

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



**Depozice nanočástic kovů na pevné substráty
prostřednictvím specifických funkčních skupin a kinetika
jejich případného uvolňování při mechanické námaze**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:	Tomáš Medek
Studijní program:	N1407 Chemie
Studijní obor:	Fyzikální chemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.
Rok:	2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

V Olomouci dne

Poděkování

Za pomoc, bez níž by tato práce nemohla vzniknout, upřímně děkuji vedoucí práce RNDr. Janě Soukupové, Ph.D., paní laborantce Karle Slavičkové, za ovládnání atomového absorpčního spektrometru Mgr. Janu Kolaříkovi, celé mikroskopické skupině z RCPTM a také Katedře fyzikální chemie.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Tomáš Medek
Název práce	Depozice nanočástic kovů na pevné substráty prostřednictvím specifických funkčních skupin a kinetika jejich případného uvolňování při mechanické námaze
Typ práce	Diplomová
Pracoviště	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce	RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2016

Abstrakt

Nanočástice stříbra (AgNPs) byly připraveny termálně indukovanou redukcí AgNO_3 větveným polyethyleniminem (PEI), který sloužil zároveň jako elektrostérický stabilizátor. Vzorke mercerované a nemercerované bavlněné tkaniny byly funkcionalizovány pomocí AgNPs ponořením do jejich disperze a následným promytím a vysušením. AgNPs byly charakterizovány metodami dynamického rozptylu světla (DLS), transmisní elektronové mikroskopie (TEM) a UV/VIS absorpční spektrometrie, obsah Ag v modifikované tkanině byl stanoven atomovou absorpční spektrometrií (AAS) a morfologie vláken byla studována skenovací elektronovou mikroskopií (SEM). Průměrná velikost nanočástic byla 6 ± 4 nm. Vzorke o obsahu Ag 180 ± 11 mg/kg tkaniny byly podrobeny mechanickému namáhání v roztoku za různých podmínek. Ve všech případech byl pozorován strmý pokles obsahu Ag po prvních 2 hod., který se poté výrazně zpomalil. Nejvýraznější pokles byl po 2 hod. pozorován při praní v demineralizované vodě při 60°C a to na 76 ± 4 mg/kg. Při třepání v solném roztoku a demineralizované vodě za laboratorní teploty došlo za stejnou dobu k poklesu na 84 ± 6 mg/kg respektive 116 ± 5 mg/kg.

Klíčová slova	nanočástice stříbra; bavlna; mercerace; polyethylenimin; uvolňování stříbra
Počet stran	60
Počet příloh	1
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Tomáš Medek
Title	Deposition of Metal Nanoparticles on Solid Substrates through Specific Functional Groups and Kinetics of their Possible Release under Mechanical Stress
Type of thesis	Diploma
Department	Department of Physical Chemistry
Supervisor	RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.
The year of presentation	2016

Abstract

Silver nanoparticles (AgNPs) were prepared via thermally induced reduction of AgNO_3 using hyperbranched polyethylenimine (PEI), which served both as electrostatic stabilizer and reducing agent. Samples of mercerized and unmercerized cotton fabric were treated with AgNPs in aqueous dispersions followed by washing and drying. The prepared AgNPs were characterized using dynamic light scattering (DLS), transmission electron microscopy (TEM) and UV/VIS absorption spectroscopy, Ag content in modified fabric samples was determined using atomic absorption spectroscopy (AAS) and morphology of fibres was studied using scanning electron microscopy (SEM). Average nanoparticle diameter was 6 ± 4 nm. Samples with Ag content 180 ± 11 mg/kg fabric were put through mechanical stress in solution under different conditions. In all cases, a steep decrease in Ag content during the first 2 hours was notably slowed down afterwards. The most significant decrease to 76 ± 4 mg/kg was observed after 2 hours of washing in demineralized water at 60°C . After shaking in saline solution and demineralized water at room temperature for the same time the decrease to 84 ± 6 mg/kg and 116 ± 5 mg/kg, respectively, was recorded.

Keywords	silver nanoparticles; cotton; mercerization; polyethylenimine; silver release
Number of pages	60
Number of appendices	1
Language	Czech

Obsah

1 Úvod.....	7
2 Teoretická část.....	9
2.1 Disperzní soustavy.....	9
2.2 Koloidně disperzní soustavy.....	9
2.2.1 Kinetické vlastnosti.....	10
2.2.2 Optické vlastnosti.....	11
2.2.3 Stabilita částic a agregace.....	12
2.3 Depozice nanočástic stříbra na pevné substráty.....	13
2.3.1 <i>Ex situ</i> metody přípravy nanočástic stříbra.....	13
2.3.1.1 Imobilizace nanočástic stříbra.....	16
2.3.2 <i>In situ</i> metody.....	17
2.4 Bavlna.....	18
2.4.1 Struktura a vlastnosti bavlny.....	18
2.4.2 Metody depozice <i>ex situ</i> připravených nanočástic stříbra na bavlnu.....	20
2.4.3 <i>In situ</i> metody přípravy nanočástic stříbra na bavlně.....	23
2.4.4 Srovnání metod depozice nanočástic stříbra na bavlnu.....	24
2.5 Aplikace nanočástic stříbra.....	26
2.5.1 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie.....	26
2.5.2 Katalyzátory a senzory.....	27
2.5.3 Moderní elektronika.....	27
2.5.4 Antimikrobiální aplikace.....	28
2.6 Toxicita nanočástic stříbra.....	30
3 Experimentální část.....	32
3.1 Materiály.....	32
3.2 Příprava disperze nanočástic stříbra.....	32
3.3 Mercerace bavlněné tkaniny a její funkcionalizace nanočásticemi stříbra.....	32
3.4 Charakterizace nanočástic stříbra a jimi funkcionalizované tkaniny.....	33
3.5 Testování uvolňování stříbra při mechanickém namáhání tkaniny v roztoku.....	33
4 Výsledky a diskuse.....	35
4.1 Příprava nanočástic stříbra a jejich charakterizace.....	35
4.2 Mercerace bavlněné tkaniny a její funkcionalizace nanočásticemi stříbra.....	36
4.3 Kinetika uvolňování stříbra při mechanickém namáhání v roztoku.....	41
4.4 Vliv stárnutí vzorku na kinetiku uvolňování stříbra.....	45
5 Závěr.....	47
6 Summary.....	48
7 Literatura.....	49
8 Seznam použitých zkratk.....	60
9 Přílohy.....	61

1 Úvod

Koloidní soustavy, tedy systémy tvořené částicemi o velikosti od 1 nm do 1 μ m rozptýlenými v disperzním prostředí, jsou lidstvu známy již dlouhou dobu. Ve staré Číně a Egyptě se koloidní disperze sazí, zemin a minerálů používaly jako inkousty. V Evropě byl již v raném novověku používán sol zлата k výrobě míšeňského porcelánu a červeného skla. Avšak teprve nové instrumentální metody, jako např. optická spektroskopie, elektronová mikroskopie nebo nukleární magnetická rezonance, vyvinuté v první polovině 20. století, umožnily vznik nanotechnologií, prudce se rozvíjejícího oboru zabývajícího se strukturami, které mají aspoň v jednom rozměru velikost 1–100 nm.^{1,2}

Kovové stříbro nebylo v dějinách používáno pouze jako platidlo nebo k výrobě šperků, ale první zmínky o využívání jeho antimikrobiálních vlastností pochází z doby před 6 000 lety.³ Používalo se k výrobě lékařských nástrojů a nádob k uchování vody i potravin, které se pak méně kazily. Rovněž stříbrné soli našly využití v léčbě popálenin, vředů a infikovaných ran.⁴ Samotné nanočástice stříbra (AgNPs), za které jsou považovány částice o velikosti 1 až 100 nm, pak byly už před rokem 1900 používány ve fotografii, lékařství a jako pigmenty.^{2,5} Postupně byly objeveny jejich další unikátní vlastnosti díky nimž jsou dnes předmětem intenzivního výzkumu a nacházejí stále širší uplatnění v analytice, nanokatalýze, senzorech, transportu léčiv, léčbě nádorů, tištěné elektronice a zejména v antimikrobiální úpravě produktů používaných v lékařství, průmyslu i běžných domácnostech.^{6–12}

Přesný princip antimikrobiálních účinků AgNPs je stále předmětem výzkumu, byla však navržena a pozorována řada možných mechanismů jejich interakce s živými organismy. Soudí se však, že nejvýznamnější z nich je vazba Ag^+ iontů na funkční skupiny biomolekul, která vede ke ztrátě jejich biologické funkce a tím k porušení metabolismu a buněčné smrti.^{13,14} Postupné rozpouštění AgNPs ve vodném prostředí je proto nezbytné, avšak nadměrné uvolňování Ag^+ nebo i celých nanočástic je silně nežádoucí. Postupná ztráta antimikrobiálních účinků stejně jako snaha o jejich zlepšení používáním nadměrného množství stříbra představují ekonomický problém.^{15–17} Nespecifičnost účinků AgNPs na živé organismy pak vede k obavám zejména o zdraví člověka. Jejich cytotoxické účinky již byly potvrzeny u modelových organismů

i lidských buněčných linií. Mnohem komplexnější problematiku pak představuje další osud AgNPs po vypuštění do životního prostředí, kde hrozí jejich akumulace v řasách a zooplanktonu a odtud vstup do potravního řetězce. Zde mohou toxicky působit zejména na vodní organismy, které jsou vůči jejich účinkům obzvláště citlivé. Studium metod depozice AgNPs na pevné substráty a kinetiky jejich uvolňování je proto důležitou a aktuální oblastí výzkumu.^{18,19}

Cílem této práce je funkcionalizovat bavlněnou tkaninu pomocí AgNPs. K tomu byla vybrána metoda *ex situ* imobilizace AgNPs připravených metodou termálně indukované redukce využívající polymer s větvenou strukturou polyethylenimin (PEI), který slouží zároveň jako elektrostérický stabilizátor. AgNPs jsou pak na tkaninu imobilizovány prostřednictvím PEI, který se adsorbuje na její povrch a vytváří zde polymerní matici, v níž jsou nanočástice ukotveny. Při použití srovnatelných metod bylo podle literatury dosaženo žádaných antibakteriálních účinků u vzorků s obsahem Ag 50–150 mg/kg tkaniny.^{20,21} Oproti tomu publikované *in situ* metody používají k dosažení stejných antibakteriálních účinků o jeden až dva řády vyšší množství Ag a nebyly zde proto studovány.^{22,23} Hlavním cílem práce pak bylo studovat kinetiku uvolňování stříbra z takto modifikované tkaniny při jejím mechanickém namáhání v roztoku a zejména to, jak je tato kinetika ovlivněna mercerací bavlny, počátečním obsahem stříbra, složením a teplotou pracovního roztoku, dobou praní a stárnutím vzorku.

2 Teoretická část

2.1 Disperzní soustavy

Disperzní soustavy, zkráceně disperze, jsou tvořeny částicemi (*disperzní podíl*) rozptýlenými ve spojitém *disperzním prostředí*. Podle velikosti částic se dělí do tří skupin, mezi kterými neexistuje ostrý přechod. *Analyticky disperzní soustavy* s částicemi menšími než 1 nm jsou homogenní roztoky nízkomolekulárních látek. *Koloidně disperzní soustavy* jsou tvořeny částicemi o velikosti od 1 nm do 1 μm, což přibližně odpovídá rozlišovací schopnosti nejlepších optických mikroskopů. *Hrubě disperzní soustavy* pak tvoří částice větší než 1 μm. Podle tvaru částic se disperzní soustavy dělí na *globulárně disperzní*, které jsou tvořeny částicemi o přibližně stejné velikosti ve všech rozměrech, *fibrilárně disperzní*, jejichž částice mají tvar tyčinek nebo vláken a *laminárně disperzní*, které obsahují částice tvaru destiček.¹

Soustavy, v nichž průměrná odchylka od střední velikosti částic nepřesahuje 10 %, se nazývají *monodisperzní*, jejich opakem jsou soustavy *polydisperzní*. Statistické rozdělení částic podle velikosti je popsáno distribuční funkcí, nejvhodnější je lognormální distribuční funkce:

$$f_i(\ln d_i) = \frac{1}{\ln \sigma_g \sqrt{2\pi}} \exp \left[-\left(\frac{1}{2} \right) \left(\frac{\ln d_i - \ln \bar{d}_g}{\ln \sigma_g} \right)^2 \right], \quad (1)$$

kde d_i je velikost částice, \bar{d}_g je geometrický průměr velikosti částice a σ_g je jeho odchylka.^{1,24}

V případech, kdy je vhodné soustavu charakterizovat jediným číslem, lze použít index polydisperzity definovaný následující rovnicí:

$$PDI = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} - 1 \geq 0, \quad (2)$$

kde \bar{M}_w je hmotnostní průměr získaný z rozptylu světla, \bar{M}_n je početně průměrná molární hmotnost získaná osmometricky. Pro ideálně monodisperzní soustavu je *PDI* roven nule. Takové soustavy jsou však v praxi vzácné a proto jsou za monodisperzní považovány soustavy s $PDI \leq 0,1$ a za polydisperzní soustavy s $PDI > 0,1$.²⁵

2.2 Koloidně disperzní soustavy

Koloidně disperzní soustavy jsou tvořeny částicemi o velikosti od 1 nm do 1 μm

rozptýlenými v disperzním prostředí. Dělí se do tří skupin na lyofobní, lyofilní a asociativní koloidy. *Lyofobní disperze* jsou heterogenní soustavy, ve kterých jsou disperzní prostředí a podíl odděleny ostře vymezeným fázovým rozhraním. Jsou nestálé a nejsou-li stabilizovány samovolně zanikají. *Lyofilní koloidy* jsou naopak homogenní soustavy vzniklé samovolným rozpouštěním makromolekul. Díky tomu jsou termodynamicky stabilní. *Asociativní koloidy* jsou tvořeny útvary koloidní velikosti (micelami) vznikajícími samovolnou asociací povrchově aktivních látek (PAL) v roztoku. Nemají jasně vymezené fázové rozhraní, protože mezi micelami a rozpuštěnými molekulami PAL se ustavuje dynamická rovnováha.^{1,24}

2.2.1 Kinetické vlastnosti

V důsledku chaotického termického pohybu dochází v koloidních soustavách k velkému množství srážek částic disperzního podílu s molekulami disperzního prostředí. Protože se nárazy z různých stran běžně navzájem nevykompenzují, pohybují se částice po složité trajektorii. Toto chování je po svém objeviteli označeno jako Brownův pohyb.²⁶ Příмым projevem Brownova pohybu je samovolný pohyb částic ve směru koncentračního gradientu nazývaný difuze. Difuzi lze popsat pomocí I. Fickova zákona stacionární difuze, podle něhož je difuzní tok přímo úměrný koncentračnímu gradientu. Koeficientem úměrnosti je tzv. difuzní koeficient D_i , pro který Einstein odvodil vztah:

$$D_i = \frac{k_B T}{f_i} , \quad (3)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta, T je termodynamická teplota a f_i je koeficient tření, jehož hodnota roste se zvětšující se velikostí částice. Ze vztahu (3) tedy vyplývá, že s rostoucí velikostí částic rychlost difuze klesá.¹

Je-li roztok oddělen od čistého rozpouštědla semipermeabilní membránou, začne rozpouštědlo v důsledku snahy o vyrovnání svých chemických potenciálů procházet skrz membránu do roztoku a ředit ho. Jeho průchod je možné zastavit tím, že se nad roztokem vytvoří přetlak nazývaný osmotický tlak. Pro jeho velikost platí vztah:

$$\pi = v \frac{RT}{N_A} , \quad (4)$$

kde v je počet částic v jednotce objemu, R je univerzální plynová konstanta a N_A je Avogadrova konstanta. Velikost osmotického tlaku je přímo úměrná objemu částic, pro dva koloidní systémy lišící se pouze poloměrem částic r platí:

$$\frac{\pi_1}{\pi_2} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{r_2^3}{r_1^3} . \quad (5)$$

Osmózu využívají separační metody jako ultrafiltrace nebo dialýza, které umožňují oddělení koloidních částic od nízkomolekulárních látek.²⁴

Sedimentace je usměrněný pohyb částic v důsledku působení silového pole. V případě, že se jedná o gravitační pole, ustavuje se v systému rovnováha mezi gravitační silou (F_{grav}), která působí ve směru pohybu částice, a proti pohybu částice působící vztlakovou (F_{vztlak}) a třecí silou ($F_{\text{tření}}$):

$$F_{\text{grav}} = F_{\text{vztlak}} + F_{\text{tření}} . \quad (6)$$

Pro rovnovážnou sedimentační rychlost kulové částice v gravitačním poli pak platí:

$$v = \frac{2r^2(\rho - \rho_0)g}{9\eta} , \quad (7)$$

kde ρ a ρ_0 je hustota částic respektive disperzního prostředí, g je gravitační zrychlení a η je dynamická viskozita prostředí. Rychlost sedimentace tedy roste s druhou mocninou poloměru částic. Koloidní částice o velikosti do 100 nm jsou většinou stabilizovány difuzí, která působí proti sedimentaci, a jsou tedy sedimentačně stálé.²⁴

2.2.2 Optické vlastnosti

Při průchodu elektromagnetického záření koloidní soustavou dochází k jeho interakci s disperzními částicemi. To vede k zeslabení jeho intenzity v důsledku absorpce a rozptylu na částicích. Absorpce kvanta elektromagnetického záření vede ke změně elektronických stavů molekul částic a přeměňuje se na jejich tepelnou energii. Absorbance A je Lambert-Beerovým zákonem definována jako:

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

kde I je intenzita záření prošlého látkou, I_0 je intenzita záření dopadajícího na látku, ϵ je absorpční koeficient, c je koncentrace látky a d je tloušťka absorbující vrstvy.^{1,24}

Při rozptylu světla se molekuly rozptylující látky polarizují účinkem kmitajícího elektrického pole procházejícího záření. Tím se vytváří indukované oscilující dipóly, které jsou zdrojem rozptýleného záření o stejné vlnové délce. Ve stejnorodém prostředí se světlo šíří pouze primárním směrem, protože ostatní rozptýlené paprsky se podle Huygensova principu interferencí vruší. V nestejnorodém prostředí za podmínky rozdílného indexu lomu disperzních částic a prostředí není záření těchto dipólů

kompenzováno a lze pozorovat rozptyl světla do všech směrů. Rozptyl světla na kulových dostatečně vzdálených částicích o velikosti $d \leq \lambda/20$, kde λ je vlnová délka použitého záření, kvantitativně popsal Rayleigh. Pro intenzitu nepolarizovaného rozptýleného záření platí:

$$\left(\frac{I}{I_0}\right) = \frac{1}{r^2} \left[\frac{16\pi^4 R^6}{2\lambda^4} \left(\frac{n_{rel}^2 - 1}{n_{rel}^2 + 2}\right)^2 (1 + \cos^2 \theta) \right] = \frac{1}{r^2} R_\theta, \quad (9)$$

kde r je vzdálenost od detektoru, R je poloměr částice, n_{rel} je relativní index lomu, θ je úhel, pod kterým je sledováno rozptýlené záření, a R_θ je Rayleighův poměr. Intenzita rozptylu tedy roste s šestou mocninou velikosti koloidních částic, pro částice velikostí srovnatelné s λ a větší však tato mocnina postupně klesá.^{1,24}

Při použití koherentního zdroje záření (laseru) dochází v určitých směrech k interferenčnímu skládání rozptýleného záření. Časové kolísání intenzity rozptýleného záření je ovlivněno difuzním pohybem, jehož rychlost je závislá na velikosti částic. Toho ke stanovení velikostní distribuce využívá metoda dynamického rozptylu světla (DLS).²⁴

2.2.3 Stabilita částic a agregace

Stabilita částic je jejich schopnost bránit se změně struktury, disperzity nebo velikostní distribuce. Pokud neexistuje energetická bariéra, která by agregaci bránila, dochází v koloidních soustavách při náhodném přibližování částic k jejich spontánnímu spojování ve větší agregáty. V systémech s vodným prostředím lze agregaci zabránit stabilizací elektrickou dvojvrstvou. Podle Sternova modelu jsou k iontům na povrchu částice přitahovány protiionty z roztoku, které tvoří dvě vrstvy. Kompaktní Sternova vrstva těsně u povrchu částice je tvořena protiionty vázanými adsorpčními silami. Protiionty difuzní vrstvy jsou pak ve větší vzdálenosti vázány elektrostatičnými silami. Při pohybu vůči prostředí se kompaktní vrstva protiiontů pohybuje spolu s částicí. Rozhraní, které je odděluje od nepohyblivé části, se nazývá pohybové rozhraní a potenciál na jeho povrchu se nazývá ζ -potenciál. Ten je zodpovědný za interakci s vnějším elektrickým polem včetně coulombického odpuzování s ostatními částicemi. Za stabilní jsou považovány elektrostatičky stabilizované soustavy, pro jejichž ζ -potenciál platí $|\zeta| \geq 30$ mV. Charakter elektrické dvojvrstvy je silně závislý na iontovém složení roztoku a stabilitu částic tak lze snadno ovlivnit přidávkem soli nebo

změnou pH.^{1,24}

Stérická stabilizace je založena na pokrytí povrchu částic vrstvou lyofilního polymeru nebo PAL. Řetězce makromolekul mají odpor vůči vzájemnému pronikání a stlačování a tím zabraňují přibližování částic. Při použití makromolekul o velmi vysoké molekulové hmotnosti se ale může stát, že se jedna makromolekula adsorbuje na povrchu více částic a tím je k sobě bude přitahovat. To je principem tzv. můstkové flokulace, které se v průmyslu používá k separaci jinak obtížně odstranitelných koloidních částic z roztoků. Na rozdíl od elektrostatické stabilizace, stérická stabilizace je účinná ve vodném i organickém prostředí a je velmi málo ovlivněná iontovým složením roztoku. Rovněž flokulace takto stabilizovaných disperzí je často vratná, což neplatí pro koagulaci v disperzích stabilizovaných elektrickou dvojvrstvou.¹

2.3 Depozice nanočástic stříbra na pevné substráty

Metody přípravy nanočástic pro jejich depozici na pevné substráty lze rozdělit na *ex situ* a *in situ*. Při *ex situ* metodách jsou nanočástice připraveny ve formě koloidní disperze a až poté jsou imobilizovány na substrát. Při *in situ* metodách nanočástice vznikají přímo na povrchu nebo i uvnitř substrátu.²⁷

