která rostla s klesající koncentrací jodidových iontů, což potvrzuje graf č. 7, na kterém je závislost koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů na koncentraci aniontu  $\text{I}^-$  získaná z měření. V měření po 24 hodinách nedošlo k výrazným změnám koncentrace volného stříbra. V tabulce č. 5 jsou průměrné hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 5:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci I<sup>-</sup>

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace Ag <sup>+</sup> v mol/l z měření
0,01	-640	0	$3,96 \cdot 10^{-15}$
0,005	-620	7,77	$9,22 \cdot 10^{-15}$
0,0025	-605	11,15	$1,68 \cdot 10^{-14}$
0,00125	-563	8,5	$8,75 \cdot 10^{-14}$
0,001	-544	2,65	$5,66 \cdot 10^{-13}$



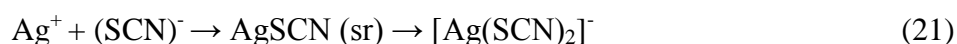
**Graf č. 6:** Závislost velikosti částic AgI na koncentraci jodidových aniontů



**Graf č. 7:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci jodidových aniontů

- **Thiokyanatan stříbrný**

Velikost částic kyanatanu stříbrného s rostoucí koncentrací iontů  $\text{SCN}^-$  neklesala, tak jako tomu je u ostatních málo rozpustných sloučenin stříbra. Naopak mírně roste a dokonce v případě nejvyšší koncentrace iontu  $\text{SCN}^-$  došlo k nárůstu velikosti částic kyanatanu stříbrného. To pravděpodobně souvisí s tvorbou komplexu  $[\text{Ag}(\text{SCN})_2]^-$ , který vzniká podle rovnice (21), při vyšších koncentracích iontů  $\text{SCN}^-$ .

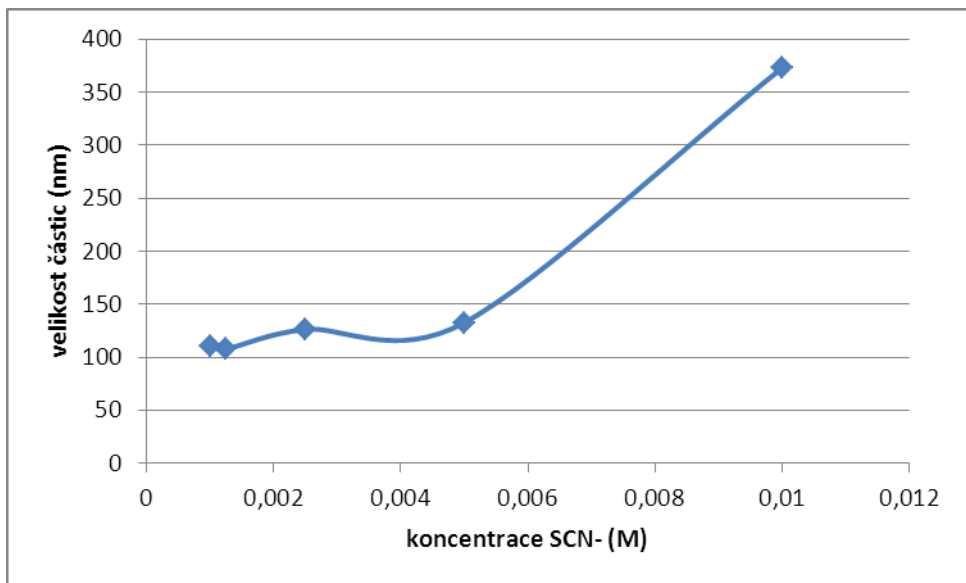


Tvorbou rozpustného komplexu dochází k potlačení tvorby sraženiny  $\text{AgSCN}$  a zároveň se snižuje koncentrace iontu  $\text{SCN}^-$  potřebné ke stabilizaci vznikajících částic kyanatanu stříbrného, které pak rychle agregují za vzniku rozměrných částic. Velikost částic se pohybovala od 110 do 375 nm, což znázorňuje graf č. 8. S přidávkem iontů thiokyanatanu se také měnila rozpustnost částic, která rostla s klesající koncentrací iontů thiokyanatanu, což potvrzuje graf č. 9, na kterém je znázorněna závislost koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů na koncentraci aniontu  $\text{SCN}^-$  získaná z měření. V měření po 24 hodinách došlo k malému nárůstu koncentrace volného stříbra, avšak částice výrazně vzrostly, velikost se pohybovala okolo 1000 nm pro nejvyšší koncentrace thiokyanatých iontů. V tabulce č. 6 jsou zprůměrované hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

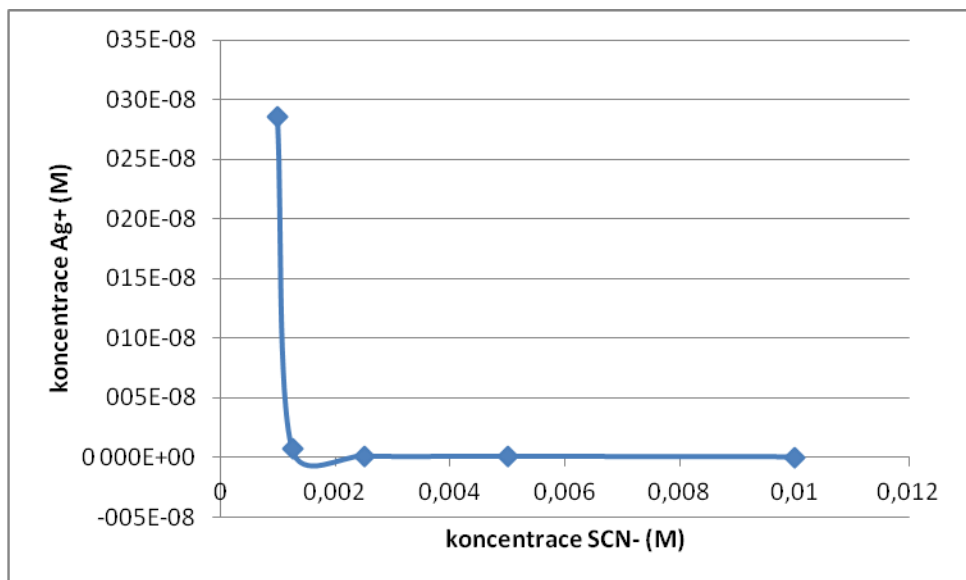
**Tabulka č. 6:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $\text{SCN}^-$

