

ABSTRAKT

V této diplomové práci byl popsán a prokázán fotokatalytický účinek oxidu titaničitého s přidavkem stříbra na inaktivaci kvasinky *Candida vini*. Oxid titaničitý byl připraven sol-gel procesem a nanesen mikro-piezo depozicí na sodnovápenaté skla. Na vrstvu oxidu titaničitého bylo přidáno stříbro v různých koncentracích, které zvýšilo účinek TiO₂. Inaktivace kvasinek byla pozorována působením UV záření o intenzitě 170 a 100 W/m².

ABSTRACT

In this diploma thesis, photocatalytic effect of titanium dioxide with addition of silver was described and demonstrated on inactivation of the yeast *Candida vini*. Titanium dioxide was prepared by sol-gel process and deposited by printing method on soda-lime glasses. On the deposit of titanium dioxide was added silver in various concentrations which increased effect of TiO₂. Inactivation of yeasts was examined by effectiveness of UV light with intensity 170 and 100 W/m².

KLÍČOVÁ SLOVA

Fotokatalýza, oxid titaničitý, stříbro, inaktivace kvasinek, *Canida vini*

KEYWORDS

Photocatalysis, titanium dioxide, silver, inactivation of yeasts, *Candida vini*

VRCHOVECKÁ, P. Vliv stříbra na zvýšení účinnosti fotokatalytické inaktivace kvasinek. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 62 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

*Poděkování:
Ráda bych poděkovala RNDr. Márii
Veselé, Ph.D. za její ochotu, čas a
cenné rady.*

Obsah

1	ÚVOD.....	11
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	12
2.1	Fotokatalýza.....	12
2.1.1	Objev fotokatalýzy.....	12
2.1.2	Světlo kolem nás.....	13
2.1.3	Fotokatalytický proces na povrchu polovodiče.....	14
2.1.4	Oxid titaničitý.....	15
2.1.4.1	Použití TiO_2	16
2.1.4.2	Fotokatalytický efekt TiO_2	16
2.1.5	Tenké vrstvy TiO_2	18
2.1.5.1	Příprava vrstev TiO_2	19
2.1.5.2	Metody nanášení vrstvy TiO_2	19
2.1.5.3	Příprava anorganických polymerních filmů mikropiezo depozicí.....	20
2.1.5.4	Postup při tisku:.....	21
2.1.6	Systém Ag/TiO_2	23
2.1.7	Použití Ag^+ částic.....	24
2.1.8	Historie použití stříbra.....	24
2.2	Použití fotokatalýzy.....	25
2.2.1	Fotokatalytický antibakteriální efekt.....	26
2.2.2	Samočistící a samosterilizující efekt.....	29
2.2.3	Protizamlžující, samočistící efekt – superhydrofilnost.....	30
2.2.4	Fotokatalytické čištění vzduchu.....	31
2.2.5	Fotokatalytické čištění vody.....	32
2.2.6	Fotokatalytické léčení rakoviny.....	33
2.3	KVASINKY.....	33
2.3.1	Morfologie a cytologie kvasinek.....	34
2.3.2	Rozmnožování kvasinek.....	36
2.3.3	Význam kvasinek.....	38
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	41
3.1	POUŽITÁ ZAŘÍZENÍ A CHEMIKÁLIE.....	41
3.1.1	Použitá zařízení.....	41
3.1.2	Použité chemikálie.....	41
3.1.3	Použitý software.....	41
3.2	Použité mikroorganismy.....	41
3.2.1	<i>Candida vini</i> CCY 29-39-3.....	41
3.3	Metodika práce.....	42
3.3.1	Příprava kultivačního média.....	42
3.3.2	Příprava suspenze kvasinek.....	42
3.3.3	Příprava skel s vrstvou oxidu titaničitého.....	43
3.3.4	Pracovní aparatura.....	44
3.3.4.1	Zdroj záření.....	44
3.3.4.2	Fluorescenční mikroskop.....	45
3.3.5	Nanášení stříbra na sklíčko ovrstvené TiO_2	46
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	48

4.1 Zkoumání fotokatalytické inaktivace kvasinek	48
4.1.1 Inaktivace kvasinek při intenzitě záření 170 W/m ²	48
4.1.2 Inaktivace kvasinek při intenzitě záření 100 W/m ²	54
5 ZÁVĚR.....	59
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	60

1 ÚVOD

Fotokatalýza je nadějný objev 20. století, vykazující výrazný synergický efekt spolupůsobení světelného záření a vybraného polovodiče, který slibuje nesmírné možnosti všestranného využití v praktickém životě. V České republice se začala sledovat od roku 1995. Obor titanové fotokatalýzy je perspektivní především proto, že přispívá ke zlepšení životního prostředí. Může tak výrazně zlepšit podmínky každého člověka, neboť bez velkých nároků odstraňuje špínu a zápach, čistí vodu, zničí bakterie i buňky rakoviny a dokonce odbourává i dioxiny. Pozitivní efekty TiO_2 fotokatalýzy mohou v případě některých aplikací působit negativně. Je třeba zvažovat i faktory, které mohou nevratně zablokovat fotochemickou reakci.

Oxid titaničitý je považován za bezpečnou látku a neškodnou vůči lidem a vhodně upravený oxid titaničitý působí v přítomnosti UV záření jako fotokatalyzátor.

Fotoaktivita TiO_2 je silně ovlivněná přítomností vzácných kovů a právě přídavek stříbra zvyšuje jeho fotokatalytický účinek.

Cílem této diplomové práce je vypracovat literární rešerši na téma fotokatalytická inaktivace mikroorganismů a prostudovat fotokatalytickou inaktivaci kvasinek na tenkých vrstvách TiO_2 . Dále je cílem prostudovat vliv nízkých koncentrací stříbra na tento proces a kinetiku tohoto procesu.

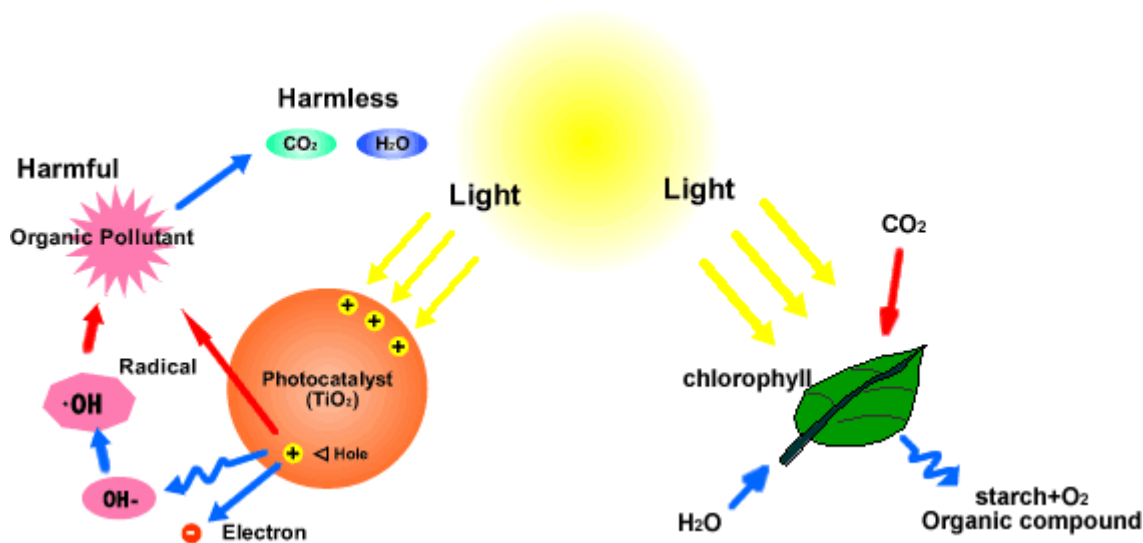
2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 FOTOKATALÝZA

Fotokatalytické procesy jsou fotochemické procesy probíhající na povrchu polovodičů.³ Název fotokatalýza se skládá z kombinace slov fotochemie a katalýzy a naznačuje, že světlo a katalyzátor jsou nezbytné k uskutečnění nebo urychlení chemické transformace. Katalyzátor může urychlovat fotoreakci interakcí se substrátem nebo excitovaným stavem a nebo s primárním fotoproductem, závisící na mechanismu fotoreakce.²

Fotokatalýzu vědci začali důkladněji zkoumat zhruba před 30 lety. Během toho období se několikrát změnil směr výzkumu. Asi jedním z nejzajímavějších pohledů se ukázalo využití vlastností fotokatalyzátorů při čištění životního prostředí. Jejich nespornou výhodou vůči ostatním metodám je, že využívají energii zachycenou ze slunečního záření a pomocí ní pak katalyzují reakce, jimiž se odbourávají nejrůznější organické sloučeniny a nečistoty.⁸

V heterogenní katalýze je redoxní reakce zprostředkována fotokatalyzátorem. Jeho role je v zásadě identická roli, kterou hraje chlorofyl ve fotosyntetickém aparátu zelených rostlin (obr. 1). U obvyklého typu fotochemické reakce jsou to fotoexcitované molekuly, které indukují reakce. Naopak fotokatalytické reakce vyžadují fotokatalyzátor, který absorbuje fotony a řídí redoxní reakce. Zasahuje do těchto reakcí, ale celkově nepodléhá změnám. Má stejné funkce jako normální katalyzátor v termálních reakcích.²



Obr. 1: Srovnání úlohy fotokatalyzátoru a chlorofylu³⁸

2.1.1 Objev fotokatalýzy

Jako postgraduální student na jaře roku 1967, objevil profesor Fujishima nepředvídatelný jev. Když ve vodném roztoku vystavil titanovou elektrodu silnému světlu, byly z povrchu elektrody uvolňovány bubliny plynu, zatímco když bylo světlo vypnuto, žádné bubliny z povrchu nevyházely. Zjistil, že tento uvolňovaný plyn je kyslík a také potvrdil, že se na opačné elektrodě zhotovené z platiny uvolňoval vodík. Tudíž byla voda složena z vodíku a

kyslíku. Jev, který se stal na povrchu titanové elektrody byla „fotokatalýza“, později zvaná „Honda-Fujishimův efekt“.

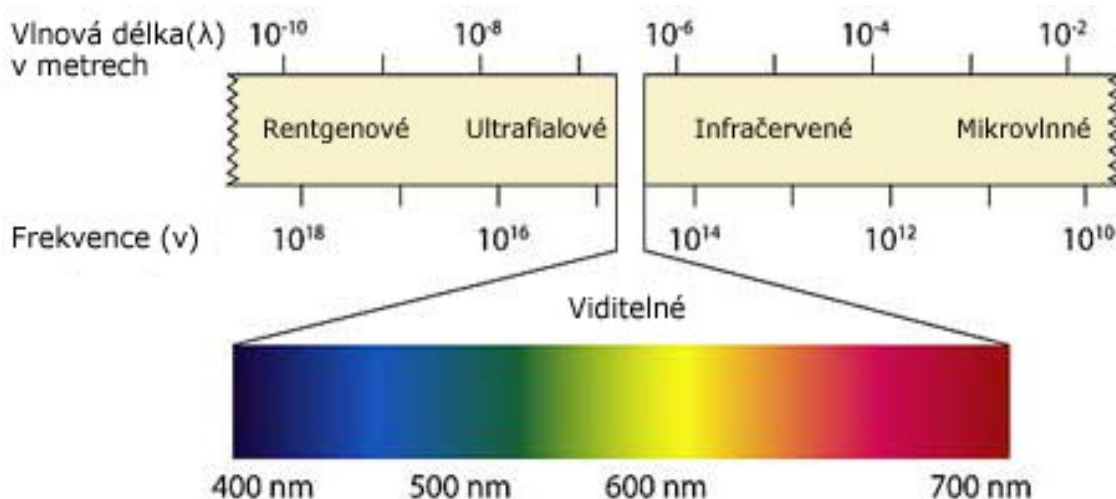
Tento objev nechtěli elektrochemici zpočátku přijmout, protože v té době, představa že by světlo mohlo být také použito jako zdroj energie nebylo mezi mnohými elektrochemiky ještě přijato, neboť udržovali poznání, že kyslík nemůže být tvořen při tak nízkém napětí, protože elektrolýza vody nastává při 1,5–2 V.

Aby se potvrdila Fujishimova metoda vzniku dostatečného množství vodíku jako zdroje energie, byl proveden experiment, při kterém se dosáhlo pouze 0,3 % účinnosti energetické konverze. To znamenalo, že fotokatalyzátor není vhodný pro energetickou konverzi. Fujishimova výzkumná skupina spolu s Dr. Hashimoto usoudili, že ačkoliv fotokatalyzátor nemohl být použit jako materiál k vytvoření velkého množství energie energetickou konverzí slunečním zářením, mohl by být použit na rozklad nežádoucích materiálů. Jeho výzkumná skupina začala bádát společně s Dr. Watanabe, který se tehdy zajímal o desinfekci a dezodorizaci. Zjistili, že oxid titaničitý vykazuje antibakteriální a superhydrofilní vlastnosti.⁴

2.1.2 Světlo kolem nás

Světlo je potřebné k životu stejně jako vzduch a voda. Světlo, jako forma energie, je popisováno jako vlnění. Je charakterizováno vlnovou délkou, což je vzdálenost mezi dvěma sousedními maximy. Viditelné světlo se skládá ze sedmi barev: červené, oranžové, žluté, zelené, modré, indigové a fialové. Viditelnému světlu odpovídá vlnová délka v rozmezí přibližně od 400 do 700 nm. Viditelné světlo je pouze malou částí celého světelného spektra, jak je naznačeno na obrázku (obr. 2).

Nad rozsahem viditelného světla je infračervené světlo, pod ním je ultrafialové světlo (UV). Má vlnovou délku kratší než 400 nm a je důležité pro fotokatalytické technologie. Ačkoliv je UV světlo částí slunečního světla a dokonce i osvětlení našeho interiéru, je to jen velmi malá část. Avšak UV světlo může pracovat velmi efektivně i pouze při současném použití oxidu titaničitého.¹



Obr. 2: Světelné spektrum⁵

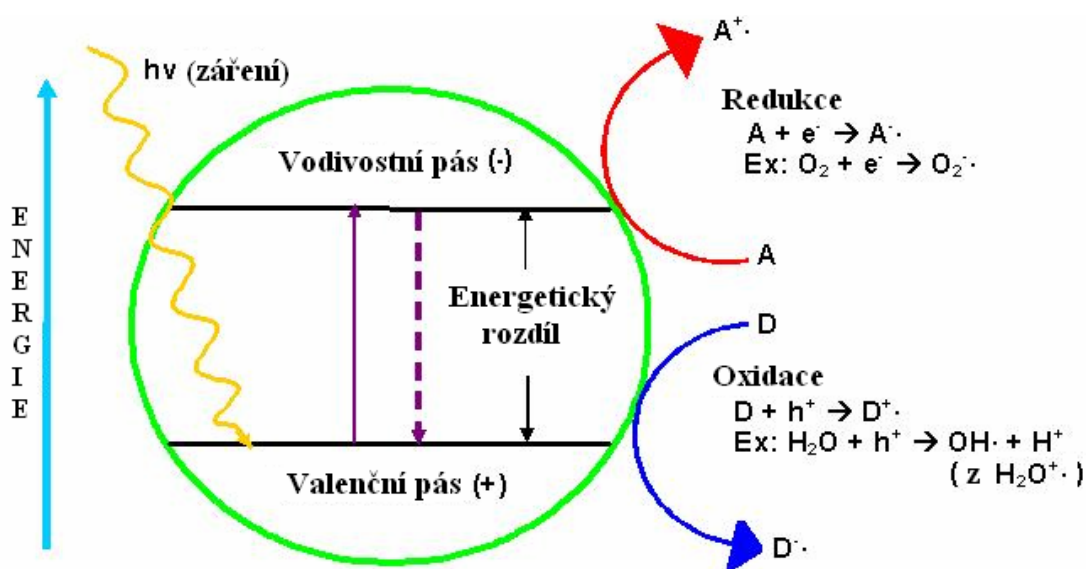
2.1.3 Fotokatalytický proces na povrchu polovodiče

V tuhé látce (polovodiči) jsou energetické hladiny elektronů seskupené do energetických pásů. Nejvyšší zaplněný energetický pás se nazývá valenční (valence band = vb) a nejnižší prázdný je vodivostní pás (conduction band = cb). Energetický rozdíl mezi hranami vodivostního a valenčního pásu udává šířku zakázaného pásu (energy band gap = E_{bg}). Jestliže má látka zakázaný pás menší než 3,2 eV, jedná se o polovodič, naopak izolátory mají zakázaný pás větší než 3,2 eV.³

Polovodiče mohou účinkovat jako senzibilizátory pro světlem indukované redoxní procesy díky jejich elektronové struktuře sestávající ze zaplněného valenčního pásu a prázdného vodivostního pásu. Když jsou částice polovodiče (např. oxid titaničitý) ozářeny světlem s energií vyšší nebo rovnou energii zakázaného pásu, jsou elektrony excitovány z valenční vrstvy do vodivostní a dochází k tvorbě páru elektron – díra ve valenční vrstvě. V nepřítomnosti vhodného akceptoru je energie disipována rekombinací během několika nanosekund. Jestliže je přítomný akceptor nebo povrchový defekt, který by zachytil elektron nebo díru, rekombinaci se zabrání a může proběhnout série redoxních reakcí s adsorbovanými druhy jako jsou hydroxylové ionty, molekuly vody, rozpuštěné molekuly kyslíku, organické druhy a kovové ionty.

Díry (h^+) valenčního pásu jsou silnými oxidanty, zatímco elektrony (e^-) vodivostního pásu jsou dobrými reduktanty. Většina fotodegradačních reakcí organických látek využívá oxidační schopnosti fotogenerovaných děr, ale musí být přítomna i redukovatelná látka (resp. akceptor elektronů). Tato podmínka je ve vodě splněna. Na povrchu polovodičové částičky tedy probíhají současně redukční a oxidační procesy s adsorbovanými částicemi nebo povrchovými skupinami (obr. 3).^{3,7}

Účinnost fotokatalytických reakcí je limitována vysokým stupněm rekombinace elektron – díra vzevších ve fotokatalytických procesech a limitovanou absorpční schopností fotokatalyzátoru.⁷



Obr. 3: Schematické zobrazení fotochemických a fotofyzikálních procesů na polovodiči⁶

Z nepřeberného množství známých polovodičů vyhovuje nejlépe pro fotokatalytické reakce oxid titaničitý (v modifikacích anatas a rutil), a to pro svoji polohu energetických pásů a dobrou fotoelektrochemickou stabilitu ve vodném roztoku.³

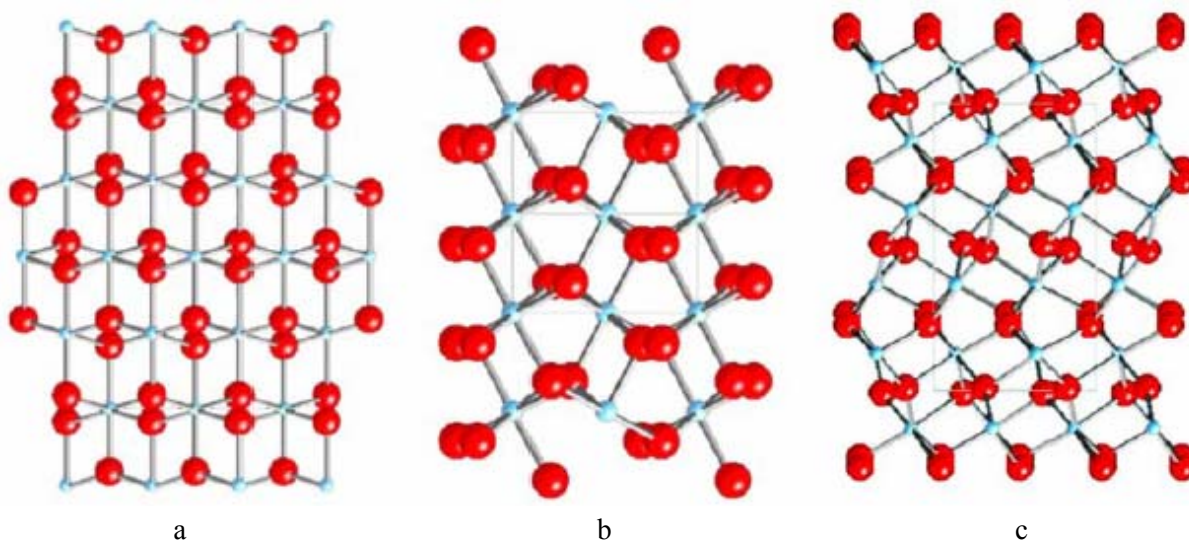
2.1.4 Oxid titaničitý

Oxid titaničitý TiO_2 je chemická sloučenina kyslíku a titanu.⁹ Je považován za bezpečnou látku a neškodnou vůči lidem.¹⁰ Uměle připravený oxid titaničitý označovaný jako titanová běloba má široké použití jako pigment do nátěrových hmot, barvivo v potravinářství a jako účinná složka některých opalovacích krémů. Přírodní oxid titaničitý se nevyskytuje jako čistý. Většinou bývá kontaminován ionty jiných kovů, například železa. Přírodní minerály oxidu titaničitého jsou průmyslově těženy jako zdroj titanu.⁹ Oxid titaničitý se v přírodě vyskytuje ve 3 základních modifikacích (obr. 4):

- rutil – má tetragonální strukturu a je stabilní při vysokých teplotách
- anatas – má také tetragonální strukturu a je stabilní pouze při nižších teplotách a při vysoké teplotě přechází na rutil
- brookite – má ortorombickou krystalovou strukturu a je přítomna pouze v minerálech.

Minerály rutil a anatas jsou nejběžnějšími krystalickými formami oxidu titaničitého. Zatímco rutil se jako bílý pigment, tzv. titanová běloba, průmyslově vyrábí a používá již dlouhou dobu, aplikace založené na specifických vlastnostech nanokrystalického anatasu se začínají rozvíjet teprve v současnosti. Existují ještě i další struktury, ale ty už musí být připravovány syntetickými cestami.⁸

Oxid titaničitý má ve svých různých krystalových modifikacích a morfologických formách užitečné vlastnosti pro aplikace a tyto jsou příznivě propojeny s jeho dostupností, cenou, stabilitou a relativní nezávadností v přírodním prostředí.¹³



Obr. 4: Modifikace TiO_2 : a – anatas, b – rutil, c – brookit¹¹

2.1.4.1 Použití TiO_2

Oxid titaničitý se zprvu používal jako bílý pigment, anebo činidlo absorbující ultrafialové světlo, které přeměňuje na neškodné teplo. Proto se jeho fotokatalytická aktivita považovala za problém, který je potřeba potlačit. Teprve před zhruba 30 lety, kdy se začala zkoumat fotokatalýza, se změnil pohled na tuto nežádoucí vlastnost.⁸ Jako pigment má výrazný jas a velmi vysoký index lomu ($n = 2,7$). Zajišťuje bělost a neprůhlednost barev, povlaků, plastů, papíru, inkoustů, potravin, kosmetiky a léčiv (např. tablet, či zubních past). Ročně je celosvětově vyrobeno přibližně 4 000 000 tun TiO_2 .