2.3.1 *Ex situ* metody přípravy nanočástic stříbra

Metody přípravy lyofobních koloidů lze rozdělit na kondenzační a dispergační. Při kondenzačních metodách se koloidní částice vytvářejí z pravého roztoku. Toho lze docílit přeměnou látky rozpustné na nerozpustnou chemickou reakcí nebo snížením rozpustnosti látky změnou teploty, tlaku nebo složení rozpouštědla.²⁴ Naopak dispergační metody jsou založeny na rozměňování makroskopických objektů nebo hrubě disperzních částic vynaložením mechanické práce při mletí nebo působením ultrazvuku a nebo odtrháváním a současně odpařováním materiálu z povrchu pevné fáze a následnou kondenzací vlivem elektrického proudu při elektrickém rozprašování nebo působením laserového paprsku při laserové ablací.^{1,24}

Nejpoužívanější metodou přípravy nanočástic stříbra (AgNPs) je chemická redukce stříbrné soli (Ag^+). Běžné jednoduché redukční činidlo je tetrahydridoboritan sodný (NaBH_4). Podle původního postupu se AgNPs připravují přidáním roztoku AgNO_3 do roztoku obsahujícího nadbytek NaBH_4 za prudkého míchání a chlazení ledem. Takto

připravené AgNPs mají velikost 1–10 nm.²⁸ Je-li naopak přidáván roztok NaBH₄ do roztoku AgNO₃ dochází k okamžitému srážení vznikajících nanočástic. Nadbytek NaBH₄ má významný vliv na množství i velikostní distribuci vznikajících AgNPs. Při použití molárního poměru NaBH₄ : AgNO₃ = 0,5 byl pozorován pouze nevýrazný absorpční pás u 400 nm svědčící o velmi malém množství utvořených AgNPs. S poměrem reakčních komponent 2–5 byl absorpční pás výraznější, ale také široký v důsledku agregace nanočástic. Při poměru 10–15 byl pás úzký a intenzivní. Toto chování se vysvětluje stabilizujícím účinkem NaBH₄, který disociuje na borátové anionty a ty se adsorbují na povrchu AgNPs. Podobně se projevuje i rostoucí koncentrace stabilizátoru dodecylsírany sodného (SDS) přidaného do roztoku NaBH₄.^{29,30} Pro přípravu AgNPs o velikosti desítek nm je tato metoda obtížně kontrolovatelná, malé nanočástice připravené redukcí borohydridem však lze použít jako zárodky pro růst větších nanočástic s použitím slabšího redukčního činidla, např. kyseliny askorbové.³¹

AgNPs lze připravit i přímou redukcí Ag⁺ kyselinou askorbovou za laboratorní nebo zvýšené teploty. Velikost nanočástic je řádově v desítkách nanometrů, přičemž menší AgNPs vznikají při vyšším pH. Jejich polydisperzitu lze snížit zahříváním na 100 °C po dobu 2 hod., kdy se změní jejich tvar na sférický zatímco velikost zůstane stejná. Takto připravené nanočástice je nutné stabilizovat proti agregaci např. citrátem nebo polymerními látkami jako jsou např. polyvinylalkohol (PVA), polyvinylpyrrolidon (PVP) nebo Daxad 19.^{32–34}

Dalším významným redukčním činidlem je citrát sodný. AgNPs lze připravit jeho přidáním do roztoku AgNO₃ za varu. Polydisperzní primární nanočástice o velikosti 60–80 nm vznikly během prvních 2 min reakce, udržováním směsi za varu po dobu 90 min se postupně vytvořily poměrně monodisperzní AgNPs o velikosti 27 nm.^{35,36} Citrát vytváří komplexy s Ag⁺ ionty i s povrchy vznikajících nanočástic, čímž je stabilizuje proti agregaci a zároveň řídí jejich růst mechanismem Ostwaldova zrání, což je růst větších částic na úkor rozpouštění menších částic v polydisperzní soustavě. Takto připravené AgNPs jsou poměrně velké s dobře vyvinutou krystalovou strukturou.³⁷

K životnímu prostředí šetrnou alternativní metodou přípravy AgNPs je použití sacharidů a polymerů jako redukčních činidel i stabilizátorů. Nanočástice pokryté molekulami amylosy, které byly stabilní vůči agregaci i po několika měsících, byly

připraveny redukcí roztoku AgNO_3 rozpustným škrobem v autoklávu při teplotě $121\text{ }^\circ\text{C}$ a tlaku 15 psi po dobu 5 min. Takto získané nanočástice měly průměr 10–34 nm.³⁸ Použitím rozpustného škrobu jako stabilizátoru a glukosy jako redukčního činidla při zahřívání na teplotu $40\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 20 hod. byly získány srovnatelně stabilní ale menší AgNPs o velikosti 1–8 nm.³⁹ Sulfonované polysacharidy představují, i díky zápornému náboji svých funkčních skupin, efektivní elektrostérické stabilizátory. Příkladem je heparin, který byl použit k přípravě AgNPs redukcí AgNO_3 při $70\text{ }^\circ\text{C}$.^{40,41} Kromě přírodních polymerů se používají rovněž syntetické. Jednokrokovou hydrotermální redukcí AgNO_3 větveným polyethyleniminem (PEI) při teplotách 100 až $140\text{ }^\circ\text{C}$ byly připraveny AgNPs o velikosti 20–30 nm. Bylo zjištěno, že takto funkcionalizované nanočástice mají díky protonaci aminoskupin PEI kladný náboj.⁴² Reducí AgNO_3 polyethylenglykolem (PEG) při $80\text{ }^\circ\text{C}$ byly připraveny stabilní AgNPs o velikosti 8–10 nm.⁴³ Použitím PEG jako stabilizátoru a glukosy jako redukčního činidla při $45\text{ }^\circ\text{C}$ byly získány AgNPs o velikosti od 11 do 25 nm závislé na době reakce.⁴⁴

Také modifikovaná Tollensova metoda využívá redukující mono- a disacharidy jako redukční činidla. Tato metoda je založena na redukcí stabilního komplexu $\text{Ag}[\text{NH}_3]_2^+$, který vzniká smícháním roztoků AgNO_3 a NH_3 díky vysoké afinitě Ag^+ iontů k amoniaku. Velikost takto připravených částic závisí na pH reakční směsi, přičemž při nižším pH vznikají menší AgNPs s nižším indexem polydisperzity. Také s klesající koncentrací NH_3 (z 0,2 na $0,005\text{ mol/dm}^3\text{ NH}_3$) klesá velikost částic ze stovek nm na hodnoty kolem 50 nm při redukcí glukosou, galaktosou nebo xylosou. Nejmenší AgNPs o velikosti 25 nm byly připraveny redukcí maltosou při pH 11,5. Při použití fruktosy neklesla velikost částic pod 100 nm.^{45,46}

Při redukcí stříbrné soli působením UV záření je vlastním redukčním činidlem radikál vzniklý z molekuly organické látky v důsledku fotochemické reakce vyvolané absorpcí fotonu. Příkladem je ketylový radikál vytvořený reakcí propan-2-olu s excitovaným acetonem nebo reakcí methoxypolyethylen glykolu (MPEG) s produkty fotolýzy vody. Charakter nanočástic je ovlivněn přítomností stabilizátoru v reakční směsi, používají se polymerní látky jako PEI, PVP, polyakrylát sodný (PAA) nebo polyfosforečnan. Také MPEG slouží zároveň jako stabilizátor. Takto připravené AgNPs mají intenzivní a úzký absorpční pás a jejich rozměry se pohybují v rozmezí 7–15 nm. V současnosti jsou metody přípravy AgNPs založené na účincích UV záření používány

zejména při *in situ* syntézách.^{47–49}

Laserová ablace je moderní fyzikální metoda přípravy AgNPs. Jejím principem je odpařování terče, který je vyroben z velmi čistého stříbra a je umístěn v roztoku, krátkými laserovými pulzy.⁵⁰ Velikost i velikostní distribuce nanočástic je ovlivněna vlnovou délkou použitého laseru. Experimentálně bylo prokázáno, že zatímco při použití vlnové délky 1 064 nm vznikaly AgNPs velikosti 29 ± 13 nm, při použití 355 nm laseru došlo k tvorbě částic o velikosti 12 ± 8 nm a zlepšení monodisperzity systému.⁵¹ Kromě vlnové délky použitého zdroje záření je charakter nanočástic také ovlivněn dobou trvání pulzu. Pulzy o délce 8 ns jsou výrazně účinnější a připravené sférické AgNPs byly menší (27 nm) ovšem s širší velikostní distribucí a byly přítomny i velké částice (>100 nm). Při použití 120 fs pulzů vznikaly AgNPs nepravidelného tvaru o průměrné velikosti 41 nm s užší distribucí.⁵² Výhodou této metody je možnost připravit „čistý“ koloid bez dalších reagentů. Na druhou stranu přidání dalších látek do roztoku představuje další možnost ovlivnění charakteru vznikajících AgNPs. Například přítomnost chloridů ve vodném roztoku při ablaci zvyšuje účinnost procesu a umožňuje přípravu menších částic. Bohužel právě přítomnost chloridů také snižuje agregátní stabilitu vznikajících částic. Ozařováním roztoku po vyjmutí stříbrného terče je možné zlepšit monodisperzitu připraveného koloidu, protože dochází k fragmentaci velkých částic po absorpci laserových pulzů.⁵³

2.3.1.1 Imobilizace nanočástic stříbra

Ex situ připravené AgNPs mohou být následně imobilizovány na pevné substráty různými metodami. Vhodnou metodou pro imobilizaci AgNPs na celou řadu substrátů, např. titanových implantátů nebo polystyrenu, je pokrytí jejich povrchu tenkou vrstvou hydrogelu připraveného *in situ* foto- nebo elektrochemickou polymerací. Hydrogel je tvořen trojrozměrnou sítí hydrofilního polymeru schopnou absorbovat z roztoku velké množství vody a s ní i nanočástic.^{54, 55}

Další univerzální metoda imobilizace nanočástic na povrchu rozličných substrátů je plazmová polymerace. Při ní je plazmou iniciována polymerace allylaminu a povrch se pokryje tenkou vrstvou kladně nabitého polyallylaminu. Na tuto vrstvu se pak elektrostaticky adsorbují AgNPs pokryté záporně nabitým stabilizátorem, např. citrátem nebo merkaptosukcinátem.^{56, 57}

Pro polymerní substráty, např. polyethylentereftalát (PET), lze použít i plazmovou aktivaci povrchu. Při ní dochází použitím plazmy k štěpení řetězců polymeru na povrchu, čímž se vytvářejí reaktivní místa, na která se prostřednictvím dithiolu navážou AgNPs.^{58, 59}

Pro skleněné substráty se nejčastěji používá silanizace, tj. metoda založená na pokrytí povrchu vrstvou alkoxyasilanu, který se na něj váže za vzniku kovalentní vazby povrch-O-Si-alkoxyasilan. K imobilizaci AgNPs se používají alkoxyasilany s koncovými thiol- nebo aminoskupinami, ke kterým má Ag vysokou afinitu.^{30, 60}

Na tkaniny lze použít metodu Pad-dry-cure (PDC). Proces sestává ze tří kroků. Nejprve je tkanina ponořena do koloidu a následně vyždímána definovaným tlakem (padding). Poté je vysušena, pro bavlnu se používá teplota 70–80 °C, umělé tkaniny se suší při 100 °C (drying). Posledním krokem je několikaminutová termální fixace při 120–160 °C v případě bavlny nebo 170–190 °C pro umělé tkaniny (curing). Metoda PDC se neomezuje pouze na výzkumné použití, ale je rozšířena i v průmyslu, kde se používá k modifikaci tkanin nanomateriály a reaktivními barvivy. V průmyslovém měřítku je tkanina kontinuálně protahována lázní, lisem, sušárnou a pecí.^{61–63}

2.3.2 *In situ* metody

Nejjednodušší metodou používanou k *in situ* přípravě AgNPs je ponoření substrátu do roztoku stříbrné soli nebo Tollensova činidla a redukce stříbra přidáním běžného redukčního činidla nebo UV zářením. Tato metoda je vhodná pro substráty schopné absorbovat Ag⁺ ionty z roztoku, typicky tkaniny,⁶⁴ nebo pro substráty s velkým povrchem, na který se mohou Ag⁺ ionty adsorbovat, jako jsou skleněné filtry,⁶⁵ polystyrenové mikrosféry⁶⁶ nebo různé nanostruktury.⁶⁷ Celulosa nebo polyamid obsažené v řadě textilií mohou rovněž sloužit jako redukční činidla.^{68, 69}

Univerzální metodou je pokrytí povrchu substrátu redukčním polymerem, nejčastěji polydopaminem, jehož tenký film se snadno vytvoří selfpolymerací dopaminu oxidovaného kyslíkem. Redukce stříbra, která probíhá po ponoření modifikovaného povrchu do roztoku Ag⁺ soli, může být urychlena UV zářením.^{70, 71}

Pro kovové materiály, jako jsou elektrody nebo titanové implantáty, se používá elektrodepozice, při které jsou AgNPs generované na povrchu objektu připojeného do obvodu jako pracovní elektroda redukcí Ag⁺ z roztoku elektrickým proudem.^{72, 73}

Významnou fyzikální metodou používanou pro skleněné substráty je litografie. Jejím principem je vakuová depozice čistého Ag odpařovaného elektronovým paprskem. Povrch substrátu přitom chrání litografická maska, např. měděná mřížka pro transmisní elektronový mikroskop (TEM) nebo monovrstva latexových kuliček, která brání vytvoření jedolité vrstvy stříbra.^{74, 75}

2.4 Bavlina

Bavlina se získává z tobolek rostlin rodu *Gossypium* (bavlník), z více než 50 druhů je s 90 % osázené plochy nejrozšířenější *G. hirsutum* L. (bavlník srstnatý). Je to jedna z nejvýznamnějších surovin textilního průmyslu, komerčně se pěstuje ve více než 60 zemích tropické a subtropické oblasti (např. Indie, Čína, USA, Pákistán) a obchoduje se s ní ve více než 150 zemích.^{76, 77}

2.4.1 Struktura a vlastnosti bavlny

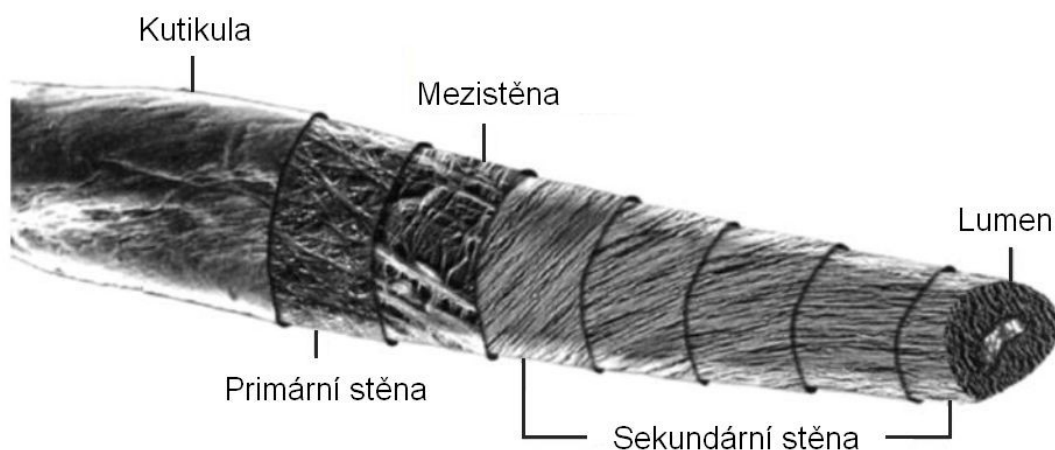
Bavlina je tvořena jednobuněčnými vlákny složenými z několika soustředných vrstev (Obr. 1). Kutikula je vnější vrstva, kterou lze od zbytku vlákna oddělit. Je tvořena voskem a pektinem, které zajišťují impregnaci a mechanickou ochranu vlákna. Ostatní vrstvy jsou tvořeny převážně celulosou. Primární stěna je původní buněčná stěna, mezistěna je tvořena fibrilami svírajícími s osou vlákna úhel 40° až 70°, sekundární stěna tvoří většinu objemu vlákna a lumen je dutý kanálek probíhající po celé délce vlákna.^{78, 79}

Chemické složení vlákna je závislé na stádiu růstu, během něhož se zvyšuje obsah celulosy a klesá obsah ostatních složek. Sušina plně vyvinutého vlákna obsahuje 94,0 % celulosy, 1,3 % proteinů, 1,2 % pektinu, 0,6 % vosku, 1,2 % minerálních solí a 1,7 % dalších látek.⁸⁰

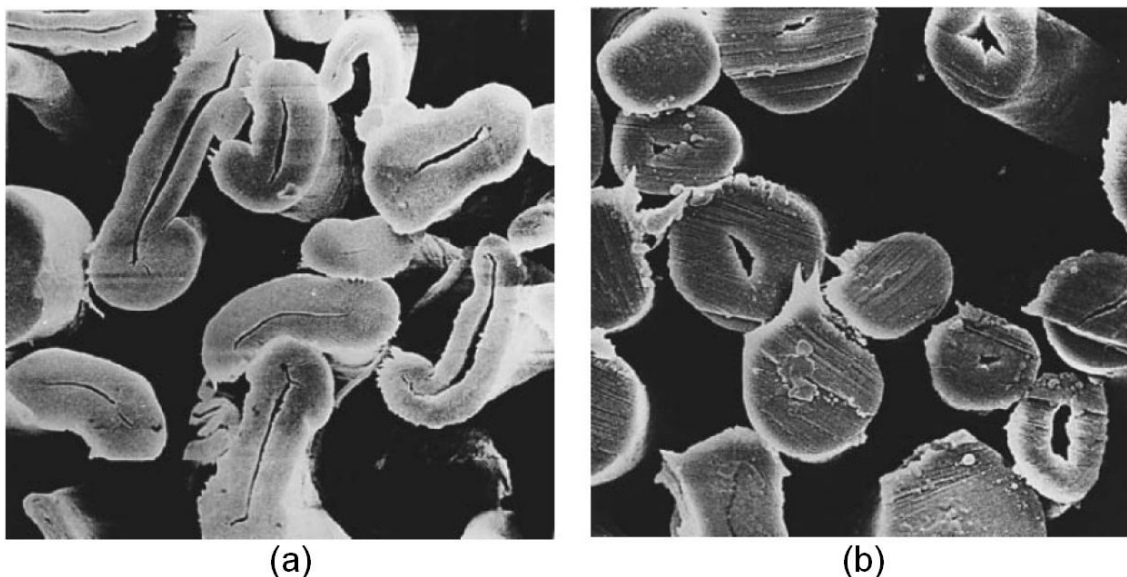
Hlavní složkou bavlny je celulosa, lineární polysacharid složený z jednotek D-glukosy spojených β -1-4-glykosidovou vazbou. V přírodní bavlně se vyskytuje v krystalické formě I, která může být převedena na formu II procesem zvaným mercerace.⁸¹ Při něm je bavlna na určitou dobu ponořena do studeného koncentrovaného roztoku NaOH (20–25 wt%) a poté je promyta.⁸² Celulosa I je tvořena paralelně uspořádanými řetězci spojenými intermolekulárními vodíkovými vazbami O2-H...O6.⁸³ V celulose II jsou antiparalelně uspořádaná vlákna propojená sítí vodíkových vazeb

O2-H...O2, O6-H...O6, O2-H...O6 a O6-H...O2.⁸⁴ Meziproduktem při merceraci je Na-celulosa I, ve které jsou hydroxylové vodíky nahrazeny atomy Na. Vznik objemných O-Na skupin vede k zániku vodíkových můstků a k oddálení řetězců. Na⁺ ionty jsou na konci vymyty vodou a vytvoří se nová krystalová struktura II.⁸⁵

Při merceraci se ireverzibilně změní i struktura celých vláken, původně zploštělý průřez se změní na téměř kruhový (Obr. 2), původně spirálovitě stočená vlákna se narovnejí a v důsledku nabobtnání se celá tkanina srazí. Mercerací dojde ke zlepšení



Obr. 1 Struktura vlákna bavlny.⁷⁹



Obr. 2 Snímek průřezu vláken bavlny ze skenovacího elektronového mikroskopu. (a) Přírodní; (b) mercerovaná bavlna.⁹⁵

makroskopických vlastnosti jako je pevnost, hebkost a lesk, tak i vlastností chemických. Mercerovaná bavlna více absorbuje vlhkost a snáze reaguje s ve vodě rozpustnými látkami, zejména barvivy. Průběh mercerace je ovlivněn mnoha faktory včetně stáří vláken v době sklizně a v průmyslu je proto nutné stupeň mercerace kontrolovat, většinou mikroskopicky obrazovou analýzou, případně spektroskopicky v blízké IR oblasti.^{82, 86} Dalším polymorfem je celuloza III, která vzniká působením kapalného amoniaku na celulosu I (poté se značí III₁) nebo II (III₂). Působením tepla na celulosu III₁ a III₂ dále vzniká celuloza IV₁ a IV₂. Všechny tyto formy mohou být převedeny zpět na původní celulosu.^{87, 88}

Další proces významně ovlivňující vlastnosti a složení bavlny je bělení. Přírodní bavlna bývá zbarvena nejčastěji odstíny šedé nebo hnědé. To je způsobeno nejen přirozeným obsahem vosků, proteinů a pektinů, ale také syntetickými látkami z hnojiv a insekticidů a ionty některých kovů jako například železo či měď.⁷⁹ Cílem bělení je oxidace těchto látek na bezbarvé produkty. Nejpoužívanějším bělicím činidlem je peroxid vodíku. Hlavní nevýhody jeho použití jsou velká spotřeba chemikálií a hrozící poškození vláken zejména v přítomnosti kovových iontů, které katalyzují rozklad peroxidu na vodu a molekulární kyslík, který sám nemá bělicí účinek, ale poškozuje vlákna bavlny.^{89, 90} Jako hlavní alternativa šetrná k vláknům i životnímu prostředí se proto k bělení používají enzymy peroxidasy, lakasy a glukosa oxidasy.^{91, 92} Bělená bavlna obsahuje kolem 99 % celulosy a díky odstranění povrchové vrstvy vosku lépe sají vodu.⁸²

Z hlediska chemické reaktivity lze celulosu snadno hydrolyzovat kyselinami, se kterými tvoří ve vodě rozpustné cukry. Na druhou stranu je ale odolná vůči oxidačním činidlům a silným zásadám. Hydroxid sodný ji může za laboratorní teploty hydrolyzovat při koncentracích nad 17,5 wt%, ale s rostoucím stupněm polymerace a koncentrací celulosy její rozpustnost prudce klesá.^{93, 94}