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-363	11,53	$2,67 \cdot 10^{-10}$
0,005	-338	12,12	$7,31 \cdot 10^{-10}$
0,0025	-331	15,31	$1,03 \cdot 10^{-9}$
0,00125	-274	6,66	$7,24 \cdot 10^{-9}$
0,001	-172	8,5	$2,86 \cdot 10^{-7}$





**Graf č. 8:** Závislost velikosti částic AgSCN na koncentraci thiokyanatých aniontů



**Graf č. 9:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci thiokyanatých aniontů

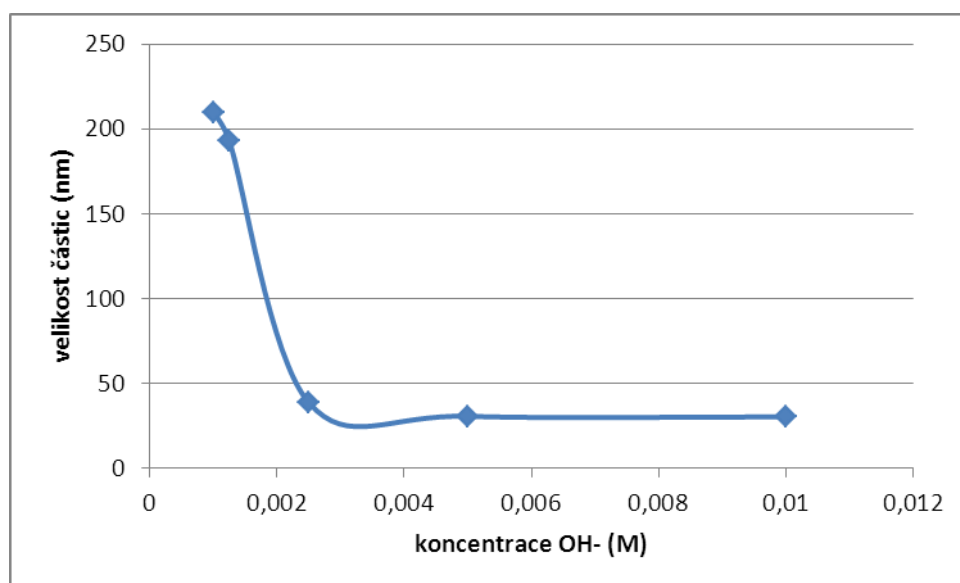
- **Hydroxid stříbrný**

Velikost částic hydroxidu stříbrného se pohybovala od 30 do 210 nm v závislosti na koncentraci hydroxidových iontů. Velikost částic AgOH rostla s klesající koncentrací hydroxidových iontů, což potvrzuje graf č. 10. V měření po 24 hodinách nedošlo k výrazným změnám koncentrace volného stříbra, avšak částice výrazně vzrostly, velikost se pohybovala od 200 do 400 nm. S přidavkem hydroxidových iontů se také měnila rozpustnost částic, která rostla s klesající koncentrací hydroxidových iontů, což potvrzuje graf č. 11, na kterém je znázorněna závislost koncentrace Ag<sup>+</sup> iontů na

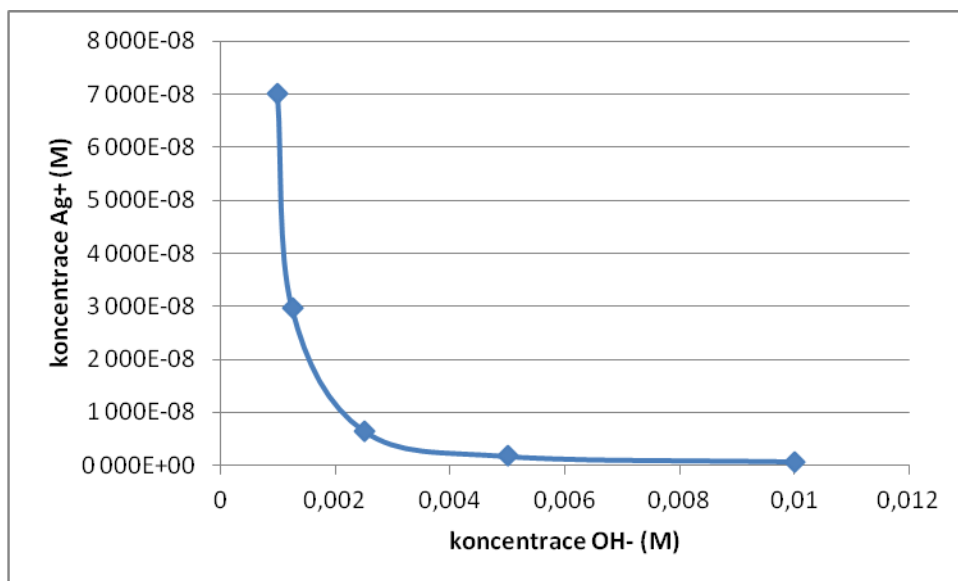
koncentraci aniontu  $\text{OH}^-$  získaná z měření. V tabulce č. 7 jsou zprůměrované hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 7:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $\text{OH}^-$

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-165	1,15	$7,04 \cdot 10^{-7}$
0,005	-141	3	$1,74 \cdot 10^{-6}$
0,0025	-109	10,79	$6,55 \cdot 10^{-6}$
0,00125	-70	3,61	$2,97 \cdot 10^{-5}$
0,001	-49	9,07	$7 \cdot 10^{-5}$