Obr. 5: Oxid titaničitý⁹

Je vhodným materiálem pro použití ve formě tenkých povlaků na speciální optice jako jsou dielektrická zrcadla. Díky svému vysokému indexu lomu, opacitě, UV rezistenci a stálosti je často používanou přísadou opalovacích krémů. Tyto opalovací krémy s obsahem fyzikálních absorbátorů (oxid titaničitý a oxid zinečnatý) méně často vyvolávají podráždění a alergické reakce kůže. Je používán v lambda sondách v motorech automobilů a v medicíně umožňuje srůst kostí s implantáty, jako jsou umělé klouby a zuby.⁹

Oxid titaničitý je také používán jako polovodič, nejčastěji ve formě anatasu.^{8,9} Anatas je polovodič s širokým zakázaným pásem (3,2 eV - tuto energii má světlo o vlnové délce 388 nm)⁸, který pod ozářením vytváří energeticky bohaté páry elektron – díra schopné degradovat chemikálie a buněčné součásti mikroorganismů a převést je na neškodné produkty, hlavně na vodu a oxid uhličitý.¹²

2.1.4.2 Fotokatalytický efekt TiO_2

Vhodně upravený oxid titaničitý působí v přítomnosti UV záření jako fotokatalyzátor. Pokud je TiO_2 nadopován atomy dusíku funguje jako katalyzátor již v přítomnosti viditelného záření.⁹

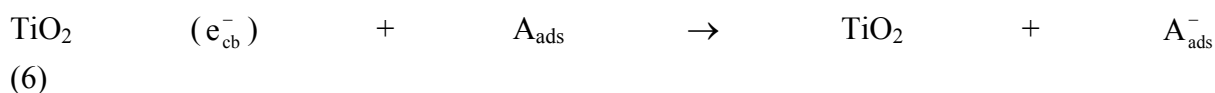
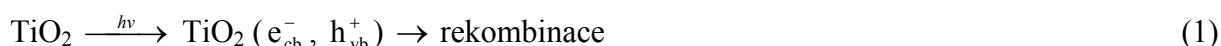
Jednou z vlastností oxidu titaničitého je fotokatalytická aktivita, umožňující působením ultrafialového záření ($\lambda < 390 \text{ nm}$) degradovat na povrchu nanočástic TiO_2 veškeré organické struktury, včetně mikroorganismů.¹⁴

Fotokatalytické reakce většinou probíhají za přítomnosti kyslíku buď vzdušného nebo vázaného ve sloučeninách. Počátek reakce iniciuje dopadající světlo o dostatečné energii. Fotokatalyzátor absorbuje kvantum záření, čímž vznikne pár elektron-díra. U vodivých

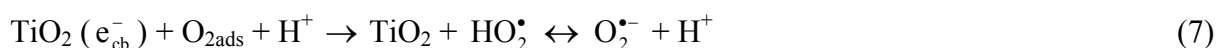
materiálů by ihned nastala zpětná rekombinace, ovšem u polovodičů je situace jiná, pár elektron-díra existuje delší dobu. Dobrým indikátorem účinnosti fotokatalytické reakce je poměr rychlosti rekombinace k rychlosti tvorby párů elektron-díra.⁸

V přítomnosti vody a kyslíku se tyto částice na povrchu TiO₂ transformují zoxidovanými děrami na hydroxylové radikály HO[•]. Ty mají vysoký oxidační potenciál, díky čemuž pak mohou reagovat s organickými sloučeninami za vzniku volných radikálů. Volné radikály jsou nestabilní molekuly, které mají jeden nespárovaný elektron. Přítomný molekulární kyslík také obsahuje nespárované elektrony, tudíž velice ochotně reaguje s těmito volnými radikály za vzniku organických peroxidových radikálů.^{8,14}

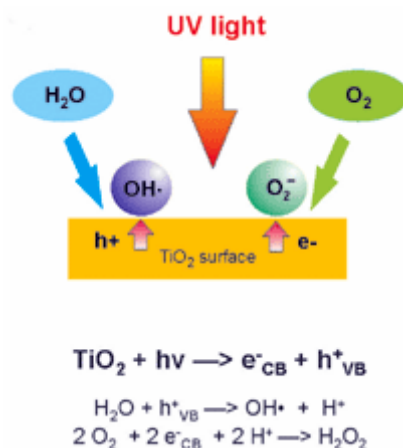
Heterogenní fotokatalytický proces je komplex reakcí, které mohou být vyjádřeny následujícími rovnicemi:



A, zde představuje akceptor elektronů a **D** donor elektronů. Akceptorem je rozpuštěný O₂, který je transformován na superoxidový anion radikál (O₂^{•-}), který může způsobit další tvorbu radikálu HO[•]:



Tyto reaktivní radikály (zejména HO^\bullet a $\text{O}_2^{\bullet-}$) následně atakují organické látky a mikroorganismy obsažené v okolním vodném roztoku, popř. plynné fázi (obr. 6) a mohou oxidovat organický materiál až do úplné mineralizace v závislosti na experimentálních podmínkách. Celkově, tyto organické molekuly reagují s rozpuštěným kyslíkem za vzniku oxidu uhličitého a vody.^{14,28}



Obr. 6: Degradace organických látek na povrchu TiO_2 ¹⁴

Superoxidový radikál, který má relativně nízkou oxidační schopnost se může spojit s organoperoxy radikály (ROO^\bullet) za tvorby nestabilního produktu obsahujícího minimálně čtyři atomy kyslíku, tzv. tetraoxidu (ROOOOH), který se rozkládá na reakční produkty (CO_2):



Nebo rozpuštěný kyslík může také reagovat s organickými radikály vytvořené během ozáření suspenze tvořící organoperoxy radikály, které jsou dále degradovány na oxid uhličitý a vodu:^{7,8}



2.1.5 Tenké vrstvy TiO_2

Při fotokatalytické degradaci organických látek je jedním z podstatných kritérií specifický povrch fotokatalyzátoru. Na fotokatalyzátoru s větším povrchem se může naadsorbovat větší množství degradované organické látky. V případě, že se daná látka na fotokatalyzátor neadsorbuje, může se na větším povrchu zachytit více OH^\bullet radikálů generovaných zářením odpovídající vlnové délky. Tyto radikály mohou následně reagovat s danou organickou látkou přítomnou v systému. Z toho plyne, že jako fotokatalyzátory jsou nejvýhodnější práškové materiály s vysokým specifickým povrchem. Pro praktické užití jsou ovšem značně nevýhodné, protože po proběhnutí reakce musíme práškový fotokatalyzátor oddělit od média, v kterém fotokatalytická reakce probíhala. Tato separace je poměrně složitý proces, proto se jako možné řešení jeví nanášení práškových fotokatalyzátorů na vhodný podklad. Pro lepší soudržnost vrstvy s podkladem i jednotlivých částic navzájem je vhodné vrstvy tepelně upravit. Vytvořením vrstvy částic sice může dojít ke snížení specifického povrchu (vzhledem

k suspensi částic) a ke zhoršení přístupu molekul degradované látky k povrchu, ale manipulace s takovou vrstvou je značně snazší než s volnými částicemi fotokatalyzátoru rozptýlenými v tekutém médiu.³⁰

Sodnovápenaté sklo je velmi často používáno jako levný substrát pro vrstvy s fotokatalytickou aktivitou, i když je velmi dobře známý negativní vliv difuze Na^+ iontů ze substrátu do vrstvy katalyzátoru.³²

Důležitá je tloušťka TiO_2 filmu. S nízkou intenzitou ozáření a tenkým TiO_2 filmem, je aktivován pouze katalyzátor a difúze znečišťujících látek pomocí TiO_2 vrstev může být rychlostně limitující.³¹

2.1.5.1 Příprava vrstev TiO_2

Příprava filmů se uskutečňuje nejčastěji dvěma způsoby:

- **Fyzikální způsob**

Dochází při něm k fixaci TiO_2 částic k povrchu nosiče použitím vhodného pojiva.

- **Chemický způsob**

Při tomto způsobu se sloučenina obsahující daný kov (nejčastěji alkoxyd kovu) váže přímo k povrchu nosiče a zde tvoří fotoaktivní oxid. Tato metoda se nazývá sol-gel proces. Sol-gel proces se používá na přípravu fotoaktivních vrstev katalyzátorů při nízkých teplotách. Základní složky těchto vrstev tvoří organokovové sloučeniny, nejčastěji se jedná o alkoxydy kovů nebo koloidní roztoky kovů. Při sol-gel procesu dochází k fázové přeměně solu (její základ tvoří některá z titaničitých solí) na gel působením atmosférické vlhkosti. Přístup vody ze vzduchu iniciuje gelaci solu, která spočívá v hydrolýze solu, a tím vede k vytvoření kovalentních vazeb $-\text{Ti}-\text{O}-\text{Ti}-$. Poté následuje termický proces přeměny gelu na oxid titaničitý. Mezi výhody této metody patří hlavně možnost přípravy materiálů mimořádné čistoty, homogenity a složení, jichž nelze klasickými metodami dosáhnout.²⁹

2.1.5.2 Metody nanášení vrstvy TiO_2

Vrstvu z práškového materiálu lze připravit několika způsoby:

- **Sedimentační způsob**

Je to často používaná metoda, při které částice fotokatalyzátoru sedimentují ze suspenze na podklad a poté se substrát s vytvořenou vrstvou ze zbyvající suspenze vyjme.

- **Sprayování**

Sprayování je metoda, kdy se na substrát nanáší formou malých kapek suspenze fotokatalyticky aktivních částic, která velmi rychle vysychá.

U těchto dvou metod se při přípravě vrstev nanáší na substrát relativně silná vrstva suspenze se známým obsahem práškového fotokatalyzátoru, přičemž se nechá suspenze zcela vyschnout. Množství nanášeného fotokatalyzátoru lze velmi snadno modifikovat vhodnou volbou koncentrace fotokatalyzátoru v suspenzi.

- **Dip-coating**

Dip-coating je velice často používán při přípravě sol-gel vrstev. Tato metoda je založena na ponoření a vytažení substrátu ze suspenze fotokatalyticky aktivních částic definovanou rychlostí. Vrstvy připravené touto metodou jsou nanášeny na obou stranách substrátu. Množství nanášeného fotokatalyzátoru lze v určitých mezích řídit pomocí koncentrace fotokatalyzátoru v suspenzi a také počtem a rychlostí ponoření a vytažení substrátu.³⁰

- **Spin-coating**

Jedná se o metodu, při které je kapalný prekurzor nanášen pomocí rotační vakuové pumpy na substrát, který je vakuově uchycen na rotor. Roztok prekurzoru je nanášen na substrát, který rotuje vysokou rychlostí, čímž dochází k rozestření prekurzoru pomocí odstředivé síly. Volba rychlosti otáčení sklíčka umožňuje měnit tloušťku vrstvy. Rozsah tloušťky filmu dosažitelné metodou spin-coating je 1–200 μm . Chceme-li vytvořit silnější film, je potřeba vysoká viskozita roztoku, nízká rychlost otáčení a krátký čas rotace. Viskozita roztoku se dá upravit objemovým poměrem alkoxidu a organického rozpouštědla.¹¹

- **Elektroforetický způsob**

Metoda elektroforetického nanášení je založena na tom, že částice v suspenzi mají náboj a vložení vnějšího potenciálu pak dochází k migraci těchto částic k elektrodě s opačnou polaritou, kde náboj ztrácí a zůstane zde zachycen. Z důvodu rovnoměrného nanášení částic by v systému neměly probíhat reakce na elektrodách (vyučování vodíku, kyslíku), proto se používají suspenze metanolové, nebo acetonové. Množství nanášeného fotokatalyzátoru ve výsledné vrstvě lze ovlivnit opět koncentrací fotokatalyzátoru v suspenzi, ale také velikostí vloženého potenciálu, vzájemnou vzdáleností elektrod a dobou elektroforézy. Značnou nevýhodou této metody je mimo její komplikovanost také to, že neumožňuje vytvořit vrstvu na elektricky nevodivém materiálu.³⁰

- **Nanášení mikropiezo depozicí**

Je to způsob nanášení pomocí inkoustové tiskárny, která tvoří vrstvu uvolňováním malých kapiček. Toto zařízení vyžaduje vytvoření kvalitního filmu po odpaření.

2.1.5.3 Příprava anorganických polymerních filmů mikropiezo depozicí

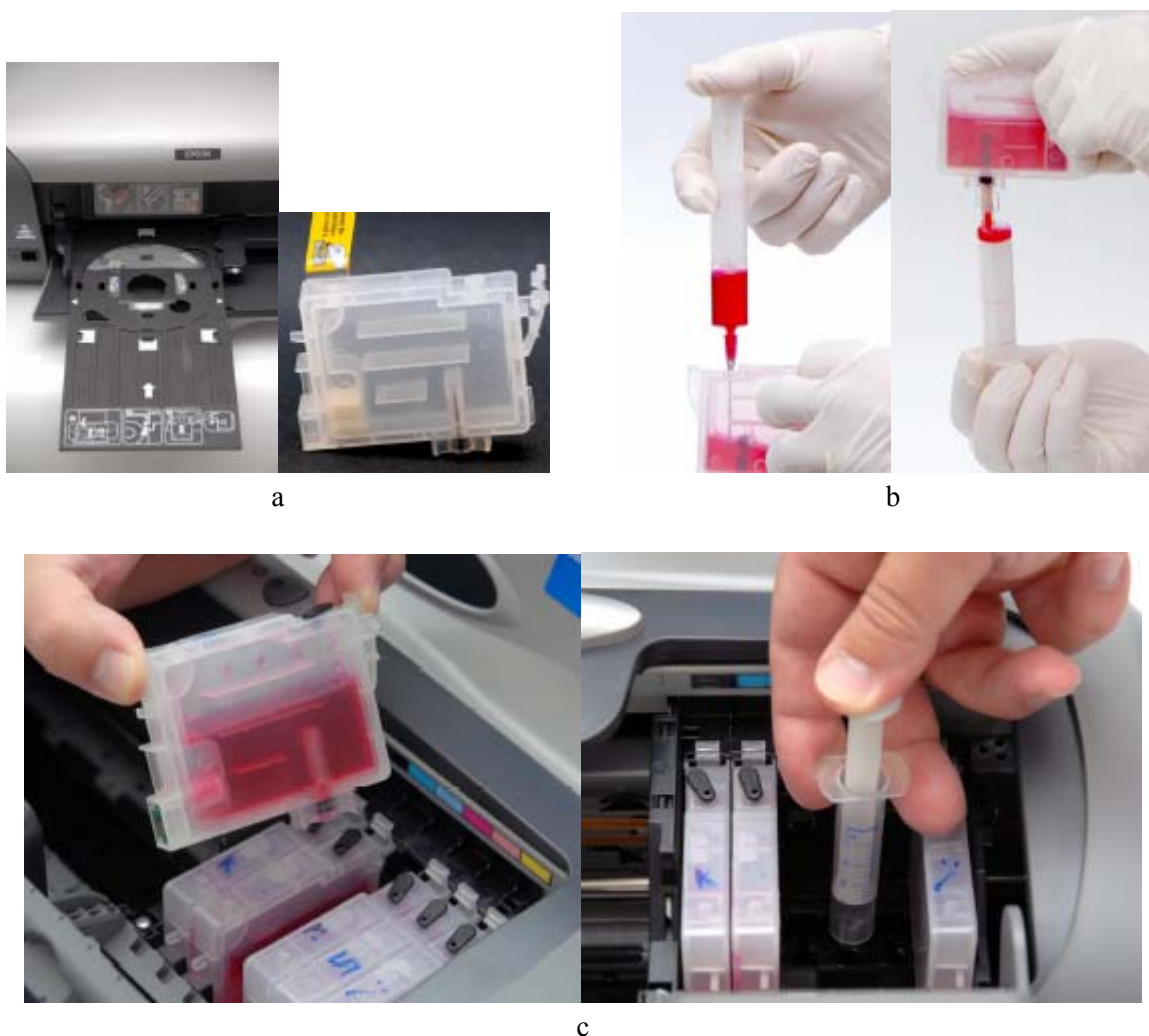
Inkoustová tiskárna je zařízení dobře známé spotřebou papírů. Toto zařízení může uvolňovat kapičky malých rozměrů přímo na cíl a používá se v různorodých průmyslových aplikacích (např. polymerní elektroluminiscenční zařízení). Toto zařízení spojené s inkoustovým tisknutím vyžaduje kvalitu vytvoření filmu po odpaření. Profil tloušťky tenkého filmu a jeho rovnoměrnost jsou klíčovými faktory pro technické aplikace.

Sol titanu se tiskne na skleněné destičky inkoustovou tiskárnou Epson R220. Potištěné destičky jsou sušeny při 60 °C po dobu 1 h za přítomnosti vzduchu a kalcinovány při 450 °C po 3 h. Kazety z tiskárny jsou vyměněny za nové (MIS Associates Inc., USA), které se naplnily

solem. Skleněná destička 50×50×1,2 mm je poté umístěna na CD držák, který je upravený k zajištění pozice skleněné destičky během tisku.

2.1.5.4 Postup při tisku:

1. Příprava držáku skleněné destičky (obr. 7a)
2. Plnění kazety solem tetraisopropoxidu titaničitého (obr. 7b)
3. Pumpování solu pomocí hlavy tiskárny
4. Nastavení parametrů tisku
5. Tisk
6. Čištění hlavy tiskárny (obr. 7c)

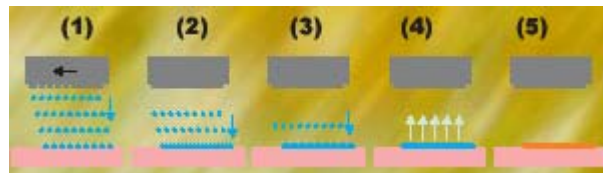


Obr. 7: Postup při tisku: a – inkoustová tiskárna Epson R220 a prázdná kazeta, b – proces plnění, c – čištění hlavy po tisku

Při tomto způsobu nanášení je možno nastavit 2 rychlosti tištění:

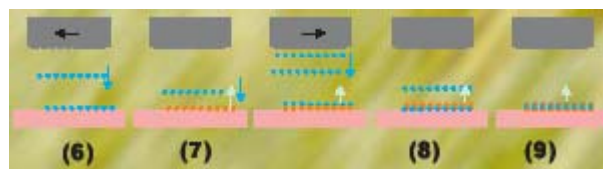
- rychlý způsob tisku (obr. 8) se vyznačuje:
 - vysokou rychlostí průtoku média (**1**)

- velkým objemem kapek (2)
 - nízké rozložení
 - vysokou rychlostí hlavy
 - rychlým pohybem substrátu
- a výsledky tisku:
- zaplavený povrch (3)
 - odpařování rozpouštědla (4)
 - hladká a kompaktní vrstva (5)



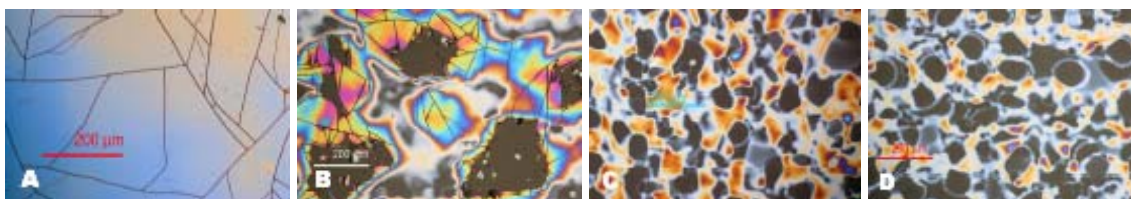
Obr. 8: Rychlý tisk

- pomalý způsob tisku (obr. 9) se vyznačuje:
 - pomalá rychlost průtoku média (6)
 - malý objem kapek (7)
 - vysoké rozložení
 - nízká rychlost hlavy
 - pomalý pohyb substrátu
- a výsledky tisku:
- pomalé nahromadění vrstvy s plynulým odpařením (8)
 - strukturovaný a vysoce porézní povrch vrstvy (9)



Obr. 9: Pomalý tisk

Nanášení vrstvy TiO_2 je vhodná metody pro přípravu tenké polymerní vrstvy. Pomocí ní lze získat hladkou, homogenní a velmi tenkou vrstvu polymeru (anorganický nebo organický). Byla dosažena velmi tenká vrstva konečného TiO_2 o tloušťce 212 nm (obr. 10). Velkou výhodou této metody je proveditelnost a tvorba malého objektu.³³ Vrstva TiO_2 nanosená na skleněné destičky, použité v následující experimentální části, byla připravena právě pomocí procesu nanášení inkoustovou tiskárnou.



Obr. 10: Vrstvy TiO₂ tištěné různým nastavením tiskárny Epson R220: A – 100 % bodová plocha, B – 100 % bodová plocha, pomalý způsob, C – 80 % bodová plocha, rychlý způsob, D – 80 % bodová plocha, pomalý způsob³³

2.1.6 Systém Ag/TiO₂

Fotoaktivita TiO₂ je silně ovlivněná přítomností vzácných kovů.³⁴ Právě přecitlivělost stříbra je efektivní cesta, jak zvýšit fotokatalytickou aktivitu TiO₂.³⁵ Stříbro si získalo pozornost ve spojení s desinfekcí od roku 1985, kdy Matsunga poprvé uvedl jeho použití.