2.4.2 Metody deposice *ex situ* připravených nanočástic stříbra na bavlnu

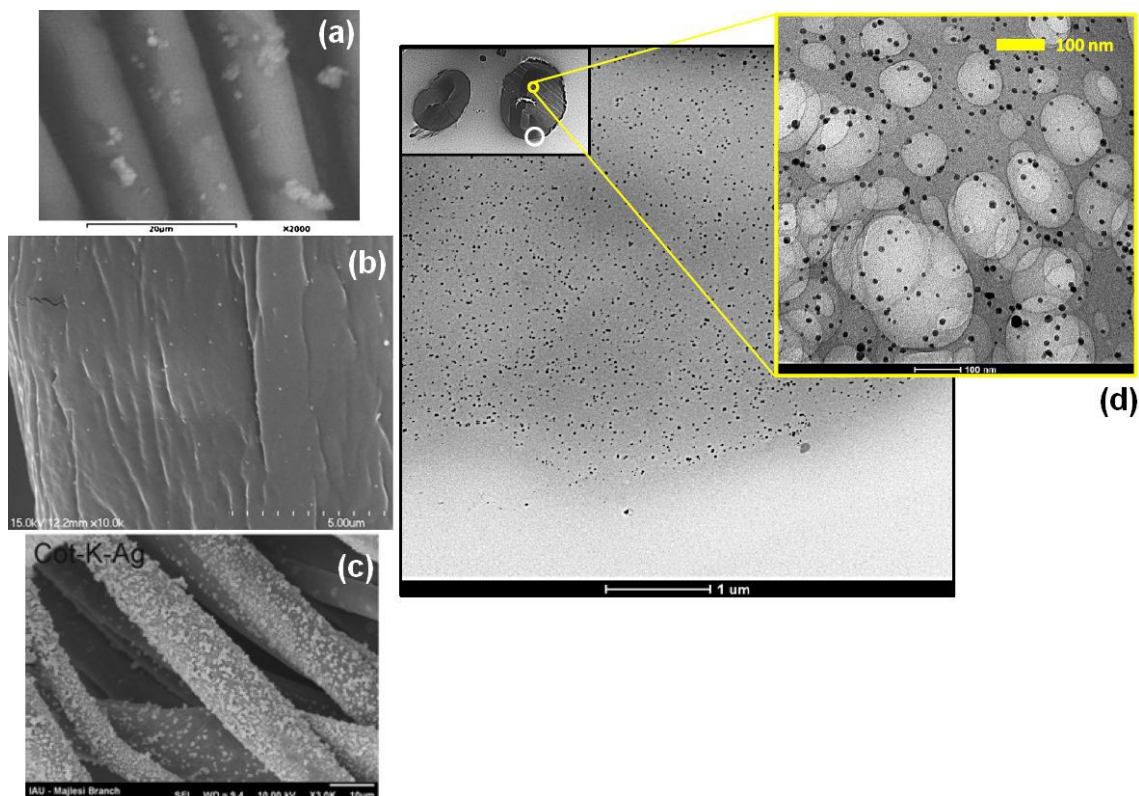
Při *ex situ* metodách jsou nanočástice připraveny ve formě koloidní disperze a poté jsou imobilizovány na bavlnu. Nejdostupnější a také nejpoužívanější látky sloužící ke stabilizaci a imobilizaci AgNPs na bavlněné tkaniny jsou polysacharidy. Díky jejich redukčním vlastnostem obvykle není nutné používat další redukční činidla, čímž se

výrazně zjednodušuje celý proces. Škrob byl použit jako stabilizační a krystalizační činidlo při přípravě hexagonálních AgNPs redukcí borohydridem a kyselinou askorbovou. Nanočástice pak byly na tkaninu nanесeny prostým ponořením do koloidního roztoku a následným vysušením.⁹⁶ Podobným způsobem byly na tkaninu imobilizovány nanočástice připravené přímo redukcí AgNO₃ roztokem škrobu hydrolyzovaného hydroxidem sodným při teplotě 70 °C (Obr. 3-a).⁶² Obdobně byly AgNPs připraveny redukcí dalšími polysacharidy alginátem a xanthanem. V těchto případech byla imobilizace na tkaninu provedena metodou PDC.^{63,97}

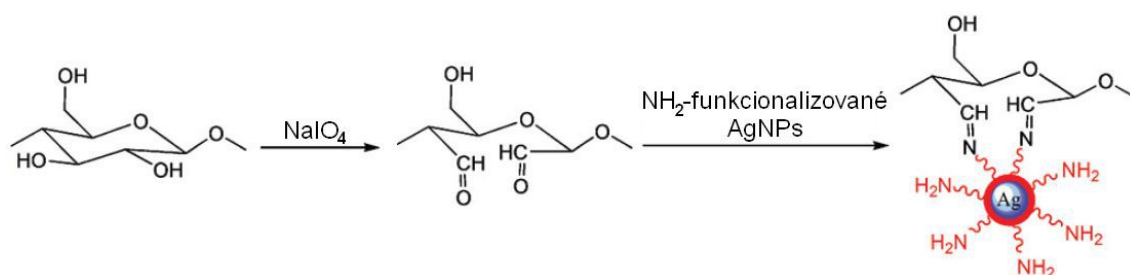
Obzvláště vhodným polysacharidem je chitosan, derivát chitinu. Mezi jeho nejvýznamnější vlastnosti patří antimikrobiální aktivita a velká kapacita pro tvorbu silných komplexů s ionty kovů. Díky tomu se hodí nejenom k přímé redukcí iontů stříbra,⁹⁸ ale lze jím také funkcionalizovat jinak připravené nanočástice a ty pak jeho prostřednictvím na tkaninu navázat⁹⁹ a nebo je možné nejprve tkaninu chitosanem pokrýt a následně na ni nanočástice imobilizovat ponořením tkaniny do jejich disperze.²¹

V menší míře bylo studováno i užití syntetických polymerů. Použití kopolymeru β-cyklodextrinu a polyakrylové kyseliny navázaného na tkaninu přes epichlorhydrin nebo sulfonovaného β-cyklodextrinu navázaného přes ethylendiamintetraoctovou kyselinu představuje mnohem náročnější metody, které však nevedly ke zlepšení sledovaných vlastností.^{100,101}

Zhang et al. výše uvedený postup zjednodušili použitím redukčního větveného polymeru s koncovými aminoskupinami (HBP-NH₂) vlastní přípravy. Stabilní nanočástice o velikosti kolem 18 nm s malým stupněm polydisperzity byly připraveny přidáním roztoku AgNO₃ po kapkách do roztoku HBP-NH₂ za prudkého míchání při laboratorní teplotě. Depozice na bavlněnou tkaninu byla provedena jejím ponořením do takto připravené disperze (Obr. 3-b).¹⁰² Významné vylepšení představuje oxidace bavlny jodistanem sodným při 40 °C. Jodistan sodný štěpí dioly cykloadiční oxidací za vzniku aldehydů, zde štěpí vazbu mezi C2 a C3 D-glukosy. Nanočástice připravené podobně jako v předchozím případě byly na povrch pevně navázány chemickou reakcí aminoskupin polymeru s aldehydickými skupinami (Obr. 4). Vliv oxidace na pevnost tkaniny byl minimální a navíc je celý proces šetrný k životnímu prostředí.²⁰ Stejným způsobem byl později použit i protein sericin.¹⁰³



Obr. 3 Snímky AgNPs na povrchu a uvnitř vláken bavlny. (a) SEM snímek nepravidelně rozmístěných agregátů nanočástic připravených redukcí alkalicky hydrolyzovaným škrobem;⁶² (b) SEM snímek rovnoměrně rozmístěných nanočástic připravených redukcí polymerem HBP-NH₂;¹⁰² (c) SEM snímek povrchu vláken hustě pokrytých velkým množstvím nanočástic připravených *in situ* redukcí kyselinou askorbovou v celulóse aktivované hydroxidem draselným;¹¹⁶ (d) TEM snímek příčného řezu vláknem zobrazující rovnoměrně rozložené sférické nanočástice.¹²³



Obr. 4 Schéma oxidace D-glukosy jodistanem sodným za vzniku dvou aldehydických skupin a následné navázání NH₂-funkcionalizovaných AgNPs.²⁰

Dále byla navržena řada „zelených“ metod, které používají polymery získané přímo z organického materiálu. Jedná se o rostlinné extrakty obsahující ve vodě rozpustné polysacharidy pocházející z listů rostlin, např. *Cassia roxburghii* DC.,¹⁰⁴ nebo mořských řas.¹⁰⁵ Použít lze i rozmačkanou rostlinnou hmotu, např. z byliny *Erigeron annuus* L.

(turan roční).¹⁰⁶ Použita byla i arabská guma, což je přírodní pryskyřice z rostliny *Acacia senegal* (akácie senegalská).¹⁰⁷ Patří sem i biosyntéza, která využívá filtrát biomasy, většinou hub, např. *Aspergillus terreus* (kropidlák zemní).^{108, 109}

Odlišný způsob depozice nanočástic na tkaninu představují metody využívající tisk. Bera et al. navrhli metodu použití pasty z PVA, isopropanolu a AgNO₃, ve které je stříbro redukováno radikály vzniklými radiolýzou po ozáření zdrojem γ -záření. Pasta je poté natištěna na tkaninu jako běžný potisk.¹¹⁰ Instrumentálně jednodušší metody používají jako součást pasty redukční polymery, například PEG¹¹¹ nebo karboxymethylcelulosu.¹¹²

2.4.3 *In situ* metody přípravy nanočástic stříbra na bavlně

Při *in situ* metodách lze použít běžná jednoduchá redukční činidla jako kyselina askorbová,¹¹³ citrát,¹¹⁴ butylamin,¹¹⁵ NaBH₄ nebo lecitin,⁶⁸ která se přidají do roztoku AgNO₃, ve kterém je bavlněná tkanina ponořena. Množství stříbrných iontů absorbovaných tkaninou se často zvyšuje její aktivací v roztoku alkalického hydroxidu, při níž jsou vodíky hydroxylových skupin celulosy nahrazeny atomy alkalického kovu, které jsou po ponoření do roztoku stříbrné soli snáze nahrazeny atomy Ag (Obr. 3-c).¹¹⁶

Často jsou však využívány i redukční vlastnosti samotné celulosy, která redukuje Tollensovo činidlo¹¹⁷ nebo stříbrné ionty za varu,^{68, 118} zvýšené teploty^{119, 120} a po několika dnech ve tmě i za laboratorní teploty.¹²¹ Pro usnadnění redukce se zde rovněž používá alkalické prostředí a jako druhé redukční činidlo a zejména stabilizátor glukosa, bez které vznikají v roztoku a na povrchu vláken větší polydisperznější nanočástice tvořící agregáty.¹²² Také mercerace vede rovnoměrnějšímu pokrytí povrchu monodisperznějšími nanočásticemi.¹²¹

U výše uvedených *in situ* metod se předpokládá, že nanočástice vznikají v celém objemu vláken. Velikostní distribuci částic přítomných přímo v roztoku lze studovat metodami DLS nebo TEM a pokrytí povrchu vláken zase skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM). Tyto metody jsou poměrně jednoduché a jejich výstupy jsou součástí většiny publikací. Naopak pro pozorování nanočástic uvnitř vláken je potřeba pro TEM připravit příčné řezy vláken o tloušťce kolem 100 nm. Příprava těchto řezů je výrazně náročnější a proto se téměř neprovádí. Tímto způsobem byl u metody *in situ* redukce Tollensova činidla kyselinou askorbovou v mercerované bavlněné tkanině

potvrzen výskyt sférických nanočástic rovnoměrně rozložených v celém průřezu vlákna (Obr. 3-d).¹²³

I u těchto metod lze použít redukční polymery. Ty mohou být buď přidány přímo do reakční směsi s roztokem stříbrné soli a tkaninou, příkladem je škrob,¹²⁴ nebo mohou tkaninu nejprve pokrýt tenkým filmem, zde je příkladem tvorba polydopaminového filmu v alkalickém prostředí,²² a nebo může být polymerace monomeru adsorbovaného na povrchu vláken vyvolána až jeho oxidací stříbrnými ionty jako v případě tvorby polypyrrolu.¹²⁵

Rovněž HBP-NH₂ byl nedávno použit i k *in situ* syntéze AgNPs upraveným postupem, při kterém byla bavlna nejprve oxidována jodistanem, poté funkcionalizována polymerem a následně ponořena do roztoku AgNO₃, což vedlo k tvorbě komplexů stříbra s aminoskupinami polymeru. Redukce Ag⁺ iontů pak byla vyvolána ponořením do vroucí vody.²³

Také „zelená“ redukční činidla jsou v menší míře používána i při *in situ* syntézách. Zde se jedná hlavně o *Keliab* což je popel ze spálených listů rostliny *Seidlitzia rosmarinus*¹²⁶ a o extrakty z listů různých rostlin, například *Eucalyptus citriodora* (Blahovičnick citroníkový) a *Ficus bengalensis* (Fíkovník banyán).¹²⁷

Redukci lze vyvolat i ozařováním vzorku. V roztoku AgNO₃ a propan-2-olu, do kterého je ponořena bavlněná tkanina, vznikají po ozáření elektronovým paprskem isopropylvé radikály se silnými redukčními účinky.¹²⁸ Další možností je fotoredukce stříbra UV zářením na tkanině, která byla předem namořena do roztoku AgNO₃ a vysušena. Tato metoda je instrumentálně jednodušší, její průběh je snadno kontrolovatelný a postupně narůstající nanočástice jsou uniformně rozloženy na povrchu.¹²⁹ Při *in situ* metodách používajících tisk je redukce Ag⁺ v tiskové pastě iniciována až po jejím natištění na tkaninu. K tomu se používá lze použít například UV záření.¹³⁰

2.4.4 Srovnání metod depozice nanočástic stříbra na bavlnu

Nejpoužívanější metody pro stanovení obsahu stříbra v bavlněných tkaninách jsou atomová absorpční a emisní spektrometrie (AAS a AES), pro které se vysušené vzorky rozkládají nebo luhují nejčastěji v kyselině dusičné. U vzorků s vysokým obsahem stříbra se někdy jako přibližná metoda používá termogravimetrická analýza (TGA).

Obsah stříbra se nejčastěji vyjadřuje v miligramech Ag na kilogram sušiny substrátu (mg/kg) a při vysokém obsahu stříbra také v hmotnostních procentech (wt%).^{63, 103, 121, 127} Množství stříbra uvolněného při namáhání do roztoku je většinou příliš malé na to aby se dalo přímo změřit a proto se obvykle destruktivně stanovuje jeho obsah ve vzorku, který prošel stanoveným počtem pracích cyklů.⁹⁷

Uvolňování stříbra ze substrátu se očekává zejména při domácím praní a při kontaktu s tělními tekutinami. Jako modelová prostředí se proto používají hlavně roztoky komerčních mýdel,¹¹² pracích prášků¹¹⁹ a detergentů,¹³¹ pro lepší porovnatelnost výsledků byly navrženy standardní metody, např. AATCC Test Method 61-1996 používá standardní detergent i pračku, ve které se vzorek pere s ocelovými kuličkami při 49 °C po stanovenou dobu, čímž je simulován různý počet cyklů běžného domácího praní.²³ K napodobení tělních tekutin se používá obyčejný fyziologický roztok (0,9% NaCl)¹²⁷ i sofistikovanější solné roztoky, např. umělý pot.¹⁰⁹ V jiných oborech je široce používána tzv. simulovaná tělní tekutina (simulated body fluid, SBF).¹³²

Komerčně dostupné textilní produkty (oblečení, vybavení domácnosti, chirurgické roušky...) obsahují nejčastěji řádově jednotky až desítky mg/kg tkaniny, vzácněji pak i stovky až tisíce mg/kg.^{15, 133, 134} Množství stříbra na substrátu u výše uvedených *ex situ* metod se většinou pohybuje v rozmezí 50 až 150 mg/kg a lze ho do jisté míry ovlivnit koncentrací disperze, ve které je imobilizace prováděna.^{20, 21} *In situ* metody vedou k mnohem vyššímu množství stříbra běžně od 500 do 50 000 mg/kg.^{22, 23} Velký vliv zde má aktivace substrátu alkalickými hydroxidy, při použití LiOH vzroste obsah Ag asi 10× a s NaOH nebo KOH asi 30×.¹¹⁶ Pokud redukce probíhá přímo v roztoku Ag⁺, roste obsah Ag i s časem a teplotou.¹¹⁹

Z hlediska kinetiky uvolňování stříbra do roztoku jsou publikované metody jen obtížně porovnatelné. Na vině jsou rozdíly v gramáži a chemické úpravě tkaniny i odlišné teploty a doby trvání pracích cyklů stejně jako složení pracích roztoků a také chybějící informace o rozložení stříbra mezi povrch a objem vláken. V řadě publikací je také obsah Ag uváděn v neporovnatelných jednotkách (μg/cm²)¹¹⁰ nebo je studováno pouze složení povrchu, např. metodou skenovací elektronové mikroskopie s rentgenovou mikroanalýzou (SEM/EDS)¹³¹ a nebo není obsah stříbra uveden vůbec.¹⁰⁸ Nejnadějněji se jeví použití redukčního polymeru HBP-NH₂ v kombinaci s oxidací celulosy jodistanem sodným. Při *in situ* přípravě zůstalo po 30 simulovaných cyklech

běžného domácího praní na substrátu 88 % původního množství stříbra.²³ Při *ex situ* uspořádání to bylo 85 %, ale ve stejně připraveném vzorku bez oxidace jodistanem zbylo pouze 20 % původního Ag.²⁰

Rovněž porovnatelnost výsledků antibakteriálních testů je omezená z podobných příčin jako je tomu u kinetiky uvolňování Ag.^{97, 109, 120} U většiny vzorků připravených *ex situ* metodami byla naměřena bakteriální redukce (R) ≥ 99 % před praním a stále ≥ 90 % i po poklesu obsahu Ag na zhruba polovinu původního množství, což většinou odpovídá několika desítkám pracích cyklů. Výrazně horší byly pouze metody používající biosyntézu nebo tisk, u kterých redukce poklesla na ~ 50 %.^{63, 102, 108, 112}

Vzorky s *in situ* připravenými nanočásticemi i přes řádově větší obsah stříbra nepřinášejí z hlediska bakteriální redukce žádné zlepšení. Použití glukosy jako redukčního činidla a stabilizátoru dokonce snižuje redukci na ~ 50 % pravděpodobně proto, že pro bakterie představuje snadno dostupnou živinu. K nejlepším výsledkům vedla redukce stříbra polydopaminovým filmem, takto připravené vzorky měly R = 99,99 % i po 30 pracích cyklech, ovšem zřejmě pouze díky obsahu ohromného množství stříbra řádově v jednotkách wt%.^{22, 114, 118, 122}

2.5 Aplikace nanočástic stříbra

Mezi hlavní oblasti aplikace AgNPs patří analytika, nanokatalýza, senzory, transport léčiv, léčba nádorů, tištěná elektronika a zejména antimikrobiální úprava produktů používaných v lékařství, průmyslu i běžných domácnostech.⁶⁻¹² Nejvýznamnější aplikace jsou dále diskutovány v samostatných kapitolách.