**Graf č. 10:** Závislost velikosti částic  $\text{AgOH}$  na koncentraci hydroxidových aniontů



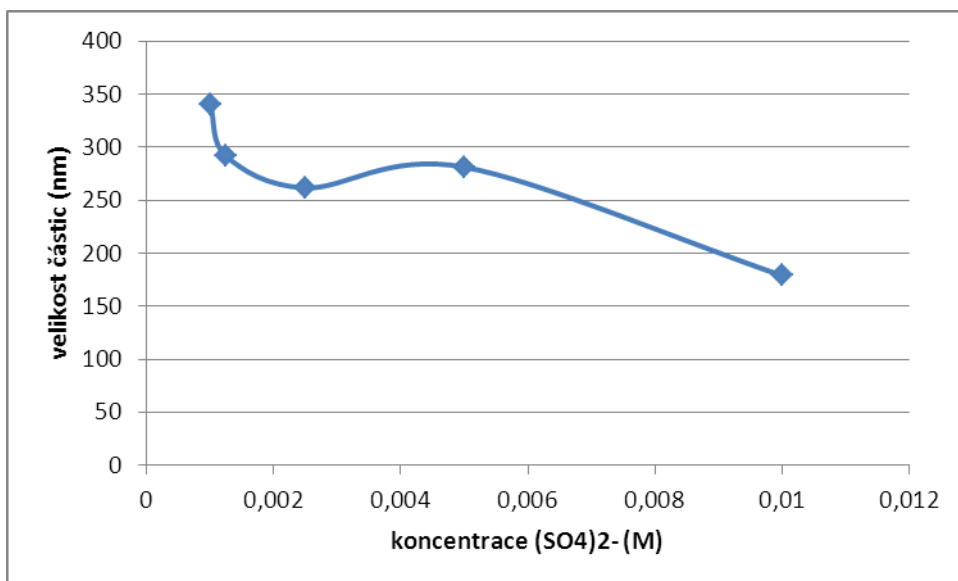
**Graf č. 11:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci hydroxidových aniontů

- **Síran stříbrný**

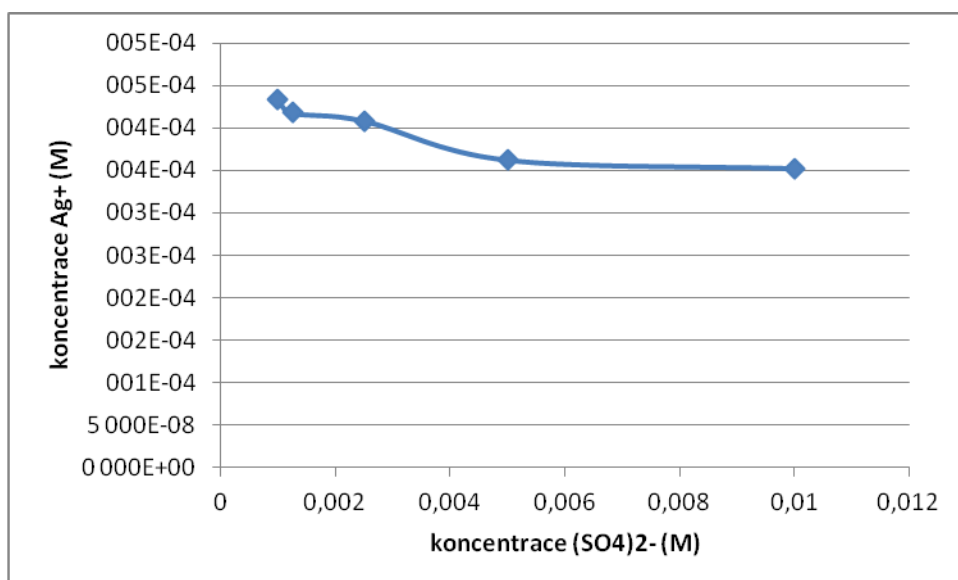
Velikost částic síranu stříbrného se pohybovala od 170 do 340 nm v závislosti na přídatku iontů síranu, což potvrzuje graf č. 12. S přídatkem iontů síranu se také měnila rozpustnost částic, která rostla s klesající koncentrací iontů síranu, což potvrzuje graf č. 13, na kterém je znázorněna závislost koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů na koncentraci aniontů  $(\text{SO}_4)^{2-}$  získaná z měření. V měření po 24 hodinách nedošlo k výrazným změnám koncentrace volného stříbra, avšak částice výrazně vzrostly, velikost se pohybovala od 100 do 300 nm. V tabulce č. 8 jsou zprůměrované hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 8:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $(\text{SO}_4)^{2-}$

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-8	6,81	$3,53 \cdot 10^{-4}$
0,005	-7	4,62	$3,63 \cdot 10^{-4}$
0,0025	-5	6,66	$4,09 \cdot 10^{-4}$
0,00125	-4	7,64	$4,17 \cdot 10^{-4}$
0,001	-3	7,23	$4,33 \cdot 10^{-4}$



**Graf č. 12:** Závislost velikosti částic Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na koncentraci síranových aniontů



**Graf č. 13:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci síranových aniontů

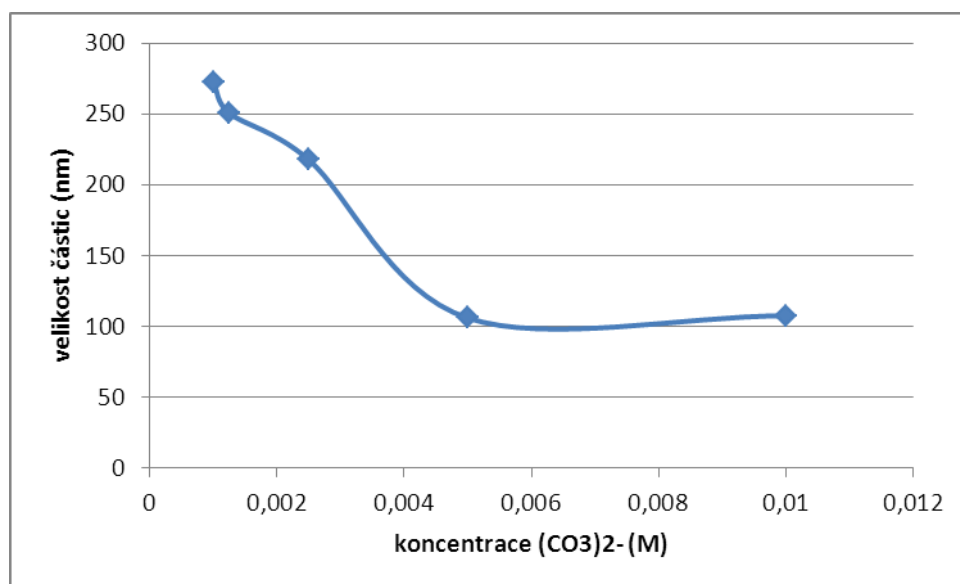
- **Uhličitan stříbrný**

Velikost částic uhličitanu stříbrného se pohybovala přibližně od 105 do 275 nm v závislosti na přidavku uhličitanových iontů, což potvrzuje graf č. 14. Větší velikost částic je opět způsobena jejich lepší rozpustností oproti částicím AgCl, AgBr a AgI. Na grafu č. 15 je znázorněna závislost koncentrace Ag<sup>+</sup> iontů na koncentraci aniontů (CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup> získaná z měření, která rostla s klesající koncentrací uhličitanových iontů. V měření po 24 hodinách nedošlo k výrazným změnám koncentrace volného stříbra a