Stříbro má dobře známé baktericidní schopnosti. Ag(I) ionty jsou silnými donory elektronů primárně spojenými interakcí s buněčnými proteiny přes sulfhydrylové skupiny. Nanoclustery stříbra uvolňují Ag(0) a oba chemické druhy Ag(I) ionty a Ag(0) atomy ukazují rapidní usmrcování bakterií a vláknitých hub. Stříbro může také hrát roli přidruženou jeho přítomností na povrchu titania. Tento kov silně ovlivňuje separaci náboje při absorpci záření a tímto způsobem ovlivňuje fotochemickou aktivitu. Záření a výměna náboje s bakterií mohou upravovat oxidační stav stříbra.³⁴ Vzorky s přidavkem stříbra ukázaly nejvyšší baktericidní aktivity. V procentech dosahovala redukce bakterií 98–100 %.³⁶

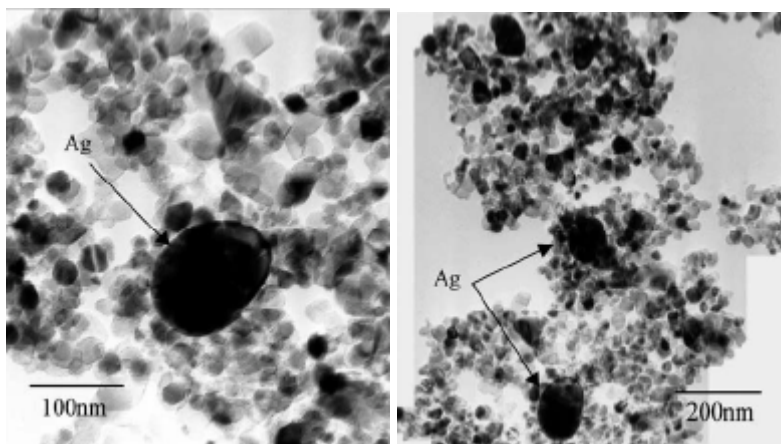
Zvýšená aktivita částic oxidu titaničitého může být přisuzována dvěma faktory. Za první, redukce iontů stříbra na kovové stříbro spotřebovává elektrony a tímto se zvyšuje separace elektronů a děr a redukuje se rekombinace. Za druhé, kovový povlak na titanovém povrchu je odpovědný za zlepšení aktivity TiO₂ částic a filmů. Na nepokrytých TiO₂ suspenzích jsou dárce elektronů molekuly vody, hydroxylové ionty a organické molekuly. Příjemcem elektronů je kyslík pro experimenty prováděné v přítomnosti vzduchu. V upravených TiO₂ suspenzích jsou dodatečným příjemcem elektronů hlavně stříbrné (I) ionty.⁷

Přítomností stříbra na titanovém povrchu se zřetelně nemění povrchová plocha ani velikost částic oxidovaných složek.⁽⁹⁾³⁴ Po umytí filmu s přidavkem stříbra ukázal film stejně dobrý účinek jako neumytý film s přidavkem stříbra, z čehož vyplývá, že stříbro je na filmech silně poutáno.³⁶

Primární velikost částic TiO₂ prášku byla okolo 30 nm. Větší částice jsou výsledkem velkého stupně agregace. Když se částice bez přítomnosti Ag⁺ ozáří, žádná změna ve velikosti částic nenastane. Pod ozářením suspenze s Ag⁺ se velikost částic zvyšuje, což může být přisuzováno povlaku agregátu částice. Přítomnost většího množství stříbra na substrátu snižuje životnost systému.³⁷

Stříbro se nanáší na povrch TiO₂ v různých koncentracích. Pro všechny koncentrace pokrytí se systém Ag/TiO₂ ukázal být podstatně lepší než čistý TiO₂. Při vyšší koncentraci pokrytí stříbra než je optimum se aktivita Ag/TiO₂ snižuje. Toto snížení má několik důvodů. Použitím koncentrace stříbra nad optimum nastane snížení v elektronové hustotě TiO₂, protože dochází k přitahování elektronů větším počtem Ag částic, které byly vytvořeny vyšším pokrytím stříbra. Vzniká škodlivý efekt na separaci náboje, čímž se snižuje aktivita modifikovaného fotokatalyzátoru. Také nadměrné pokrytí fotocitlivého povrchu nánosem stříbra snižuje množství záření dopadajícího na TiO₂ povrch. Tímto se snižuje počet vytvořených párů elektron – díra a snižuje se rychlost oxidace organických látek. Je také možné, že ovrstvení nad optimum koncentrace působí Ag částice jako rekombinanční centra. Je zde také snižená pravděpodobnost zachytu děr velkým počtem Ag částic, které snižují pravděpodobnost reakce děr s adsorbovanými reaktivními druhy na povrchu TiO₂. Je to spojeno s velikostí částic nánosů stříbra, jelikož velikost je důležitým parametrem ovlivňující

fotokatalytickou aktivitu Ag/TiO₂ částic. Menší nánosy mohou díry zachytávat rychleji než vyšší nánosy. Tyto nánosy stříbra jsou vidět na obrázcích dole (obr. 11) pořízené transmisí elektronovou mikroskopií (TEM = transmission electron microscopy), která slouží k prozkoumání velikosti a rozptřeni nánosů stříbra na různě modifikovaném povrchu.⁷



Obr. 11: TEM mikrogramy Ag⁺ modifikovaného povrchu⁷

2.1.7 Použití Ag⁺ částic

Stříbro bylo používáno od nepaměti ve formě kovového stříbra, AgNO₃ a sulfadiazinu stříbra na léčbu popálenin, zranění a bakteriálních infekcí. Vypuknutím infekčních onemocnění způsobených patogenními bakteriemi a vyvinutím jejich rezistence vůči antibiotikům, začaly farmaceutické společnosti a výzkumníci hledat nové antibakteriální činidla.

Při současných možnostech byly objeveny materiály v nanorozsahu a tím vznikly nové antimikrobiální činidla vlastnící vysoký poměr specifického povrchu ke objemovému povrchu a jedinečné chemické a fyzikální vlastnosti. Nanotechnologie je rychle se vynořující oblast se záměrem průmyslové výroby nových materiálů v nanorozsahu. Slovo „nano“ je řeckého původu znamenající extrémně malý a je používáno pro označení miliardtiny metru neboli 10⁻⁹. Z různých typů nanomateriálů jako měď, zinek, titan, hořčík, zlato, je stříbro nejefektivnější.

Obvyklé výzkumy podporují použití Ag⁺ iontů nebo kovového stříbra ve formě nanočástic a využívají je v lékařství na léčbu popálenin, na výrobu zubních materiálů, textilií, opalovacích přípravků, k ošetření vody atd. a vykazují nízkou toxicitu vůči lidským buňkám, vysokou termální stabilitu a nízkou těkavost.

2.1.8 Historie použití stříbra

Po staletí bylo stříbro používáno k léčbě popálenin a chronických zranění. Existují různé náznaky poukazující na první použití AgNO₃ již ve Středním Věku jako období začátku, jiné poukazují na objevení AgNO₃ v 15. století Bassilem Valentinusem.⁴⁰ V r. 1700 byl AgNO₃ použit na léčbu cévních onemocnění. V 19. století byla granulace tkání odstraněna použitím AgNO₃ s následnou epitelizací a podporou tvorby strupu na povrchu zranění. Ophthalmia neonatorum bylo odstraněno zavedením AgNO₃ do očních kapek Carlem S. F. Crédem v r.

1881. Crédův syn vytvořil stříbrem impregnované obvazy pro kožní transplantáty. V r. 1967, Moyer oživil významnost AgNO_3 při léčbě popálenin zavedením kontinuální závlahy 0,5% roztokem AgNO_3 . V r. 1968 byl dusičnan stříbrný zkombinován se sulfonamidem za vzniku krému sulfadiazinu stříbra a byl použit na lokální antimikrobiální léčbu, který měl navíc antifungální a antivirové vlastnosti, aplikace je bezbolestná a je nedráždivý ke tkáním.

V dnešní době jsou obvazy jako antimikrobiální činidla dostupná v různých formách a formulacích (např. Acticoat 7, Aquacel Ag, Actisorb). Tyto obvazy s nejvyššími koncentracemi stříbra projevily nejsilnější bakteriální inhibiční vlastnosti. Lokální antimikrobiální krémy projevily lepší bakteriální inhibiči. U AgNO_3 se prokázala také větší účinnost než mají antibiotika při léčbě dásňových infekcí ústní dutiny.^{39,40}

Antimikrobiální vlastnost stříbra je spojená s množstvím a rychlostí uvolněného stříbra. Toxicita u stříbra je pozorována ve formě argyrie a to tehdy, když jsou na velké zranění použity obvazy s velkým množstvím Ag^+ iontů.³⁹

Formy stříbra a jejich antimikrobiální účinek

- **Kovové stříbro**

Stříbro v kovovém stavu je inertní, ale při reakci s vlhkostí na kůži se stává ionizovaným. Ionizované stříbro je vysoce reaktivní, váže se na tkáňové proteiny a přináší strukturální změny v buněčné stěně a jaderné membráně vedoucí k jejím rozrušením a úhynu buňky. Stříbro se také váže denaturací na DNA a RNA a inhibuje replikaci.

- **Sulfadiazin stříbra (AgSD)**

Je používán jako 1% vodo-rozpustný krém. Pracuje jako širokospektrální antibiotikum a obzvláště se používá na léčbu popáleninových zranění. AgSD se váže na buněčné součásti včetně DNA a způsobuje zničení membrány. Dokazuje bakteriální inhibiči vazbou na páry bází v helixu DNA a tímto inhibuje transkripci. Podobně se také váže na fágovou DNA.

- **Zeolit stříbra**

V Japonsku jsou vyráběny keramické materiály pokryté zeolitem stříbra, čímž získávají antimikrobiální vlastnosti i jejich produkty. Tyto materiály jsou používány na úchovu potravin, desinfekci lékařských produktů, dekontaminaci materiálů. V buňce inhibuje buněčné funkce a ničí buňku. Také může tvořit reaktivní kyslíkové molekuly, které inhibují dýchání.⁴⁰

2.2 POUŽITÍ FOTOKATALÝZY

Fotokatalytická technologie je pro dnešní průmysl stále atraktivnější, protože světové znečištění životního prostředí dospělo tak daleko, že je uznáváno jako vážný problém, na nějž je zapotřebí se bezprostředně zaměřit. S tímto novým přístupem se začínají v průmyslu vyvíjet výrobky, které mají fotokatalytické vlastnosti. Na obrázku (obr. 12) jsou uvedeny významné oblasti, v nichž výrazně pokročil výzkum a vývoj.¹

TiO_2 je po aktivaci světelným zářením schopen rozkládat organické molekuly, jež jsou s ním ve styku. Začal se tedy nanášet ve formě tenkých vrstev na materiály, které jsou

vystaveny organickému znečištění, např. dlaždice, kryty lamp v dálničních tunelech, umělohmotné fólie, zrcadla, okna, atd. Bylo zjištěno, že takto upravené materiály se mnohem pomaleji špiní, a dokonce vykazují i baktericidní aktivitu. Jeden ze smělých cílů použití oxidu titaničitého je např. projekt superčisté město, kdy budou budovy a vozovky natřeny nátěry s TiO_2 , po osvětlení slunečním světlem se bude likvidovat znečištění z motorových vozidel.⁸



Obr. 12: Hlavní oblasti využití fotokatalýzy²⁹

2.2.1 Fotokatalytický antibakteriální efekt

Když je oxid titaničitý ozářený světlem s intenzitou blízkou UV, tak tento polovodič vykazuje silnou bakteriální aktivitu. Reakce peroxidace lipidů je základním mechanismem usmrcení bakteriálních buněk.

Průběh bakteriální inaktivace

Hydroxylové radikály vznikající TiO_2 fotokatalyzátorem jsou velmi silnými oxidanty a jsou neselektivní v reaktivitě. A kvůli jejich vysokých úrovní reaktivity jsou velmi krátce žijící. Když jsou ozářené TiO_2 částice v přímém kontaktu s mikroby nebo jsou těsně u nich, mikrobiální povrch je primárním cílem počátečního oxidačního napadení. Polynenasycené fosfolipidy jsou základní složkou bakteriálních buněčných membrán a jsou citlivé na atak reaktivních kyslíkových druhů (ROS = reactive oxygen species). Mnoho funkcí jako semipermeabilita, dýchání a oxidační fosforylace jsou závislé na neporušenou membránovou strukturu. A tak všechny funkce spojené s nepoškozenou membránou jsou ztraceny.

Peroxidace lipidů je tímto škodlivá pro všechny formy života. Když jsou částice TiO_2 vně buňky, je ztráta membránové struktury a tudíž membránových funkcí kořenovým důvodem úhynu buňky.

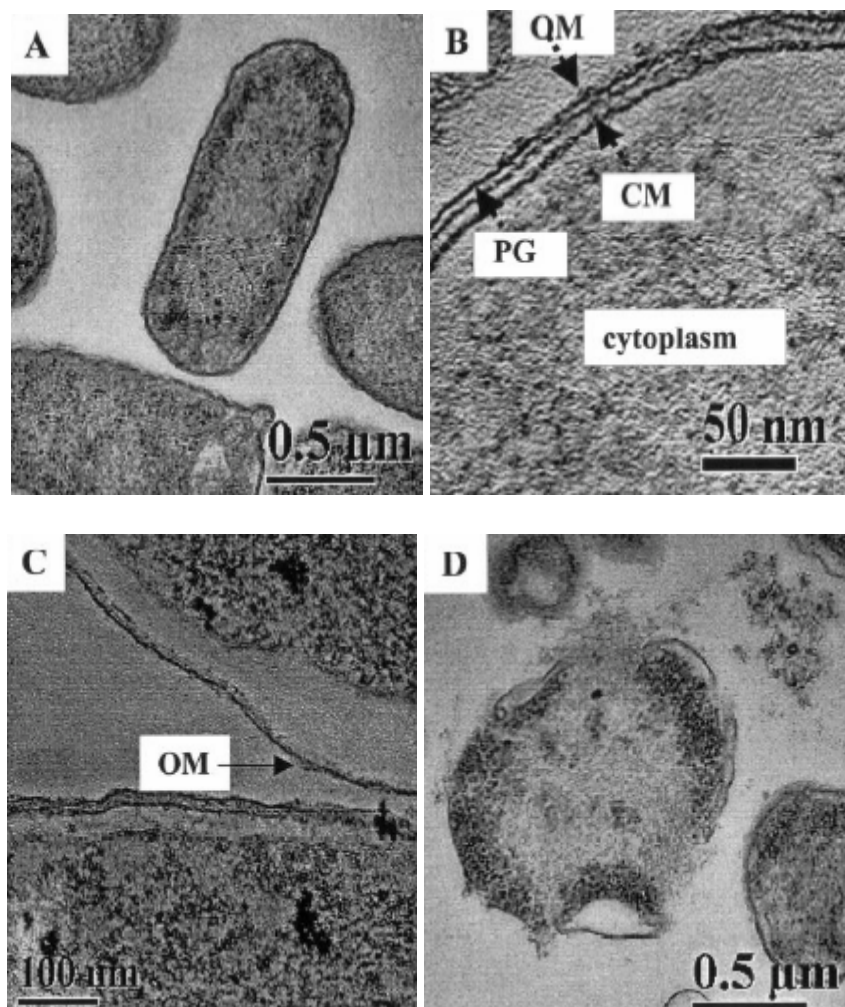
Proces peroxidace lipidů závisí na přítomnosti záření a TiO_2 . Produktem peroxidace je malondialdehyd (MDA).

Vážný efekt peroxidačního procesu je, že mnoho meziproduktů v tomto procesu může reagovat s důležitými biologickými molekulami, které způsobují další zničení. Úvahou může být to, že produkty peroxidace lipidů mohou být mutagenní. Navíc, MDA je sám docela reaktivní a je schopen modifikovat proteiny skrz karbonylace nebo formovat protein – MDA produkty. Změny v membránové struktuře způsobené peroxidací lipidů nakonec vedou ke konformačním změnám v membránově vázaných proteinech a taky ke změnám orientace těchto sloučenin. Ozářený TiO_2 má tedy nepříznivý efekt na semipermeabilitu buněčné membrány a dýchací činnost. Oxidační rozrušení celistvosti membrány redukuje hnací sílu protonu, která je hnací silou pro ATP syntézu. Není také vyloučena možnost fotokatalytického ataku uvnitř buněk po tom, co jsou TiO_2 částice pohlceny fagocytózou, jak bylo pozorováno u eukaryotických buněk.¹²

Při použití imobilizovaného TiO_2 , tedy systému Ag/TiO_2 je bakteriální účinek Ag^+ iontů primárně způsobený interakcí s cytoplazmou uvnitř buněk. Tyto Ag^+ ionty jsou schopny pronikat přes iontové bez zničení buněčné membrány. Později denaturují ribozómy a potlačují expresi enzymů a proteinů podstatné pro ATP produkci. Dochází k neschopnosti buňky udržet membránové struktury a to má za následek rozpad buňky (obr. 13). Ag^+ ionty také primárně ovlivňují funkci membránově vázaných enzymů, hlavně enzymů dýchacího řetězce.⁴¹

Menší množství Ag/TiO_2 částic je potřebné k vyvolání stejných antibakteriálních efektů jako Ag kov. Velké částice kovového stříbra v suspenzi mají menší povrchovou plochu poskytující uvolnění Ag^+ , které mohou zodpovídat za jejich limitovanou inhibiční funkci. Jak bylo uvedeno dříve, Ag^+ má antibakteriální schopnosti, protože narušuje permeabilitu plazmatické membrány bakteriálních buněk. Proto AgNO_3 , které má vždy přítomné stříbro ve formě Ag^+ může rychle pronikat do těchto bakteriálních buněčných membrán, zatímco Ag kov vázající se na povrch TiO_2 částice musí nejprve podstoupit rozpuštění na formu Ag^+ a poté putovat do bakteriální stěny.³⁷

Gram-pozitivní bakterie mají silnou spleť buněčnou stěnu tvořenou peptidoglykenem, zatímco Gram-negativní bakterie mají tenkou buněčnou stěnu tvořenou pouze vrstvou peptidoglykenu. Gram-negativní bakterie jsou odpovědné za lepší fotokatalytickou inaktivaci.⁴¹



Obr. 13: Obrázky buňky *E. Coli* pořízené TEM: A – buňka bez účinku Ag^+ iontů, B – zvětšení obrázku A (OM = vnější membrána, PG = peptidoglykanová vrstva, CM = cytoplazmatická membrána), C – buňka po reakci s Ag^+ ionty, D – jiná buňka *E. Coli* po reakci s Ag^+ ionty⁴¹

Vývoj fotokatalytických antimikrobiálních dlaždic

Zejména v mikrobiologických laboratořích a prostorách intenzivního lékařského užití je vyžadována pravidelná a důkladná desinfekce povrchů za účelem omezit počty bakterií a zabránit tak bakteriálnímu přenosu. Obvyklé desinfekční metody s utíráním povrchů jsou na delší dobu neefektivní, jsou časově a personálně vyčerpávající a provádějí se za použití agresivních chemikálií. Desinfekce silným ultrafialovým C světlem (UVC) je také nedostatečná, jelikož hloubka pronikavosti je nepostačující a přináší tím také ohrožení zdraví pracovníků. Fotokatalytická oxidace na površích pokrytých oxidem titaničitým může nabízet možnou alternativu. Za přítomnosti vody a kyslíku, jsou oxidem titaničitým vytvářeny reaktivní OH- radikály a slabé ultrafialové A záření (UVA). Tyto radikály jsou schopny zničit bakterie a mohou proto být efektivní v redukci bakteriální kontaminace. Byly zde testovány i fotokatalytické antimikrobiální dlaždice při použití živých bakterií týkající se hygieny jako např. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecium*. Bylo zjištěno, že na běžných dlaždicích přežívají bakterie vystavené světlu. Na

antimikrobiální dlaždice však byly bakterie usmrceny asi za tři hodiny, dokonce i ve tmě. Když byla tato dlaždice vystavena světlu 1000 luxů, bylo usmrceno během jedné hodiny 99,9 % bakterií. Bylo zjištěno, že fotokatalytické dlaždice účinně brání růstu plísní např. ve veřejných sprchových koutech a vykazují rovněž dezodorační efekty. Z těchto výsledků vyplývá, že dlaždice mají nejen antibakteriální vlastnosti, ale mají také schopnost likvidovat viry, plísně a řasy. Krátce řečeno, jsou multifunkční.^{1,28}

Vhodné materiály na nanášení filmu oxidu titaničitého jsou tabulové sklo a keramické dlaždice. Tabulové sklo, které je průhledné musí být potaženo průhledným filmem. Nejdříve je na glazovanou dlaždici nastříkána suspenze obsahující jemný oxid titaničitý. Poté se dlaždice zahřeje na 800 °C a více, čímž dojde k vytvoření vrstvy oxidu titaničitého o tloušťce řádu mikrometrů. Vrstva je spojena s povrchem dlaždice tak pevně, že nemůže být seškrábnuta, což zaručuje, že si odolná vrstva uchová své původní vlastnosti po dobu cca 10 let. Fotokatalytická reakce probíhá pouze v přítomnosti světla. Tento problém byl vyřešen přidávkem pozitivně nabitých iontů (kationtů) stříbra nebo mědi. Roztok soli jednoho z těchto kovů se nastříká na povrch dlaždice potažené oxidem titaničitým. Poté, co je povrch ozářen UV světlem, jsou kationty kovu přeměněny na ultrajemné částice kovu, které jsou pevně uchyceny na povrchu. Rovněž bylo zjištěno, že fotokatalytická metoda vylučování těchto kovů má výhodu, protože dlaždice vykazují silnou antibakteriální aktivitu díky tvorbě povrchové vrstvy o vysoké hustotě přiléhající k fotokatalytickému povrchu oxidu titaničitého. Navíc jsou antibakteriální dlaždice extrémně trvanlivé a udržují si svoji efektivnost trvale. To je skutečná výhoda, obzvláště pro stavebnictví.¹

2.2.2 Samočisticí a samosterilizující efekt

Seznam běžných předmětů, jež vyžadují odolnost vůči poskvrnění a současně zachování lesku, je téměř nekonečný. V našem denním životě jsou např. stálým problémem skvrny a nánosy na záchodových mísách. Zjistilo se, že při aplikaci fotokatalytického povlaku na povrch keramiky zůstává záchodová mísa čistší. V zachycovací části záchodové mušle se močovina, obsažená v moči, rozkládá bakteriemi a vytváří amoniak a pevné produkty rozkladu. To vše se při použití antimikrobiálního fotokatalytického povrchu netvoří. Skleněné a dlaždicové exteriéry mrakodrapů a vnější plochy karoserií aut je možné čistit snadněji. Tím revoluční technologie zaujme velký počet uživatelů.¹

Stále rostoucí boj proti bakteriálně spojeným infekcím vzbudil zájem v rozvoji samočisticích materiálů vlastních antibakteriálních vlastností, které mohou pokrývat povrchy, které jsou nepřetržitě vystaveny bakteriální kontaminaci. Stříbro má antibakteriální schopnosti a může také být užitečné ve zhotovení antibakteriálních materiálů.³⁷

Odstranění špíny z průhledného skla

Fotokatalytická úprava skla se ukázala mnohem obtížnější z důvodů zachování průhlednosti skla a současné fotokatalytické aktivity. Po vytvoření tenkého filmu oxidu titaničitého na podložce z křemenného skla bylo získáno průhledné sklo vykazující vysokou fotokatalytickou aktivitu, způsobenou vysokou čistotou křemenného nosiče. V případě tenkého filmu oxidu titaničitého vytvořeného na běžném sodnovápenatém skle byl fotokatalytický účinek minimální. V obou případech byl průhledný tenký film získán

tepelným rozkladem organických sloučenin obsahujících titan, kdy teplota tepelného zpracování přesahuje 400 °C. V případě sodnovápenatého skla dochází při této teplotě k jeho měknutí a ke zvýšení difúze sodných iontů ze skla do vrstvy oxidu titaničitého a vzniklá sloučenina Na-Ti-O je fotokatalyticky neaktivní. Odstranění tohoto problému je dosaženo nanesením tenké mezivrstvy oxidu křemičitého, která zabraňuje difúzi iontů sodíku. To byl vývoj průhledné skleněné desky zvané „samočisticí sklo“, protože špína a nečistota je z jeho povrchu snadno odstranitelná.

Stále průhledná světla v tunelu

Kryty osvětlení jsou ideální pro použití fotokatalyzátorů, protože je tu k dispozici silný zdroj světla. Základním problémem je zašpinění světelných krytů. Světelné kryty uvnitř tunelů, jež jsou vystaveny výfukovým plynům projíždějících vozidel, vyžadují periodické čištění. Čištění je však riskantní práce a vyžaduje i omezení dopravy. Proto byly postupně tunely vybaveny lampami s fotokatalytickým účinkem.

Aplikace na venkovní materiály

Jedním z venkovních materiálů je plastová fólie (tarpaulin). Konvenční tarpaulinová látka však má sklon snadno se zašpinit sazemí, prachem, jemným pískem a jinými částicemi, poletujícími v atmosféře. K použití fotokatalytického samočisticího efektu byla připravena pryskyřice, která byla nanesena na povrch tarpaulinu. Ačkoliv prach a písek nemohou být přímo rozloženy fotokatalytickým účinkem, mohou být snadno smyty z fotoaktivovaného tarpaulinu, protože olejovité látky přitahující tento prach a písek jsou účinkem fotokatalytických reakcí rozloženy.