2.5.1 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie

Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) a povrchem zesílená rezonanční Ramanova spektroskopie (SERRS) jsou analytické metody vibrační spektroskopie. Jejich principem je zesílení Ramanova signálu zvýšením indukovaného dipólového momentu analytu při jeho přiblížení nebo adsorpci na vhodný povrch. Hlavní podíl má elektromagnetická složka zesílení způsobená ohromným lokálním polem v blízkosti povrchu v důsledku povrchové plasmonové resonance, což je koherentní oscilace vodivostních elektronů povrchových atomů při interakci s oscilujícím elektromagnetickým polem dopadajícího záření. V případě SERRS, kde dochází

k adsorpci analytu na povrch, se uplatňuje i slabší chemické zesílení, které je ovlivněno silou vazby a přenosem náboje mezi analytem a povrchem.^{135, 136}

Při použití excitačního laseru s vlnovou délkou ve viditelné oblasti jsou vhodným materiálem povrchu ušlechtilé kovy včetně stříbra. Lepšího zesílení než při použití hladkého nebo zdrsňeného povrchu lze dosáhnout využitím AgNPs a to zejména těch anisotropních, jako jsou nanotyčinky a triangulární destičky, kolem jejichž hran a rohů se vytváří silnější lokální pole.^{137, 138} Díky možnosti detekce pikomolárních až femtomolárních koncentrací našly SERS a SERRS použití v diagnostice, analýze životního prostředí a řadě dalších analytických oblastí.⁶

2.5.2 Katalyzátory a senzory

Díky velkému podílu povrchových atomů a velkému specifickému povrchu použitelnému pro adsorpci jsou AgNPs využívány jako efektivní a ekonomické heterogenní katalyzátory. AgNPs musí být imobilizovány na vhodném nosiči, který umožní jejich oddělení od reakční směsi a opětovné použití. Tím může být např. vláknitá struktura, amorfni křemen nebo jiný nanomateriál. Pozornost si získalo použití polymerních krystalů se zakotvenými nanočásticemi Fe_3O_4 které je možné magneticky recyklovat. Mezi běžně katalyzované reakce patří redukce nitroarenů nebo dehydrogenace kyseliny mravenčí. Katalytická aktivita podle očekávání klesá s rostoucí velikostí AgNPs.^{7, 68, 139, 140}

Povrchových vlastností se využívá také v elektrochemických senzorech. Typickým příkladem je neenzymatický senzor H_2O_2 , kde AgNPs deponované na elektrodě slouží jako elektrokatalyzátor redukce H_2O_2 , jehož koncentrace je pak vypočítána z hodnoty procházejícího proudu. Na stejném základu funguje i enzymatický senzor glukosy. Zde je na AgNPs navíc imobilizován enzym glukosaoxidas, který katalyzuje oxidaci glukosy za vzniku glukonolaktonu a H_2O_2 , jehož koncentrace je stanovena stejně jako v předchozím případě a následně přepočítána na koncentraci glukosy.⁸

2.5.3 Moderní elektronika

Kovové stříbro je ideálně kujné a tažné a má také nejlepší elektrickou i tepelnou vodivost ze všech prvků.¹⁴¹ Vodivé inkousty obsahující řádově desítky wt% stříbra se používají v tištěné elektronice, fotovoltaice a optoelektronice, kde je nutná flexibilita

obvodů nebo je limitující vysoká cena křemíkových čipů. Například transparentní vodivý inkoust obsahující AgNPs o velikosti 20 ± 5 nm stabilizované PAA byl získán vysrážením nanočástic z vodné disperze přidavkem ethanolu a následnou centrifugací. Po natištění na vhodný substrát, nejčastěji sklo, jsou AgNPs roztaveny žháním při teplotách kolem 200 °C. Teplota žhání je však limitující pro použití některých substrátů, zejména plastů. Jako perspektivnější se proto jeví používání obtížněji připravitelných AgNPs o velikosti <10 nm, které mají mnohem nižší teplotu tání.^{11, 142} Studována je rovněž příprava vodivých textilií modifikací přírodních i umělých tkanin pomocí AgNPs pro tzv. „chytré“ aplikace.^{143, 144}

2.5.4 Antimikrobiální aplikace

Ze skupiny antimikrobiálních účinků jsou nejlépe prostudovány účinky antibakteriální. Jejich přesný mechanismus je stále předmětem výzkumu. Sice už byla navržena řada možných cest, kterými může Ag s bakteriemi interagovat, ale doposud nebyla žádná z nich empiricky potvrzena. Nicméně se dnes všeobecně soudí, že výsledná antibakteriální aktivita je výsledkem společného působení více mechanismů. Za hlavní jsou většinou považovány účinky Ag^+ iontů, které se ve vodném prostředí uvolňují z povrchu oxidovaných nanočástic. Tyto ionty ochotně a neselektivně tvoří vazby zejména s organickými thioley, fosfáty a aminy, v nichž nahrazují vodíkové atomy.^{13, 145} Tyto funkční skupiny jsou přitom součástí nukleových kyselin, proteinů i kofaktorů. Komplexy Ag s nukleovými kyselinami blokují transkripci a translaci. Vazbou Ag na membránové proteiny dochází k blokování membránového transportu, dýchacího řetězce i syntézy ATP. Stejným způsobem jsou poškozovány i intracelulární strukturální proteiny a enzymy. Toto současné porušení mnoha metabolických drah je pak považováno za hlavní příčinu buněčné smrti.^{14, 146, 147}

Další příčinou poškozování buněčných struktur včetně membránových lipidů je tvorba reaktivních forem kyslíku (ROS), které působí jako silná oxidační činidla.¹⁴⁸ Ačkoli ROS mohou vznikat ve vodě fotooxidací za přítomnosti katalyzátoru, např. právě stříbra,¹⁴⁹ předpokládá se, že příčinou vzrůstu jejich koncentrace je spíše poškození regulačních drah, které kontrolují jejich přirozenou tvorbu a odbourávání.¹⁵⁰

Za důkazy klíčového významu Ag^+ iontů jsou považovány pozorované antibakteriální účinky roztoků stříbrných solí, vyšší antibakteriální aktivita systémů

obsahujících menší nanočástice, o kterých je známo, že uvolňují Ag^+ rychleji¹⁵¹ a naopak prudký pokles aktivity nanočástic připravených pod inertní atmosférou, protože k oxidaci povrchu nanočástic je potřeba atmosférický O_2 rozpuštěný ve vodě.¹⁵² Stejně tak antibakteriální aktivita klesá i v prostředí obsahujícím látky schopné srážet (S^{2-}) nebo komplexovat (humínové kyseliny) Ag^+ ionty.^{153, 154}

Samotné nanočástice tvořené stříbrem v oxidačním stavu Ag^0 tak pravděpodobně slouží hlavně jako zásobníky iontů, které postupnou oxidací uvolňují do prostředí. Při tzv. efektu Trojského koně AgNP vstoupí do buňky endocytózou a po rozpuštění uvnitř vypustí ohromné množství Ag^+ .¹⁵⁵ Popsány však byly i přímé interakce nanočástic, které měly neoxidovaný povrch, s buněčnými komponentami. Jejich interakce s chromozomy vedla k inhibici buněčného růstu¹⁵⁶ a interakce s membránami vedla k jejich perforaci, separaci od buněčné stěny a buněčné smrti.¹⁵⁷

Do kategorie antimikrobiálních účinků se dále řadí antifungální, antivirální a antiparazitické účinky. Ty jsou rovněž předmětem výzkumu, ačkoli prozatím zůstávají méně prostudované. Za základní princip jsou zde rovněž považovány interakce Ag^+ iontů s funkčními skupinami biomolekul. Byly prokázány jak účinky samotných AgNPs proti houbovým patogenům, tak i jejich synergie s běžnými léčivými.^{158, 159} AgNPs jsou rovněž účinné proti širokému spektru virových onemocnění, kdy mimo jiné díky interakcím s glykoproteinovými obaly a receptory brání množení virů i jejich vstupu do hostitelských buněk.^{160, 161} AgNPs jsou i nadějí pro léčbu parazitických onemocnění jako např. malárie, pro která i přes jejich velké rozšíření a vysokou úmrtnost pacientů stále nebyly nalezeny účinné léky.^{162, 163}

Antimikrobiálních účinků AgNPs se stále více využívá k antimikrobiální úpravě nejrůznějších výrobků.¹⁶ V lékařství se používají zejména k prevenci komplikací způsobených infekcí ran. Používají se k modifikaci např. chirurgických nástrojů a roušek,^{56, 134} stehů,¹⁶⁴ obvazů,⁶² krémů a mastí,¹⁶⁵ kostních i dentálních implantátů a cementu^{73, 166} nebo močových katetrů, které chrání i proti inkrustaci a ucpávání.¹⁶⁷ Dále se AgNPs používají k dezinfekci vody,¹⁶⁸ na ochranu vodních filtrů a filtračních membrán proti zarůstání mikroorganismy a řasami, které způsobují jejich ucpávání,^{169, 170} jako dezinfekční prostředek ve vzduchových filtrech, detergencích a kosmetice,¹² barvách¹⁷¹ a obalech potravin¹⁷² a k prevenci vzniku zápachu oblečení a dalších textilií v domácnostech způsobeného metabolismem bakterií.^{134, 173}

2.6 Toxicita nanočástic stříbra

Z nespecifity antibakteriálních účinků AgNPs vyplývá, že je možné očekávat i jejich toxicitu vůči vyšším organismům. Jejich efektivní využití v lékařství je tak možné jen díky tomu, že odolnost lidských buněk je mnohem větší, než je tomu u bakterií. I tak zde ale existuje omezení v podobě negativních účinků, které mohou převážit nad původně zamýšlenými pozitivními. Bylo například pozorováno, že stříbro uvolňující se z obvazových materiálů může působit cytotoxicky na lidské keratinocyty a fibroblasty a tím zpomalovat hojení ran a popálenin.^{165, 174, 175}

K *in vitro* studiu cytotoxických účinků na člověka se používají buněčné kultury,¹⁷⁶ *in vivo* testy používají pokusná zvířata, zejména myši, krysy, morčata a zebřičky (rybička *Danio rerio*).^{177, 178} Bylo však prokázáno, že lidské buňky jsou *in vivo* mnohem odolnější ve srovnání se zvířecími.¹⁷⁹

Míra cytotoxických účinků závisí nejenom na dávce, ale také na velikosti nanočástic a způsobu jejich vstupu do organismu. Při porovnání působení AgNPs o různých velikostech byly cytotoxické účinky vůči lidským plicním buňkám pozorovány pouze u nejmenších částic o velikosti 10 nm. Ve srovnání s částicemi jiných velikostí právě 10 nm částice patrně generovaly největší množství Ag⁺ za využití efektu Trojského koně.¹⁷⁶

Při nitrožilní aplikaci AgNPs jsou játra pravděpodobně hlavním místem jejich akumulace.¹⁸⁰ Při orálním podání se nejvíce akumulují ve střevech a žaludku, nalezeny však byly ve všech vyšetřovaných orgánech, tedy i v játrech, ledvinách, mozku, kůži, chlupích, slezině, očích, svalech, krvi, plicích, močovém měchýři, prostatě, jazyku, zubech, slinných žlázách, štítné žláze, příštítných tělískách, srdci, slinivce břišní a dvanácterníku. Vylučovány jsou pak žlučí a močí.¹⁸¹ Při vstupu pokožkou, zejména skrz velké otevřené rány, se sice částečně hromadí v kůži a mohou způsobovat argyrii (šedomodré zbarvení kůže), nicméně je tato cesta vstupu považována za méně toxickou, protože větší část nanočástic je pak vyloučena ve výkalech a neakumuluje v orgánech.^{182, 183} Obecně více akumulují menší nanočástice.¹⁸⁴ Na buněčné úrovni bývají častým cílem cytotoxických účinků mitochondrie. Navenek se toto poškození projevuje např. zánětlivými reakcemi,¹⁸⁵ dočasným nebo trvalým poškozením smyslových funkcí¹⁹ nebo poškozením plodu.¹⁸⁶

Zjištění, že ve srovnání se zdravými buňkami je cytotoxicita AgNPs vůči

rakovinným buňkám mnohem vyšší, působí nadějně. Byl např. pozorován silný inhibiční účinek AgNPs na růst rakovinných jaterních buněk (linie HepG2) a buněk akutní myeloidní leukémie.^{177, 187} Rovněž se jimi podařilo indukovat apoptózu buněk krysího gliomu.¹⁸⁸

Stále častější používání AgNPs v řadě produktů, ze kterých se uvolňují do prostředí ve formě nanočástic i iontů, spolu s jejich známými cytotoxickými účinky vede k obavám z možného negativního vlivu na životní prostředí.¹⁶ Za nejohroženější jsou považovány vodní organismy. AgNPs se mohou koncentrovat na řasách adsorpcí na jejich buněčné stěny. Podobně se předpokládá i jejich akumulace na exoskeletu zooplanktonu, stejně jako v epitelu jeho trávicího systému v důsledku konzumace řas. Odsud pak AgNPs mohou přes konzumenty zooplanktonu vstoupit do potravního řetězce.¹⁸ Dalším významným místem akumulace AgNPs z prostředí jsou rybí žábry, protože skrz ně proudí velké množství vody.¹⁸⁹

Podle *in vitro* studií jsou AgNPs nejtoxičtější pro korýše, prvoky a ryby.¹⁹⁰ Byla prokázána např. inhibice fotosyntézy jednobuněčné zelené řasy *Chlamydomonas reinhardtii*,¹⁹¹ neurotoxicita pro larvy zebřiček vedoucí k behaviorálním změnám,¹⁹² ale i toxicita pro reprodukci žížaly hnojní (*Eisenia fetida*)¹⁹³ nebo inhibice růstu klíčků a kořenového vlášení jílku mnohokvětého (*Lolium multiflorum*).¹⁹⁴

Reálné ekosystémy jsou však mnohem komplexnější a chemická forma Ag a s ní související dostupnost pro organismy je zřejmě silně závislá na řadě parametrů jako teplota, rychlost toku, koncentrace rozpuštěného kyslíku, solí i organických látek, z nichž řada navíc podléhá sezónním změnám.^{195–197}

3 Experimentální část

3.1 Materiály

Dusičnan stříbrný (AgNO_3 , p.a., PENTA), hydrogenfosforečnan didraselný (K_2HPO_4 , p.a., Lach-Ner), hydrogenuhličitan sodný (NaHCO_3 , p.a., Lach-Ner), hydroxid sodný (NaOH , p.a., Lach-Ner), chlorid draselný (KCl , p.a., Lach-Ner), chlorid hořečnatý hexahydrát ($\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, p.a., Lach-Ner), chlorid sodný (NaCl , p.a., Lach-Ner), chlorid vápenatý (CaCl_2 , p.a., Lach-Ner), kyselina dusičná (HNO_3 , $\geq 65\%$, p.a., Sigma-Aldrich), kyselina sírová (H_2SO_4 , 96%, p.a., Lach-Ner), peroxid vodíku (H_2O_2 , 30%, p.a., PENTA), polyethylenimin větvený ($\text{H}(\text{NHCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$, $M_w \sim 25\,000$, Sigma-Aldrich), síran sodný (Na_2SO_4 , p.a., Lach-Ner). 100% bavlněná bělená nemercerovaná tkanina gramáže 25 g/m^2 byla laskavě poskytnuta společností BATIST Medical, a.s. Při přípravě roztoků a promývání vzorků byla používána demineralizovaná voda připravená přístrojem AQUAL 29 (AQUAL, Česká republika).

3.2 Příprava disperze nanočástic stříbra

Disperze nanočástic stříbra (AgNPs) o obsahu stříbra 15 g/dm^3 byla připravena pomocí termálně indukované syntézy využívající redukční schopnost funkčních skupin rozvětveného polymerního řetězce polyethyleniminu (viz Bakalářská práce Soňa Gybasová, 2014). Tento polymer plní zároveň i stabilizační funkci.

3.3 Mercerace bavlněné tkaniny a její funkcionalizace nanočásticemi stříbra

Při merceraci byla bavlněná tkanina o hmotnosti 250 mg a rozměrech přibližně $4 \times 25 \text{ cm}$ napnuta v polypropylenovém (PP) rámečku a ponořena do 45 ml 20% NaOH na 10 min při laboratorní teplotě a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 200 rpm. Poté byla promývána vodou po dobu $4 \times 30 \text{ s}$ a $4 \times 2 \text{ min}$. Nemercerovaná tkanina byla na stejnou dobu pouze ponořena do demineralizované vody.

Následně byla mercerovaná nebo nemercerovaná tkanina ponořena do 45 ml disperze AgNPs o koncentraci od $10 \text{ } \mu\text{g/dm}^3$ do 1 g/dm^3 , připravené zředěním zásobní disperze AgNPs, na 30 min při laboratorní teplotě a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 200 rpm. Poté byla promývána vodou po dobu $3 \times 30 \text{ s}$, $3 \times 2 \text{ min}$ a po sejmutí z PP rámečku $3 \times 30 \text{ s}$. Vzorky byly po usušení na vzduchu chráněny před světlem

a prachem.

3.4 Charakterizace nanočástic stříbra a jimi funkcionalizované tkaniny

Stabilita disperze AgNPs byla po naředění na koncentraci Ag 8 mg/dm³ kontrolována měřením UV/VIS absorpčního spektra spektrofotometrem SPECORD S 600 (Analytik Jena, Německo). Velikost AgNPs v disperzi byla změřena metodou dynamického rozptylu světla (DLS) na přístroji 90Plus Particle Size Analyzer (Brookhaven Instruments Corporation, USA). Snímky nanočástic byly pořízeny transmisním elektronovým mikroskopem (TEM) JEOL 2010 HC (JEOL, USA). Vzorky byly připraveny odpařením malých kapek vodné disperze AgNPs na měděné mřížce pokryté uhlíkovou fólií.

Morfologie vláken modifikované bavlny byla studována skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM) SU 6600 (Hitachi, Japonsko). Obsah stříbra ve vzorcích byl stanoven atomovým absorpčním spektrometrem (AAS) contrAA 300 (Analytik Jena, Německo). 45 mg vzorku bylo sušeno 30 min při 105 °C a ihned zváženo pro stanovení hmotnosti sušiny. Poté byl vzorek vložen do 25 ml odměrné baňky a rozpuštěn postupným přidáním 0,5 ml konc. H₂SO₄, 0,5 ml konc. H₂O₂ a 0,5 ml konc. HNO₃. Po doplnění demineralizovanou vodou byla stanovena koncentrace Ag⁺ v roztoku. Obsah stříbra v bavlněné tkanině byl vypočítán podle vzorce:

$$c_{Ag}(mg/kg) = \frac{c_{Ag^+} \times 2,5 \times 10^4}{m_s}, \quad (10)$$

kde c_{Ag^+} (mg/dm³) je koncentrace Ag⁺ v roztoku, m_s (mg) je hmotnost sušiny.

3.5 Testování uvolňování stříbra při mechanickém namáhání tkaniny v roztoku

Pro posouzení vlivu mercerace bavlny a počátečního obsahu Ag byly vybrány mercerované a nemercerované substráty s počátečním obsahem Ag 58–201 mg/kg tkaniny. Z každého byl odebrán vzorek o hmotnosti 45 mg, který byl napnut v PP rámečku a ponořen do 150 ml demineralizované vody na 2 hod. při 60 °C a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 200 rpm.

K podrobnějšímu studiu kinetiky uvolňování Ag byly vybrány mercerované substráty s obsahem Ag 180 mg/kg. Aby bylo možné zároveň studovat vliv stárnutí substrátu byly následující testy provedeny opakovaně se vzorky starými 1, 14, 27

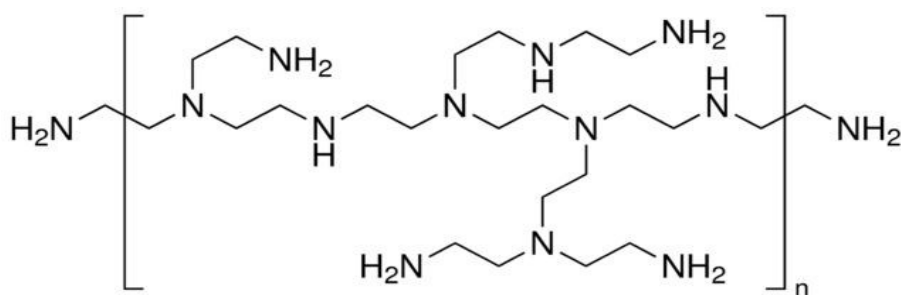
a 53 dní (počítáno od funkcionalizace pomocí AgNPs po začátek mechanického namáhání v roztoku). 2 vzorky o hmotnosti 45 mg byly napnuty do PP rámečků a zvlášť ponořeny do 150 ml demineralizované vody na 2 hod. při 60 °C a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 100 rpm. Další 2 vzorky pocházející ze stejného substrátu byly podrobeny stejnému namáhání opakovanému dvakrát a mezi jednotlivými cykly byly na 20 min umístěny do sušárny při 60 °C.

4 vzorky o hmotnosti 45 mg odebrané vždy ze stejného substrátu byly společně namočené do 50 ml demineralizované vody nebo čerstvě připraveného solného roztoku napodobujícího složení tělní tekutiny o obsahu 8,035 g/dm³ NaCl, 0,355 g/dm³ NaHCO₃, 0,225 g/dm³ KCl, 0,176 g/dm³ K₂HPO₄, 0,311 g/dm³ MgCl₂ · 6 H₂O, 0,292 g/dm³ CaCl₂ a 0,072 g/dm³ Na₂SO₄.¹³² Takto byly vzorky třepány za laboratorní teploty rychlostí 150 rpm. Z roztoku byly vzorky odebrány postupně po 2, 6, 24 a 48 hod. Všechny testované vzorky byly po ukončení namáhání vysušeny při laboratorní teplotě a byl stanoven obsah Ag.

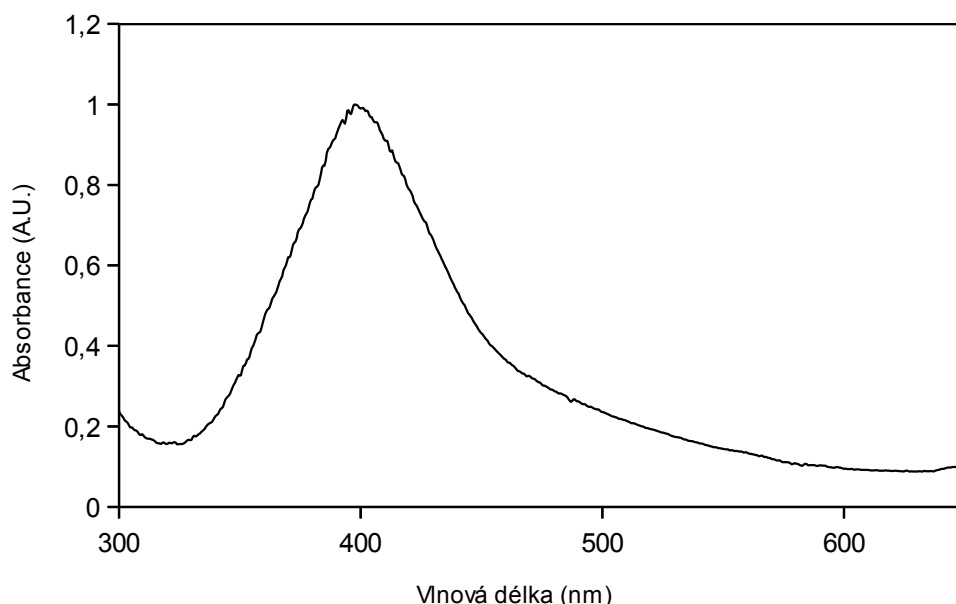
4 Výsledky a diskuse

4.1 Příprava nanočástic stříbra a jejich charakterizace

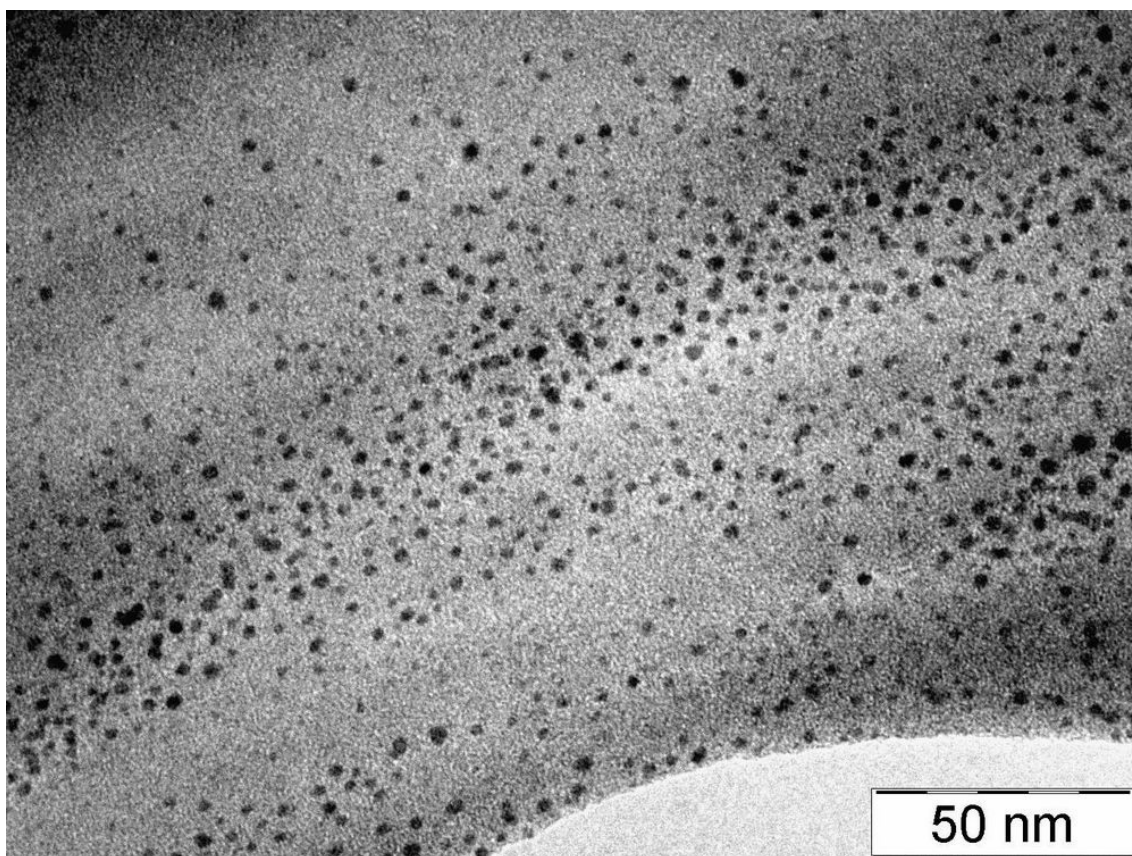
Nanočástice stříbra (AgNPs) byly připraveny jedнокrokovou redukcí roztoku AgNO_3 větveným polyethyleniminem (PEI) (Obr. 5), který sloužil zároveň jako redukční činidlo i elektrostérický stabilizátor. Disperze AgNPs měla hnědou a po zředění žlutou barvu. V absorpčním spektru (Obr. 6) je patrný jediný výrazný absorpční pás s maximem u 397,5 nm, což odpovídá přítomnosti částic stříbra výrazně menších než je vlnová délka použitého záření.²⁸ Metodou dynamického rozptylu světla (DLS) byla stanovena průměrná velikost nanočástic 6 ± 4 nm. Tento rozměr byl potvrzen pomocí snímků z transmisního elektronového mikroskopu (TEM) (Obr. 7).