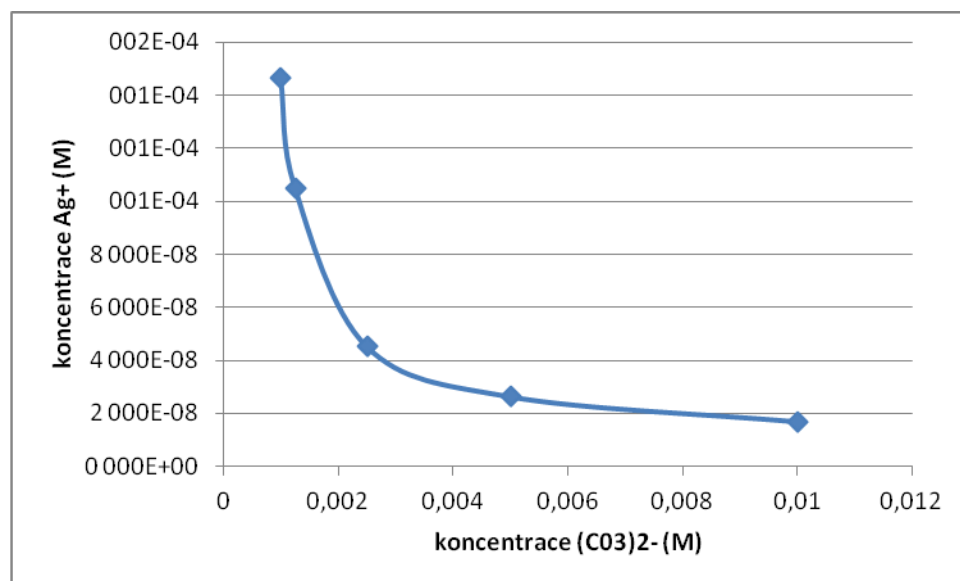
velikost částic se mírně zvětšila. V tabulce č. 9 jsou zprůměrované hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 9:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $(\text{CO}_3)^{2-}$

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-84	3,46	$1,7 \cdot 10^{-5}$
0,005	-73	4,36	$2,64 \cdot 10^{-5}$
0,0025	-60	8,96	$4,53 \cdot 10^{-5}$
0,00125	-38	4,04	$1,05 \cdot 10^{-4}$
0,001	-30	4	$1,46 \cdot 10^{-4}$



**Graf č. 14:** Závislost velikosti částic  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  na koncentraci uhličitánových aniontů



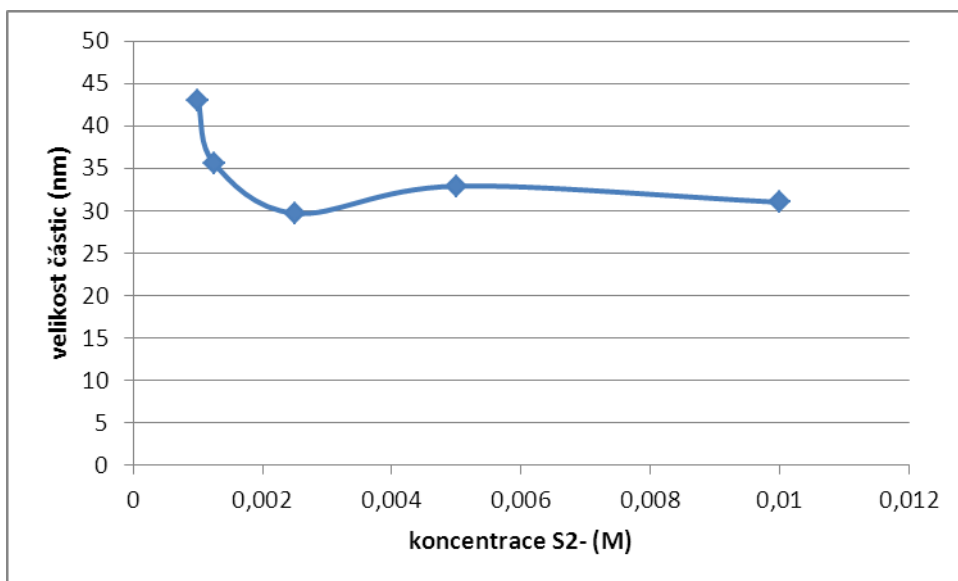
**Graf č. 15:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci uhličitanových aniontů