2.2.3 Protizamlžující, samočisticí efekt – superhydrofilnost

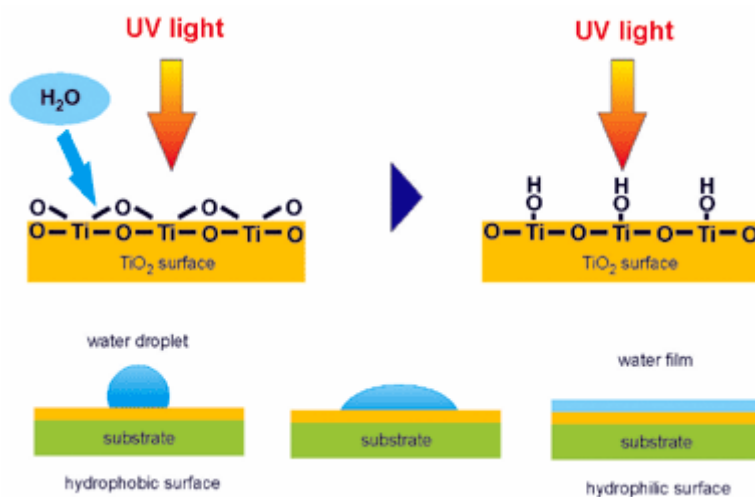
Bylo zjištěno, že účinek na povrchu tenkého filmu může být zesílen, když se tento film připraví kombinací oxidu titaničitého s příslušnými aditivami. Povrch takto získaného filmu může vykazovat až nulovou hodnotu odpudivosti k vodě. Tato vlastnost, nazvaná superhydrofilnost, dále rozšiřuje možné aplikace titaničité fotokatalýzy.¹

Superhydrofilnost

Neozářený tenký film, který je tvořen oxidem titaničitým jako fotokatalyzátorem má hydrofobní charakter, protože vykazuje počáteční úhel smáčení pro vodu několik desítek stupňů. Vysrážená vodní pára na něm tvoří oddělené kapičky, které rozptylují světlo, a tím vytvářejí neprůhlednou vrstvu. Bylo ale zjištěno, že účinek na povrchu tenkého filmu může být zesílen, když se tento film připraví kombinací TiO₂ s vhodnými aditivami. Když je tento povrch vystaven UV světlu, úhel smáčení pro vodu se zmenšuje, tzn. voda má snahu se rozprostřít se do plochy, místo aby se sbalila do kuliček. Nakonec dosáhne úhel smáčení téměř nuly stupňů. Tím se TiO₂ stává silně hydrofilním, vodní kapičky se spojí a vytvoří na něm dokonale průhledný molekulární film, po kterém další voda snadno stéká (obr. 14). V tomto stupni je schopnost povrchu odpuzovat vodu nulová, tzn. jedná se o

„superhydrofilnost“. Zkombinuje-li se fotokatalyzátor s látkou schopnou zadržet vodu ve své struktuře (např. oxid křemičitý ve formě silikagelu), účinek povrchu přetrvává dokonce i bez osvětlení.^{1,14}

Zamlžení povrchů zrcadel a skel je důsledkem kondenzace malých vodních kapek na jejich povrchu. Na superhydrofilním povlaku se žádné kapky netvoří. Místo toho se na povrchu vytvoří jednotný film, který zabraňuje zamlžení a podrží svůj efekt dlouhodobě (minimálně několik let). Očekává se, že rozličné skleněné výrobky, např. zrcadla a oční brýle, mohou být vybaveny protimlžnými funkcemi použitím této nové technologie jednoduše a levně.¹



Obr. 14: Fotokatalyticky indukovaná superhydrofilita¹⁴

2.2.4 Fotokatalytické čištění vzduchu

Jednou z nejvýraznějších vlastností katalyzátoru TiO₂ je jeho silný destruktivní neboli rozkladný účinek, jehož podstatou je oxidační proces. Oxid titaničitý je navíc schopný při ozařování UV světlem rozložit téměř všechny organické sloučeniny. Je to proto, že energie, kterou poskytuje fotokatalytická reakce, je „kvantována“. To znamená, že energie každého fotonu je stejná a nezávisí na intenzitě světla. I při nízké intenzitě světla je proto k dispozici pro průběh chemických reakcí na povrchu oxidu titaničitého energie, která odpovídá tepelné energii při teplotě 30 000 °C. Při tak vysoké teplotě se může organická látka okamžitě oxidovat na CO₂ a H₂O. Jinými slovy je spálena. Ve skutečnosti však povrch oxidu titaničitého tak vysoké teploty nedosáhne.¹

Mikrobiální škodliviny jsou jedním ze závažných zdrojů vnitřního znečištění ovzduší. Skládají se z částic biologického původu (bakterie, viry, houby). Aplikace vyřazující ve vzduchu vznášející se bakterie je relativně nová. Čas určující oxidativní sejmutí bakteriální masy z povrchu může být důležitý pro návrh sterilních místností a povrchů.⁴¹

Síta proti cigaretovému kouři

Byl testován fotokatalytický účinek papíru obsahujícího oxid titaničitý. Ten byl vyroben tak, že částice oxidu titaničitého byly přidány do papírové kaše a tím při ozařování nebyly porušeny vodíkové vazby. Protože byla plocha styku oxidu titaničitého a papírových vláken

zmenšena a pevnost papíru byla zachována, i když byl papír vystaven světlu. Při zkouškách s cigaretovým dehtem však tento papír překvapivě zežloutl více než běžný papír. Poté se však zjistilo, že papír vystavený světlu získal svoji původní bělost, jakmile byl dehet rozložen. Tento papír nejdříve cigaretový dehet pohltil a pak jej rozložil. Filtrační papír obsahující oxid titaničitý se již používá v některých čističkách vzduchu. Bylo zjištěno, že čističky vzduchu tohoto typu jsou schopny odstraňovat oxidu dusíku (NO_x).

Boj se znečištěním vzduchu

Znečišťování životního prostředí se dlouhodobě stává velkým společenským problémem. Znečištění vzduchu, obzvláště jeho znečištění oxidu dusíku ze spalování uhlovodíků, je vážné především v městských oblastech. Fotokatalyzátor TiO_2 má schopnost odstraňovat oxidy dusíku (NO_x). Mechanismus odstraňování oxidů dusíku fotokatalyzátorem není jednoduchý. Předpokládá se, že oxid dusnatý (NO) ve vzduchu oxiduje, jestliže je katalyzátor vystaven světlu. Potom vzniká přechodně oxid dusičitý (NO_2), který je nakonec přeměněn na kyselinu dusičnou, jež pak musí být skladována. Část vzniklého NO_2 může uniknout z povrchu fotokatalyzátoru, avšak díky přítomnosti adsorbentu (aktivního uhlí), smíšeného s fotokatalyzátorem, může být tento plyn účinně zachycen. Podobným způsobem může být odstraněn také oxid siřičitý (SO_2).

Přírodní energie pro čištění venkovního vzduchu

Použití fotokatalyzátoru pro čištění venkovního vzduchu předpokládá využití přirozené energie ze slunečního záření. Základním předpokladem je, že katalyzátor by měl být nanesen na ploše, aby povrch mohl být plně vystaven světlu. K tomu, aby byla zhotovena vrstva z práškového fotokatalyzátoru, je zapotřebí, aby byl prášek fixován pojivem. Problémem je ale, že jestliže pojivo nesmáčí dokonale prášek fotokatalyzátoru, prášek odpadne. Je-li prášek příliš smáčitelný, ztratí se fotokatalytická aktivita katalyzátoru. Dalším problémem je akumulace produktů rozkladu (kyselina dusičná a sírová). Je-li však fotokatalyzátor použit venku, pak v závislosti na podnebí, mohou být produkty smyty deštěm. Přídavek tohoto účinku k účinku slunečního světla znamená, že vzduch může být vyčištěn samotnou přirozenou energií.¹

2.2.5 Fotokatalytické čištění vody

Fotokatalytická oxidace (PCO = photocatalytic oxidation) byla přijata jako slibná technologie pro detoxikaci a desinfekci pitné a odpadní vody. Obecně, různá citlivost mikroorganismů k PCO je způsobená strukturálními rozdíly, částečně v tloušťkou a složitostí buněčné stěny.³⁵

Za posledních několik, zásoby čisté pitné vody se staly závažným problémem. Přítomná situace zahrnuje zacházení nejen s chemickými riziky, ale také s biologickými. Kromě jejich vysoké ceny mohou obvyklé technologie k desinfekci vody, jako chlorinace a ozonace, vést k tvorbě škodlivých dezinfekčních vedlejších produktů (DBPs = disinfection by-products),

mezi nejnebezpečnější zde patří trihalometany, dobře známé pro jejich vysoké karcinogenní účinky. Jednou z nejslibnější novou technologií je fotokatalýza.⁴³

Úprava vody je rozdělena do rozličných skupin, jako úprava pitné vody, splaškové vody, průmyslové odpadní vody, zemědělské odpadní vody, vody v plaveckých bazénech a ve skladovacích nádržích. Široká rozmanitost způsobů, kterými užíváme vodu, ukazuje, jak jsme na ní v denním životě silně závislí. Byla zkoumána možnost odstranění zelených řas z přehradních nádrží hydroelektráren. Řasy se nechaly pohybovat ve vodě, v níž byl umístěn nosič s katalyzátorem TiO₂. Řasy, které se aktivně pohybují, byly při dotyku s filmem TiO₂ náhle znehybněny. Účinek byl okamžitě zřejmý. Úprava vody ve velkém rybníku nebo jezeře je nad schopnosti oxidu titaničitého a dostupného množství světla, protože voda má snahu absorbovat UV světlo v hloubce větší než několik málo centimetrů pod hladinou. Z těchto zkušeností se došlo k názoru, oxid titaničitý je nejvhodnější pro úplné vyčištění slabého znečištění než ke zpracování velkého množství silně znečištěné odpadní vody.¹

2.2.6 Fotokatalytické léčení rakoviny

Rakovina zůstává jednou z nejnaléhavějších oblastí lékařského výzkumu a léčení na konci 20. století. Obecně může být rakovina charakterizována neuspořádaným, neomezeným rozrůstáním buněk v živých tkáních. V naší kůži a orgánech probíhá dělení a rozmnožování buněk během růstu a uzdravování se po úrazu. Takže když naše tělo funguje normálně, rozrůstání se neobjeví. Rakovinové buňky však ztratily kontrolní mechanismus a pokračují neustále v rozrůstání, čímž zničí řádné funkce živého těla a tím často způsobí jeho smrt.

Ve výzkumu bylo provedeno nanesení tenkého filmu TiO₂ na skleněnou desku, kde se vykultivovaly rakovinové buňky a poté byl vzorek ozářen. Po jeho ozáření se byl vzorek obarven, by byly viděny rakovinové buňky, které přežily. Bylo vidět, že buňky jsou usmrceny. To ukazuje, že účinek světla pro usmrcení buněk je nenahraditelný.

Bylo vyvinuto zařízení, které umožní, aby byla rakovina vystavena světlu poté, co byl do nádoru přidán prášek TiO₂. Toto zařízení, sestavené modifikací endoskopu, by mělo umožnit přístup do různých částí lidského těla. Jsou zde stále ještě jisté problémy, jež musí být vyřešeny, než bude možno zařízení využívat. Protože se však fotokatalytická reakce objeví pouze na místech, která jsou osvětlena, je možné zaútočit na samotné rakovinové buňky, pokud je zde technika na osvětlování nádoru. Jsou barviva, jež se seskupují v rakovinových buňkách, a proto bylo navrženo uchycení barviva na povrchu TiO₂ tak, aby se TiO₂ dostal především do rakovinových buněk. Poté by bylo možné použít nového endoskopu podobného nástroje k dodávání světla potřebného k usmrcování buněk.

Ačkoliv tento nástroj vyžaduje zdokonalení, mohl by být použit na mnoho rakovin orgánů, např. žaludek a tlusté střevo, hltan a průdušky, močový měchýř a močová trubice, děloha a její hrdlo a kůže. Použití osvětlení musí být takové, aby nezpůsobovalo žádnou mutaci nebo porušení genů normálních buněk.

2.3 KVASINKY

Kvasinky jsou eukaryotické jednobuněčné houbové mikroorganismy (*Fungi*), vytvářející na tuhých živných médiích nejčastěji askogenní kolonie.^{15,16,17} První jednotlivé kvasinky poprvé pozoroval Anton van Leeuwenhoek, který popsal výsledky pozorování malých kuliček

v pivě pomocí primitivního mikroskopu. Theodor Schwann roku 1837 popřel účast kyslíku při kvasném procesu a popsal v kvasící tekutině se rozmnožující kvasinky, které označil za „cukernou houbu“ (odtud rodové označení *Saccharomyces*).¹⁵ Český název dostaly právě pro schopnost zkvašovat monosacharidy a některé disacharidy, případně i trisacharidy na ethanol a oxid uhličitý.¹⁷

Kvasinky jsou v přírodě velmi rozšířené. Protože většina má jen sacharolytické schopnosti, vyskytují se především na substrátech obsahujících sacharidy, hlavně na ovoci a na cukernatých potravinách. Přítomné jsou v některých květech, ve vzduchu, v půdě, v trávicím traktu lidí, zvířat a některého hmyzu (např. včel).

Kvasinky vyžadují pro svůj růst, podobně jako plísně vzdušný kyslík. Jsou ale fakultativně anaerobní, proto mají schopnost přeměnit svůj metabolismus za anaerobních podmínek na fermentační a při silně omezeném růstu buněčné hmoty produkovat ethanol a CO₂. Rostou v širokém rozmezí hodnot pH (pH 3–11) i teplot (0–45 °C). Určité druhy rostou i při -10 °C a při hodnotě pH až 1,5.²¹ K devitalizaci kvasinek ale dochází už při 2–5 minutovém zahřátí na 56 °C, spóry kvasinek jsou o něco rezistentnější. Rozmnožování většiny kvasinek je úplně potlačeno při teplotě 38 °C.¹⁹

2.3.1 Morfologie a cytologie kvasinek

Za základní tvar buněk kvasinek se považuje rotační elipsoid. Mohou mít i tvar kulatý, oválný elipsoidní, citronovitý, ogivální, lahvovitý, podlouhlý a vláknitý (Obr. 15).¹⁶ Tvar i velikost buněk jsou ovlivněny kultivačními podmínkami, způsobem vegetativního rozmnožování a věkem buněk. Určitá morfologie a velikost buněk se často vyskytuje v té stejné kultuře jednoho kmene kvasinek. Velikost většiny kvasinek se pohybuje v rozmezí 3–15 μm.^{17,19}



Obr. 15: Rozličné tvary buněk kvasinek¹⁶

Na povrchu buněk se nachází silná a pevná buněčná stěna, pod kterou je jemná cytoplazmatická membrána uzavírající cytoplazmu s jádrem a organelami typickými pro eukaryotické buňky (Obr. 16). Pohybové orgány, tj. bičíky, vegetativní buňky kvasinek nemají, jsou nepohyblivé.

Buněčná stěna kvasinek chrání buňku před vnějšími vlivy (mechanickými i osmotickými) a zabezpečuje jejich tvar. Velkými póry stěny mohou volně procházet všechny sloučeniny kromě sloučenin vysokomolekulárních (bílkoviny a polysacharidy) – je permeabilní. Její složení závisí od rodu kvasinek. Hlavní složkou buněčné stěny jsou polysacharidy (cca 80 % sušiny stěny), tvořící hustou spleť vláken vyplněnou bílkovinami (6–10 % sušiny buněčné stěny). Přítomné je i malé množství lipidů, fosfolipidů (3–10 %) a fosforečnanů, vázané esterovými vazbami na polysacharidy. Tyto fosfátové zbytky spolu s –COOH skupinami

bílkovin dávají buňkám kvasinek negativní náboj, který ovlivňuje adsorpci látek ze živného prostředí.

Cytoplazmatická membrána (plazmalema) je složena z lipidů a proteinů a má podobnou strukturu a funkci jako u bakterií. Vytváří četné vychlípeniny vybíhající do cytoplazmy. Je volně propustná pouze pro malé molekuly bez náboje, a tvoří proto osmotické rozhraní mezi buňkou a vnějším prostředím. Je sídlem transportních systémů, na rozdíl od bakterií však neobsahuje dýchací enzymy a systém oxidační fosforylace.^{17,19}

Cytoplazma je kapalná hmota, která v buňce obklopuje jádro a vyplňuje celý buněčný prostor.²⁰ U mladých buněk se jeví jako průhledná, homogenní hmota, u starších buněk dochází k vakuolizaci.

Endoplazmatické retikulum představuje systém dvojitých membrán, na povrchu kterých jsou zrníčka polyzomů (agregáty ribozómů), v nichž se syntetizují bílkoviny.

Dále jsou v cytoplazmě kvasinek přítomny mitochondrie, které se obvykle liší tvarem i velikostí. Jsou obklopeny dvěma membránami, z nichž vnitřní membrána tvoří vchlípeniny dovnitř mitochondrie zvané kristy. Mitochondrie jsou složeny z bílkovin, lipidů a fosfolipidů. Obsahují RNA a malé množství DNA. Jsou sídlem dýchacích enzymů, systému oxidační fosforylace a probíhá zde i syntéza mitochondriálních bílkovin, takže jsou zde přítomny též tRNA, mRNA a ribozomy.^{17,19}

Malé a větší dutinky v plazmě²⁰ nazývané vakuoly jsou místem, kde dochází k rozpadu těchto struktur buňky s krátkým poločasem rozpadu, které se neustále rozkládají a obnovují (mRNA, některé enzymy) prostřednictvím hydroláz (proteázy, esterázy, ribonukleázy atd.) a mají funkci podobnou lysozomům vyšších organismů. Kromě toho jsou vakuoly zásobárnou látek, které se právě nezúčastňují metabolismu (K^+ iontů, polyfosfátů, aminokyselin, purinů a vodných roztoků sloučenin).

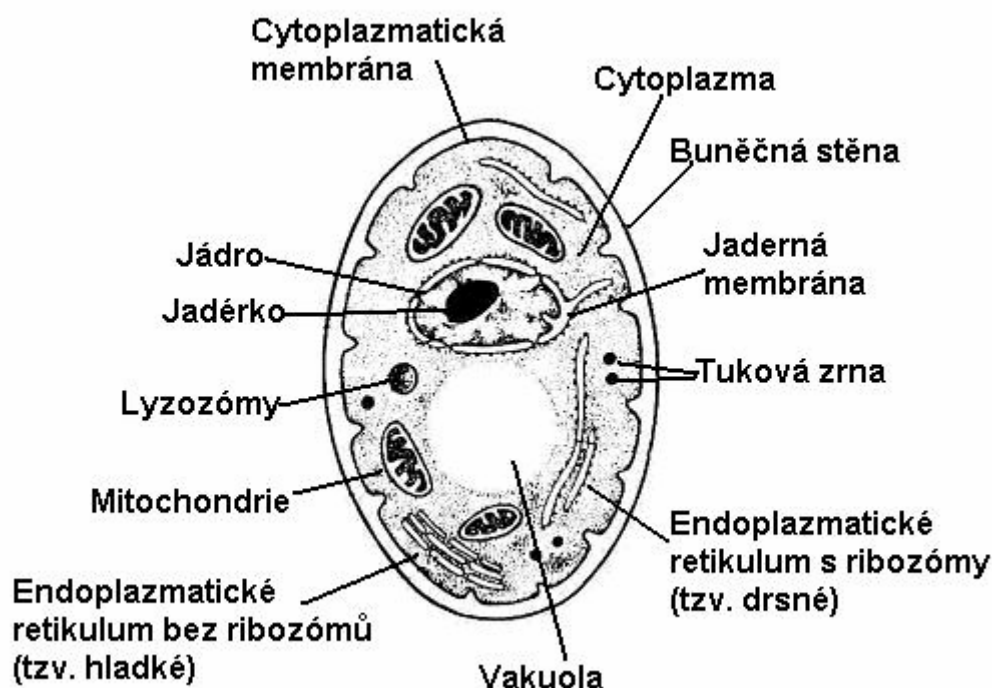
Hlavní funkcí Golgiho aparátu je transport prekurzorů (tj. stavebních kamenů) buněčné stěny z cytoplazmy přes cytoplazmatickou membránu.

V cytoplazmě i jádře se rozprostírá síť proteinových vláken tzv. cytoskelet, který umožňuje vnitrobuněčný pohyb organel. Významnou roli tu hrají málo ohebné trubice mikrotubuly složené z bílkoviny tubulinu.

Kromě membránových útvarů se v cytoplazmě nacházejí zrníčka rezervních látek, především volutinu (polymetalfosfátu), glykogenu (polysacharidu) a některé kvasinky (*Rhodotorula*) obsahují jako rezervní látku tuk.^{17,19}

Buněčné jádro je tělíčko bez barvy, nejčastěji kulovitěho tvaru a je umístěné přibližně ve středu buňky. Od cytoplazmy je odděleno dvojitou membránou s velkými póry a vnitřní hmota jádra je složena ze dvou koloidních systémů – karyoplazmy (tvoří plazmu jádra) a reticula (tvoří strukturu jádra síťovité podoby). Toto retikulum se za určitých okolností seskupuje v útvary zvané chromozómy, které opět za určitých podmínek přecházejí v síťovitou strukturu, tzv. chromatin a ten se skládá z nukleozomálních histonů. U *Saccharomyces cerevisiae* bylo zjištěno 16 chromozomů v haploidním jádře. Diploidní jádro má dvojnásobný počet chromozomů, neboť každý chromozom se v něm vyskytuje dvakrát. Délka DNA jednotlivých chromozomů se značně liší. Určitý úsek DNA chromozomu hraje důležitou roli při dělení chromozomů a jejich segregaci během dělení jádra. Tento úsek se nazývá centroméra. V koncových úsecích chromozomu, tzv. telomérách se vyskytují příčné vazby mezi oběma řetězci DNA. V buněčném jádře bývá ještě jedno, dvě anebo i více jadérek (nucleolus) srpkovitěho tvaru, uložené těsně pod jadernou membránou a barvící se intenzivně některými barvivy. Dále je zde zřetelné pólové tělíčko vřetenka diskovitého tvaru, z něhož

vycházejí vlákna mikrotubuly. Mikrotubuly jsou složeny z bílkoviny tubulinu a spolu s tělískem jsou důležité při dělení jádra během rozmnožování buněk.^{17,20}



Obr. 16: Eukaryotická buňka kvasinek¹⁸

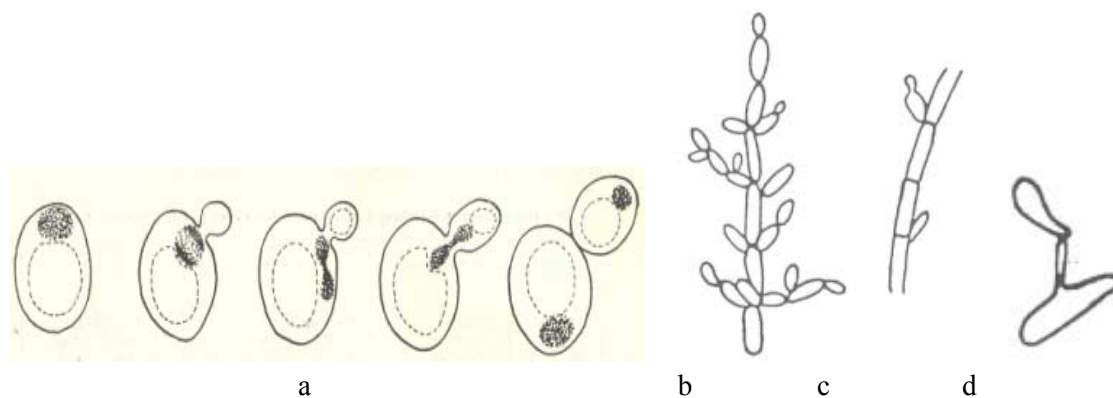
2.3.2 Rozmnožování kvasinek

Kvasinky se mohou rozmnožovat nepohlavně a to většinou pučením nebo pohlavně za vzniku pohlavních spor.¹⁵

Vegetativní rozmnožování

Při pučení (obr. 17a) je vznikající malá dceřiná buňka (pupen) spojena kanálkem s mateřskou buňkou, kterým přechází nově vytvořené jádro a další buněčný materiál. Po vytvoření buněčné stěny mezi oběma buňkami je pučení ukončené a dceřiná buňka se od mateřské oddělí. Po oddělení pupenu zůstane na mateřské buňce tzv. jizva po pučení.¹⁹ Podle místa, kde pupen na povrchu kvasinky vzniká, se rozlišuje pučení monopolární, bipolární a multipolární, případně mohou pupeny vznikat i zcela náhodně.¹⁵ Cyklus dělení, od vzniku pupenu po jeho oddělení od mateřské buňky, za optimálních podmínek trvá přibližně 2 hodiny. V některých případech však buňky zůstanou spojeny i po několikerém dělení a vytváří tzv. „buněčné svazky“.¹⁷ Některé kvasinky vytvářejí protáhlé buňky, které pučí pouze na pólech, zůstávají po pučení spojené a vytvářejí zaškrcované řetězce buněk tzv. pseudomycelium (obr. 17b). Jiné rody vytvářejí pravé mycelium (obr. 17c), tj. vlákno vznikající příčným dělením protáhlých buněk. Tvorba pseudomycelia a pravého mycelia je charakteristická hlavně pro rody se silným aerobním metabolismem, např. pro rody *Endomycopsis*, *Sporobolomyces* i *Candida*. Na určitých místech pseudomycelia i pravého mycelia mohou pučením vzniknout svazky kratších elipsoidních buněk – blastokonidií.