Obr. 5 Struktura větveného polyethyleniminu.¹⁹⁸



Obr. 6 UV/VIS absorpční spektrum AgNPs připravených termicky indukovanou redukcí dusičnanu stříbrného v prostředí polyethyleniminu.



Obr. 7 TEM snímek AgNPs připravených termicky indukovanou redukcí dusičnanu stříbrného v prostředí polyethyleniminu.

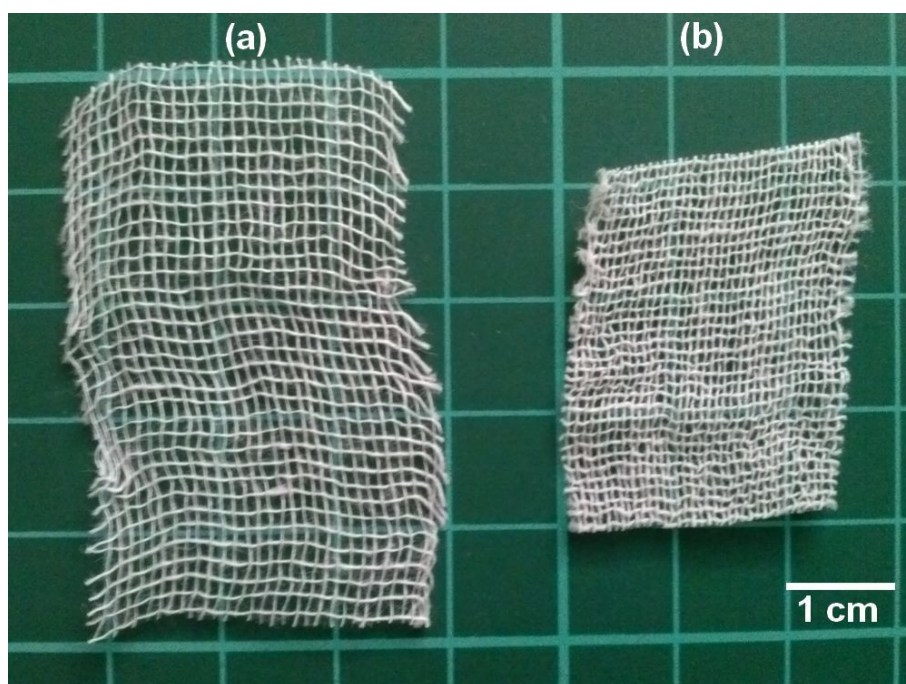
4.2 Mercerace bavlněné tkaniny a její funkcionalizace nanočásticemi stříbra

Při merceraci ponořením do 20% NaOH se bavlněná tkanina během několika vteřin srazila. Ve srovnání s nemercerovanou měla mercerovaná tkanina přibližně poloviční plochu, lépe si zachovávala tvar a méně se párala (Obr. 8). To je ve shodě s chováním popsaným v literatuře.^{82, 86} Na snímcích ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) (Obr. 9) je u mercerované bavlny patrný větší průměr nití i větší úhel, který svírají jednotlivá vlákna s osou nitě. Povrch vláken mercerované bavlny je také hladší než u nemercerované, u některých mercerovaných vláken je však patrné poškození, nejčastěji v podobě velké podélné rýhy.

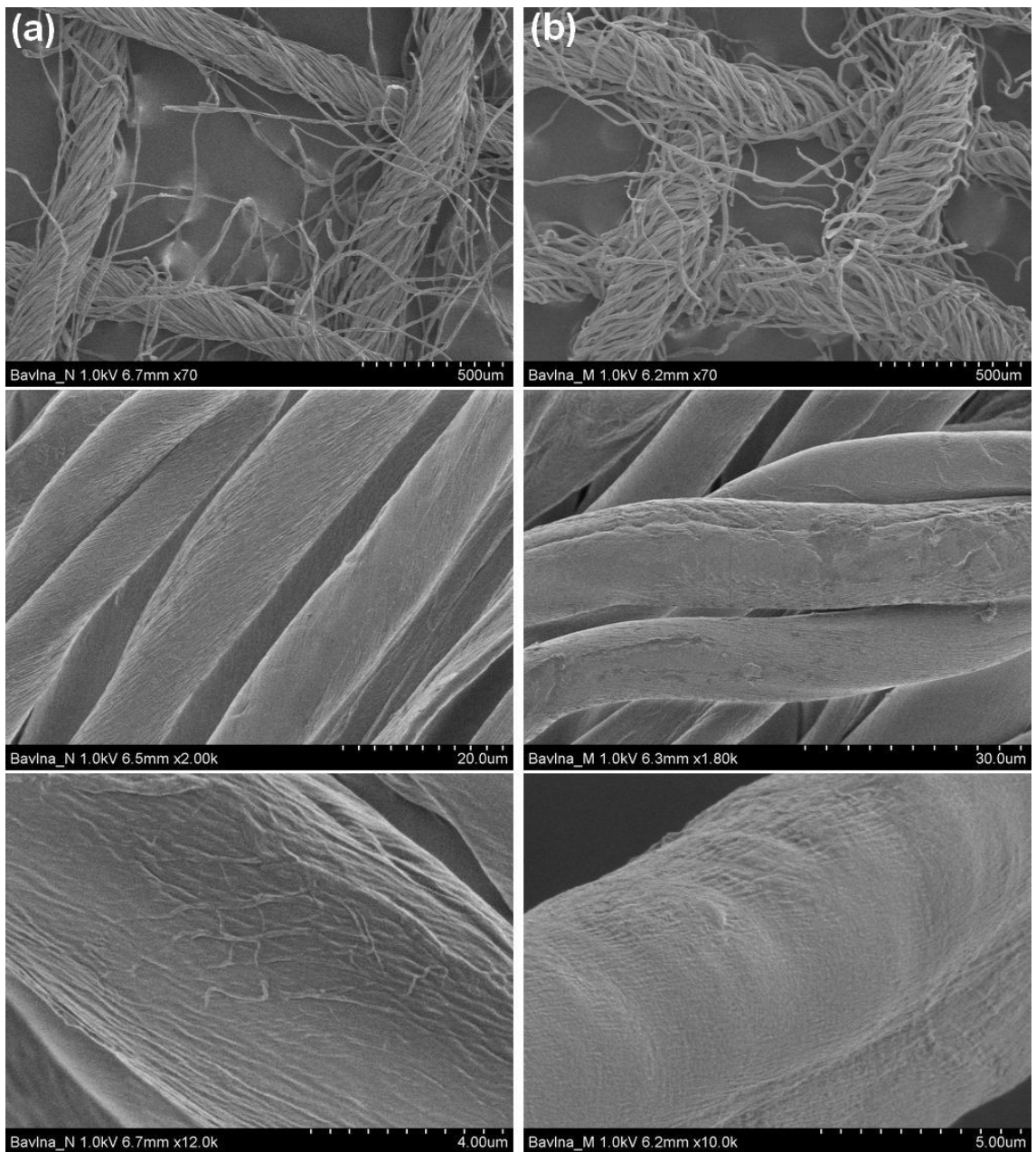
Nanočástice stříbra (AgNPs) byly na povrch tkaniny úspěšně adsorbovány jejím ponořením do koloidní disperze stříbra. Změna barvy původně bílé tkaniny po ponoření do méně koncentrovaných disperzí byla téměř nepozorovatelná (Obr. 10), při použití disperzí o koncentraci Ag řádově desítek mg/dm^3 už byly vzorky viditelně zažloutlé.

U ještě koncentrovanějších disperzí byla patrná tmavší barva mercerovaných vzorků, zejména tmavě hnědé zbarvení tkaniny ponořené do disperze o koncentraci 1 g/dm³. Na SEM snímcích je vidět, že nanočástice rovnoměrně pokrývají povrch vláken a netvoří agregáty (Obr. 11).

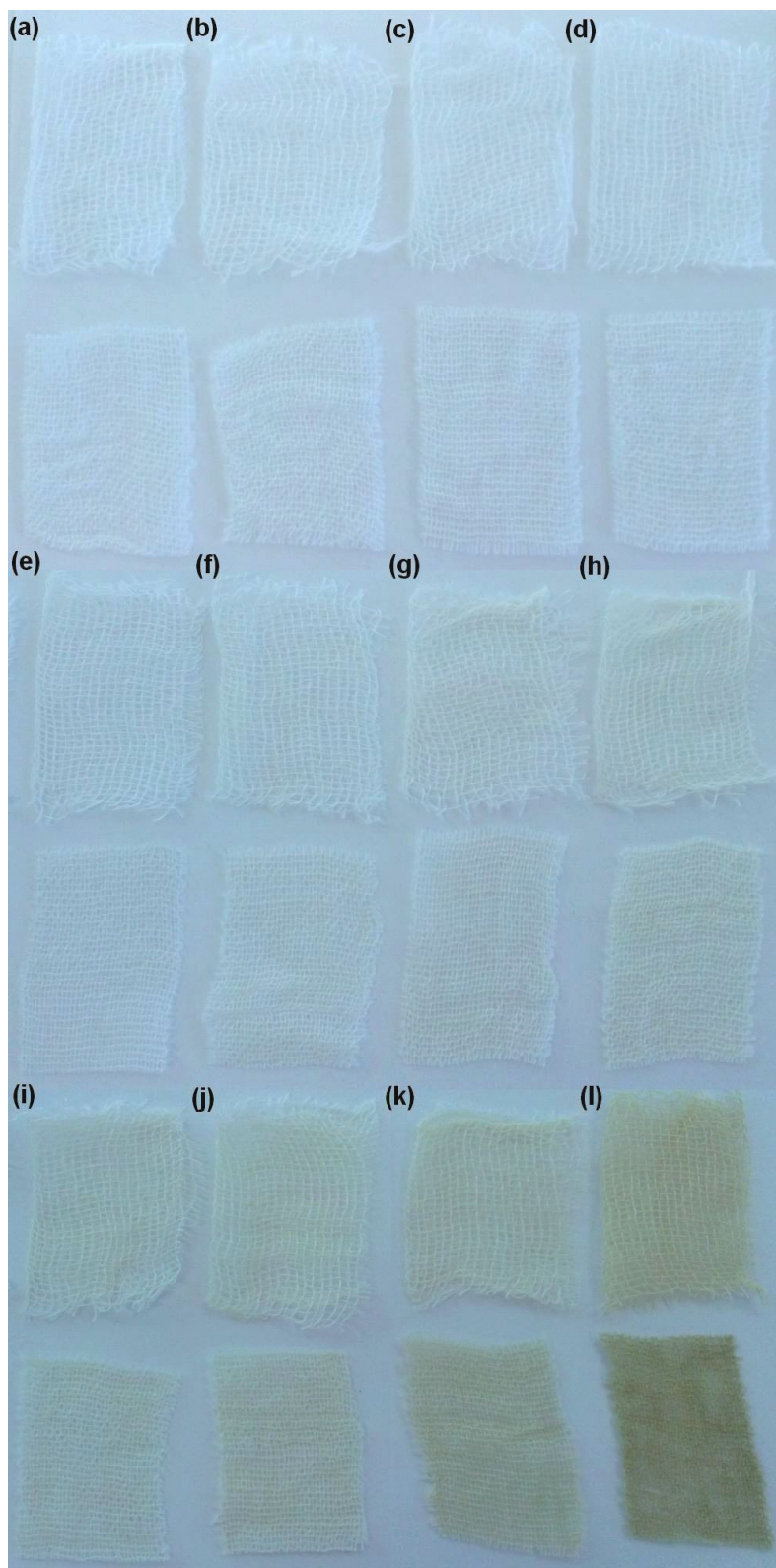
Celkový obsah stříbra ve vzorcích byl po jejich rozpuštění stanoven atomovou absorpční spektrometrií (AAS). Ze závislosti obsahu Ag na koncentraci použité disperze (Obr. 12) je patrné, že mercerace tkaniny ovlivňuje kinetiku adsorpce AgNPs. Z disperzí o koncentraci v řádu desítek mg/dm³ se na nemercerovanou tkaninu adsorbovalo o 20 % více stříbra. Při dalším zvyšování koncentrace byl však prudší nárůst množství adsorbovaného stříbra na mercerované tkanině. Z nejkonzentrovanejší disperze se pak na mercerovanou tkaninu adsorbovalo o 45 % více stříbra.



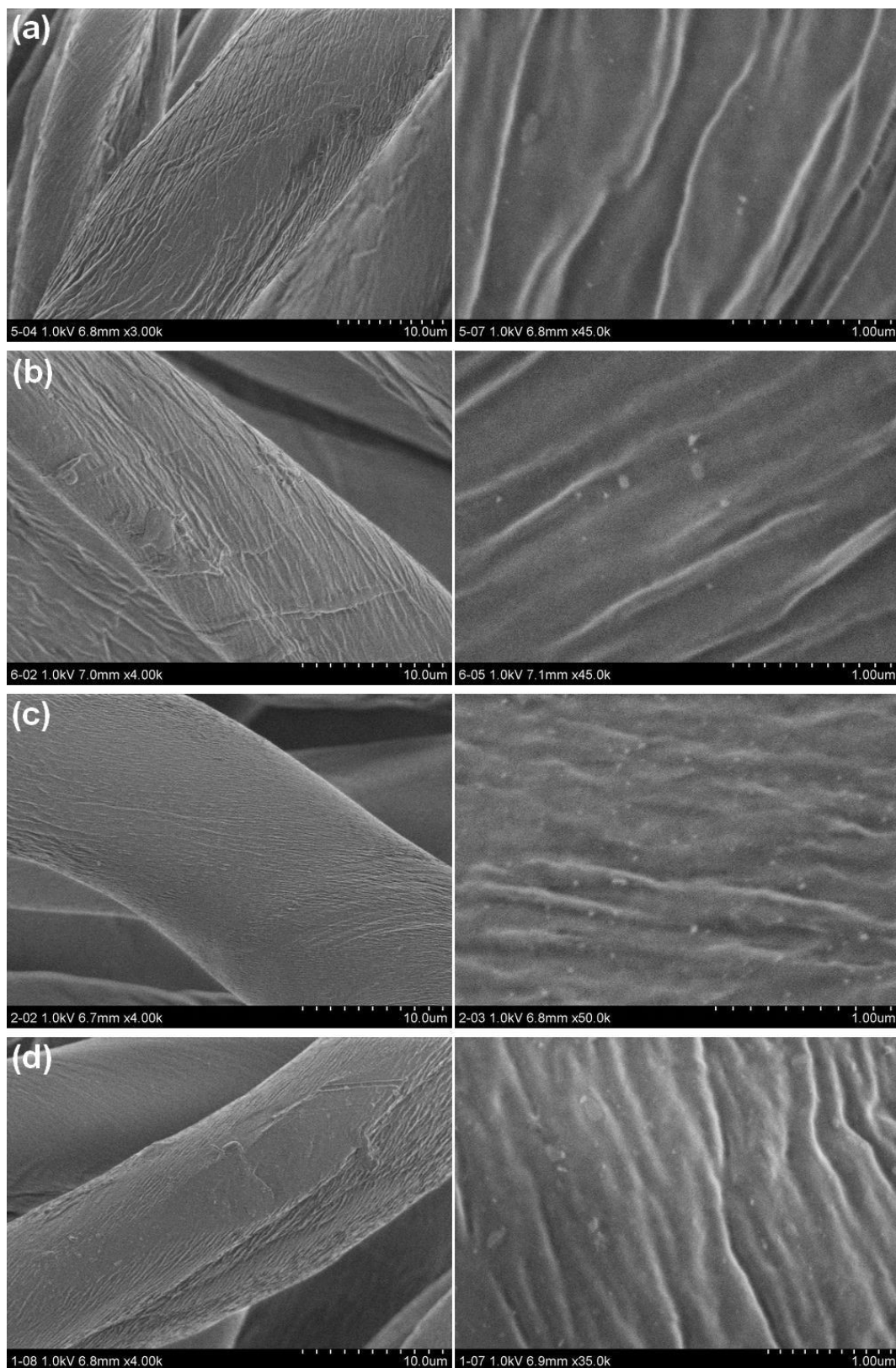
Obr. 8 Vliv mercerace na vzhled bavlněné tkaniny. (a) Nemercerovaná; (b) mercerovaná tkanina.



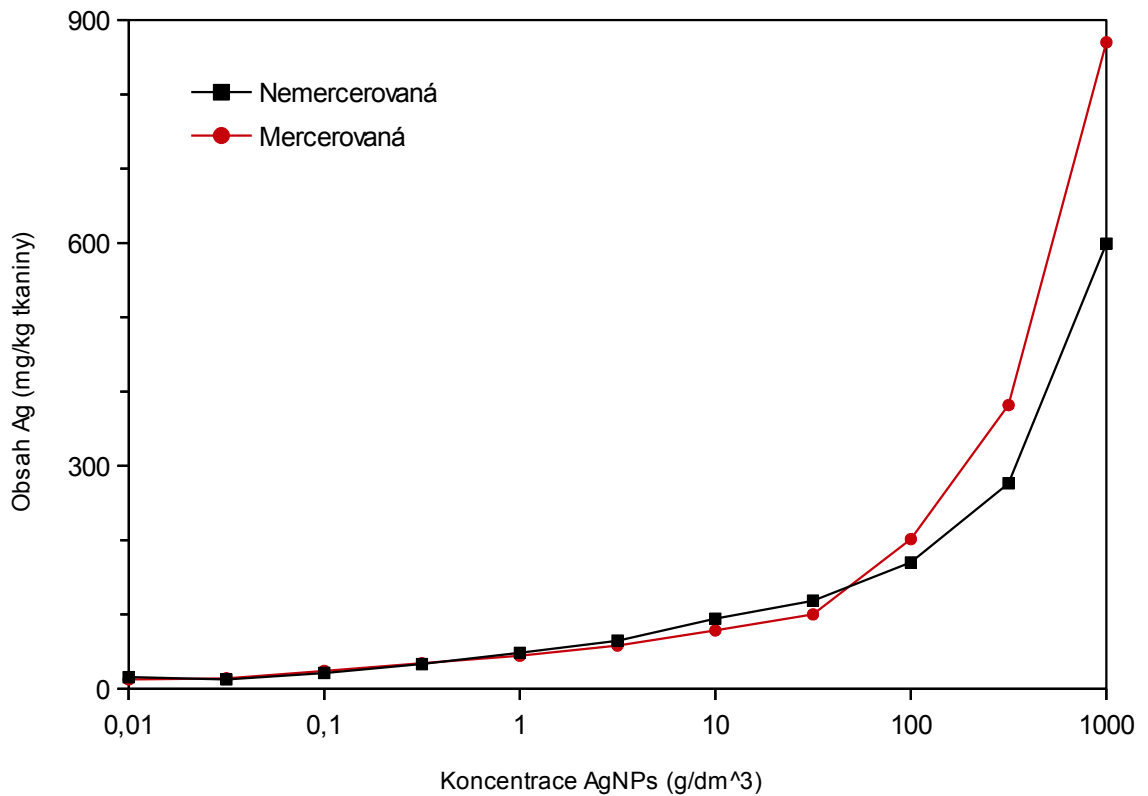
Obr. 9 SEM snímky bavlněné tkaniny. (a) Nemercovaná; (b) mercerovaná tkanina.



Obr. 10 Fotografie vzorků připravených z disperzí AgNPs o různé koncentraci. Nemercovaný vzorek přeložený napůl a pod ním mercerovaný vzorek (a) neobsahující stříbro; připravené z disperze o koncentraci AgNPs (b) $10,0 \mu\text{g}/\text{dm}^3$; (c) $31,6 \mu\text{g}/\text{dm}^3$; (d) $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$; (e) $316 \mu\text{g}/\text{dm}^3$; (f) $1,00 \text{ mg}/\text{dm}^3$; (g) $3,16 \text{ mg}/\text{dm}^3$; (h) $10,0 \text{ mg}/\text{dm}^3$; (i) $31,6 \text{ mg}/\text{dm}^3$; (j) $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$; (k) $316 \text{ mg}/\text{dm}^3$; (l) $1,00 \text{ g}/\text{dm}^3$.



Obr. 11 SEM snímky vzorků bavlněné tkaniny modifikované pomocí AgNPs. Nemercované vzorky o původním obsahu Ag 94,3 mg/kg tkaniny (a) neprané; (b) prané po dobu 2 hod. v demineralizované vodě při 60 °C; mercerované vzorky o původním obsahu Ag 201,3 mg/kg (c) neprané; (d) prané po dobu 2 hod. v demineralizované vodě při 60 °C.