- **Sulfid stříbrný**

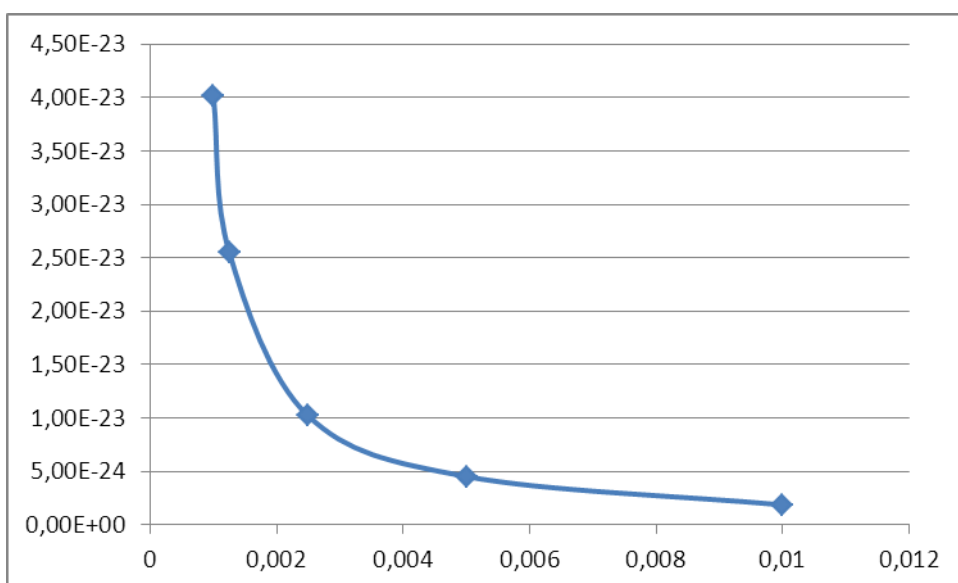
Velikosti částic  $\text{Ag}_2\text{S}$  se pohybovaly od 30 do 43 nm v závislosti na přidavku sulfidových iontů. Obdobně jako u jodidu stříbrného byla velikost částic  $\text{Ag}_2\text{S}$  menší než velikost částic  $\text{AgCl}$  a současně byla menší v porovnání s velikostí částic  $\text{AgBr}$ , což potvrzuje závislost velikosti vznikajících částic na rozpustnosti dané sloučeniny. Velikost částic  $\text{Ag}_2\text{S}$  rostla s klesající koncentrací sulfidových iontů (graf č. 16). Obdobný trend vykazovala i stabilita částic  $\text{Ag}_2\text{S}$ , nejstabilnější byly částice připravené při nejvyšší použité koncentraci sulfidových iontů, naopak nejméně stabilní byly částice  $\text{Ag}_2\text{S}$  připravené při nejnižší koncentraci sulfidových iontů. Po 24 hodinách od přípravy se velikost částic pohybovala okolo 80 nm pro nejvyšší koncentrace sulfidových iontů, u částic s nejnižší koncentrací sulfidových iontů měly částice velikost okolo 110 nm. S přidavkem sulfidových iontů se také měnila rozpustnost částic, která rostla s klesající koncentrací sulfidových iontů, což potvrzuje graf č. 17, na kterém je znázorněna závislost koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů na koncentraci aniontů  $\text{S}^{2-}$  získaná z měření. V tabulce č. 10 jsou zprůměrované hodnoty elektromotorického napětí ze všech měření a hodnoty koncentrace  $\text{Ag}^+$  iontů z měření.

**Tabulka č. 10:** Průměrná hodnota elektromotorického napětí a koncentrace volných stříbrných iontů v disperzi v závislosti na koncentraci  $\text{S}^{2-}$

koncentrace aniontu v mol/l	EMN (mV)	směrodatná odchylka EMN	koncentrace $\text{Ag}^+$ v mol/l z měření
0,01	-1143	6,24	$1,87 \cdot 10^{-24}$
0,005	-1126	4	$4,53 \cdot 10^{-24}$
0,0025	-1102	14,01	$1,02 \cdot 10^{-23}$
0,00125	-1068	5,03	$2,55 \cdot 10^{-23}$
0,001	-1049	11,02	$4,01 \cdot 10^{-23}$



**Graf č. 16:** Závislost velikosti částic Ag<sub>2</sub>S na koncentraci sulfidových aniontů



**Graf č. 17:** Závislost koncentrace volných stříbrných iontů na koncentraci sulfidových aniontů

#### 6.4.2 Vliv kultivačního bujónu na rozpustnost sloučenin

Jelikož se antibakteriální aktivita stanovuje v kultivačním médiu obsahujícím velké množství bílkovin a aminokyselin (hovězí bujón, kasein), které mohou s iontovým stříbrem tvořit málo rozpustné sloučeniny (komplexy či sraženiny) a ovlivňovat tak rovnovážnou koncentraci volného iontového stříbra, bylo nutné proměřit a posoudit rozpustnost sloučenin v kultivačním médiu, aby bylo možné následně diskutovat vliv rozpustnosti sloučenin na antibakteriální aktivitu. Antibakteriální aktivita byla stanovována u sloučenin, které byly připraveny při koncentraci aniontu  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l.

Stejně i stanovení koncentrace stříbrných iontů v kultivačním médiu bylo prováděno u sloučenin s koncentrací aniontu  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l. V tabulce č. 11 se nacházejí průměrné hodnoty koncentrací  $\text{Ag}^+$  iontů stanovených ve vodné disperzi a průměrné hodnoty koncentrací  $\text{Ag}^+$  iontů měřených v kultivačním bujónu. Měření prokázalo, že kultivační médium dále ovlivňuje koncentraci stříbrných iontů v médiu jak v případě málo rozpustných sloučenin, tak i v případě  $\text{AgNO}_3$ . Po smíchání roztoku  $\text{AgNO}_3$  o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l s kultivačním médiem v poměru 1:1 (naředění  $\text{AgNO}_3$  na koncentraci  $5 \cdot 10^{-4}$  mol/l) došlo k poklesu koncentrace volných iontů stříbra na hodnotu  $3,54 \cdot 10^{-9}$  mol/l. Je tedy evidentní, že kultivační médium samo o sobě komplexuje ionty stříbra. V případě rozpustnějších sloučenin jako jsou síran, uhličitan, chlorid a hydroxid stříbrný, v jejichž případě byla hodnota koncentrace volných iontů stříbra ve vodné disperzi vyšší než  $10^{-9}$  mol/l, došlo k poklesu koncentrace iontů stříbra v médiu řádově přibližně stejně, tedy na hodnotu  $10^{-9}$  mol/l. Lze tedy říci, že kultivační médium v případě sloučenin, u nichž byla stanovena koncentrace stříbrných iontů vyšší než  $10^{-9}$  mol/l, sjednocuje koncentraci volného iontového stříbra na hodnotu okolo  $10^{-9}$  mol/l. Podobná situace byla prokázána i v případě koloidních částic stříbra připravených redukcí maltosou či borohydridem sodným. U jodidu stříbrného a sulfidu stříbrného už kultivační médium koncentraci volných stříbrných iontů neovlivňuje, ta zůstala prakticky shodná s koncentrací iontů stříbra ve vodné disperzi a to vzhledem k jejich velmi nízké rozpustnosti.