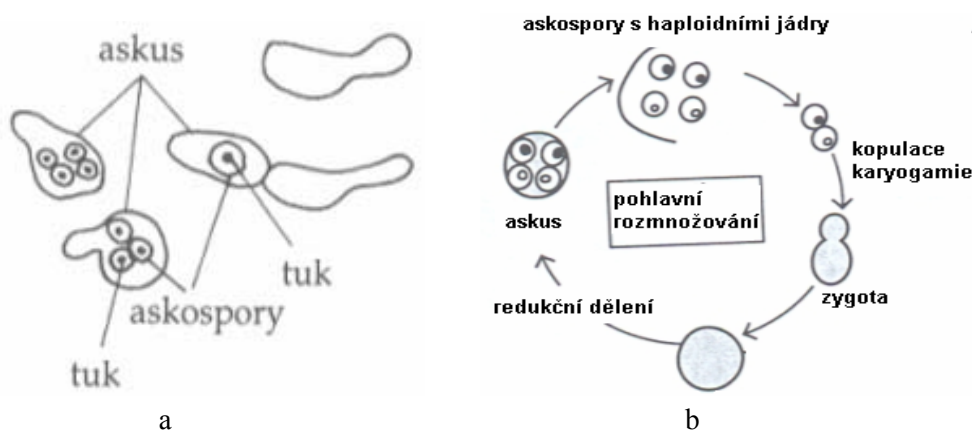
Rozmnožování dělením, avšak bez tvorby mycelia, se vyskytuje u rodu *Schizosaccharomyces*. Přejedem mezi pučením a dělením je tzv. pučení na široké základně, při němž je pupen spojen širokým krčkem s mateřskou buňkou a po ukončení dělení se krček uzavře přepážkou (*Saccharomyces*). Některé rody kvasinek tvoří jednobuněčné exospory na tenkých stopkách zvaných sterigmata. Zralé spory jsou z těchto stopek odmršťovány pomocí zvláštního kapalinového mechanismu, a proto dostaly název balistospora (obr. 17d).^{17,19}



Obr. 17: a – pučení, b – pseudomycelium, c – pravé mycelium, d – balistospora^{20,17}

Pohlavní rozmnožování

Výsledkem pohlavního rozmnožování jsou pohlavní spory. Většina kvasinek tvoří pohlavní spory – askospory (endospory) (obr. 18a), které jsou umístěny ve vřecku a zařazujeme je mezi *Ascomycotina*. Některé rody kvasinek tvoří pohlavní spory – exospory umístěné na sporotvorných buňkách a zařazujeme je mezi *Basidiomycotina*. Pohlavní rozmnožování (obr. 18b) je charakterizováno spájením dvou haploidních buněk konjugací (cytogamie + karyogamie) za vzniku diploidního jádra (zygota), které později sporuluje za vzniku asku (obr. 18a,b) nebo bazidia, v nichž jsou uloženy spory. Ke sporulaci je nezbytné meiotické dělení, během něhož vzniknou 4 spory, které se však mohou dále dělit, takže někdy je v asku 8, 16 i více spor.^{15,17,19} Kvasinky, které se rozmnožují pouze vegetativně (asporogenní kvasinky) se řadí mezi tzv. imperfektní kvasinky.^{15,21}



Obr. 18: a – heterogamní spájení a tvorba asků, b – pohlavní rozmnožování kvasinek¹⁷

2.3.3 Význam kvasinek

Užitečné kvasinky

Hlavní průmyslový význam kvasinek je při výrobě alkoholických nápojů, pekařského a krmného droždí.¹⁷

Pivovarské kvasinky jsou jednobuněčné houby (*Fungi*), bez chlorofylu, které zařazujeme do rodu *Saccharomyces*. Nejdůležitější druh je *S. cerevisiae* (obr. 19a), která se uplatňuje jako pivovarská spodní anebo vrchní kvasinka. Buňky vrchních pivovarských kvasinek jsou po ukončení kvašení vynášené na povrch fermentační kapaliny, naproti tomu tzv. spodní pivovarské kvasinky klesají po zkvašení ke dnu kvasné nádoby. Všechna naše piva a také převážně většina zahraničních piv se vyrábějí spodním kvašením. Buňky těchto kvasinek hluboko prokvašují cukerné látky (rafinosu, maltotriosu, dextriny) a adaptovaly se na teploty pivovarského spodního kvašení 5–12 °C.^{16,19}

Lihovarské kvasinky zařazujeme opět do rodu *Saccharomyces*. Nejpoužívanějším druhem kvasinek při výrobě lihu jsou různě adaptované rasy *S. cerevisiae*. Jsou to zvláště vyšlechtěné kvasinky tohoto druhu, přizpůsobené různým lihovarským záparám, především melasovým. Jsou to kvasinky svrchního kvašení a jednotlivé rasy se liší svými morfologickými a hlavně biochemickými (enzymovými) vlastnostmi.¹⁶ Přiboudlina, tj. vyšší alkoholy, které se získají při rafinaci kvasného lihu, se používá hlavně jako rozpouštědlo laků.¹⁷

Drožd'árenské kvasinky mají stejné botanické zařazení jako pivovarské a lihovarské kvasinky. Jsou to zvláště vyšlechtěné kvasinky tohoto druhu, se schopností rychle se rozmnožovat v aerobním prostředí na úkor produkce etanolu.¹⁶ Droždí se pro svůj vysoký obsah vitamínů skupiny B používá také pro výrobu léčebných výživných preparátů. Autolyzáty a extrakty droždí nebo odhořčených pivovarských kvasnic se z těchto důvodů používají jako přísady do potravin (polévky, omáčky, polévkové koření) a jako důležitá složka živných půd v mikrobiologických laboratořích. Krmné droždí, jehož hlavní krmná hodnota tkví ve vysokém obsahu bílkovin, se vyrábí v obrovském měřítku často z odpadních surovin (sulfitové výluhy) anebo netradičních surovin (n-alkany).^{17,19}

Při etanolovém kvašení ovocného moštu mají prvořadý význam vinařské (vinné) kvasinky. Do moštů se dostávají z nejrůznějších druhů ovoce, z nichž největší průmyslový význam mají bobule vinné révy. Každý mošt obsahuje velmi pestrou paletu různých rodů a druhů kvasinek, z kterých je však průmyslově nejdůležitější rod *Saccharomyces*. Největší uplatnění mají tzv. pravé vinařské kvasinky *S. vini*. Zkvašují dobře jednoduché cukry (glukosa, fruktosa, manosa), hůře zkvašují galaktosu, lépe maltosu a sacharosu. Rafinosu zkvašují jen do jedné třetiny. Nezkvašují laktosu.¹⁶ K výrobě ovocných vín bývají doporučovány vinné kvasinky rasy Malaga, Bordeaux a Champagne. Při kvašení moštu je potřeba udržovat jeho teplotu okolo 20° C.²⁴

Fermentační vlastností kvasinek zkvašujících laktosu se využívají v mlékárenském průmyslu. Používají se při výrobě kysaných mlék (kefír), sýrů (odkyselování kyselé sýřeniny, lipolýza) a másla (jakost a trvanlivost másla). Mléčné kvasinky se liší od kvasinek využívaných ve fermentačním průmyslu tím, že nefermentují maltosu, jsou citlivé vůči alkoholu a pokud ho tvoří, tak pouze v malém množství, jako zdroj dusíku lépe využívají peptony jako aminokyseliny, fermentace je pomalá, lépe snáší vyšší koncentrace soli a

kyseliny mléčné. Kvasinky na výrobu másla obsahují druhy *Torulopsis candida* a *Cryptococcus laurentii*. Kvasinkové kultury pro výrobu sýrů rokfortského typu (Niva) a sýrů zrajících pod mazem obsahují druhy *Kluyveromyces lactis*, *Torulopsis candida* a *Candida utilis*. Kvasinky keřfírové kultury se skládají z druhů *Candida keřfyr*, *Kluyveromyces fragilis* (obr. 19d) a *Torulopsis lactis*.²¹

Z buněk kvasinek se také izolují např. enzymy, koenzymy, nukleotidy, nukleosidy apod. Radioaktivní sloučeniny tohoto typu se komerčně připravují pěstováním *Candida utilis*.

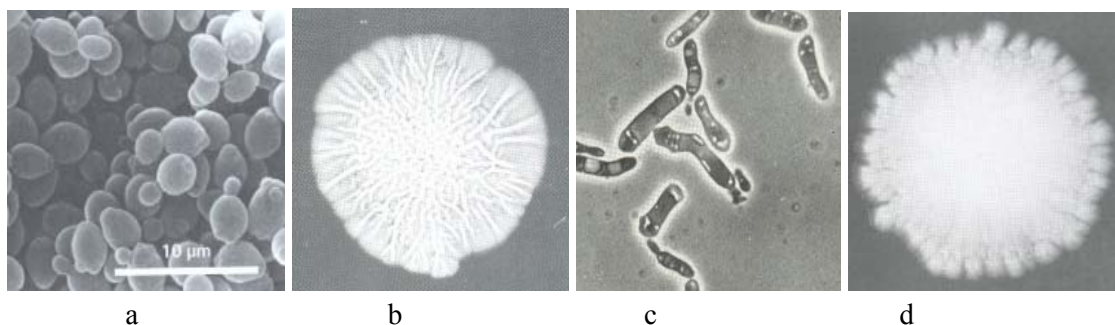
Speciální kmeny *S. cerevisiae* se používají pro výrobu ergosterolu, tj. provitaminu D, který ozářením ultrafialovým světlem poskytuje vitamin D.

Schizosaccharomyces pombe (obr. 19c) se používá v Africe na přípravu alkoholového nápoje pombe z prosa, ve vinařství slouží k odkyselení vín, neboť využívá přítomnou jablečnou kyselinu.¹⁷

Kvasinka *Rhodotorula glutinis* je v potravinářství používána zejména k obohacování krmných směsí vzhledem ke značnému obsahu karotenoidů, které je schopna produkovat i ve stresových podmínkách.

Kvasinka *Phaffia rhodozyma* je používána díky vysokému obsahu karotenoidního barviva astaxanthinu jako dietní doplněk výživy lososů a drůbeže. Pokud jsou hydrolyzované buňky přidány ke krmivu, astaxanthin je snadno absorbován ve střevech a mění barvu lososího masa z růžové na oranžovou, nebo barvu žloutku a masa u drůbeže.

Yarrowia lipolytica (obr. 19b) je schopna metabolizovat ropné produkty, používá se k výrobě kyseliny citronové.¹⁵



Obr. 19: a – *S. cerevisiae*, b – *Y. lipolytica*, c – *Schizosacch. pombe*, d – *K. fragilis*^{20,21,22}

Škodlivé kvasinky

Základním mikrobiologickým požadavkem v kvasném průmyslu je zavádění výhradně čistých kultur, tzv. produkčních kvasinek do všech technologických výrobních procesů. Všechny ostatní kvasinky jsou kvasinky škodlivé – divoké. Jejich škodlivost spočívá především v enzymové činnosti. Svými enzymy nepříznivě ovlivňují technologickou jakost surovin, kvasných substrátů, fyziologickou činnost čistých kultur kvasinek, kvasný proces a kromě čistého lihu i finální výrobky.¹⁶

Kvasinky také způsobují kažení potravin a to hlavně kažení kompotů, ovocných moštů a jiných ovocných výrobků, slazených limonád a slazených kyselých minerálních vod. Některé osmotolerantní kvasinky se uplatňují hlavně při kažení sladového výtěžku, medu a plněných čokoládových bonbónů. Kontaminace cizími kvasinkami se negativně uplatňuje také

v droždářství, kde nepříznivě ovlivňuje kvasné schopnosti (zhoršení kynutí) a trvanlivost pekařského droždí.^{17,19}

Do rodu *Saccharomyces* jsou zařazeny nejen všechny kulturní kvasinky ale i mnoho škodlivých kvasinek. *S. pastorianus* Hansen (obr. 20a) se při slabém dokvašování piva může rozmnožit a dodává pivu nepříjemnou chuť. *S. fragilis* je další kontaminující kvasinkou. *S. turbidans* a *S. validus* jsou typické zákalotvorné kvasinky.

Kvasinky patřící do podrodu *Pichia* způsobují vady alkoholických nápojů. Nejrozšířenější druhy jsou *Pichia farinosa* a *Pichia membranaefaciens* (obr. 20c), která se často vyskytuje v potravinách, např. v kvašeném zelí, kvašených okurkách a zapříčiňuje i chorobu vína „birza“.

Kvasinky z rodu *Rhodotorula* bývají častou kontaminací v provozech kvasného průmyslu.¹⁶

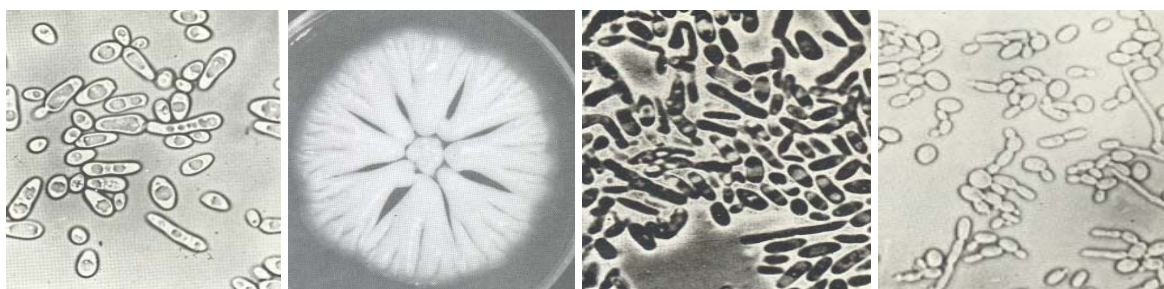
Patogenní kvasinky

Je přirozené, že kvasinky žijí i v našem těle – ve střevě, kde se podílejí jako součást střevní mikroflóry na produkci vitaminů, především vitaminu B. Kvasinka, která normálně v našem organismu nežije a která je schopna se uchytit v našem těle je patogenní. Mezi patogenní druhy kvasinek patří např. zástupci rodů *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, kteří vyvolávají různá kožní, slizniční a jiná onemocnění zvaná kandidózy. Nejznámější a nejčastější druhy kvasinek rodu *Candida* je *C. albicans* (obr. 20d), *brumptii*, *catenolata*, *intermedia*, *krusei*, *parapsilosis*, *pseudotropicalis*. Tyto kvasinky většinou způsobují vážná onemocnění u oslabených jedinců, při poškození imunitního systému, narušení přirozené ochrany (užitím antikoncepčních pilulek, antibiotik, výkyvy žaludečních šťáv) nebo při poruchách obranyschopnosti (alergie). Je-li imunitní systém natolik oslaben, že obranné buňky nejsou schopny zabránit původcům nemoci, mohou být napadeny všechny orgány – srdce, oči, mozek a onemocnění mohou končit dokonce smrtí. Kandidóza je „diagnostický chameleon“, protože u člověka se druh a projevy obtíží zásadně liší. Velice často se lidé s kandidovou infekcí cítí již několik let nemocní, ale žádná příčina nemoci se u nich nenašla. K léčení je zapotřebí antimykotických preparátů. Nebezpečné je omezit se na dietu extrémně chudou na uhlovodany, neboť akutní nedostatek potravy kvasinky nezabije, pouze je donutí vydat se jinam. Proto by měla být protiplísňová dieta aplikována vždy zároveň s protiplísňovými léky. Tím se již od začátku zabrání rozšíření onemocnění.^{17,25}

Cryptococcus neoformans je nebezpečný patogen napadající nervovou soustavu. Hlavními přenašeči jsou holubi.

Trichosporon cutaneum (obr. 20b) je kožní patogen žijící na vousech a ve vlasech.¹⁵

Kvasinky ovšem zahrnují i fytopatogenní rody nebo druhy (rody *Nematospora* a *Ashbya*), jež jsou přenášeny hmyzem.¹⁷



a

b

c

d

Obr. 20: a – *S. pastorianus* Hansen, b – *T. cutaneum*, c – *P. membranaefaciens*, d – *C. albicans*^{20,22}

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 POUŽITÁ ZAŘÍZENÍ A CHEMIKÁLIE

3.1.1 Použité zařízení

- Fluorescenční výbojka Sylvania, Lynx-S 11 W
- Stolní centrifuga, Boeco C-28, Německo
- Biologický termostat, BioTech a.s.
- Mikroskop Nikon Eclipse E 200 s fluorescenčním nástavcem
- CCD kamera Pixel Link PL – A 662
- UV metr XD – 9502, Gigahertz – Optik
- Mikropipety Biohit Proline 10–100 µl, 100–1000 µl

3.1.2 Použité chemikálie

- Pivovarská sladina, Starobrno a.s., Brno
- Dusičnan stříbrný, Lachema, Brno
- Akridinová oranž
- Destilovaná voda

3.1.3 Použitý software

- Microsoft Word 2003
- Microsoft Excel 2003
- OriginPro, verze 8

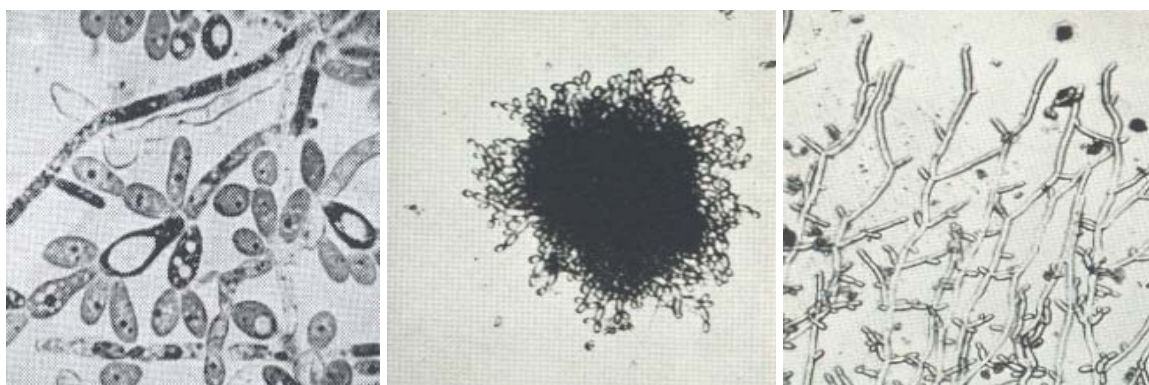
3.2 POUŽITÉ MIKROORGANISMY

3.2.1 *Candida vini* CCY 29-39-3

Desmazières objevil tyto kvasinky už roku 1823 a zařadil je do rodu *Mycoderma* Persoon. Do tohoto rodu se zařadily kvasinky, které rostly na povrchu kapalín, v kontaktu se vzduchem, přičemž vytvářely kožky. Rod *Candida* stanovila Berkhoutová roku 1923 a patří zde asporogenní kvasinky, rozmnožující se pučením.

Candida vini (*mycoderma*) (obr. 21) má elipsoidní až válcovité buňky s rozměry (3–4,5)×(6–10) µm. Jejich tvar ovlivňují mnohé okolnosti, mezi nimi i vzdušný kyslík. Plazma buněk obsahuje několik tukových kapiček silně lámající světlo. Buňky jsou různě velké a velmi lehce vytvářejí pseudomycelium, diferencované v řetězovité buňky a v blastosporu. Endosporu ani arthrosporu netvoří. Nátěr je bílý až krémový, šťavnatý, rozprostřený, hladký. Na kapalných substrátech tvoří obvykle bílou vrásčitou pokožku, křís (mázdru). *Candida vini* zkvašuje pouze jednoduché hexosy. Je schopná využít etanol, glycerol, ale i kyselinu octovou oxidací na oxid uhličitý a vodu. Obsah etanolu ve víně snižuje až na polovinu. Využívá i kyselinu jablečnou, mléčnou a jantarovou. Přitom vytváří estery jako octan etylový, které dávají kultuře osobitou vůni (bouquet).^{16,20,22,27} Roste ještě při teplotě 1–2 °C, optimum růstu je při teplotě 23 °C a maximum při teplotě 28–30 °C.²²

V přírodě je *Candida vini* velmi rozšířená. Vyskytuje se vždy ve velkém množství na hroznech, v ovocných mošttech a ve víně.²⁷ Je obávaným škůdcem rozličných alkoholických nápojů, které přišly do styku se vzduchem. Vína s nízkým obsahem alkoholu mohou být za přístupu vzduchu snadno napadena kvasinkou *Candida vini*, která rozkládá alkohol i kyseliny obsažené ve víně na vodu a oxid uhličitý. Při tom vytvářejí mázdrovitý povlak na víně – křís (šum, květ, rosol). Nejprve se na povrchu v neplných sudech nebo lahvích tvoří slabý, bílý, později žlutnoucí a šednoucí povlak, jehož vrstva stále sílí, až vznikne silný, hustý a kožovitý povlak. Tento povlak se časem vlastní vahou protrhne a klesá ke dnu nebo plave ve víně. Křisovatění porušuje chuť i vůni vína a lze mu předejít pravidelným doplňováním nádob s vínem s vyšším sířením. V chladných sklepech, v plných nádobách a ve vínech bohatých alkoholem není nebezpečí křisu.^{24,26} V droždárnách je také velmi nepříjemnou kontaminací. Pokud se tyto kvasinky dostanou do výroby pekařského droždí, rychle se při dobrém větrání rozmnoží a zvětšují svůj objem. Protože však nejsou schopné zapříčinit kvašení, jejich přítomnost podstatně snižuje mohutnost kynutí vyrobených pekařských kvasinek, určenou na jednotku hmotnosti.²⁷ Je nebezpečím i v pivovarské průmyslu, kde způsobuje zákaly piva, jeho změny v chuti a v aroma.¹⁶



Obr. 21: Kvasinka *Canida vini* (*mycoderma*)²⁰

3.3 METODIKA PRÁCE

3.3.1 Příprava kultivačního média

Sladina byla naředěna destilovanou vodou na 7 hmot. % extraktu a poté se upravilo pH na 5,5 pomocí Na₂CO₃. Sterilizace v autoklávu při 0,1 MPa, 15 minut.