Obr. 12 Závislost množství stříbra adsorbovaného na nemercovanou a mercerovanou bavlněnou tkaninu na koncentraci disperze AgNPs, do které byla ponořena.

4.3 Kinetika uvolňování stříbra při mechanickém namáhání v roztoku

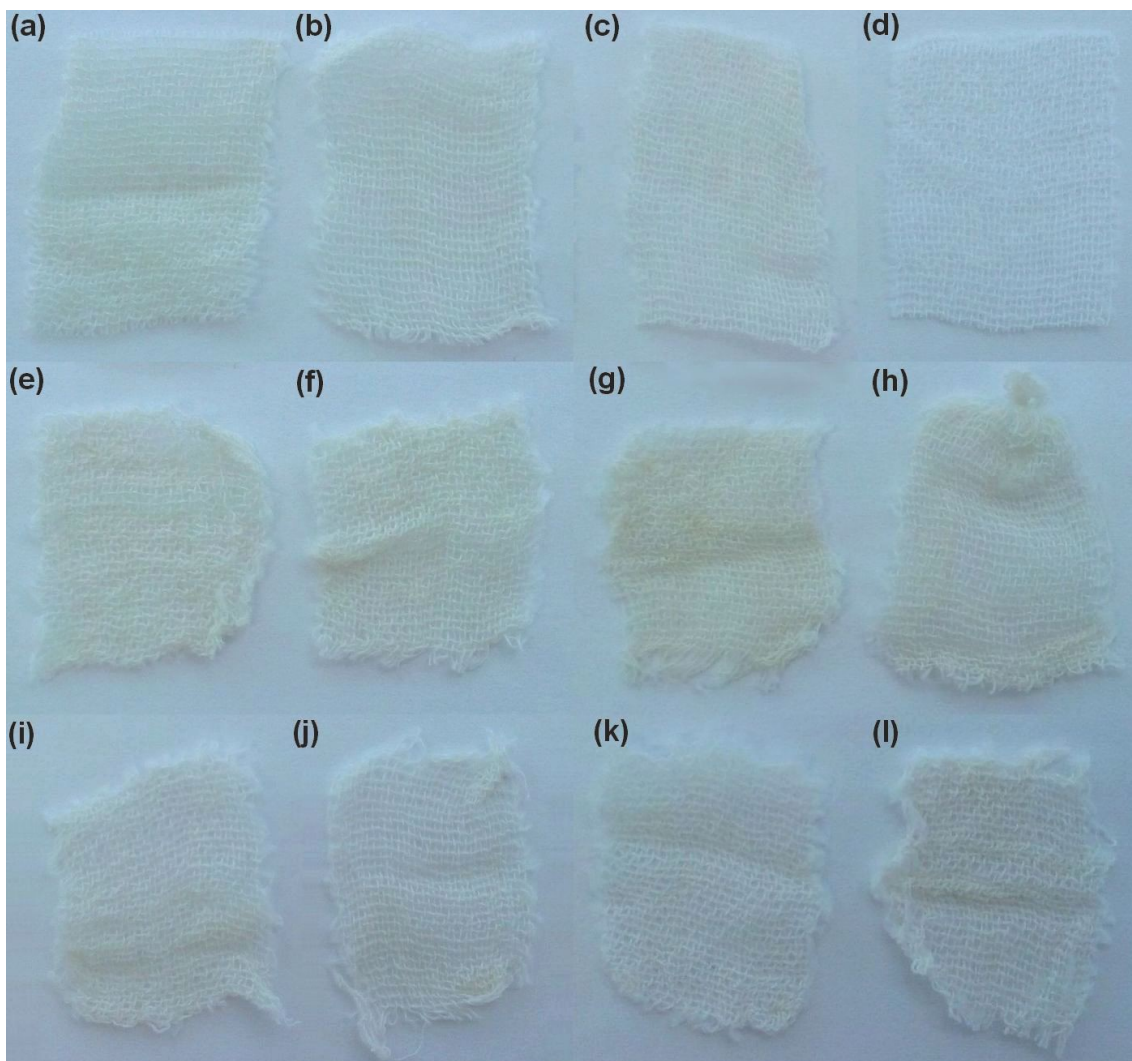
Nejprve byly mercerované i nemercované vzorky o obsahu stříbra 58–201 mg/kg tkaniny podrobeny dvouhodinovému praní v demineralizované vodě při 60 °C. Z výsledků (Tab. 1) plyne, že bez ohledu na předchozí merceraci substrátu došlo u všech vzorků obsahujících méně než 119 mg/kg ke konzistentnímu poklesu obsahu Ag na 69–75 % původního množství. U nemercovaného vzorku obsahujícího 170 mg/kg a mercerovaného vzorku obsahujícího 201 mg/kg klesl obsah stříbra až na 57 % respektive 45 %. Tato data je možné vysvětlit omezenou kapacitou substrátu pro pevnější adsorpci AgNPs, po jejímž překročení jsou další nanočástice adsorbovány slaběji a v roztoku se snáze uvolňují. Dá se tedy očekávat, že depozice většího množství Ag na tkaninu nepovede k významnému prodloužení jejích antimikrobiálních účinků při mechanickém namáhání. Na SEM snímcích (Obr. 11) je patrné, že praním došlo k poškození povrchu vláken, přičemž toto poškození je výraznější u mercerovaných vzorků. AgNPs se nacházejí na povrchu vláken i po vyprání.

Tab. 1 Pokles obsahu Ag ve vzorcích tkaniny při dvouhodinovém praní ve vodě při 60 °C v závislosti na počátečním obsahu Ag a na merceraci substrátu.

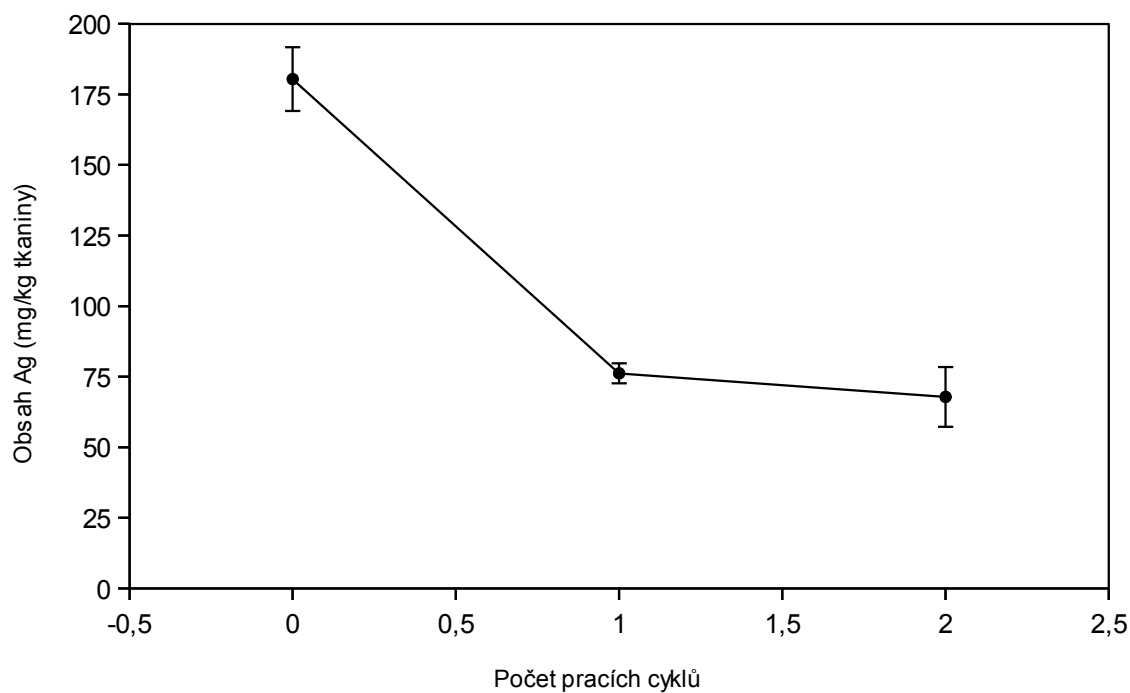
	Původní obsah Ag	Obsah Ag po 1 pracím cyklu	
	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
Nemercerovaná tkanina	94,3	66,6	71
	118,5	87,3	74
	170,0	96,3	57
Mercerovaná tkanina	58,1	43,5	75
	78,4	58,2	74
	100,0	69,0	69
	201,3	89,6	45

Ke studiu kinetiky uvolňování Ag bylo připraveno 12 mercerovaných substrátů s obsahem stříbra 180 ± 11 mg/kg. Z nich odebrané vzorky (Obr. 13) byly podrobeny jednomu a dvěma cyklům dvouhodinového praní v demineralizované vodě při teplotě 60 °C. Po prvním pracím cyklu (Obr. 14) se obsah Ag snížil na 76 ± 4 mg/kg, tedy na 42 % původního množství, což je v souladu s pozorováním v předchozím odstavci. Ve vzorcích, které prošly dvěma pracími cykly, byl stanoven obsah Ag na 68 ± 11 mg/kg, tedy 38 % původního množství. Po prudkém počátečním propadu obsahu stříbra se tedy jeho uvolňování výrazně zpomalilo.

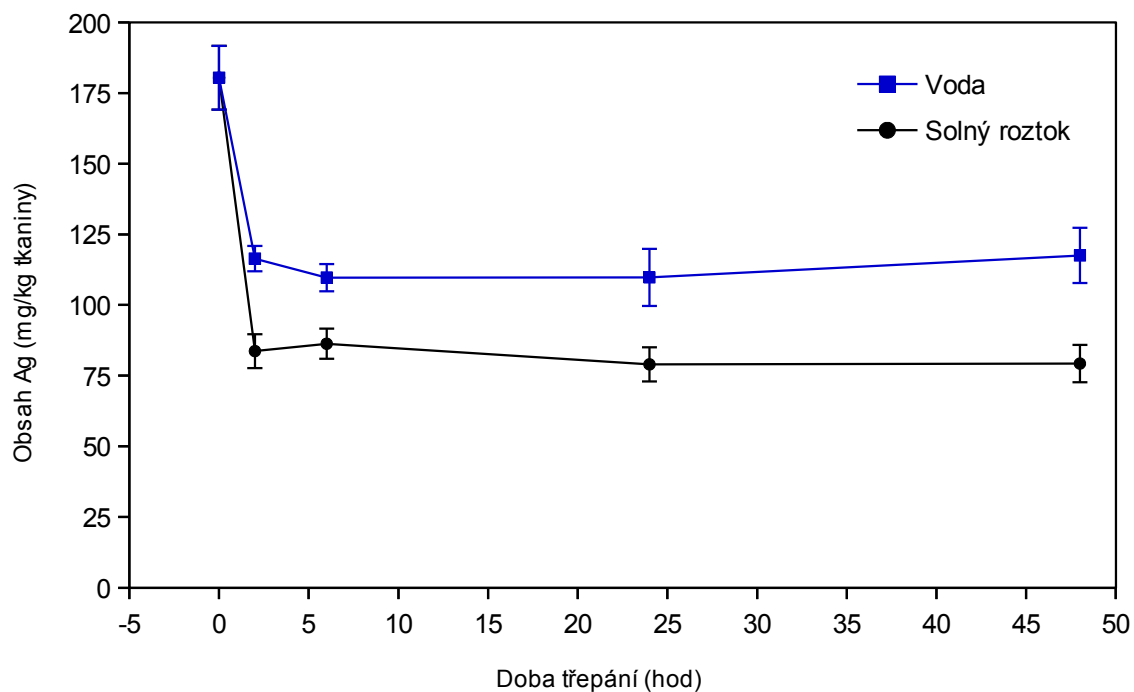
Vliv složení roztoku na kinetiku uvolňování Ag byl studován třepáním vzorků za laboratorní teploty po dobu od 2 do 48 hod. v demineralizované vodě a v solném roztoku (Obr. 15), který iontovým složením napodoboval tělní tekutinu. Ve vzorcích třepaných ve vodě poklesl po 2 hod. obsah Ag z 180 ± 11 mg/kg na 116 ± 5 mg/kg a u vzorků odebraných po 6 a 24 hod. se dále snížil na 110 ± 7 mg/kg. U všech vzorků třepaných 48 hod. byl pak zaznamenán nárůst na průměrně 118 ± 10 mg/kg. V případě vzorků třepaných v solném roztoku byl pokles po 2 hod. ještě výraznější na 84 ± 6 mg/kg a poté se ustálil na hodnotě 79 ± 6 mg/kg u vzorků odebraných po 24 a 48 hod. V obou případech tedy došlo během prvních 2 hod. k výraznému poklesu obsahu Ag, který se dále významně neměnil. Průměrný obsah Ag ve vzorcích odebraných po 2–48 hod. z vody a solného roztoku činil 113 ± 8 mg/kg respektive 82 ± 6 mg/kg.



Obr. 13 Fotografie vzorků podrobených mechanickému namáhání v roztoku ke studiu kinetiky uvolňování Ag. (a) Původní vzorek před namáháním. Vzorky podrobené (b) jednomu a (c) dvěma cyklům 2 hod. praní ve vodě při 60 °C. (d) Kontrolní vzorek neobsahující stříbro. Vzorky třepané ve vodě po dobu (e) 2 hod.; (f) 6 hod.; (g) 24 hod.; (h) 48 hod.; vzorky třepané v solném roztoku po dobu (i) 2 hod.; (j) 6 hod.; (k) 24 hod.; (l) 48 hod.



Obr. 14 Závislost obsahu Ag ve vzorcích tkaniny na počtu 2 hod. pracích cyklů ve vodě při 60 °C. Směrodatné odchylky jsou vyjádřeny chybovými úsečkami.



Obr. 15 Závislost obsahu Ag ve vzorcích tkaniny na době třepání ve vodě nebo solném roztoku za laboratorní teploty. Směrodatné odchylky jsou vyjádřeny chybovými úsečkami.

4.4 Vliv stárnutí vzorku na kinetiku uvolňování stříbra

Dílčí výsledky prvotních experimentů (viz Příloha A) naznačovaly, že ze starších vzorků se za stejných podmínek uvolňuje mnohem menší množství Ag. K podrobnějšímu studiu vlivu stárnutí vzorků byly předchozí testy čtyřikrát zopakovány se vzorky starými 1 až 53 dní. Významnější rozdíl byl pozorován pouze při praní ve vodě při 60 °C (Tab. 2). Zde po dvou pracích cyklech průměrný obsah Ag u nejstarších vzorků 84,0 mg/kg převyšoval ostatní vzorky, kde bylo pouze od 59,9 do 65,8 mg/kg. U ostatních vzorků ve stáří 1, 14 a 27 dní však nebyla žádná podobná časová závislost pozorována. U nejstarších vzorků bylo také po 1. pracím cyklu stanoveno množství stříbra 80,0 mg/kg. Jde tedy o 4,0 mg/kg méně než po 2 cyklech, což svědčí o poměrně velké nejistotě tohoto měření. U vzorků třepaných ve vodě a solném roztoku (Tab. 3 a 4) není patrná žádná závislost mezi jejich stářím a obsahem stříbra. Z těchto důvodů nelze získané výsledky považovat za dostatečně průkazné pro tvrzení, že kinetika uvolňování Ag je ovlivněna stárnutím vzorku.

Tab. 2 Vliv stáří vzorku na obsah Ag při praní ve vodě za teploty 60 °C.

Stáří vzorku (dny)	Obsah Ag (mg/kg tkaniny)		
	Počet pracích cyklů		
	0	1	2
1		77,1	61,6
14	180 ± 11	73,9	65,8
27		73,7	59,9
53		80,0	84,0

Tab. 3 Vliv stáří vzorku na obsah Ag při třepání ve vodě za laboratorní teploty.

Stáří vzorku (dny)	Obsah Ag (mg/kg tkaniny)				
	Doba třepání (hod.)				
	0	2	6	24	48
1		123,1	116,6	122,1	130,2
14	180 ± 11	115,0	105,7	101,2	113,6
27		113,8	109,3	101,8	107,0
53		113,8	107,1	114,0	119,3

Tab. 4 Vliv stáří vzorku na obsah Ag při třepání v solném roztoku za laboratorní teploty.

Stáří vzorku (dny)	Obsah Ag (mg/kg tkaniny)				
	Doba třepání (hod.)				
	0	2	6	24	48
1		78,2	82,2	85,7	82,8
14	180 ± 11	82,4	86,8	72,2	84,2
27		82,0	82,5	76,0	69,6
53		92,2	93,7	81,9	80,5

5 Závěr

Cílem této diplomové práce byla modifikace bavlněné tkaniny nanočásticemi stříbra (AgNPs) a studium jejich uvolňování při mechanickém namáhání v roztoku. Nanočástice o průměrné velikosti 6 ± 4 nm byly připraveny jedнокrokovou termicky indukovanou reakcí AgNO_3 s větveným polyethyleniminem (PEI) jako redukčním činidlem i elektrostérickým stabilizátorem. AgNPs byly na nemercerovanou i mercerovanou tkaninu imobilizovány jejím ponořením do koloidní disperze AgNPs, následným promytím vodou a vysušením. Nanočástice byly na povrchu vláken rovnoměrně distribuovány a nejevily známky agregace. Na kinetiku uvolňování Ag neměla předchozí mercerace tkaniny vliv, zlepšila však její mechanické vlastnosti a také zvýšila množství adsorbovaného stříbra z disperzí o koncentraci $\text{Ag} \geq 100 \text{ mg/dm}^3$.

Bylo zjištěno, že ve vzorcích o obsahu Ag v koncentračním rozsahu 58–119 mg/kg tkaniny po 2 hod. praní v demineralizované vodě při 60 °C zůstalo 69–75 % původního množství. Zato ve vzorcích obsahujících kolem 186 mg/kg došlo při stejném namáhání k poklesu na přibližně polovinu původního obsahu Ag. To může být vysvětleno omezenou kapacitou substrátu pro pevnější adsorpci AgNPs, po jejímž překročení jsou další AgNPs adsorbovány slaběji a snáze se pak uvolňují. K podrobnějšímu studiu kinetiky uvolňování Ag byly připraveny vzorky obsahující $180 \pm 11 \text{ mg/kg}$.

Ve všech studovaných případech byl pozorován strmý pokles obsahu Ag v tkanině po prvních 2 hod. namáhání, který se poté výrazně zpomalil. Největší množství Ag se uvolnilo při praní v demineralizované vodě při 60 °C, kdy se jeho obsah po prvním dvouhodinovém cyklu snížil na $76 \pm 4 \text{ mg/kg}$ a po druhém cyklu na $68 \pm 11 \text{ mg/kg}$. Při třepáním za laboratorní teploty v solném roztoku, který iontovým složením napodoboval tělní tekutinu, byl obsah Ag ve vzorcích odebraných po 2 až 48 hod. v průměru $82 \pm 6 \text{ mg/kg}$. Nejméně Ag se uvolňovalo při stejném třepání pouze v demineralizované vodě, kde jeho obsah za stejnou dobu klesl pouze na $113 \pm 8 \text{ mg/kg}$. Byl studován také vliv stárnutí vzorku na kinetiku uvolňování Ag, avšak v horizontu 53 dní se ho nepodařilo spolehlivě prokázat.

6 Summary

The aim of this diploma thesis was to functionalize cotton fabric by silver nanoparticles (AgNPs) and to study their release during mechanical stress in solution. Silver nanoparticles of the mean diameter 6 ± 4 nm were prepared via a one-step thermally induced reaction of AgNO_3 with hyperbranched polyethylenimine (PEI) serving the role of reducing agent and electrosteric stabilizer. Both mercerized and unmercerized fabric samples were treated with AgNPs in aqueous dispersion followed by washing and drying. Nanoparticles were uniformly distributed on the fibers surface without any visible tendencies to aggregation. Although mercerization of cotton had no effect on the kinetics of silver release, it improved its mechanical properties and also caused increase in the amount of AgNPs adsorbed from dispersions with Ag concentration of 100 mg/dm^3 and higher.

It was found that in samples with Ag content of 58–119 mg/kg fabric 69–75 % of the original silver content remained after 2 hours of washing in demineralized water at 60°C . In contrast, in samples originally containing around 186 mg/kg only about one-half of the original Ag content remained under the same washing conditions. This could be explained by limited capacity of the fabric fibres for stronger adsorption of AgNPs which leads to weaker binding of excess of AgNPs and their easier release. For more elaborate study of silver release kinetics samples containing $180 \pm 11 \text{ mg/kg}$ were prepared.

In all studied cases, a steep decrease in silver content was observed after first 2 hours of stress which subsequently slowed down. The highest amount of Ag was released during washing of samples in demineralized water at 60°C for 2 hours when silver content dropped to $76 \pm 4 \text{ mg/kg}$ and further to $68 \pm 11 \text{ mg/kg}$ after repeated washing. Average Ag content in samples after shaking for 2 up to 48 hours, at room temperature in saline solution of similar ionic composition to body fluid, was $82 \pm 6 \text{ mg/kg}$. The least amount of silver was released after shaking in demineralized water at room temperature when the Ag content dropped only to $113 \pm 8 \text{ mg/kg}$ after the same time. The effect of ageing process of the samples on the kinetics of silver release was studied but has not been proved reliably in the period of 53 days.