**Tabulka č. 11:** Průměrované hodnoty koncentrací  $\text{Ag}^+$  iontů v roztoku a v bujónu.

málo rozpustná sloučenina s koncentrací aniontu $2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l	koncentrace volného $\text{Ag}^+$ v mol/l ve vodě	koncentrace volného $\text{Ag}^+$ v mol/l v bujónu
$\text{AgCl}$	$5,35 \cdot 10^{-8}$	$2,94 \cdot 10^{-9}$
$\text{AgBr}$	$3,06 \cdot 10^{-10}$	$2,34 \cdot 10^{-10}$
$\text{AgI}$	$5,85 \cdot 10^{-14}$	$6,24 \cdot 10^{-14}$
$\text{AgSCN}$	$8,46 \cdot 10^{-10}$	$6,42 \cdot 10^{-10}$
$\text{AgOH}$	$3,19 \cdot 10^{-6}$	$7,54 \cdot 10^{-9}$
$\text{Ag}_2\text{CO}_3$	$3,19 \cdot 10^{-5}$	$7,91 \cdot 10^{-9}$
$\text{Ag}_2\text{SO}_4$	$3,53 \cdot 10^{-4}$	$8,3 \cdot 10^{-8}$
$\text{Ag}_2\text{S}$	$1,02 \cdot 10^{-23}$	$7,72 \cdot 10^{-23}$
$\text{AgNO}_3$ ( $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l)	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$3,45 \cdot 10^{-9}$
Mal koloid	$1,11 \cdot 10^{-8}$	$4,51 \cdot 10^{-9}$
Ag 3000	$8,73 \cdot 10^{-6}$	$2,56 \cdot 10^{-9}$



### 6.4.3 Výsledky antimikrobní aktivity

Antimikrobiální aktivita připravených málo rozpustných sloučenin byla testována standardní diluční mikrometodou, která spočívá v určení minimální inhibiční koncentrace (MIC) testovaného vzorku. Testování bylo prováděno v mikrotitrační destičce a vzorky byly naředěny v geometrické řadě od 2 do 128 krát Mueller-Hinton kultivačním médiem. Potřebné množství testovaných bakterií a kvasinek bylo naočkováno do mikrotitrační destičky tak, aby hustota inokula byla  $10^{5-6}$  CFU/ml. Po inkubační době (po 24 hodinách) při teplotě 37°C byla stanovena nejnižší koncentrace málo rozpustných sloučenin, která je schopna inhibovat růst bakterií.

Antibakteriální aktivita byla měřena pouze u sraženin připravených při koncentraci aniontu  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l. Testování antimikrobiální aktivity u vybraných sloučenin bylo provedeno pětkrát a výsledné hodnoty jsou průměrem všech testování. V tabulce č. 12 jsou uvedeny průměrné hodnoty MIC v mg/l málo rozpustných sloučenin stříbra s celkovou finální koncentrací stříbra  $10^{-3}$  mol/l (108 mg/l Ag) a  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l příslušného aniontu. V tabulce č. 13 jsou uvedeny hodnoty MIC AgNO<sub>3</sub> a nanočástic stříbra s různou velikostí.

**Tabulka č. 12:** Minimální inhibiční koncentrace málo rozpustných sloučenin stříbra

Testovaný kmen	AgI	AgCl	AgBr	AgSCN	Ag <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	AgOH	Ag <sub>2</sub> S
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	-	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	-
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	-	3,38	3,38	6,75	6,75	6,75	6,75	-
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	-	3,38	3,38	6,75	3,38	6,75	6,75	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955	-	3,38	3,38	3,38	3,38	3,38	3,38	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	3,38	1,69	6,75	6,75	6,75	6,75	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1	-	1,69	1,69	6,75	6,75	6,75	6,75	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 2	-	3,38	3,38	3,38	3,38	3,38	6,75	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	-	3,38	3,38	6,75	6,75	6,75	6,75	-
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	-	6,75	3,38	13,5	13,5	13,5	13,5	-

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL)	-	3,38	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	-
-------------------------------------	---	------	------	------	------	------	------	---

**Tabulka č. 13:** Minimální inhibiční koncentrace AgNO<sub>3</sub> a nanočástic stříbra

Testovaný kmen	AgNO <sub>3</sub>	Ag0 mal (25 nm)	Ag3000 (12 nm)
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	3,38	6,75	3,38
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	3,38	3,38	1,69
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	3,38	3,38	3,38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955	1,69	3,38	3,38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,69	3,38	1,69
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1	0,84	1,69	1,69
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 2	0,84	1,69	0,84
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	1,69	3,38	1,69
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	1,69	6,75	1,69
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL)	3,38	6,75	3,38

Minimální inhibiční koncentrace se v případě málo rozpustných sloučenin stříbra vzájemně příliš neliší s výjimkou sloučenin AgI a Ag<sub>2</sub>S, u kterých nebyla prokázána žádná antibakteriální aktivita. Tyto dvě velmi málo rozpustné sloučeniny nevykazují antibakteriální aktivitu, jelikož disociují za vzniku tak nízkých koncentrací volného iontového stříbra, které nevedou k antibakteriální aktivitě. Dokonce ani původní malý rozměr částic Ag<sub>2</sub>S a AgI (30 nm, resp. 40 nm) nehraje z pohledu antibakteriální aktivity žádnou roli, jelikož bylo prokázáno, že částice v čase nejsou příliš stabilní, v průběhu 24 hodin od jejich přípravy narůstá jejich velikost až na stovky nanometrů vlivem jejich agregace. Zbývající sloučeniny pak vykazují srovnatelnou antibakteriální aktivitu, což odpovídá jejich shodné koncentraci volného iontového stříbra v kultivačním bujónu. Hodnoty minimálních inhibičních koncentrací málo rozpustných sloučenin stříbra jsou v porovnání s minimálními inhibičními koncentracemi AgNO<sub>3</sub> a nanočásticemi stříbra vyšší, jejich antimikrobiální aktivita je tedy nižší. AgNO<sub>3</sub> vykazuje nejvyšší antibakteriální aktivitu vzhledem k tomu, že v tomto případě ovlivňují

koncentraci volného iontového stříbra pouze složky kultivačního bujónu. Navíc se zde nevytváří žádné rozměrné částice o velikosti několika desítek nanometrů, jako v případě málo rozpustných sloučenin stříbra a nanočástic stříbra připravených redukcí maltosou či  $\text{NaBH}_4$ . V případě nanočástic stříbra jsou kromě iontového stříbra odpovědné za antibakteriální aktivitu i samotné částice stříbra, jejichž rozměr je 28 nm, resp. 10 nm, které tak pravděpodobně pronikají dovnitř buňky a působí zde toxicky. Koloidní částice málo rozpustných sloučenin však mají takový rozměr (většinou nad 100 nm), který jim neumožňuje vstupovat do buňky a antimikrobní aktivita je dána v tomto případě pouze volným iontovým stříbrem.