3.3.2 Příprava suspenze kvasinek

Kultura kvasinky *Candida vini* CCY 29-39-3 byla naočkována z připraveného šikmého sladivého agarů odebráním jednoho očka sterilní mikrobiologickou kličkou do sterilního živného média, a to do sladiny o objemu 50 ml. Poté byla suspenze kultivována 24 hodin v termostatu při 25 °C.

Po nárůstu a pomnožení kvasinek v termostatu bylo ze suspenze odpipetováno 10 ml a vzorek byl centrifugou odstředován 6 minut při 4000 ot./min. Poté se opatrně odpipetovalo co nejvíce supernatantu nad peletkou a objem se doplnil na 10 ml destilovanou vodou. Supernatant se nedal jednoduše odlít, poněvadž peletka byla velmi křehká a odstředěním

nepřilnula ke stěně centrifugační zkumavky. Vzorek byl podruhé odstředěn, odpipetoval se supernatant a znovu byl vzorek doplněn na 10 ml a odstředěn potřetí. Při doplňování objemu byly vzorky vždy promíchány na třepače a také pomocí tenké skleněné tyčinky. Po třetím odstředění a odpipetování supernatantu se ke vzorku přidal 1 ml destilované vody. Z takto upraveného vzorku se vždy odpipetovalo 25 μ l suspenze kvasinek na ovrstvené sklíčko, které se ozařovalo.

3.3.3 Příprava skel s vrstvou oxidu titaničitého

Jako substrát pro ovrstvení titaničitým solem byla zvolena sodnovápenatá sklíčka o rozměrech (50×50×1,1 mm). Vzhledem k tomu, že difúze sodných iontů ze skla do vrstvy TiO₂ zabráňuje vytvoření fotoaktivní anatasové fáze a je příčinou nižší fotokatalytické aktivity vrstev, byla sklíčka před vlastním ovrstvením vyvařena v 50% kyselině sírové po dobu 120 minut. Poté byla skla omyta v saponátu, v deionizované vodě a usušena. Pro imobilizaci fotokatalyzátoru byla zvolena sol-gel metoda s titan tetraisopropoxidem (TTIP). Nejprve bylo smícháno 40 cm³ absolutního ethanolu s 3,8 cm³ acetylacetonu. Vzniklý roztok byl přikapáván k 10,3 cm³ TTIP, a to za stálého míchání na magnetické míchače. Poté bylo k výše připravenému roztoku přidáno 45 cm³ absolutního ethanolu smíchaného s 0,69 cm³ vody. Připravený sol byl uchovávan v uzavřené skleněné lahvi obalené alobalem při teplotě 5 °C v lednici.

Připravené soly byly následně použity k ovrstvení sodnovápenatých sklíček metodou mikropiezo depozice. Při nanášení tenkých titaničitých vrstev technikou mikropiezo depozice byl připraveným solem naplněn jeden ze zásobníků tiskové hlavy tiskárny Epson R220. Ostatní zásobníky zůstaly prázdné. Substrát určený k ovrstvení byl uchycen do upraveného držáku na CD a ten byl umístěn do podavače CD tiskárny. Technika mikropiezo depozice umožňuje libovolně měnit množství naneseného solu. V nastavení tiskárny je možné upravit plošné krytí sklíček solem, rozlišení a také kvalitu tisku. Zvolená hodnota plošného krytí přitom určuje množství naneseného solu na sklíčku v odstínech šedé tištěného obrazce. Plošné krytí 100 % odpovídá úplnému pokrytí solem, respektive absolutní černé tištěného obrazce. Naopak plošné krytí 0 %, a tím bílá barva tištěného obrazce odpovídá nepotřištěnému substrátu. Velká výhoda této metody spočívá v možnosti vybrat si a vytvořit vhodný tiskový obrazec, což umožňuje například popis nanesené vrstvy.

Při vlastním tisku byl zvolen mód tiskárny *Rapid*, nebo-li rychlý tisk. Rychlý tisk je charakteristický tím, že tisková hlava probíhá rychle nad povrchem ovrstvovaného sklíčka. K tisku dochází při každém průchodu tiskové hlavy, tedy v obou směrech. K odpaření rozpouštědla ze solu dochází až po nanesení vrstvy. Tímto způsobem je možné vytvořit hladkou, lesklou tenkou vrstvu oxidu titaničitého. Rozlišení při rychlém tisku bylo zvoleno 360 dpi a hodnota plošného krytí 90 %. Po ovrstvení byla sklíčka nejprve sušena při teplotě 110 °C po dobu 30 minut a poté vypálena v kalcinační peci při teplotě 450 °C po dobu 4 h s rychlostí nárůstu teploty 3 °C min⁻¹.

Sol byl připraven a skla ovrstvena na Ústavu fyzikální a spotřební chemie FCH VUT v Brně.

3.3.4 Pracovní aparatura

Při tomto experimentu byla použita aparatura složená z UV lampy se čtyřmi fluorescenčními výbojkami, skleněné Petriho misky, sklíček ovrstvených TiO_2 ležících na destičce zabalené do alobalu a z krycí křemenné desky zajišťující relativní vlhkost (obr. 22).

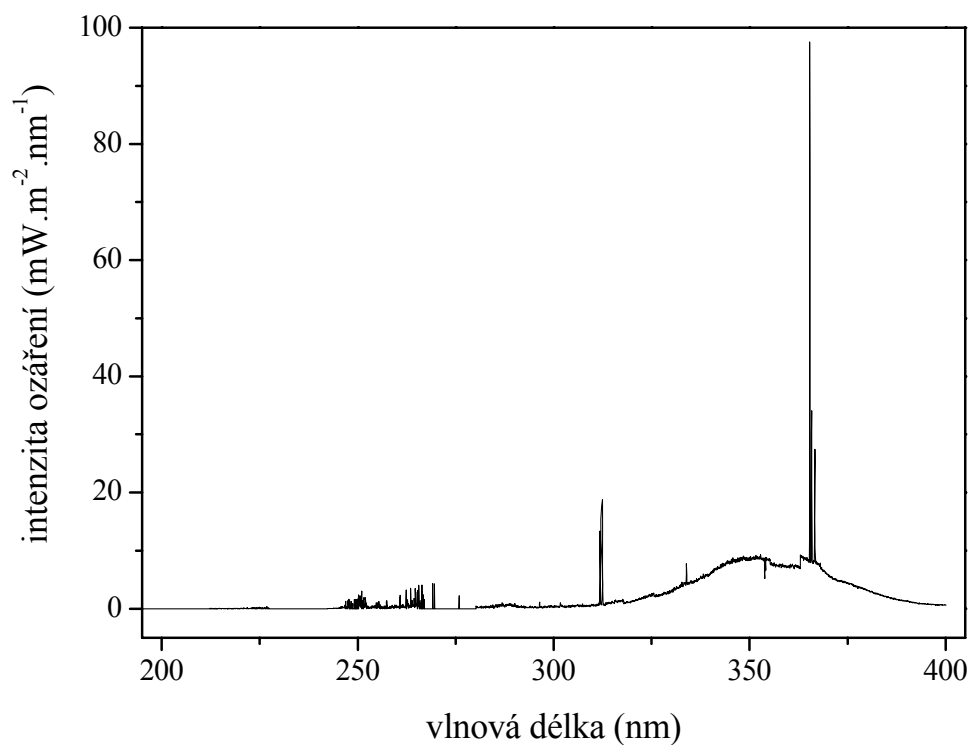
Do Petriho misky, v níž byla položena destička zabalená do alobalu, se napipetovalo 10 ml destilované vody, aby se zamezilo vysychání sklíčka. Na destičku se položilo sklíčko s transparentní vrstvou TiO_2 s nanesenou suspenzí kvasinek a to vše bylo zakryto křemennou deskou. Takto se kvasinky na sklíčko nechaly ozařovat UV lampou se čtyřmi fluorescenčními výbojkami v časech 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 a 60 minut. Později se vynechaly časy 15 a 25 minut. Intenzita ozáření byla pomocí UV metru nastavena nejdříve na hodnotu 170 W/m^2 , poté na 100 W/m^2 . Po ozáření se do suspenze napipetovalo $25 \mu\text{l}$ akridinové oranže, suspenze byla přikryta krycím sklíčkem a mikroskopem s fluorescenčním nástavcem se pozorovala životaschopnost kvasinek. Pro každý čas bylo nasnímáno a uloženo 20 snímků. Byly provedeny i experimenty bez ozáření.



Obr. 22: Použitá aparatura při experimentu

3.3.4.1 Zdroj záření

Suspenze kvasinek na ovrstveném sklíčku byla ozařována čtyřmi fluorescenčními výbojkami Sylvania, Lynx-S 11 W. Na obrázku (obr. 23) je znázorněno její emisní spektrum.



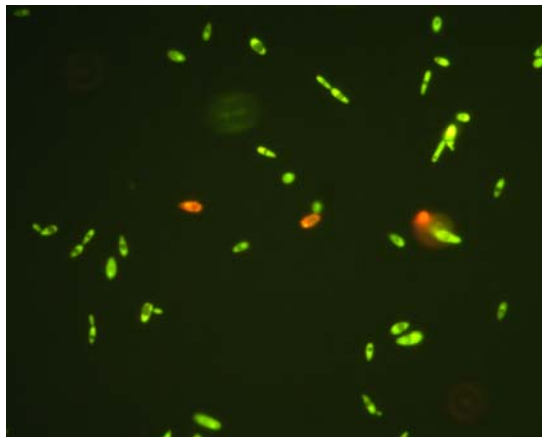
Obr. 23: Emisní spektrum fluorescenční výbojky Sylvania, Lynx-S 11 W

3.3.4.2 Fluorescenční mikroskop

Po ozáření bylo do suspenze kvasinek mikropipetou přidáno 25 μl akridinové oranže, která umožnila obarvit živé buňky do zelena a mrtvé do červena. Mrtvé se obarvily červeně, protože vlivem fotokatalytického procesu došlo k narušení buněčné stěny a tím pronikly molekuly barviva dovnitř buněk. Poté se mikroskopem Nikon Eclipse E 200 s fluorescenčním nástavcem (obr. 24) pozorovala životaschopnost kvasinek. CCD kamerou Pixel Link PL-A 662 bylo u každého vzorku nasnímáno 20 snímků (obr. 25), které se zpracovaly softwarem Lucia Net. U každého snímků byla stanovena míra přežití (viz vzorec níže).



Obr. 24: Mikroskop Nikon Eclipse E 200 s fluorescenčním nástavcem a CCD kamerou Pixel Link PL-A 662

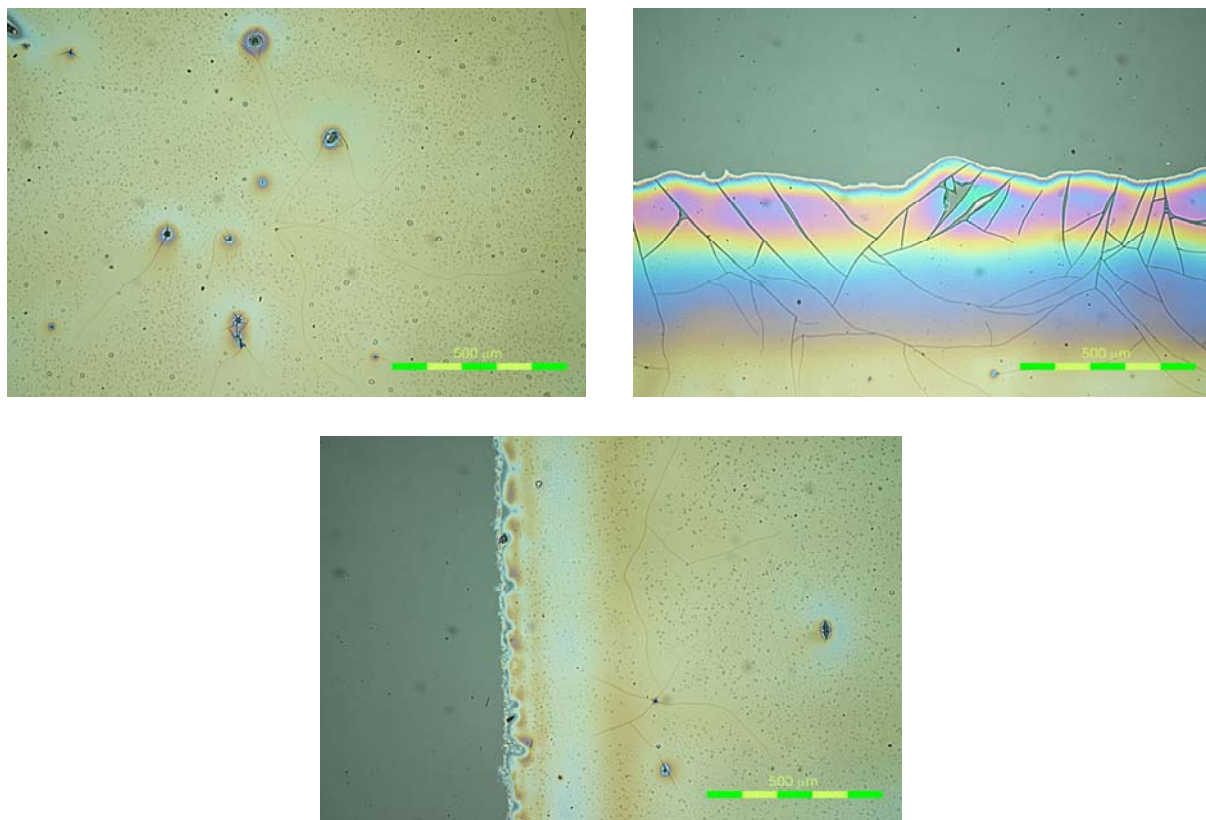


Obr. 25: Ukázka snímku nasnímaného CCD kamerou Pixel Link PL-A 662 a upraveného softwarem LuciaNet

3.3.5 Nanášení stříbra na sklíčko ovrstvené TiO_2

Při experimentu se zkoumala fotokatalytická inaktivace kvasinek na tenkých vrstvách TiO_2 a také vliv nízkých koncentrací stříbra na tento proces. Proto bylo stříbro nanášeno na sklíčka ovrstvené TiO_2 v různých koncentracích.

Byly nanášeny koncentrace stříbra 0,5, 1, 2 a 5 mol. %. Nejdříve byl připraven pracovní roztok AgNO_3 . Navážka 0,0529 g AgNO_3 byla kvantitativně převedena do 100 ml odměrné baňky, baňka byla doplněna destilovanou vodou po značku a promíchána. Z tohoto roztoku se odpipetoval objem 10 ml do odměrné baňky o objemu 1000 ml, která se opět doplnila destilovanou vodou po rysku. Takto jsme získali roztok AgNO_3 , který byl použit na nanášení stříbra na vrstvy TiO_2 . Sklíčko s tenkou vrstvou TiO_2 (90 R) bylo umístěno do Petriho misky a zalito 40 ml roztoku s obsahem Ag^+ iontů. Takhle se sklíčko ozařovalo UV lampou při intenzitě ozáření 1 mW/cm^2 po dobu 20 minut, čímž došlo k fotochemické redukci stříbra z roztoku AgNO_3 . Na takto upravených sklíčkách (obr. 26) byl zkoumán účinek stříbra.



Obr. 26: Ukázka sklíček ovrstvených TiO_2 s přidavkem stříbra (u 1. obrázku je možno si povšimnout Ag^+ ostrůvků)

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 ZKOUMÁNÍ FOTOKATALYTICKÉ INAKTIVACE KVASINEK

Pro všechny experimenty byla použita kvasinka *Candida vini* CCY 29-39-3. Intenzita záření byla nejdříve nastavena na hodnotu 170 W/m^2 , poté na hodnotu 100 W/m^2 a byly provedeny i experimenty bez ozáření. Suspenze kvasinek se nanášela na čisté sklíčka, dále na sklíčka ovrstvená TiO_2 a poté bylo na vrstvu TiO_2 nanášeno stříbro v nízkých koncentracích. Ozařovalo se v intervalech 0, 5, 10, 20, 30, 40 a 60 minut. U každého času bylo fluorescenčním mikroskopem nasnímáno 20 snímků a u každého z nich byl stanoven počet buněk. Výsledky pak byly přepočteny na míry přežití a vyhodnoceny statisticky. Míra přežití je definována jako poměr počtu živých buněk N_z k celkovému počtu buněk kvasinek N_c .

$$MP = N_z / N_c$$

Pro všechny koncentrace stříbra byly provedeny i experimenty bez ozařování. Před každým započatým měřením byly ovrstvené sklíčka ozářeny UV lampou cca 30 min z důvodu zvýšení hydrofilnosti povrchu a tím lepšího rozprostření suspenze kvasinek na sklíčku.

4.1.1 Inaktivace kvasinek při intenzitě záření 170 W/m^2

Nejprve byla zjišťována fotokatalytická inaktivace *Candida vini* při intenzitě 170 W/m^2 na různě ovrstvených sklíčkách. V tabulkách jsou uvedeny hodnoty míry přežití kvasinek pro sklíčka ozařována při této intenzitě a také neozářená. V grafech jsou pak znázorněny průběhy rychlostí inaktivace buněk kvasinek.

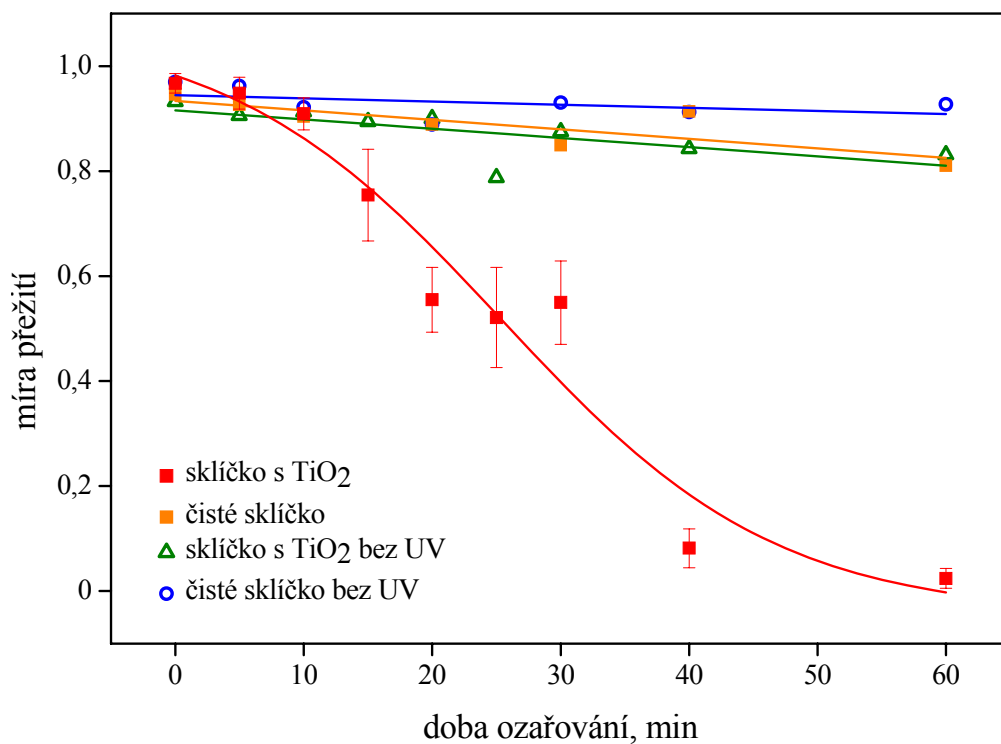
Tabulka 1: Míry přežití *C. vini* pro čisté sklíčko a sklíčko ovrstvené TiO_2 s/bez UV

Sklíčka	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
TiO_2	0,97	0,95	0,91	0,75	0,56	0,52	0,55	0,08	0,02
čisté	0,95	0,93	0,90	-	0,89	-	0,85	0,91	0,81
TiO_2 / bez UV	0,93	0,91	0,91	0,89	0,90	0,79	0,87	0,84	0,83
čisté/ bez UV	0,97	0,96	0,92	-	0,89	-	0,93	0,91	0,93

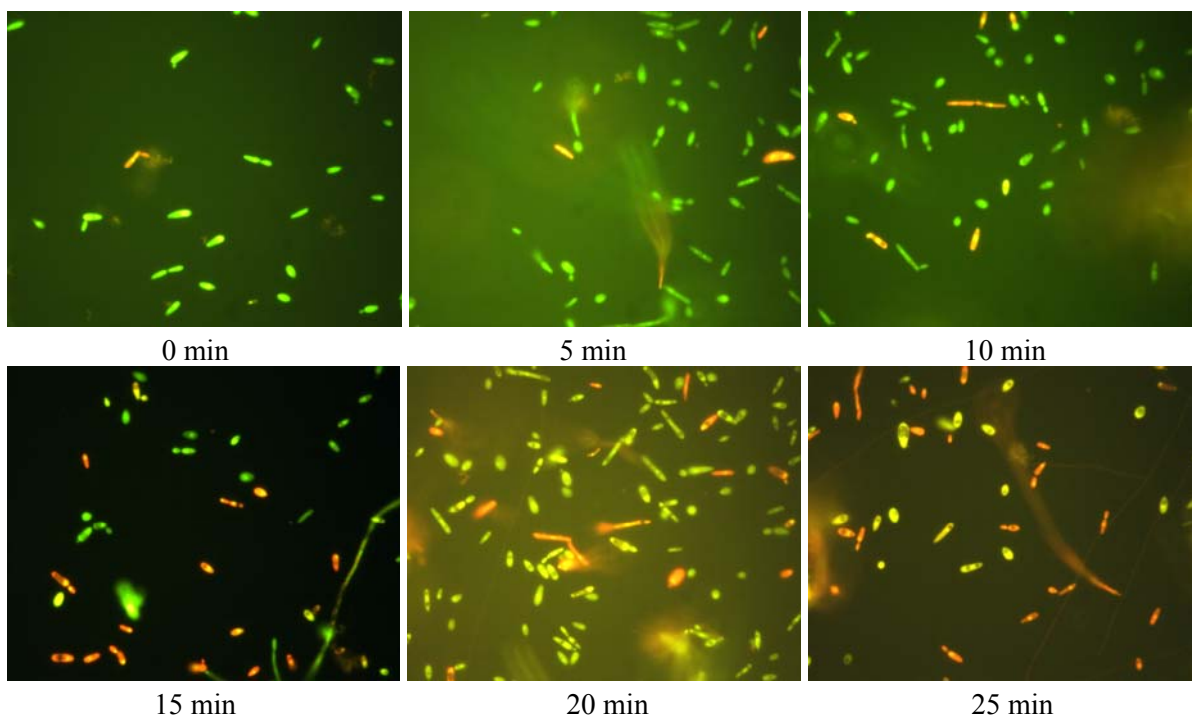
U prvních uvedených výsledků byla srovnána životaschopnost kvasinek na čistých sklíčkách a sklíčkách s vrstvou TiO_2 . Byly provedeny experimenty za působení UV záření a za tmy. U ozařovaného sklíčka ovrstveného TiO_2 byla pro kontrolu správnosti dat provedena dvě měření, která měla mírně odlišné výsledky, proto se data zprůměrovala kvůli lepší přehlednosti v grafu. Tyto průměrné hodnoty jsou uvedeny v tabulce, z nichž pak byla sestavena křivka. Navíc vliv různé intenzity záření by na inaktivaci kvasinek na čistém sklíčku neměl mít vliv. Časové intervaly 15. a 25. minuty byly u čistého sklíčka vynechány.