7 Literatura

1. Bartovská L., Šišková M. (2012): *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 6th ed., Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Česká republika, 262 stran.
2. Nowack B., Krug H.F., Height M. (2011): 120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. *Environmental Science and Technology* **45**, 1177–1183.
3. Alexander J.W. (2009): History of the Medical Use of Silver. *Surgical Infections* **10**, 289–292.
4. Klasen H.J. (2000): Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns* **26**, 117–130.
5. Oberdörster G., Maynard A., Donaldson K., Castranova V., Fitzpatrick J., Ausman K., Carter J., Karn B., Kreyling W., Lai D., Olin S., Monteiro-Riviere N., Warheit D., Yang H. (2005): Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology* **2**, 8.
6. Stiles P.L., Dieringer J.A., Shah N.C., Van Duyne R.P. (2008): Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry* **1**, 601–626.
7. Shi L., Liu M., Liu L., Gao W., Su M., Ge Y., Zhang H., Dong B. (2014): Magnetically Recyclable Polymer Single Crystal Supported Silver Nanocatalyst. *Langmuir* **30**, 13456–13461.
8. Lu W., Tao L., Wang Y., Ge J., Dong J., Qian W. (2015): In-situ synthesis of silver nanoparticles on resin microspheres composed of poly(m-aminophenol), and their application in an enzymatic glucose biosensor. *Microchimica Acta* **182**, 479–486.
9. Anandhakumar S., Raichur A.M. (2013): Polyelectrolyte/silver nanocomposite multilayer films as multifunctional thin film platforms for remote activated protein and drug delivery. *Acta Biomaterialia* **9**, 8864–8874.
10. Kleinauskas A., Rocha S., Sahu S., Sun Y.P., Juzenas P. (2013): Carbon-core silver-shell nanodots as sensitizers for phototherapy and radiotherapy. *Nanotechnology* **16**, 325103.
11. Ahn B.Y., Lorang D.J., Lewis J.A. (2011): Transparent conductive grids via direct writing of silver nanoparticle inks. *Nanoscale* **3**, 2700–2702.
12. Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., Lead J.R. (2011): Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environment International* **37**, 517–531.
13. Feng Q.L., Wu J., Chen G.Q., Cui F.Z., Kim T.N., Kim J.O. (2000): A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research* **52**, 662–668.
14. Mijndonckx K., Leys N., Mahillon J., Silver S., Van Houdt R. (2013): Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. *BioMetals* **26**, 609–621.
15. Lombi E., Donner E., Scheckel K.G., Sekine R., Lorenz C., Goetz N.V., Nowack B. (2014): Silver speciation and release in commercial antimicrobial textiles as influenced by washing. *Chemosphere* **111**, 352–358.
16. Mitrano D.M., Rimmelé E., Wichser A., Erni R., Height M., Nowack B. (2014): Presence of Nanoparticles in Wash Water from Conventional Silver and Nano-silver Textiles. *ACS Nano* **8**, 7208–7219.
17. Manda B.M.K., Worrell E., Patel M.K. (2015): Prospective life cycle assessment of an antibacterial T-shirt and supporting business decisions to create value. *Resources, Conservation and Recycling* **103**, 47–57.
18. Zhao C.M., Wang W.X. (2010): Biokinetic Uptake and Efflux of Silver Nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environmental Science and Technology* **44**, 7699–7704.
19. Zou J., Feng H., Mannerström M., Heinonen T., Pyykkö I. (2014): Toxicity of silver nanoparticle in rat ear and BALB/c 3T3 cell line. *Journal of Nanobiotechnology* **12**, 52.
20. Zhang D., Chen L., Zhang C., Chen Y., Lin H. (2013): Antibacterial cotton fabric grafted with silver nanoparticles and its excellent laundering durability. *Carbohydrate Polymers*

- 92, 2088–2094.
21. Vukoje I., Lazic V., Vodnik V., Mitric M., Jokic B., Ahrenkiel S.P., Nedeljkovic J.M., Radetic M. (2014): The influence of triangular silver nanoplates on antimicrobial activity and color of cotton fabrics pretreated with chitosan. *Journal of Materials Science* **49**, 4453–4460.
 22. Xu H., Shi X., Ma H., Lv Y., Zhang L., Mao Z. (2011): The preparation and antibacterial effects of dopa-cotton/AgNPs. *Applied Surface Science* **257**, 6799–6803.
 23. Zhang D., Jiao C., Xiong J., Lin H., Chen V. (2015): Hyperbranched polymer functional cotton fabric for its in situ deposition of silver nanoparticles. *Japanese Journal of Applied Physics* **54**, 06FH01.
 24. Kvítek L., Panáček A. (2007): *Základy koloidní chemie*. 1st ed., Univerzita Palackého v Olomouci, Česká republika, 70 stran.
 25. Pouchlý J. (2008): *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. 3rd ed., Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Česká republika, 205 stran.
 26. Klafter J., Shlesinger M.F., Zumofen G. (1996): Beyond brownian motion. *Physics today* **49**, 33–39.
 27. Ananth A.N., Umapathy S., Sophia J., Mathavan T., Mangalaraj D. (2011): On the optical and thermal properties of in situ/ex situ reduced Ag NP's/PVA composites and its role as a simple SPR-based protein sensor. *Applied Nanoscience* **1**, 87–96.
 28. Creighton J.A., Blatchford C.G., Albrecht M.G. (1979): Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* **75**, 790–798.
 29. Song K.C., Lee S.M., Park T.S., Lee B.S. (2009): Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. *Korean Journal of Chemical Engineering* **26**, 153–155.
 30. Romero V., Costas-Mora I., Lavilla I., Bendicho C. (2014): Silver nanoparticle-assisted preconcentration of selenium and mercury on quartz reflectors for total reflection X-ray fluorescence analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **29**, 696–706.
 31. Schneider S., Halbig P., Grau H., Nickel U. (1994): Reproducible Preparation of Silver Sols with Uniform Particle Size for Application in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Photochemistry and Photobiology* **60**, 605–610.
 32. Sondi I., Goia D.V., Matijevic E. (2003): Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* **260**, 75–81.
 33. Zielińska A., Skwarek E., Zaleska A., Gazda M., Hupka J. (2009): Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chemistry* **1**, 1560–1566.
 34. Qin Y., Ji X., Jing J., Liu H., Wu H., Yang W. (2010): Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **372**, 172–176.
 35. Lee P.C., Meisel D. (1982): Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *The Journal of Physical Chemistry* **86**, 3391–3395.
 36. Munro C.H., Smith W.E., Garner M., Clarkson J., White P.C. (1995): Characterization of the Surface of a Citrate-Reduced Colloid Optimized for Use as a Substrate for Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering. *Langmuir* **11**, 3712–3720.
 37. Pillai Z.S., Kamat P.V. (2004): What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method? *The Journal of Physical Chemistry B* **108**, 945–951.
 38. Vigneshwaran N., Nachane R.P., Balasubramanya R.H., Varadarajan P.V. (2006): A novel one-pot 'green' synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch. *Carbohydrate Research* **341**, 2012–2018.
 39. Raveendran P., Fu J., Wallen S.L. (2003): Completely "Green" Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **125**, 13940–13941.

40. Huang H., Yang X. (2004): Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method. *Carbohydrate Research* **339**, 2627–2631.
41. Venkatpurwar V., Pokharkar V. (2011): Green synthesis of silver nanoparticles using marine polysaccharide: Study of *in-vitro* antibacterial activity. *Materials Letters* **65**, 999–1002.
42. Liu Z., Wang Y., Zu Y., Fu Y., Li N., Guo N., Liu R., Zhang Y. (2014): Synthesis of polyethylenimine (PEI) functionalized silver nanoparticles by a hydrothermal method and their antibacterial activity study. *Materials Science and Engineering: C* **42**, 31–37.
43. Bo L., Yang W., Chen M., Gao J., Xue Q. (2009): A Simple and ‘Green’ Synthesis of Polymer-Based Silver Colloids and Their Antibacterial Properties. *Chemistry & Biodiversity* **6**, 111–116.
44. Shameli K., Ahmad M.B., Jazayeri S.D., Sedaghat S., Shabanzadeh P., Jahangirian H., Mahdavi M., Abdollahi Y. (2012): Synthesis and Characterization of Polyethylene Glycol Mediated Silver Nanoparticles by the Green Method. *International Journal of Molecular Sciences* **13**, 6639–6650.
45. Kvítek L., Pucek R., Panáček A., Novotný R., Hrbáč J., Zbořil R. (2005): The influence of complexing agent concentration on particle size in the process of SERS active silver colloid synthesis. *Journal of Materials Chemistry* **15**, 1099–1105.
46. Panáček A., Kvítek L., Pucek R., Kolář M., Večeřová R., Pizúrová N., Sharma V.K., Nevěčná T., Zbořil R. (2006): Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *The Journal of Physical Chemistry B* **110**, 16248–16253.
47. Henglein A. (1998): Colloidal Silver Nanoparticles: Photochemical Preparation and Interaction with O₂, CCl₄, and Some Metal Ions. *Chemistry of Materials* **10**, 444–450.
48. Mallick K., Witcomb M.J., Scurrall M.S. (2004): Polymer stabilized silver nanoparticles: A photochemical synthesis route. *Journal of Materials Science* **39**, 4459–4463.
49. Lorenzini C., Haider A., Kang I.K., Sangermano M., Abbad-Andaloussi S., Mazeran P.E., Lalevée J., Renard E., Langlois V., Versace D.L. (2015): Photoinduced Development of Antibacterial Materials Derived from Isosorbide Moiety. *Biomacromolecules* **16**, 683–694.
50. Mafuné F., Kohno J., Takeda Y., Kondow T. (2000): Structure and Stability of Silver Nanoparticles in Aqueous Solution Produced by Laser Ablation. *The Journal of Physical Chemistry B* **104**, 8333–8337.
51. Tsuji T., Iryo K., Watanabe N., Tsuji M. (2002): Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in solution: influence of laser wavelength on particle size. *Applied Surface Science* **202**, 80–85.
52. Tsuji T., Kakita T., Tsuji M. (2003): Preparation of nano-size particles of silver with femtosecond laser ablation in water. *Applied Surface Science* **206**, 314–320.
53. Procházka M., Mojžeš P., Štěpánek J., Vlčková B., Turpin P.Y. (1997): Probing Applications of Laser-Ablated Ag Colloids in SERS Spectroscopy: Improvement of Ablation Procedure and SERS Spectral Testing. *Analytical Chemistry* **69**, 5103–5108.
54. De Giglio E., Cafagna D., Cometa S., Allegretta A., Pedico A., Giannossa L.C., Sabbatini L., Mattioli-Belmonte M., Iatta R. (2013): An innovative, easily fabricated, silver nanoparticle-based titanium implant coating: development and analytical characterization. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **405**, 805–816.
55. Kim J.K., Basavaraja C., Yamaguchi T., Huh D.S. (2013): Preparation and characterization of smart hydrogel nanocomposites sensitive to oxidation–reduction. *Polymer Bulletin* **70**, 207–220.
56. Taheri S., Cavallaro A., Christo S.N., Smith L.E., Majewski P., Barton M., Hayball J.D., Vasilev K. (2014): Substrate independent silver nanoparticle based antibacterial coatings. *Biomaterials* **35**, 4601–4609.
57. Khaksar M., Jolley D.F., Sekine R., Vasilev K., Johannessen B., Donner E., Lombi E. (2015): In Situ Chemical Transformations of Silver Nanoparticles along the Water–Sediment Continuum. *Environmental Science and Technology* **49**, 318–325.

58. Reznickova A., Kolska Z., Siegel J., Svorcik V. (2012): Grafting of gold nanoparticles and nanorods on plasma-treated polymers by thiols. *Journal of Materials Science* **47**, 6297–6304.
59. Reznickova A., Novotna Z., Kolska Z., Svorcik V. (2014): Immobilization of silver nanoparticles on polyethylene terephthalate. *Nanoscale Research Letters* **9**, 305.
60. Upadhyay L.S.B., Verma N. (2014): Dual immobilization of biomolecule on the glass surface using cysteine as a bifunctional linker. *Process Biochemistry* **49**, 1139–1143.
61. Aspland J.R. (1997): *Textile Dyeing and Coloration*. 1st ed., American Association of Textile Chemists and Colorists, USA, 410 stran.
62. Hebeish A., El-Rafie M.H., EL-Sheikh M.A., Seleem A.A., El-Naggar M.E. (2014): Antimicrobial wound dressing and anti-inflammatory efficacy of silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* **65**, 509–515.
63. Emam H.E., Zahran M.K. (2015): Ag⁰ nanoparticles containing cotton fabric: Synthesis, characterization, color data and antibacterial action. *International Journal of Biological Macromolecules* **75**, 106–114.
64. Lu Z., Meng M., Jiang Y., Xie J. (2014): UV-assisted in situ synthesis of silver nanoparticles on silk fibers for antibacterial applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **447**, 1–7.
65. Lin H.L., Sou N.L., Huang G.G. (2015): Single-step preparation of recyclable silver nanoparticle immobilized porous glass filters for the catalytic reduction of nitroarenes. *RSC Advances* **5**, 19248–19254.
66. Zhang N., Yu X., Hu J., Xue F., Ding E. (2013): Synthesis of silver nanoparticle-coated poly(styrene-co-sulfonic acid) hybrid materials and their application in surface-enhanced Raman scattering (SERS) tags. *RSC Advances* **3**, 13740–13747.
67. Feng C., Xu G., Liu H., Lv J., Zheng Z., Wu Y. (2014): Glucose biosensors based on Ag nanoparticles modified TiO₂ nanotube arrays. *Journal of Solid State Electrochemistry* **18**, 163–171.
68. Ashraf S., Rehman S., Sher F., Khalid Z.M., Mehmood M., Hussain I. (2014): Synthesis of cellulose–metal nanoparticle composites: development and comparison of different protocols. *Cellulose* **21**, 395–405.
69. Montazer M., Shamei A., Alimohammadi F. (2014): Synthesis of nanosilver on polyamide fabric using silver/ammonia complex. *Materials Science and Engineering: C* **38**, 170–176.
70. Tang L., Livi K.J.T., Chen K.L. (2015): Polysulfone Membranes Modified with Bioinspired Polydopamine and Silver Nanoparticles Formed in Situ To Mitigate Biofouling. *Environmental Science and Technology Letters* **2**, 59–65.
71. Wang R., ho Shin C., Park S., Cui L., Kim D., Park J.S., Ryu M. (2015): Enhanced Antibacterial Activity of Silver-Coated Kapok Fibers Through Dopamine Functionalization. *Water, Air, & Soil Pollution* **226**, 2241.
72. Numnuam A., Thavarungkul P., Kanatharana P. (2014): An amperometric uric acid biosensor based on chitosan-carbon nanotubes electrospun nanofiber on silver nanoparticles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **406**, 3763–3772.
73. Xie C.M., Lu X., Wang K.F., Meng F.Z., Jiang O., Zhang H.P., Zhi W., Fang L.M. (2014): Silver Nanoparticles and Growth Factors Incorporated Hydroxyapatite Coatings on Metallic Implant Surfaces for Enhancement of Osteoinductivity and Antibacterial Properties. *ACS Applied Materials & Interfaces* **6**, 8580–8589.
74. Jia K., Khaywah M.Y., Li Y., Bijeon J.L., Adam P.M., Déturche R., Guelorget B., Francois M., Louarn G., Ionescu R.E. (2014): Strong Improvements of Localized Surface Plasmon Resonance Sensitivity by Using Au/Ag Bimetallic Nanostructures Modified with Polydopamine Films. *ACS Applied Materials & Interfaces* **6**, 219–227.
75. Kent R.D., Oser J.G., Vikesland P.J. (2014): Controlled Evaluation of Silver Nanoparticle Sulfidation in a Full-Scale Wastewater Treatment Plant. *Environmental Science and Technology* **48**, 8564–8572.
76. Muruges B.K., Selvadass M., Somashekar R., Niranjana A.R., Samir O.M. (2012):

- Structural Characteristics of Conventional and Organic Cotton fibres using WAXS data. *International Journal of Carbohydrate Research* **1**, 10–17.
77. Juturu V.N., Mekala G.K., Kirti P.B. (2015): Current status of tissue culture and genetic transformation research in cotton (*Gossypium* spp.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **120**, 813–839.
 78. Seagull R.W. (1993): Cytoskeletal involvement in cotton fiber growth and development. *Micron* **24**, 643–660.
 79. Wakelyn P.J., Bertoniere N.R., French A.D., Thibodeaux D.P., Triplett B.A., Rousselle M.-A., Goynes W.R., Edwards J.V., Hunter L., McAlister D.D., Gamble G.R. (2007): *Cotton Fiber Chemistry and Technology*. 1st ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 176 stran.
 80. McCall E.R., Jurgens J.F. (1951): Chemical Composition of Cotton. *Textile Research Journal* **21**, 19–21.
 81. Nishimura H., Okano T., Sarko A. (1991): Mercerization of Cellulose. 5. Crystal and Molecular Structure of Na-Cellulose. *Macromolecules* **24**, 759–770.
 82. Ugbolue S.C. (2005): Fiber and yarn identification. In: *Chemical testing of textiles*. 1st ed., (Fan Q. ed.), Woodhead Publishing Ltd, England, 1–16.
 83. Nishiyama Y., Johnson G.P., French A.D., Forsyth V.T., Langan P. (2008): Neutron Crystallography, Molecular Dynamics, and Quantum Mechanics Studies of the Nature of Hydrogen Bonding in Cellulose I_β. *Biomacromolecules* **9**, 3133–3140.
 84. Langan P., Nishiyama Y., Chanzy H. (1999): A Revised Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose II from a Neutron Fiber Diffraction Analysis. *Journal of the American Chemical Society* **121**, 9940–9946.
 85. Gwon J.G., Lee S.Y., Doh G.H., Kim J.H. (2010): Characterization of Chemically Modified Wood Fibers Using FTIR Spectroscopy for Biocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* **116**, 3212–3219.
 86. Schindler W., Finnimore E. (2005): Chemical analysis of damage to textiles. In: *Chemical testing of textiles*. 1st ed., (Fan Q. ed.), Woodhead Publishing Ltd, England, 145–241.
 87. Hayashi J., Sufoka A., Ohkita J., Watanabe S. (1975): The confirmation of existences of cellulose III_I, III_{II}, IV_I, and IV_{II} by the X-ray method. *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition* **13**, 23–27.
 88. Sarko A. (1986): Recent X-Ray crystallographic studies of celluloses. In: *Cellulose: structure, modification and hydrolysis*. 1st ed., (Young R.A., Rowell R.M., eds.), John Wiley & Sons, New York, 29–49.
 89. Kokot S., Jermini M. (1994): Characterizing oxidatively damaged cotton fabrics: Part I: A method for estimating relative fabric damage. *Textile Research Journal* **64**, 100–105.
 90. Kokot S., Marahusin L., Schweinsberg D., Jermini M. (1994): Characterizing oxidatively damaged cotton fabrics: Part II: A model for the catalytic damage phenomenon using electrogenerated oxygen. *Textile Research Journal* **64**, 710–716.
 91. Colonna S., Gaeggero N., Richelmi C., Pasta P. (1999): Recent biotechnological developments in the use of peroxidases. *Trends in Biotechnology* **17**, 163–168.
 92. Buschle-Diller G., Yang X.D., Yamamoto R. (2001): Enzymatic bleaching of cotton with glucose oxidase. *Textile Research Journal* **71**, 388–394.
 93. Yamane C., Saito M., Okajima K. (1996): Specification of alkali soluble pulp suitable for new cellulosic filament production. *Sen'I Gakkaishi* **52**, 318–324.
 94. John M.J., Thomas S. (2008): Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers* **71**, 343–364.
 95. Gemci R. (2010): Examining the effects of mercerization process applied under different conditions to dimensional stability. *Scientific Research and Essays* **5**, 560–571.
 96. Cheng F., Betts J.W., Kelly S.M., Hector A.L. (2015): Green synthesis of highly concentrated aqueous colloidal solutions of large starch-stabilised silver nanoplatelets. *Materials Science and Engineering* **46**, 530–537.
 97. Zahran M.K., Ahmed H.B., El-Rafie M.H. (2014): Surface modification of cotton fabrics

- for antibacterial application by coating with AgNPs–alginate composite. *Carbohydrate Polymers* **108**, 145–152.
98. Twu Y.K., Chen Y.W., Shih C.M. (2008): Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions. *Powder Technology* **185**, 251–257.
 99. Arif D., Niazi M.B.K., Ul-Haq N., Anwar M.N., Hashmi E. (2015): Preparation of Antibacterial Cotton Fabric Using Chitosan-silver Nanoparticles. *Fibers and Polymers* **16**, 1519–1526.
 100. Hebeish A., EL-Shafei., Sharaf S., Zaghloul S. (2011): Novel precursors for green synthesis and application of silver nanoparticles in the realm of cotton finishing. *Carbohydrate Polymers* **84**, 605–613.
 101. Selvam S., Gandhi R.R., Suresh J., Gowri S., Ravikumar S., Sundrarajan M. (2012): Antibacterial effect of novel synthesized sulfated β -cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO₂ and Ag nanoparticles coating. *International Journal of Pharmaceutics* **434**, 366– 374.
 102. Zhang F., Wu X., Chen Y., Lin H. (2009): Application of Silver Nanoparticles to Cotton Fabric as an Antibacterial Textile Finish. *Fibers and Polymers* **10**, 496–501.
 103. Yue X., Lin H., Yan T., Zhang D., Lin H., Chen Y. (2014): Synthesis of Silver Nanoparticles with Sericin and Functional Finishing to Cotton Fabrics. *Fibers and Polymers* **15**, 716–722.
 104. Balashanmugam P., Kalaichelvan P.T. (2015): Biosynthesis characterization of silver nanoparticles using *Cassia roxburghii* DC. aqueous extract, and coated on cotton cloth for effective antibacterial activity. *International Journal of Nanomedicine* **10**, 87–97.
 105. El-Rafie H.M., El-Rafie M.H., Zahran M.K. (2013): Green synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. *Carbohydrate Polymers* **96**, 403– 410.
 106. Velmurugan P., Cho M., Lee S.M., Park J.H., Bae S., Oh B.T. (2014): Antimicrobial fabrication of cotton fabric and leather using green-synthesized nanosilver. *Carbohydrate Polymers* **106**, 319–325.
 107. Emam H.E., El-Rafie M.H., Ahmed H.B., Zahran M.K. (2015): Room Temperature Synthesis of Metallic Nanosilver Using Acacia to Impart Durable Biocidal Effect on Cotton Fabrics. *Fibers and Polymers* **16**, 1676–1687.
 108. El-Rafie M.H., Shaheen Th.I., Mohamed A.A., Hebeish A. (2012): Bio-synthesis and applications of silver nanoparticles onto cotton fabrics. *Carbohydrate Polymers* **90**, 915–920.
 109. Balakumaran M.D., Ramachandran R., Jagadeeswari S., Kalaichelvan P.T. (2016): *In vitro* biological properties and characterization of nanosilver coated cotton fabrics – An application for antimicrobial textile finishing. *International Biodeterioration & Biodegradation* **107**, 48–55.
 110. Bera A., Garai P., Singh R., Gupta P.P., Malav S., Singh D., Kumar D., Tiwari B.L., Vaijapurkar S.G. (2015): Gamma radiation synthesis of colloidal AgNPs for its potential application in antimicrobial fabrics. *Radiation Physics and Chemistry* **115**, 62–67.
 111. Ibrahim N.A., Eid B.M., Elmaaty T.M.A., El-Aziz E.A. (2013): A smart approach to add antibacterial functionality to cellulosic pigment prints. *Carbohydrate Polymers* **94**, 612–618.
 112. Bozaci E., Akar E., Ozdogan E., Demir A., Altinisik A., Seki Y. (2015): Application of carboxymethylcellulose hydrogel based silver nanocomposites on cotton fabrics for antibacterial property. *Carbohydrate Polymers* **134**, 128–135.
 113. Khalil-Abad M.S., Yazdanshenas M.E. (2010): Superhydrophobic antibacterial cotton textiles. *Journal of Colloid and Interface Science* **351**, 293–298.
 114. Rehan M., Mashaly H.M., Mowafi S., El-Kheir A.A., Emam H.E. (2015): Multi-functional textile design using in-situ Ag NPs incorporation into natural fabric matrix. *Dyes and Pigments* **118**, 9–17.
 115. Osório I., Igreja R., Franco R., Cortez J. (2012): Incorporation of silver nanoparticles on