## 7 Závěr

Diplomová práce byla zaměřena na zkoumání antimikrobní aktivity málo rozpustných sloučenin stříbra v závislosti na rozpustnosti těchto sloučenin.

Málo rozpustné sloučeniny stříbra byly připraveny srážecími reakcemi. Dusičnan stříbrný byl srážen chloridem, bromidem, jodidem, thiokyanatanem, hydroxidem, síranem, uhličitanem a sulfidem. Pro testování byl použit koloid stříbra připraven modifikovanou Tollensovou metodou, kde byl amoniakální komplex stříbra redukován maltosou. Touto metodou vznikaly nanočástice stříbra s průměrnou velikostí okolo 28 nm. Dále byl použit koloid stříbra připraven redukcí dusičnanu stříbrného pomocí silného redukčního činidla  $\text{NaBH}_4$  v přítomnosti polymerního stabilizátoru (sodná sůl polyakrylové kyseliny). Touto metodou vznikaly částice stříbra s menší průměrnou velikostí okolo 10 nm.

Rovnovážná koncentrace volného stříbra byla stanovována u málo rozpustných sloučenin měřením elektromotorického napětí galvanického článku. Z hodnot elektromotorického napětí byly následně vypočítány koncentrace volných stříbrných iontů pro příslušné málo rozpustné sloučeniny v kultivačním bujónu metodou kalibrační křivky. Antibakteriální aktivita byla testována standardní diluční metodou, díky níž byly stanoveny hodnoty minimální inhibiční koncentrace MIC.

S rostoucí koncentrací aniontu klesala velikost částic u všech málo rozpustných sloučenin, kromě thiokyanatanu stříbrného, u kterého byla závislost opačná, což pravděpodobně souvisí s tvorbou komplexu  $[\text{Ag}(\text{SCN})_2]^-$ . Vznikající částice ostatních málo rozpustných sloučenin jsou stabilizovány anionty, které se adsorbují na povrchu částice, v případě nadbytku koncentrace aniontu oproti koncentraci stříbrných iontů. Adsorbované anionty pak udělí částici záporný náboj, který je stabilizuje proti agregaci. Naopak při nízké koncentraci aniontu nejsou částice dostatečně stabilizovány a rychle agregují za vzniku rozměrných částic.

Antimikrobní aktivita byla stanovována pouze pro sraženiny připravených při koncentraci aniontu  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l. Jednotlivé málo rozpustné sloučeniny vykazovaly podobnou antibakteriální aktivitu, což odpovídá jejich podobné koncentraci volného iontového stříbra v kultivačním bujónu. Výjimkou jsou jodid stříbrný a sulfid stříbrný, u kterých nebyla antimikrobní aktivita prokázána, jelikož disociují za vzniku velmi nízké koncentrace stříbrných iontů. V porovnání s antibakteriální aktivitou nanočástic stříbra

byla antibakteriální aktivita málo rozpustných sloučenin nižší, což je zřejmě dáno výrazně větším rozměrem částic málo rozpustných sloučenin stříbra.

## 8 Summary

The attention focused on research of nanoparticles of silver has been getting higher due to their antimicrobial activity in recent years. They are used in several areas. Therefore I examined the impact of poorly soluble compounds of silver on antimicrobial activity.

In this thesis the silver nanoparticles was prepared by two procedures. The first one was modified Tollens process which leads to reduction  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  by D-maltose in the presence of sodium hydroxide. As a result the prepared nanoparticles had a size of 25 nm on average. The second procedure was in the form of reduction of silver nitrate borohydride, which resulted in nanoparticles with size of 12 nm on average.

The measurements were carried out at the Institute of Microbiology, Faculty of Medicine, Palacky University in Olomouc. Antimicrobial activity of samples was measured by standard dilution method which determined the minimum inhibitor concentration. It was chosen 10 bacterial strains for these antibacterial activity tests.

## 9 Seznam použité literatury

- [1] [http://www.ped.muni.cz/z21/2007/konference\\_2007/sbornik\\_2007/sb07\\_soucasny\\_diskurs/cze/navratil\\_cz.pdf](http://www.ped.muni.cz/z21/2007/konference_2007/sbornik_2007/sb07_soucasny_diskurs/cze/navratil_cz.pdf)
- [2] Henig RM. (2007) Our silver-coated future. *Onearth Fall*. 29, 22–29.
- [3] CHEN, X.; SCHLUESENER, H. J.: *Toxicology Letters*, 176, 1-12, 2008.
- [4] SHIRASHI, Y.; TOSHIMA, N: *J. Mol. Catal. A:Chem.*, 141, 187-192, 1999.
- [5] CUIYU, J.; YAN, F.: *J. Colloid Interface Sci.*, 314, 46-51, 2007.
- [6] Margaret IP, Lui SL, Poon VK, Lung I, Burd A. (2006) Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison. *J Med. Microbiol.* 55, 59–63.
- [7] Gosheger G, Harges J, Ahrens H, Streitburger A, Buerger H, Erren M, Gonsel A, Kemper FH, Winkelmann W, Von EC. (2004) Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects. *Biomaterials* 25, 5547–56.
- [8] Melaiye A, Sun Z, Hindi K, Milsted A, Ely D, Reneker DH, Tessier CA, Youngs WJ. (2005) Silver(I)-imidazole cyclophane gem-diol complexes encapsulated by electrospun terephthalic nanofibers: formation of nanosilver particles and antimicrobial activity. *J Am. Chem. Soc.* 127, 2285–91.
- [9] [www.fns.uniba.sk/fileadmin/user\\_upload/editors/actaenvi/ActaEnvi\\_20121/04\\_A\\_Kobeticova.pdf](http://www.fns.uniba.sk/fileadmin/user_upload/editors/actaenvi/ActaEnvi_20121/04_A_Kobeticova.pdf)
- [10] Materiály na internetových stránkách EU (<http://europa.eu>)
- [11] Zbořil, učební texty k předmětu Nanomateriály 2.
- [12] PRNKA, Tasilo a Karel ŠPERLINK. *Šestý rámcový program evropského výzkumu a technického rozvoje*. Vyd. 1. Ostrava: Repronis, 2004, 67 s. ISBN 80-732-9070-7.
- [13] <http://www.ekobydleni.eu/tag/nanotechnologie>
- [14] HOŠEK, Jan. *Úvod do nanotechnologie*. Vyd. 1. V Praze: České vysoké učení technické, 2011, 170 s. ISBN 978-80-01-04555-8.
- [15] VACEK, Jaroslav a Josef MICHL. Molekulární stavebnice: Počítačové simulace molekulárních vrtulí a rotorů. *Vesmír* 81. 2002.
- [16] *Nanotechnologie: Inovace pro svět zítřka*. Lucemburk, 2007.
- [17] [integrita.zcu.cz/download/skola1/liberec\\_kmt\\_prez.1.pdf](http://integrita.zcu.cz/download/skola1/liberec_kmt_prez.1.pdf)