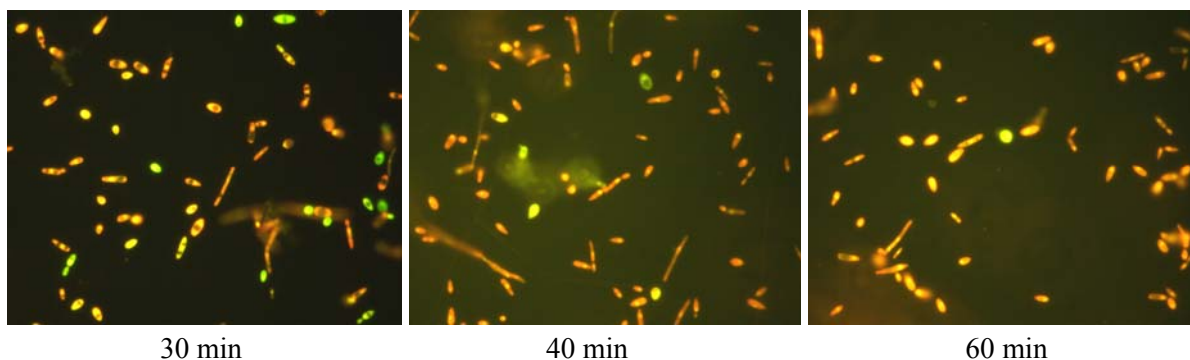
Jak je možno si z tabulky (tabulka 1) a grafu (obr. 27) povšimnout, působením TiO_2 dochází k 50% úhynu mezi 20.–30. minutou. U stejného sklíčka se v 60. minutě nepůsobením záření zjistil pouze 20% úhyn kvasinek, čímž se účinek TiO_2 v kombinaci s UV zářením

viditelně prokázal. Také se prokázal rozdíl v účinku inaktivace při ozařování kvasinek na čistém a ovrstveném sklíčku. Čisté sklíčko není tak aktivní, protože je ničím neovrstvené a tudíž tam nejsou přítomné ani reaktivní částice, které by inaktivovaly buňky kvasinek.



Obr. 27: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na čistém sklíčku a sklíčku pokrytém TiO₂





Obr. 28: Snímky inaktivace kvasinek na sklíčku ovrstveném TiO₂ v časových intervalech 0–60 minut

Snímky pořízené fluorescenčním mikroskopem (obr. 28) ukazují průběh usmrcování kvasinek *Candida vini* na sklíčku s vrstvou TiO₂.

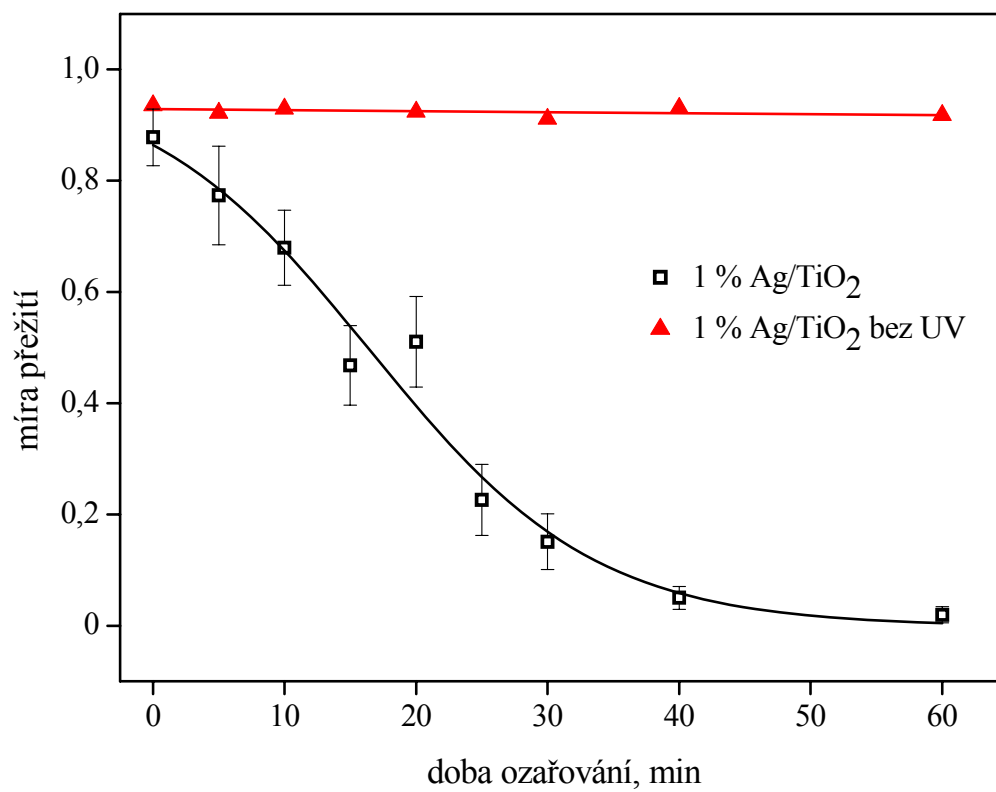
Při zkoumání měl být prostudován i vliv stříbra na fotokatalytickou inaktivaci kvasinky *C. vini*. Stříbro má samo o sobě baktericidní efekt. Proto bylo u sklíček na vrstvu TiO₂ nanášeno stříbro v nízkých koncentracích. Tyto koncentrace byly stanoveny na 0,5 %, 1 % a 2 % stříbra.

Tabulka 2: Míry přežití *C. vini* pro sklíčko ovrstvené TiO₂ za přídavku 1 % stříbra s/bez UV

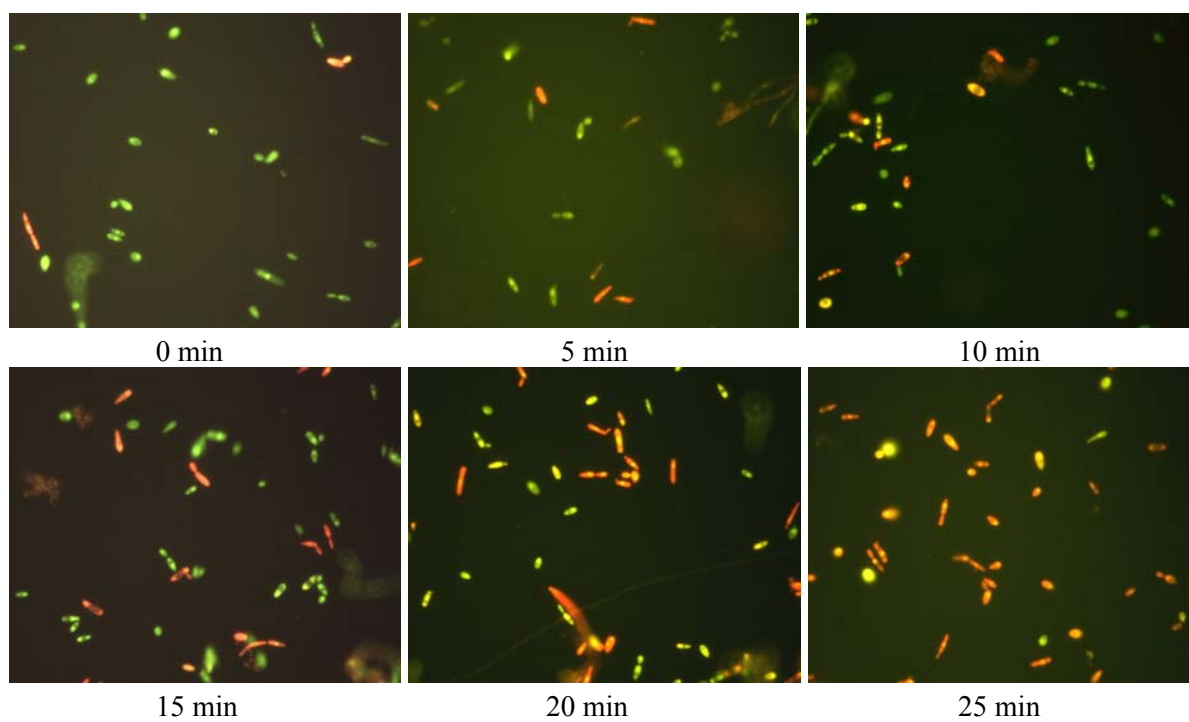
Sklíčka	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
1 % Ag/TiO ₂	0,88	0,77	0,68	0,47	0,51	0,23	0,15	0,05	0,02
1 % Ag/TiO ₂ bez UV	0,94	0,92	0,93	-	0,92	-	0,91	0,93	0,92

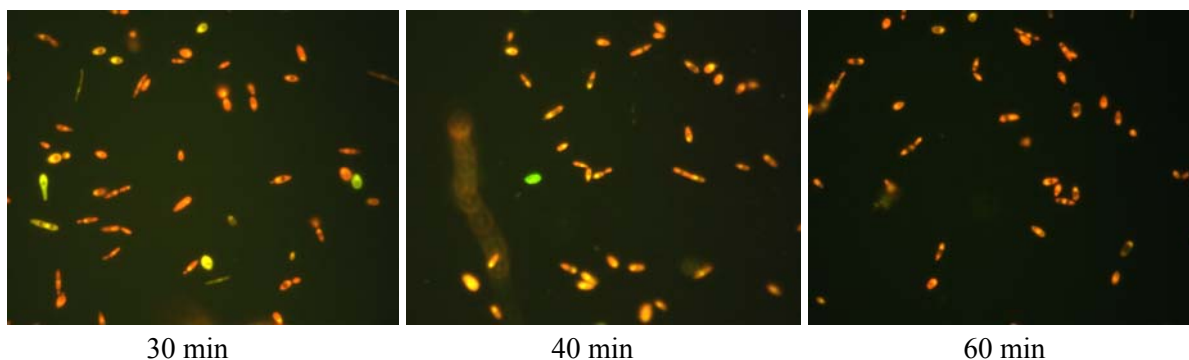
Tabulka (tabulka 2) uvádí hodnoty míry přežití kvasinek inaktivovaných na sklíčku ovrstveném TiO₂ za přídavku 1 % stříbra. Měření se provádělo za ozařování a neozařování sklíček. Intenzita UV záření byla udržována na hodnotě 170 W/m². U ozařovaného sklíčka s 1 % stříbra byla pro kontrolu správnosti dat provedena tři měření, která měla mírně odlišné výsledky, proto se opět zprůměrovala pro lepší přehlednost v grafu. Tyto průměrné hodnoty jsou uvedeny v tabulce, z nichž pak byla sestavena křivka.

V grafu (obr. 29) je možné sledovat poměrně rychlý průběh usmrcování kvasinek účinkem UV záření a 1 % stříbra, které podle očekávání silně zvýšilo rychlost inaktivace. Hodnoty 50% úhynu jsou totiž zřejmé už ve 20. minutě ozařování a i hodnoty míry přežití jsou nižší ve srovnání se sklíčkem ovrstveným pouze TiO₂. Experiment za tmy proběhl pouze s 10% snížením životaschopnosti kvasinek. Z tohoto tvrzení opět vyplývá fakt, že UV záření má výrazný vliv na zvýšení fotokatalytické inaktivace.



Obr. 29: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na sklíčku pokrytém TiO₂ s přísadkem 1 % stříbra





Obr. 30: Snímky inaktivace kvasinek na sklíčku ovrstveném TiO₂ s přidavkem 1 % stříbra v časových intervalech 0–60 minut

Již bylo zjištěno, že účinek stříbra má vliv na zvýšení fotokatalytické inaktivace kvasinek. Proto byly dále porovnány účinky stříbra různých nízkých koncentrací.

Tabulka 3: Míry přežití *C. vini* pro sklíčka ovrstvené TiO₂ za přidavku 0,5 %, 1 % a 2 % stříbra s/bez UV

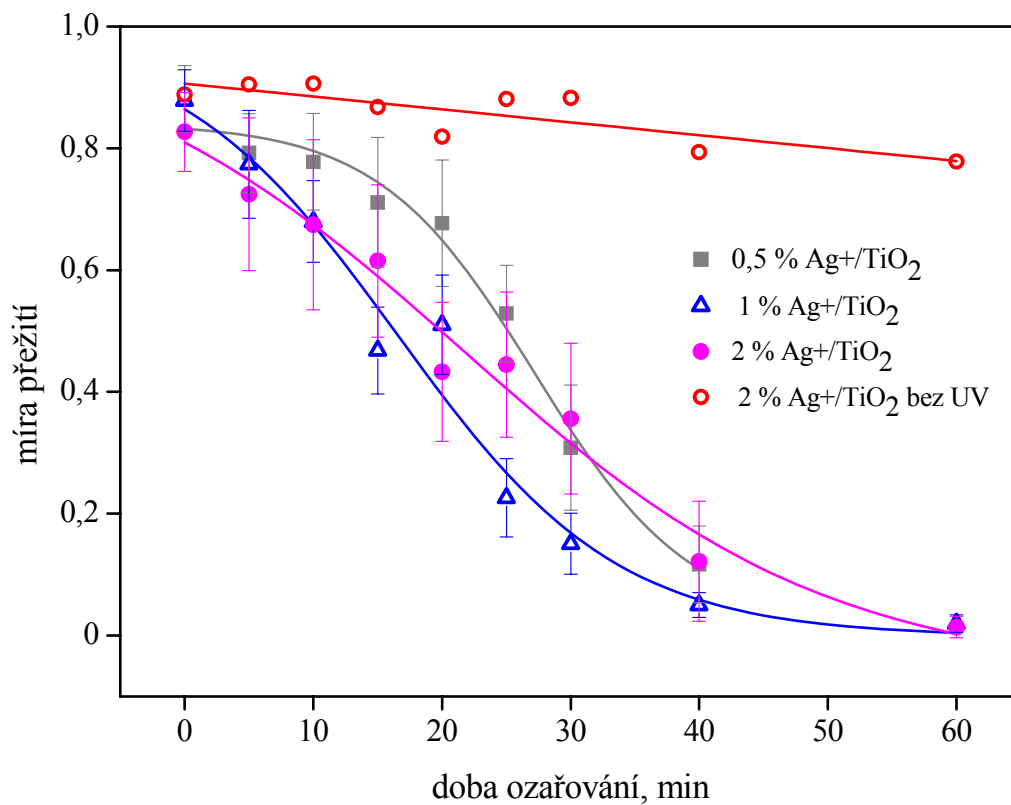
Sklíčka	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
0,5 % Ag/TiO ₂	0,88	0,79	0,78	0,71	0,68	0,53	0,31	0,12	-
1 % Ag/TiO ₂	0,88	0,77	0,68	0,47	0,51	0,23	0,15	0,05	0,02
2 % Ag/TiO ₂	0,83	0,72	0,67	0,61	0,43	0,44	0,36	0,12	0,01
2 % Ag/TiO ₂ bez UV	0,89	0,91	0,91	0,87	0,82	0,88	0,88	0,79	0,78

Byly stanoveny koncentrace stříbra 0,5 %, 1 % a 2 %, které se nanášely na sklíčka s vrstvou TiO₂. Na nich byla nanesena suspenze kvasinek, která se opět ozařovala při intenzitě 170 W/m². U sklíčka s 2% přidavkem stříbra bylo provedeno i měření za tmy.

Hodnoty jejich míry přežití uvádí tabulka (tabulka 3). U ozařovaného sklíčka s 0,5 % stříbra byla pro kontrolu provedena dvě měření, která se opět zprůměrovala pro lepší přehlednost v grafu. Taktéž tomu je i u sklíčka s 1% přidavkem, u něhož byly provedeny a zprůměrovány tři měření, jak již bylo také připomenuto u předchozí tabulky (tabulka 2). Tyto průměrné hodnoty jsou uvedeny v tabulce (tabulka 3), z nichž pak byla sestavena křivka. Hodnota u 0,5% přidavku stříbra při 60. minutě chybí, poněvadž zpočátku se u tohoto experimentu měřilo jen do 40 minuty.

Jak z hodnot v tabulce, tak i z grafu (obr. 31) je zřejmý téměř stejný počáteční průběh do 10. minuty ozáření u všech tří sklíček s různým přidavkem stříbra. Od 15. minuty se hodnoty trochu liší a ve 40. a 60. minutě jsou jejich hodnoty míry přežití opět téměř stejné. Až na hodnotu 60. minuty u 0,5% přidavku, která chybí. Účinek inaktivace na sklíčku s přidavkem stříbra o koncentraci 2 % by měl být logicky nejvyšší, ale není tomu tak. Z průběhu křivek vidíme, že všechny tři koncentrace jsou skoro až 100% účinné, co se týká konečné inaktivace kvasinky *C. vini*. Co se týká ale celkového průběhu experimentu má nejvyšší fotokatalytickou účinnost 1% koncentrace stříbra nanesené na sklíčka s tenkou vrstvou TiO₂. Experiment bez

záření proběhl s 30% snížením životaschopnosti kvasinek. Stále se tedy potvrzuje fakt, že UV záření má výrazný vliv na usmrcování kvasinek.



Obr. 31: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na sklíčku pokrytém TiO₂ s přídavkem 0,5 %, 1 % a 2 % stříbra

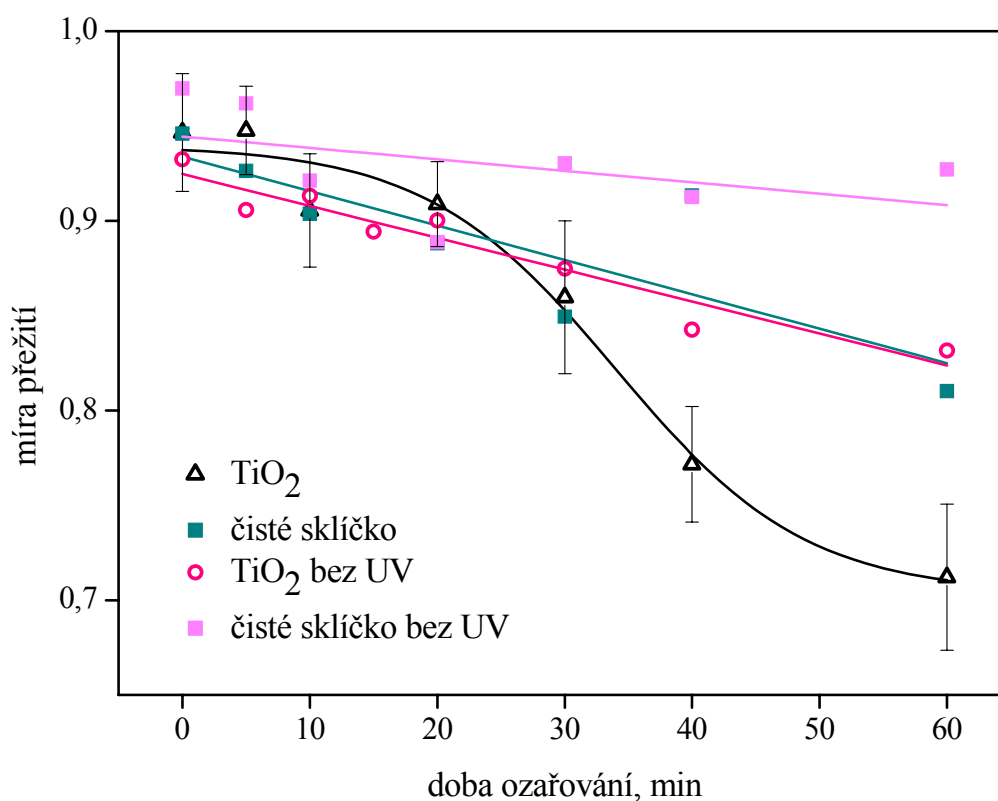
4.1.2 Inaktivace kvasinek při intenzitě záření 100 W/m²

Z předešlých měření, které byly prováděny za intenzity UV záření 170 W/m² se dosáhlo skoro 100% inaktivace kvasinky *Candida vini*. Proto byly poté zavedeny experimenty se zářením o velikosti 100 W/m², aby se zjistilo jaký účinek na životaschopnost kvasinek má tato intenzita. Výsledné data jsou uvedeny a vyhodnoceny v tabulkách a grafech níže.

Jako první byly uvedeny a zpracovány hodnoty pro sklíčka s vrstvou TiO₂ a čisté sklíčka. U obou sklíčků byl proveden i experiment bez přítomnosti záření.

Tabulka 4: Míry přežití *C. vini* pro čisté sklíčko a sklíčko ovrstvené TiO₂ s/bez UV

Sklíčka	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
TiO ₂	0,95	0,95	0,91	-	0,91	-	0,86	0,77	0,71
čisté	0,95	0,93	0,90	-	0,89	-	0,85	0,91	0,81
TiO ₂ / bez UV	0,93	0,91	0,91	0,89	0,90	0,79	0,87	0,84	0,83
čisté/ bez UV	0,97	0,96	0,92	-	0,89	-	0,93	0,91	0,93



Obr. 32: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na čistém sklíčku a sklíčku pokrytém TiO₂

U sklíčka ovrstveného TiO₂ jsou v tabulce (tabulka 4) uvedeny hodnoty zprůměrované ze dvou měření, která byla naměřena pro kontrolu správnosti dat. Zjišťování míry přežití v 15. a

25. minutě experimentu byla vynechána u ozářeného čistého sklíčka a sklíčka s vrstvou TiO₂ a u neozářeného čistého sklíčka.

Graf (obr. 32) nám ukazuje pouze 30% inaktivaci kvasinek na ovrstvených sklíčkách, což je mnohem méně než při ozařování o intenzitě 170 W/m². I přes to se dá ale konstatovat, že TiO₂ se podílí na zvýšení úbytku *C. vini*. Čistě sklíčka ozářená a neozářená sklíčka s TiO₂ mají podobný inaktivační průběh a na obou bylo usmrceno jen 20 % kvasinek. Podle předpokladu bylo čisté sklíčko bez přítomnosti UV záření nejméně účinné.

Z důvodu nepříliš velké inaktivační schopnosti vrstev TiO₂ bylo na tyto vrstvy opět zavedeno stříbro v nízkých koncentracích. Stanovené koncentrace byly 1 %, 2 % a 5 % stříbra.