- textile materials by an aqueous procedure. *Materials Letters* **75**, 200–203.
116. Yazdanshenas M.E., Shateri-Khalilabad M. (2012): The Effect of Alkali Pre-treatment on Formation and Adsorption of Silver Nanoparticles on Cotton Surface. *Fibers and Polymers* **13**, 1170–1178.
 117. Montazer M., Alimohammadi F., Shamei A., Rahimi M.K. (2012): In situ synthesis of nano silver on cotton using Tollens' reagent. *Carbohydrate Polymers* **87**, 1706–1712.
 118. Maryan A.S., Montazer M., Harifi T. (2015): Synthesis of nano silver on cellulosic denim fabric producing yellow colored garment with antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers* **115**, 568–574.
 119. Jiang T., Liu L., Yao J. (2011): *In situ* Deposition of Silver Nanoparticles on the Cotton Fabrics. *Fibers and Polymers* **12**, 620–625.
 120. Emam H.E., Saleh N.H., Nagy K.S., Zahran M.K. (2015): Functionalization of medical cotton by direct incorporation of silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* **78**, 249–256.
 121. Tang B., Kaur J., Sun L., Wang X. (2013): Multifunctionalization of cotton through in situ green synthesis of silver nanoparticles. *Cellulose* **20**, 3053–3065.
 122. Maryan A.S., Montazer M., Harifi T. (2013): One step synthesis of silver nanoparticles and discoloration of blue cotton denim garment in alkali media. *Journal of Polymer Research* **20**, 189.
 123. Nam S., Condon B.D. (2014): Internally dispersed synthesis of uniform silver nanoparticles via in situ reduction of $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ along natural microfibrillar substructures of cotton fiber. *Cellulose* **21**, 2963–2972.
 124. Raza Z.A., Rehman A., Mohsin M., Bajwa S.Z., Anwar F., Naeem A., Ahmad N. (2015): Development of antibacterial cellulosic fabric via clean impregnation of silver nanoparticles. *Journal of Cleaner Production* **101**, 377–386.
 125. Babu K., Dhandapani P., Maruthamuthu S., Kulandainathan M.A. (2012): One pot synthesis of polypyrrole silver nanocomposite on cotton fabrics for multifunctional property. *Carbohydrate Polymers* **90**, 1557–1563.
 126. Aladpoosh R., Montazer M., Samadi N. (2014): In situ green synthesis of silver nanoparticles on cotton fabric using *Seidlitzia rosmarinus* ashes. *Cellulose* **21**, 3755–3766.
 127. Ravindra S., Mohan Y.M., Reddy N.N., Raju K.M. (2010): Fabrication of antibacterial cotton fibres loaded with silver nanoparticles via “Green Approach”. *Colloids and Surfaces* **367**, 31–40.
 128. Chmielewska D., Sartowska B. (2012): Radiation synthesis of silver nanostructures in cotton matrix. *Radiation Physics and Chemistry* **81**, 1244–1248.
 129. Perera S., Bhushan B., Bandara R., Rajapakse G., Rajapakse S., Bandara C. (2013): Morphological, antimicrobial, durability, and physical properties of untreated and treated textiles using silver-nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **436**, 975–989.
 130. Kozicki M., Sasiadek E., Kolodziejczyk M., Komasa J., Adamus A., Maniukiewicz W., Pawlaczyk A., Szykowska M., Rogowski J., Rybicki E. (2013): Facile and durable antimicrobial finishing of cotton textiles using a silver salt and UV light. *Carbohydrate Polymers* **91**, 115–127.
 131. El-Shishtawy R.M., Asiri A.M., Abdelwahed N.A.M., Al-Otaibi M.M. (2011): In situ production of silver nanoparticle on cotton fabric and its antimicrobial evaluation. *Cellulose* **18**, 75–82.
 132. Kokubo T., Takadama H. (2006): How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* **27**, 2907–2915.
 133. Lorenz C., Windler L., von Goetz N., Lehmann R.P., Schuppler M., Hungerbühler K., Heuberger M., Nowack B. (2012): Characterization of silver release from commercially available functional (nano)textiles. *Chemosphere* **89**, 817–824.
 134. Limpiteprakan P., Babel S. (2016) Leaching potential of silver from nanosilver-treated textile products. *Environmental Monitoring and Assessment* **188**, 156.

135. Muniz-Miranda M., Sbrana G. (2001): SERS-activation of smooth surfaces by doping with silver nanoparticles. *Journal of Molecular Structure* **565–566**, 159–163.
136. Faulds K., Barbagallo R.P., Keer J.T., Smith W.E., Graham D. (2004): SERRS as a more sensitive technique for the detection of labelled oligonucleotides compared to fluorescence. *Analyst* **129**, 567–568.
137. Garrell R.L. (1989): Surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry* **61**, 401A–411A.
138. Yang Y., Matsubara S., Xiong L., Hayakawa T., Nogami M. (2007): Solvothermal Synthesis of Multiple Shapes of Silver Nanoparticles and Their SERS Properties. *The Journal of Physical Chemistry C* **111**, 9095–9104.
139. Davarpanah J., Kiasat A.R. (2013): Catalytic application of silver nanoparticles immobilized to rice husk-SiO₂-aminopropylsilane composite as recyclable catalyst in the aqueous reduction of nitroarenes. *Catalysis Communications* **41**, 6–11.
140. Chen Y., Zhu Q.L., Tsumori N., Xu Q. (2015): Immobilizing Highly Catalytically Active Noble Metal Nanoparticles on Reduced Graphene Oxide: A Non-Noble Metal Sacrificial Approach. *Journal of the American Chemical Society* **137**, 106–109.
141. Chen X., Schluesener H.J. (2008): Nanosilver: A nanoparticle in medical application. *Toxicology Letters* **176**, 1–12.
142. Li Y., Wu Y., Ong B.S. (2005): Facile Synthesis of Silver Nanoparticles Useful for Fabrication of High-Conductivity Elements for Printed Electronics. *Journal of the American Chemical Society* **127**, 3266–3267.
143. Hebeish A., Farag S., Sharaf S., Shaheen T.I. (2015): Nanosized Carbamoyl ethylated Cellulose as Novel Precursor for Preparation of Metal Nanoparticles. *Fibers and Polymers* **16**, 276–284.
144. Montazer M., Nia Z.K. (2015): Conductive nylon fabric through in situ synthesis of nanosilver: Preparation and characterization. *Materials Science and Engineering C* **56**, 341–347.
145. Barngrover B.M., Aikens C.M. (2011): Incremental Binding Energies of Gold(I) and Silver(I) Thiolate Clusters. *The Journal of Physical Chemistry A* **115**, 11818–11823.
146. Samuel U., Guggenbichler J.P. (2004): Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter. *International Journal of Antimicrobial Agents* **23S1**, S75–S78.
147. Madhumathi K., Kumar P.T.S., Abhisal S., Sreeja V., Tamura H., Manzoor K., Nair S.V., Jayakumar R. (2010): Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **21**, 807–813.
148. Kovacic P., Somanathan R. (2010): Biomechanisms of Nanoparticles (Toxicants, Antioxidants and Therapeutics): Electron Transfer and Reactive Oxygen Species. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **10**, 7919–7930.
149. Campos-Martin J.M., Blanco-Brieva G., Fierro J.L.G. (2006): Hydrogen Peroxide Synthesis: An Outlook beyond the Anthraquinone Process. *Angewandte Chemie International Edition* **45**, 6962–6984.
150. Carlson C., Hussain S.M., Schrand A.M., Braydich-Stolle L.K., Hess K.L., Jones R.L., Schlager J.J. (2008): Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species. *The Journal of Physical Chemistry B* **112**, 13608–13619.
151. Zhang W., Yao Y., Sullivan N., Chen Y. (2011): Modeling the Primary Size Effects of Citrate-Coated Silver Nanoparticles on Their Ion Release Kinetics. *Environmental Science and Technology* **45**, 4422–4428.
152. Lok C.N., Ho C.M., Chen R., He Q.Y., Yu W.Y., Sun H., Tam P.K.H., Chiu J.F., Che C.M. (2007): Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **12**, 527–534.
153. Levard C., Hotze E.M., Colman B.P., Dale A.L., Truong L., Yang X.Y., Bone A.J., Brown

- G.E., Tanguay R.L., Di Giulio R.T., Bernhardt E.S., Meyer J.N., Wiesner M.R., Lowry G.V. (2013): Sulfidation of Silver Nanoparticles: Natural Antidote to Their Toxicity. *Environmental Science and Technology* **47**, 13440–13448.
154. Wang Z., Quik J.T.K., Song L., Van Den Brandhof E.J., Wouterse M., Peijnenburg W.J.G.M. (2015): Humic substances alleviate the aquatic toxicity of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles to organisms of different trophic levels. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**, 1239–1245.
 155. Park E.J., Yi J., Kim Y., Choi K., Park K. (2010): Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in Vitro* **24**, 872–878.
 156. Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramírez J.T., Yacaman M.J. (2005): The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* **16**, 2346–2353.
 157. Tamayo L.A., Zapata P.A., Vejar N.D., Azócar M.I., Gulppi M.A., Zhou X., Thompson G.E., Rabagliati F.M., Páez M.A. (2014): Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into *Listeria monocytogenes*. *Materials Science and Engineering: C* **40**, 24–31.
 158. Gajbhiye M., Kesharwani J., Ingle A., Gade A., Rai M. (2009): Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine* **5**, 382–386.
 159. Kandile N.G., Zaky H.T., Mohamed M.I., Mohamed H.M. (2010): Silver Nanoparticles Effect on Antimicrobial and Antifungal Activity of New Heterocycles. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **31**, 3530–3538.
 160. Galdiero S., Falanga A., Vitiello M., Cantisani M., Marra V., Galdiero M. (2011): Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents. *Molecules* **16**, 8894–8918.
 161. Galdiero S., Falanga A., Tarallo R., Russo L., Galdiero E., Cantisani M., Morelli G., Galdiero M. (2013): Peptide inhibitors against herpes simplex virus infections. *Journal of Peptide Science* **19**, 148–158.
 162. Allahverdiyev A.M., Abamor E.S., Bagirova M., Ustundag C.B., Kaya C., Kaya F., Rafailovich M. (2011): Antileishmanial effect of silver nanoparticles and their enhanced antiparasitic activity under ultraviolet light. *International Journal of Nanomedicine* **6**, 2705–2714.
 163. Panneerselvam C., Ponarulselvam S., Murugan K. (2011): Potential Anti-plasmodial Activity of Synthesized Silver Nanoparticle using *Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae). *Archives of Applied Science Research* **3**, 208–217.
 164. De Simone S., Gallo A.L., Paladini F., Sannino A., Pollini M. (2014): Development of silver nano-coatings on silk sutures as a novel approach against surgical infections. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **25**, 2205–2214.
 165. Kempf M., Kimble R.M., Cuttle L. (2011): Cytotoxicity testing of burn wound dressings, ointments and creams: A method using polycarbonate cell culture inserts on a cell culture system. *Burns* **37**, 994–1000.
 166. García-Contreras R., Argueta-Figueroa L., Mejía-Rubalcava C., Jiménez-Martínez R., Cuevas-Guajardo S., Sánchez-Reyna P.A., Mendieta-Zeron H. (2011): Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *International Dental Journal* **61**, 297–301.
 167. Wang R., Neoh K.G., Kang E.T., Tambyah P.A., Chiong E. (2015): Antifouling coating with controllable and sustained silver release for long-term inhibition of infection and encrustation in urinary catheters. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **103**, 519–528.
 168. Lin S., Huang R., Cheng Y., Liu J., Lau B.L.T., Wiesner M.R. (2013): Silver nanoparticle-alginate composite beads for point-of-use drinking water disinfection. *Water Research* **47**, 3959–3965.
 169. Mittelman A.M., Lantagne D.S., Rayner J., Pennell K.D. (2015): Silver Dissolution and Release from Ceramic Water Filters. *Environmental Science and Technology* **49**, 8515–8522.

170. Huang L., Zhao S., Wang Z., Wu J., Wang J., Wang S. (2016): In situ immobilization of silver nanoparticles for improving permeability, antifouling and anti-bacterial properties of ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science* **499**, 269–281.
171. Hincapié I., Künniger T., Hirschier R., Cervellati D., Nowack B, Som C. (2015): Nanoparticles in facade coatings: a survey of industrial experts on functional and environmental benefits and challenges. *Journal of Nanoparticle Research* **17**, 287.
172. Echegoyen Y., Nerin C. (2013): Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food and Chemical Toxicology* **62**, 16–22.
173. Gao J., Sepúlveda M.S., Klinkhamer C., Wei A., Gao Y., Mahapatra C.T. (2015): Nanosilver-coated socks and their toxicity to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Chemosphere* **119**, 948–952.
174. Burd A., Kwok C.H., Hung S.C., Chan H.S., Gu H., Lam W.K., Huang L. (2007): A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models. *Wound Repair and Regeneration* **15**, 94–104.
175. Zou S.B., Yoon W.Y., Han S.K., Jeong S.H., Cui Z.J., Kim W.K. (2013): Cytotoxicity of silver dressings on diabetic fibroblasts. *International Wound Journal* **10**, 306–312.
176. Gliga A.R., Skoglund S., Wallinder I.O., Fadeel B., Karlsson H.L. (2014): Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. *Particle and Fibre Toxicology* **11**, 11.
177. Faedmaleki F., Shirazi F.H., Salarian A.A., Ashtiani H.A., Rastegar H. (2014): Toxicity effect of silver nanoparticles on mice liver primary cell culture and HepG₂ cell line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* **13**, 235–242.
178. Gonzalez C., Rosas-Hernandez H., Ramirez-Lee M.A., Salazar-García S., Ali S.F. (2016): *Archives of Toxicology* **90**, 493–511.
179. de Lima R., Seabra A.B., Durán N. (2012): Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. *Journal of Applied Toxicology* **32**, 867–879.
180. Arora S., Jain J., Rajwade J.M., Paknikar K.M. (2009): Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* **236**, 310–318.
181. Hadrup N., Lam H.R. (2014): Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **68**, 1–7.
182. Brandt O., Mildner M., Egger A.E., Groessl M., Rix U., Posch M., Keppler B.K., Strupp C., Beat M., Stingl G. (2012): Nanoscale silver possesses broad-spectrum antimicrobial activities and exhibits fewer toxicological side effects than silver sulfadiazine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* **8**, 478–488.
183. Siegel H.J., Herrera D.F., Gay J. (2014): Silver Negative Pressure Dressing With Vacuum-assisted Closure of Massive Pelvic and Extremity Wounds. *Clinical Orthopaedics and Related Research* **472**, 830–835.
184. Park E.J., Bae E., Yi J., Kim Y., Choi K., Lee S.H., Yoon J., Lee B.C., Park K. (2010): Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **30**, 162–168.
185. Inkielewicz-Stepniak I., Santos-Martinez M.J., Medina C., Radomski M.W. (2014): Pharmacological and toxicological effects of co-exposure of human gingival fibroblasts to silver nanoparticles and sodium fluoride. *International Journal of Nanomedicine* **9**, 1677–1687.
186. Yoisungnern T., Choi Y.J., Han J.W., Kang M.H., Das J., Gurunathan S., Kwon D.N., Cho S.G., Park C., Chang W.K., Chang B.S., Parnpai R., Kim J.H. (2015): Internalization of silver nanoparticles into mouse spermatozoa results in poor fertilization and compromised embryo development. *Scientific Reports* **5**, 11170.
187. Ranjitham A.M., Suja R., Caroling G., Tiwari S. (2013): *In vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial, anticancer activities and characterization of *Brassica oleracea*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **5**, 239–251.

188. Wang R., Chen C., Yang W., Shi S., Wang C., Chen J. (2013): Enhancement effect of cytotoxicity response of silver nanoparticles combined with thermotherapy on C6 rat glioma cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **13**, 3851–3854.
189. Farkas J., Christian P., Gallero-Urrea J.A., Roos N., Hassellöv M., Tollefsen K.E., Thomas K.V. (2011): Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquatic Toxicology* **101**, 117–125.
190. Bondarenko O., Juganson K., Ivask A., Kasemets K., Mortimer M., Kahru A. (2013): Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Archives of Toxicology* **87**, 1181–1200.
191. Navarro E., Piccapietra F., Wagner B., Marconi F., Kaegi R., Odzak N., Sigg L., Behra R. (2008): Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Technology* **42**, 8959–8964.
192. Powers C.M., Slotkin T.A., Seidler F.J., Badireddy A.R., Padilla S. (2011): Silver nanoparticles alter zebrafish development and larval behavior: Distinct roles for particle size, coating and composition. *Neurotoxicology and Teratology* **33**, 708–714.
193. Shoultz-Wilson W.A., Reinsch B.C., Tsyusko O.V., Bertsch P.M., Lowry G.V., Unrine J.M. (2011): Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Nanotoxicology* **5**, 432–444.
194. Yin L., Cheng Y., Espinasse B., Colman B.P., Auffan M., Wiesner M., Rose J., Liu J., Bernhardt E.S. (2011): More than the Ions: The Effects of Silver Nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environmental Science and Technology* **45**, 2360–2367.
195. Stefan H.G., Fang X. (1994): Dissolved oxygen model for regional lake analysis. *Ecological Modelling* **71**, 37–68.
196. Lowry G.V., Espinasse B.P., Badireddy A.R., Richardson C.J., Reinsch B.C., Bryant L.D., Bone A.J., Deonarine A., Chae S., Therezien M., Colman B.P., Hsu-Kim H., Bernhardt E.S., Matson C.W., Wiesner M.R. (2012): Long-Term Transformation and Fate of Manufactured Ag Nanoparticles in a Simulated Large Scale Freshwater Emergent Wetland. *Environmental Science and Technology* **46**, 7027–7036.
197. Thio B.J.R., Montes M.O., Mahmoud M.A., Lee D.W., Zhou D., Keller A.A. (2012): Mobility of Capped Silver Nanoparticles under Environmentally Relevant Conditions. *Environmental Science and Technology* **46**, 6985–6991.
198. Sigma-Aldrich Co. LLC (2016): Product Specification PRD.0.ZQ5.10000033911.

8 Seznam použitých zkratek

AgNPs	nanočástice stříbra
DLS	dynamický rozptyl světla
HBP-NH ₂	větvený polymer s koncovými aminoskupinami
PAA	polyakrylát sodný
PAL	povrchově aktivní látka
PDC	pad-dry-cure
PDI	index polydisperzity
PEG	polyethylenglykol
PEI	polyethylenimin
PP	polypropylen
PVA	polyvinylalkohol
PVP	polyvinylpyrrolidon
R	bakteriální redukce
ROS	reaktivní formy kyslíku
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
SERRS	povrchem zesílená rezonanční Ramanova spektroskopie
SERS	povrchem zesílená Ramanova spektroskopie
TEM	transmisní elektronová mikroskopie

9 Přílohy

Příloha A

Tato příloha se zaměřuje na popis chování vybraných prvotních vzorků, které byly připraveny ještě před optimalizací metodiky a nejsou proto uvedeny v hlavní práci. Tyto vzorky byly připraveny mírně odlišným způsobem, rozdíly od postupu popsaného v experimentální části této práce jsou uvedeny dále.

A.1 Oxidace bavlněné tkaniny a její modifikace nanočásticemi stříbra

Při oxidaci byla bavlněná tkanina o hmotnosti 250 mg a rozměrech přibližně 5×20 cm napnuta v polypropylenovém (PP) rámečku a ponořena do 140 ml 0,25% H_2O_2 na 30 min při teplotě 40 °C a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 200 rpm. Poté byla promývána vodou po dobu 4×30 s a 4×2 min. Neoxidovaná tkanina byla na stejnou dobu pouze ponořena do demineralizované vody.

Následně byla oxidovaná nebo neoxidovaná tkanina ponořena do 140 ml disperze nanočástic stříbra (AgNPs) o koncentraci 7 mg/dm^3 , připravené zředěním zásobní disperze AgNPs, na 30 min při laboratorní teplotě a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 200 rpm. Poté byla promývána vodou po dobu 4×30 s, 4×2 min a po sejmutí z PP rámečku 4×30 s. Usušena byla na vzduchu chráněna před světlem a prachem.

A.2 Testování uvolňování stříbra při mechanickém namáhání tkaniny v roztoku

Vzorek o hmotnosti 50 mg odebraný ze substrátu byl napnut v PP rámečku a ponořen do 140 ml demineralizované vody na 2 hod. při 60 °C a za míchání magnetickou míchačkou rychlostí 200 rpm.

A.3 Výsledky a diskuze

Z výsledků (Tab. A1) je patrné, že oxidace tkaniny 0,25% H_2O_2 neměla na kinetiku adsorpce ani uvolňování Ag vliv. U vzorků praných po různé době od jejich přípravy však byly pozorovány velké rozdíly v obsahu Ag. Zatímco ve vzorcích praných po 55–56 dnech zůstalo kolem 40 % původního obsahu Ag, při pozdějším praní obsah Ag narůstal až na 90 % ve vzorku praném po 205 dnech. Toto chování, které vysvětlujeme blíže nespecifikovanými procesy probíhajícími ve vzorcích během jejich stárnutí, bylo nečekané a nebylo proto v rámci prvotních experimentů podrobněji studováno.

Posloužilo však jako motivace pro podrobnější studium vlivu stárnutí na kinetiku uvolňování Ag tak, jak je popsáno v hlavní části této práce.

Tab. A1 Pokles obsahu Ag ve vzorcích tkaniny při dvouhodinovém praní ve vodě při 60 °C v závislosti na oxidaci substrátu a stáří vzorku.

	Obsah Ag (mg/kg)	Obsah Ag po 1 pracím cyklu (mg/kg)	Stáří při praní (%)	Stáří při praní (dny)
Oxidovaná tkanina	75,4	28,3	38	55
	79,6	47,8	60	160
Neoxidovaná tkanina	75,3	31,3	42	56
	85,0	54,7	64	139
		76,2	90	205