- [18] BRDLIČKA, Rudolf; DVOŘÁK, Jiří. *Základy fyzikální chemie*. 2. přepracované vydání. Praha: Academia, 1977.
- [19] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007, 70 s. ISBN 978-80-244-1669-4.
- [20] KOMERS, Karel. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. ISBN 80-719-4045-3.
- [21] FISCHER, Oldřich, Libuše KIŠOVÁ, Milica MIADOKOVÁ a Jiří MOLLIN. *FYZIKÁLNÍ CHEMIE: TERMODYNAMIKA, ELEKTROCHEMIE, KINETIKA, KOLOIDNÍ SOUSTAVY*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické, 1984. Učebnice pro vysoké školy.
- [22] BARTOVSKÁ, Lidmila; ŠIŠKOVÁ, Marie. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 6. přepracované vydání. Praha: VŠCHT Praha, 2010. 262 s.
- [23] ŠČUKIN, E. D.; PERCOV, A. V.; AMELINOVÁ, E. A. *Koloidní chemie*. 1. vydání. Praha: Academia, 1990.
- [24] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulární a koloidních soustav*. 3. vydání. Praha: VŠCHT Praha, 2008. 205 s.
- [25] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. Praha: VŠCHT, 2011.
- [26] RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A.: *Biotechnology Advances*, 27, 76-83, 2009.
- [27] PRUCEK, Robert; KVÍTEK, Libor; HRBÁČEK, Jan. Silver colloids – methods of preparation and utilization. *CHEMICA 43* [online]. 2004, vol. 43.
- [28] PANÁČEK, Aleš, Milan KOLÁŘ, Renata VEČEŘOVÁ, Robert PRUCEK, Jana SOUKOPOVÁ, Vladimír KRYŠTOF, Petr HAMAL, Radek ZBOŘIL a Libor KVÍTEK. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*. 2009, s. 6333-6340.
- [29] SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; YEKATERINA, L.: *Adv. Colloid Interface*
- [30] KVITEK, L, A PANACEK, R PRUCEK, J SOUKUPOVA, M VANICKOVA, M KOLAR a R ZBORIL. Antibacterial activity and toxicity of silver â nanosilver versus ionic silver. *Journal of Physics: Conference Series*. 2011-07-06, roč. 304, s. 012029-. ISSN 1742-6596. DOI: 10.1088/1742-6596/304/1/012029. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/1742-6596/304/i=1/a=012029?key=crossref.580c11e7555a26b1248cefd8c648ef2d>
- [31] SLOVÁK, Petr a Libor KVÍTEK. Příprava nanokompozitu nanočástic stříbra na uhlíkatých materiálech a jejich antibakteriální aktivita.



- [32] KVÍTEK, Libor. *Studium přípravy a aplikačních možností nanočástic stříbra*. Olomouc, 2008. 79 s. Habilitační práce. UPOL.
- [33] SHIRASHI, Y.; TOSHIMA, N: J. Mol. Catal. A:Chem., 141, 187-192, 1999.
- [34] KVÍTEK L., PRUCEK R.: J. Mater. Sci, 2005
- [35] RAMOS, J. C.; LEDEZMA, A.; ARIAS, E.; MOGGIO, I.; MARTÍNEZ, C. A.;CASTILLON, F.: Vacuum, 1-6, 2009.
- [36] MUNIZ-MIRANDA, M.; SBRANA, G.: J. Mol. Structure, 565-566, 159-163, 2001.
- [37] BRDIČKA, Rudolf, Alexander SCHÜTZ a Mirko KALOUSEK. *Úvod do fyzikální chemie*. 2. dopl. a přeprac. vyd. Praha: SNTL, 1972, 493 s.
- [38] VONDRÁK, D a J VULTERIN. *Analytická chemie*. Praha: SNTL, 1985, 262 s.
- [39] ZÝKA, Jaroslav. *Analytická příručka: Díl I. 3. přeprac. a roz. vyd. Praha: SNTL, 1979, 678 s.*
- [40] BERČÍK, Juraj. *Potenciometria: potenciometrické titrácie a maranie pH*. 2. přeprac. a dopl. vyd. Bratislava: SVTL, 1964, 454 s.
- [41] S. Pal, Y. K. Tak, J. M. Song: Appl EnYiron Microbiol 73, 1712, 2007
- [42] Panacek A., Kvitek L., Pucek R., et al.: Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, J Phys Chem B 110, 16248-16253, 2006
- [43] B. Vlčková, X. J. Gu, M. Moskovits, J. Phys. Chem. B101, 1588 , 1997,
- [44] KVÍTEK L., MACHÁŇOVÁ P., NOVÁKOVÁ J., PANÁČEK A., SOUKUPOVÁ J.: Acta Univ. Palacki. Olom. Chemica 45, 33, 2006.
- [45] XIAN-HAO, L.; XIAO-HONG, L.; SHU-XIA, L.; JING-CHANG, Z.; WEI-LIANG, C.: J. Colloid Interface Sci., 307, 94-100, 2007.
- [46] POTIYARAJ, P.; KUMLANGDUDSANA, P.; DUBAS, S. T.: Materials Letters, 61, 2464-2466, 2007.
- [47] YU-GUO, G.; JONG-SOOK, L.; MAIER, J.: Solid State Ionics, 177, 2467-2471, 2006.
- [48] KNOP, Josef. *Analytická chemie kvalitativní*. Státní zemědělské nakladatelství ve spolupráci s Československou akademií zemědělských věd, 1961.