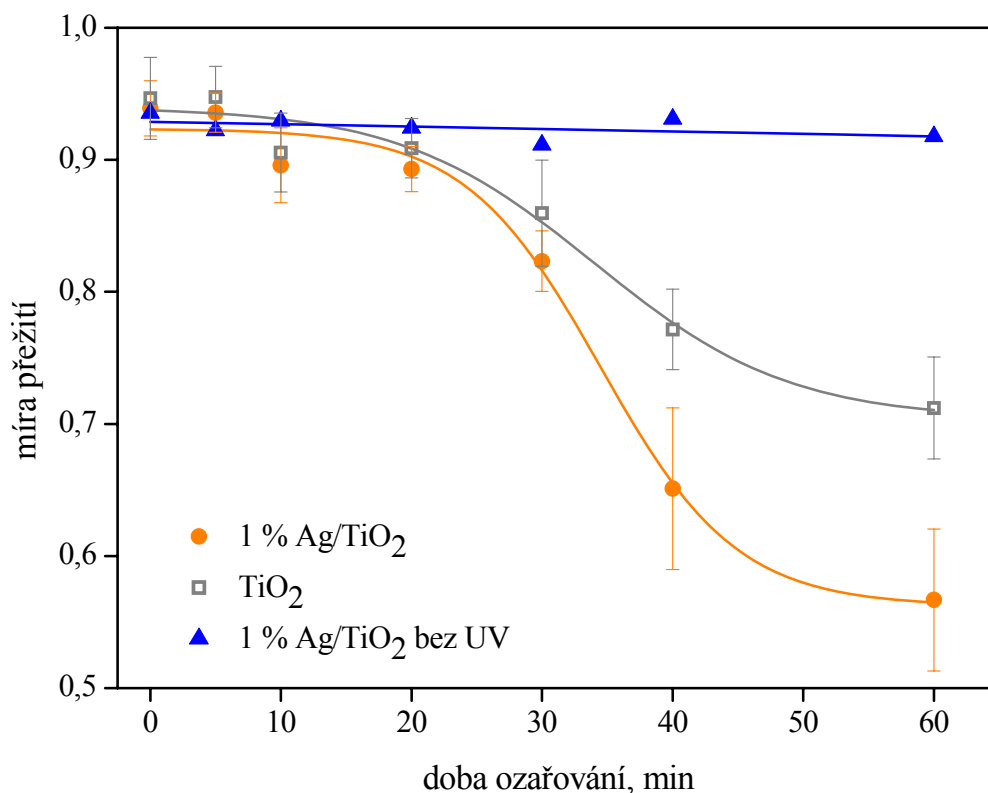
Nejprve byly porovnány účinky ozářených vrstev TiO₂ a vrstev s přídavkem stříbra o koncentraci 1 %. U vzorku se stříbrem bylo provedeno i měření bez přítomnosti záření.

Tabulka 5: Míry přežití *C. vini* pro sklíčko ovrstvené TiO₂ a s přídavkem 1 % stříbra s/bez UV

Sklíčka	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
1 % Ag/TiO ₂	0,94	0,94	0,90	-	0,89	-	0,82	0,65	0,57
s TiO ₂	0,95	0,95	0,91	-	0,91	-	0,86	0,77	0,71
1 % Ag/TiO ₂ bez UV	0,94	0,92	0,93	-	0,92	-	0,91	0,93	0,92

Uvedené hodnoty míry přežití u ozářeného sklíčka s 1 % stříbra jsou opět průměrné. Měření v 15. a 25. minutě byla u všech tří vzorků neprovedena. Míry přežití a průběh inaktivace do 20. minuty u všech tří vzorků je velmi obdobný, jak je vidět z hodnot v tabulce (tabulka 5) a z křivek v grafu (obr. 33). Z toho vyplývá, že stříbro nemá velký vliv na urychlení fotokatalytické inaktivace v počáteční fázi do 20. minuty jak za přítomnosti, tak i bez přítomnosti osvětlení. Od 20. minuty se míry přežití a průběh liší.

Graf (obr. 33) nám poskytuje tři křivky, z nichž nejučinnější je křivka znázorňující inaktivaci *C. vini* na postříbřeném sklíčku. V 60. minutě, tedy na konci tohoto měření ale došlo jen k asi 40% úbytku kvasinek, což u experimentu se zářením o intenzitě 170 W/m² bylo možné pozorovat již při 10. až 15. minutě ozařování. Účinek stříbra se zde ale prokázal, neboť výsledná úmrtnost u sklíčka ovrstveného TiO₂ byla nižší o 14 % než u sklíčka s ostříbřeného. Experiment za nepřítomnosti záření vykazuje opět nejnižší vliv na inaktivaci kvasinek.



Obr. 33: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na sklíčku pokrytém TiO₂ a ovrstveném sklíčku s přidavkem 1 % stříbra

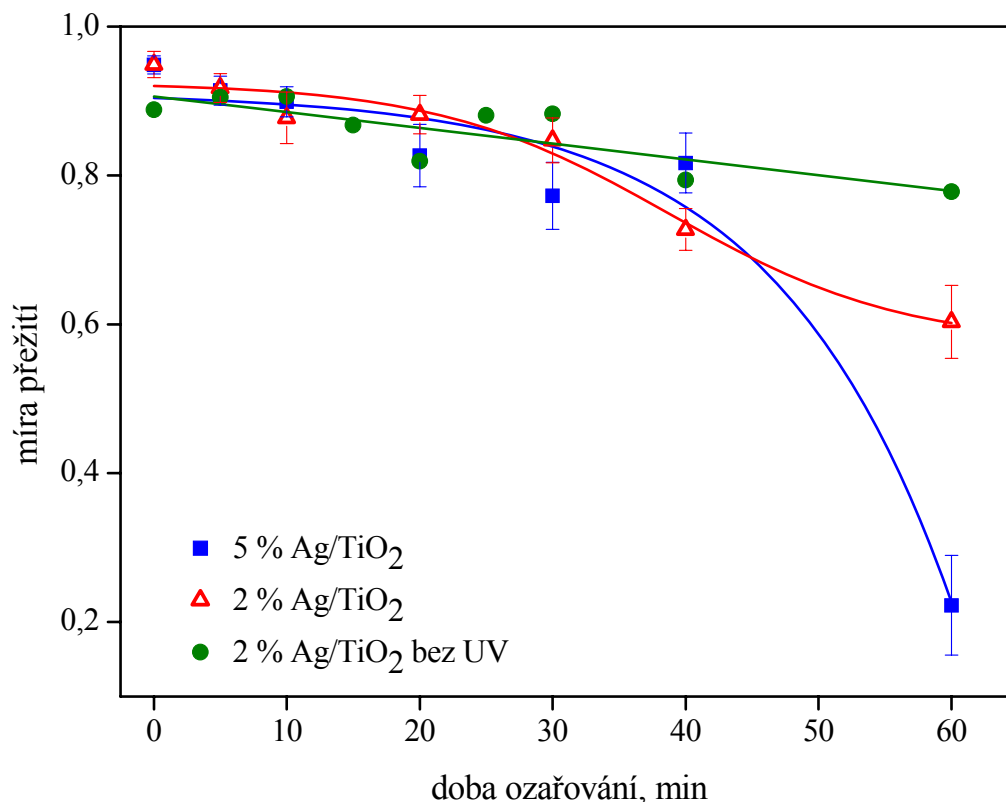
Urychlení fotokatalytické inaktivace kvasinek nebylo použitím 1 % stříbra příliš uspokojivé, proto byly použity vyšší koncentrace stříbra, a to 2 % a 5 %, jejichž účinky byly pozorovány a porovnány.

Tabulka 6: Míry přežití *C. vini* pro sklíčka ovrstvené TiO₂ za přidavku 5 % a 2 % stříbra s/bez UV

Sklička	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
5 % Ag/TiO ₂	0,95	0,91	0,90	-	0,83	-	0,77	0,82	0,22
2 % Ag/TiO ₂	0,95	0,92	0,88	-	0,88	-	0,85	0,73	0,60
2 % Ag/TiO ₂ bez UV	0,89	0,91	0,91	0,87	0,82	0,88	0,88	0,79	0,78

Tabulka (tabulka 6) opět přináší přehled míry přežití pro tři případy sklíček – ozařována a neozařována sklička s 2% nánosem stříbra a ozařována sklička 5% nánosem stříbra. U sklička s nánosem stříbra o koncentraci 5 % jsou uvedeny průměrná data. Z uvedených dat je vidět, že počáteční hodnoty do 20. minuty jsou velmi obdobné u všech vzorků sklíček. Poté dochází k mírné rozdílnosti hodnot a nejrozdílnější hodnoty jsou zřejmé u konečné 60. minuty.

Z grafu (obr. 34) je poznat, že křivka průběhu inaktivace kvasinek na skličku s 5% nánosem stříbra vykazuje do 40. minuty pomalý inaktivační účinek. Po 40. minutě dochází k rychlému úhynu kvasinek, když vezmeme v úvahu, že 50 % kvasinek je usmrceno kolem 50. minuty a v 60. minutě je usmrceno už 80 % kvasinek. 2 % stříbra nanesená na skličku mají po celou dobu měření nízký inaktivační účinek. Za hodinu dochází sotva k 40% úhynu kvasinek. Neozářené skličko opět potvrzuje nejnižší úbytek kvasinek.



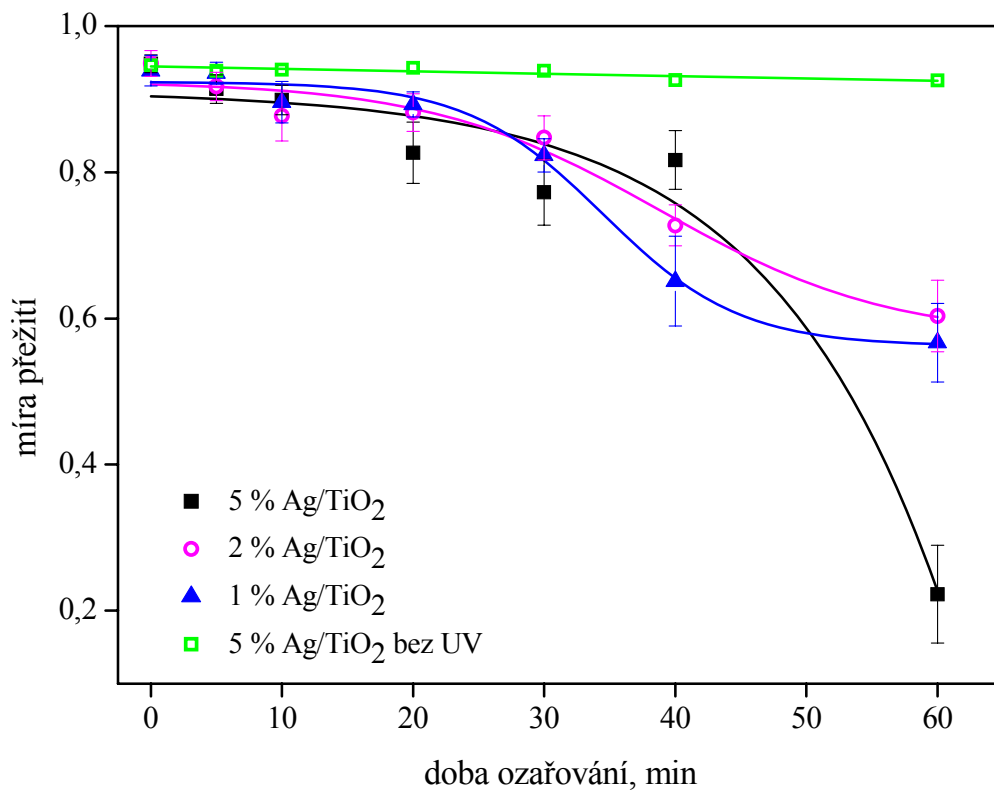
Obr. 34: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na skličku pokrytém TiO₂ s přídavkem 2 % a 5 % stříbra

Nakonec byly celkově posouzeny účinky stříbra nanesená na ovrstvená TiO₂ sklička v koncentracích 1 %, 2 % a 5 % za působení a nepůsobení UV záření.

Tabulka 7: Míry přežití *C. vini* pro sklička ovrstvené TiO₂ za přídavku 1 %, 2 % a 5 % stříbra s/bez UV

Sklička	Míra přežití N_z / N_c								
	Doba ozařování, min								
	0	5	10	15	20	25	30	40	60
1 % Ag/TiO ₂	0,94	0,94	0,90	-	0,89	-	0,82	0,65	0,57
2 % Ag/TiO ₂	0,95	0,92	0,88	-	0,88	-	0,85	0,73	0,60
5 % Ag/TiO ₂	0,95	0,91	0,90	-	0,83	-	0,77	0,82	0,22
2 % Ag/TiO ₂ bez UV	0,95	0,94	0,94	-	0,94	-	0,94	0,93	0,93

Největší vliv na zrychlení fotokatalytické inaktivace kvasinky *C. vini* při intenzitě záření 100 W/m^2 má sklíčko s nánosem stříbra o koncentraci 5 %. Tento jev byl zjištěn a potvrzen i u předchozího grafu (obr. 35). Účinek na zrychlení inaktivace má samozřejmě i UV záření, což se potvrdilo u všech uvedených experimentů.



Obr. 35: Závislost míry přežití na době ozařování a neozařování kvasinek na sklíčku pokrytém TiO₂ s přidavkem 1 %, 2 % a 5 % stříbra

5 ZÁVĚR

Byl studován fotokatalytický účinek stříbra na oxidu titaničitém ve spojitosti s inaktivací kvasinek. Fotokatalýza je velmi účinná metoda degradace mikrobiálních organismů. Antimikrobiální účinek oxidu titaničitého byl zvýšen deponováním kovového stříbra v množství 0,5 až 5 molárních procent.

Vybraným organismem pro tuto práci byla kvasinka *Candida vini*. Inaktivace byla studována při dvou intenzitách ozáření a to 170 a 100 W/m² v oblasti UV-A. Již při ozáření kvasinek nanesených na TiO₂ bez přídavku stříbra byl pozorován značný pokles životaschopnosti buněk vyjádřený jako míra přežití.

Depozice 1 mol. % stříbra na vrstvu TiO₂ zvýšila účinnost fotokatalytické inaktivace kvasinek. Avšak vyšší obsah stříbra (2 mol. %) nevedl k prokazatelnému zvýšení účinnosti reakce. Proto je možné konstatovat, že při vysoké intenzitě ozáření (170 W/m²) je vhodný obsah kovového stříbra 1 mol. %.

Fotokatalytická inaktivace kvasinek při nižší intenzitě ozáření (100 W/m²) byla ekonomicky efektivnější a byly dosaženy výsledky:

Čistý povrch TiO₂ projevil mnohem nižší fotokatalytický účinek (přibližně o 30 % nižší než při intenzitě 170 W/m²). Přídavek 1 a 2 mol. % stříbra vedl k účinnější fotokatalytické inaktivaci, ale ne tak výrazný jako u koncentrace 5 % stříbra. Touto koncentrací bylo při intenzitě ozáření 100 W/m² dosaženo nejvyšší snížení životaschopnosti kvasinek.

U všech měření byly provedeny i experimenty bez účinku UV záření, které prokázaly asi jen 10–20% úbytek v počtu životaschopných kvasinek.

Závěrem lze tedy konstatovat, že všechny skleněné desky pokryté stříbrem po ozáření UV zářením vykázaly podstatně lepší antimikrobiální efekt než skla s čistým TiO₂.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- 1 FUJISHIMA, A., HASHIMOTO, K., WATANABE, T.: *TiO₂ Fotokatalýza, základy a aplikace*. 1. vyd. Praha 10: Vivas a. s., 2002. 111 s. ISBN 80-903113-3-4.
- 2 SERPONE, N., PELIZZETTI, E.: *Photocatalysis: fundamentals and applications*. Canada: Wiley, 1989. 650 s. ISBN 0-47-62603-1.
- 3 PEKAŘ, M., KLUČÁKOVÁ, M., VESELÝ, M., ČEPPAN, M.: *Fyzikální chemie a fotochemie. Praktikum*. 1.vyd. Brno: VUT FCH, 2003. 114 s. ISBN 80-214-2470-2.
- 4 FUJISHIMA, A.: Discovery and applications of photocatalysis: Creating a comfortable future by making use of light energy. *Japan Nanonet Bulletin* [online]. 2005, vol. 44 [cit. 2009-03-29]. Dostupný z www: <<http://www.nanonet.go.jp/english/mailmag/2005/044a.html>>.
- 5 *Denní a noční vidění síťových kamer* [online]. [cit. 2008-12-18]. Dostupné z: <<http://www.netcam.cz/encyklopedie-ip-zabezpeceni/denni-a-nocni-videni.php>>.
- 6 *Photocatalysis* [online]. Poslední revize 6. 4. 2005 [cit. 2008-12-12]. Dostupné z: <<http://dev.nsta.org/evwebs/1952/photocatalysis.htm>>.
- 7 VAMATHEVAN, V., AMAL, R., BEYDOUN, D., LOW, G., MCEVOY, S.: Photocatalytic oxidation of organics in water using pure and silver-modified titanium dioxide particles. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2001, vol. 148, p. 233–245.
- 8 HOŠEK, T.: *Využití bariérových výbojů při přípravě foto-katalytických TiO₂ vrstev*. Brno, 2008. 36 s. Diplomová práce na Přírodovědecké fakultě Masarykovy Univerzity. Vedoucí diplomové práce Mgr. Pavel Šťáhel, Ph.D.
- 9 *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Oxid titaničitý* [online]. 2009 [cit. 2009-05-08]. Dostupný z : <http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Oxid_titani%C4%8Dit%C3%BD&oldid=3618879>.
- 10 *UV Air Purifer, Germicidal Air Purification, UVGI and mold trstiny by Novapure – The Science Behind Photocatalysis* [online]. 2002–2003 [cit. 2009-04-24]. Dostupný z www: <<http://novapure.com/DesktopDefault.aspx?tabid=71>>.
- 11 CHOMOUCKÁ, J.: *Studium samočisticích a antimikrobiálních vlastností tenkých vrstev oxidu titaničitého*. Brno, 2008. 123 s. Disertační práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí disertační práce Doc. Ing. Michal Veselý, CSc.
- 12 MANESS, P.-CH., SMOLINSKI, S., BLAKE, D. M., HUANG, Z., WOLFRUM, E. J., JACOBY, W. A.: Bacterial activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism, *Applied and environmental mikrobiology*, 1999, vol. 65, p. 4094–4098.
- 13 KAVAN, L., ZUKALOVÁ, M., ZUKAL, A., FRANK, O., KALBÁČ, M.: Proč je TiO₂ stále tak populární?. In *Nanopin 2006, Praha, 9.–11. května 2007* [online]. 2006 [cit. 2009-03-15]. Dostupný z www: <http://www.nanopin.cz/cz/cz_page06.html>.
- 14 *Vlastnosti fotokatalytického TiO₂* [online]. 2006 [cit. 2009-05-03]. Dostupné z: <http://www.nanopin.cz/cz/cz_page01.html#ref1>.

- 15 *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Kvasinky* [online]. 2009 [cit. 2009-05-05]. Dostupný z: <<http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kvasinky&oldid=3556893>>.
- 16 VESELÁ, M.: *Praktikum z obecné mikrobiologie*. 3. vyd. Brno : VUT FCH, 2004. 100 s. ISBN 80-214-2567-9.
- 17 ŠILHÁNKOVÁ, L.: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. dopl. vyd. Praha : Academia, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- 18 ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Eukaryotické organismy, Encyklopedie hydrobiologie* [online]. VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2009-04-04]. Dostupné z: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=E005>.
- 19 HUDECOVÁ, D., MAJTÁN, V.: *Mikrobiológia I*. 1.vyd. Bratislava : STU, 2002. 189 s. ISBN 80-227-1663-4.
- 20 KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: *Kvasinky*. 1.vyd. Bratislava : Slovenské vydavateľstvi technické literatury, 1957. 344 s.
- 21 GÖRNER, F., VALÍK, L.: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- 22 KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: *Taxonómia kvasinek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. 1. vyd. Bratislava : Alfa, 1990. 704 s. ISBN 80-05-00644-6.
- 23 *Mykologie* [online]. [cit. 2009-02-21]. Dostupné z: <<http://prasivky.wz.cz/end.html>>.
- 24 ŠPERGL, L.: *Původní technologie výroby likérů, lihovin, piva* [online]. 2001 [cit. 2009-02-21]. Dostupné z: <<http://www.tech-info.cz/>>.
- 25 KRASKE, E.-M.: *Kandidóza*. 1. vyd. Praha : Informatorium, 1996. 93 s. ISBN 80-86073-00-9.
- 26 KRAUS, V., KUTTELVAŠER, Z., VURM, B.: *Encyklopedie českého a moravského vína*. 1. vyd. Praha: Melantrich, 1997. 224 s. ISBN 80-7023-250-1.
- 27 TVRDOŇ, M.: *Školský atlas mikroorganizmov*. 1. vyd. Bratislava: Atlas, 1978. 184 s.
- 28 KÜHN, K.P., CHABERNY, I.F., MASSHOLDER, K., STICKERS, M., BENZ, V.W., SONNTAG, H.G., ERDINGER, L.: Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with dioxide and UVA light. *Chemosphere*. 2003, vol. 53, p. 71–77.
- 29 LIPENSKÁ, M.: *Fotokatalytická inaktivace kvasinek v průtočném reaktoru*. Brno, 2008. 55 s. Diplomová práce na Chemické fakultě Vysokého učení technické. Vedoucí diplomové práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
- 30 ZLÁMAL, M., KRÝSA, J.: Fotokatalytické vlastnosti porézních čističových vrstev. *Sborník příspěvků výzkumného centra Nanopin*. 2007. Nanomateriály a fotokatalýza. s. 67. Dostupný z [www](http://www.nanopin.cz/cz/cz_page06.html): <http://www.nanopin.cz/cz/cz_page06.html>.
- 31 DUNLOP, P. S. M., MCMURRAY, T. A., HAMILTON, J. W. J., BYRNE, J. A.: Photocatalytic inactivation of *Clostridium perfringens* spores on TiO₂ electrodes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2008, p. 1–7.
- 32 ZITA, J., KRÝSA, J., MAIXNER, J.: Vícevrstevné TiO₂/SiO₂ tenké filmy a jejich fotokatalytické vlastnosti. *Sborník příspěvků výzkumného centra Nanopin*. 2007. Nanomateriály a fotokatalýza.s. 67. Dostupný z [www](http://www.nanopin.cz/cz/cz_page06.html): <http://www.nanopin.cz/cz/cz_page06.html>.
- 33 VESELÝ, M., DZIK, P., CHOMOUCKÁ, J.: *Preparation of inorganic polymer films by inkjet printer*. Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně.
- 34 KUBACKA, A., FERRER, M., MARTÍNEZ-ARIAS, A., FERNÁNDEZ-GARCÍA, M.: Ag promotion of TiO₂-anatase disinfection capability: Study of *Escherichia coli* inactivation. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2008, p. 1-7.

- 35 YIP, H. Y., YU, J. C. M., CHAN, S. C., ZHANG, L. Z., WONG, P. K.: Photocatalytic bactericidal activity of silver-sensitized titanium dioxide on *Micrococcus lylae*. *Journal of Water and Environment Technology*. 2005, vol. 3, p. 47–53.
- 36 TONGPOOL, R., INPHONLEK, S., NINLAPAT, J., UBOL, P. N., SETWONG, K.: High bactericidal ability of silver (Ag)-coated TiO₂ films via doktor blade technique.
- 37 KELEHER, J., BASHANT, J., HELDT, N., JOHNSON, L., LI, Y.: Photo-catalytic preparation of silver-coated TiO₂ particles for antibacterial applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2002, vol. 18, p. 133–139.
- 38 *What is photocatalysis?* [online]. [cit. 2008-11-03]. Dostupné z: <<http://www.tipe.com.cn/library/kb2501.htm>>.
- 39 CASTELLANO, J. J., SHAFII, S. M., KO, F., DONATE, G., WRIGHT, T. E., MANNARI, R. J., PAYNE, W. G., SMITH, D. J., ROBSON, M. C.: Komparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. *International Wound Journal*. 2007, vol. 4, p. 114–122.
- 40 RAI, M., YADAV, A., GADE, A.: Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 2009, vol. 27, p. 76–83.
- 41 YAMANAKA, M., HARA, K., KUDO, J.: Bactericidal actions of silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005, vol. 71, p. 7589–7593.
- 42 PAL, A., PEHKONEN, S. O., YU, L. E., RAY, M. B.: Photocatalytic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria using fluorescent light. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2007, vol. 186, p. 335–341.
- 43 BENABBOU, A. K., DERRICHE, Z., FELIX, C., LEJEUNE, P., GUILLARD, C.: Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli*, effect on concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2007, vol. 76, p. 257–263.