



Vliv aditivace na fotokatalytické a antimikrobiální vlastnosti nanočásticových suspenzí

Diplomová práce

Studijní program:
Studijní obor:

N3942 Nanotechnologie
Nanomateriály

Autor práce:
Vedoucí práce:

Bc. Michaela Petržílková
Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.
Katedra materiálu

Konzultant práce:

Ing. Michaela Jakubičková





Zadání diplomové práce

Vliv aditivace na fotokatalytické a antimikrobiální vlastnosti nanočásticových suspenzí

Jméno a příjmení: **Bc. Michaela Petržílková**
Osobní číslo: M16000163
Studijní program: N3942 Nanotechnologie
Studijní obor: Nanomateriály
Zadávající katedra: Katedra materiálu
Akademický rok: **2019/2020**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární rešerši na následující témata:
 - funkcionalizace nanočástic a příprava stabilních suspenzí
 - fotoaktalytický jev a metody hodnocení účinnosti
 - antimikrobiální jev a metodika hodnocení účinnosti
2. Připravte stabilní roztoky zvolených typů a kombinací nanočástic.
3. Stanovte jejich fotokatalytickou aktivitu.
4. Zhodnoťte antimikrobiální účinnost.
5. Provedte diskuzi a formulujte závěry.

Rozsah grafických prací: –
Rozsah pracovní zprávy: 50-70
Forma zpracování práce: tištěná/elektronická
Jazyk práce: Čeština



Seznam odborné literatury:

- [1] BORA, Leena V. a Rajubhai K. MEWADA. Visible/solar light active photocatalysts for organic effluent treatment: Fundamentals, mechanisms and parametric review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [online]. 2017, 76, 1393-1421
- [2] LE, Hoang Anh, Le Thuy LINH, Sungmin CHIN a Jongsoo JURNG. Photocatalytic degradation of methylene blue by a combination of TiO₂-anatase and coconut shell activated carbon. *Powder Technology*[online]. 2012, 225, 167-175
- [3] SUDHA, D. a P. SIVAKUMAR. Review on the photocatalytic activity of various composite catalysts. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* [online]. 2015, 97, 112-133
- [4] AAMIR, Sakina, Z. A. ANSARI, H. FOUAD, Ahmad UMAR, AbdulAziz A. AL KHERAIF a S. G. ANSARI. Effect of Inoculum Size and Surface Charges on the Cytotoxicity of ZnO Nanoparticles for Bacterial Cells. *Science of Advanced Materials* [online]. 2015, 7(12), 2515-2522
- [5] SÁNCHEZ-SANHUEZA, G.; FUENTES-RODRÍGUEZ, D. & BELLO-TOLEDO, H. Copper nanoparticles as potential antimicrobial agent in disinfecting root canals. A systematic Review. *Int. J. Odontostomat.*, 10(3):547-554, 2016

Vedoucí práce: Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.
Katedra materiálu
Konzultant práce: Ing. Michaela Jakubičková

Datum zadání práce: 13. října 2019
Předpokládaný termín odevzdání: 18. května 2020

prof. Ing. Zdeněk Plíva, Ph.D.
děkan

L.S.

prof. Ing. Petr Louda, CSc.
vedoucí katedry

V Liberci dne 13. října 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

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

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

4. června 2020

Bc. Michaela Petržílková

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala mému vedoucímu práce Ing. Pavlu Kejzlarovi, Ph.D za jeho obrovskou podporu, vstřícnost, nekonečnou trpělivost a především za jeho cenné rady během experimentů a při zpracování diplomové práce. Mé díky patří také konzultantce Ing. Michaele Jakubíčkové za její motivaci, podporu a čas při předávání zkušeností z mikrobiologické laboratoře.

Dále děkuji Mgr. Martinu Pusztaiovi za pomoc s experimenty při hodnocení antialgální účinnosti a Ing. Martinu Stuchlíkovi za naměření FTIR spekter.

Závěrem chci poděkovat všem členům rodiny a kamarádům, kteří mě s trpělivostí podporovali po celou dobu studia i mimo něj.

Abstrakt

Diplomová práce je zaměřena na vývoj fotokatalyticky aktivního transparentního nátěru aplikovatelného především na barevné fasády bytových domů. Důraz je kladen na dosažení maximální fotokatalytické účinnosti s cílem eliminace záchytu a množení mikroorganismů na ošetřeném substrátu. Cílem je rovněž eliminovat nežádoucí jevy vyskytující se u stávajících komerčních nátěrů. Dosažené výsledky jsou porovnávány s dostupným konkurenčním nátěrem Balclean. Výsledkem vývoje je dvousložková koloidní nátěrová suspenze založená na fotokatalyzátoru ZnO, aditivovaná Ag. Po zaschnutí vytváří na povrchu substrátu transparentní film, který efektivně hubí bakterie a řasy. Fotokatalytická účinnost byla hodnocena na základě rozkladů methylenové modři dle ISO 10678:2010. Mikrobicidní účinky byly prokázány v rámci testů antibakteriální (*Escherichia coli*) aktivity dle normy ISO 27447:2019 a antialgální (*Chlorella vulgaris*, *Interfilum terricola*, *Klebsormidium flaccidum*) aktivity prostřednictvím PAM fluorimetrie. Nátěr byl v rámci testování aplikován na řadě objektů v ČR i v zahraničí; tato místa jsou průběžně sledována. Nikde nebyly pozorovány žádné negativní účinky.

Klíčová slova: fotokatalytický jev, fotoaktivní, samočistící nátěrové suspenze, antimikrobiální účinek, nanočástice, oxid zinečnatý, oxid titaničitý, stříbro

Abstract

The master thesis is devoted to the development of photocatalytically active transparent coating that can be applied on coloured facades of buildings. The main goal of the study is to achieve maximum photocatalytic efficiency in order to eliminate the adhesion and proliferation of microorganisms. The aim is to prevent the adhesion of organic impurities to the treated substrate as well as to eliminate the undesirable effects associated with other paints and coatings. The achieved results are compared with commercially available product Balclean. This study introduces a colloidal coating suspension based on ZnO photocatalyst with Ag additive. After drying, the coating forms a transparent film on the surface of the treated substrate that efficiently kills bacteria and algae. The photocatalytic efficiency was assessed via methylene blue decomposition according to ISO 10678:2010. The microbicidal effects have been proven during antibacterial activity (*Escherichia coli*) tests according to ISO 27447:2019 and antialgal activity (*Chlorella vulgaris*, *Interfilum terricola*, *Klebsormidium flaccidum*) tests via PAM fluorimetry measurements. Moreover, the final coating was applied to several objects in the Czech Republic as well as abroad; up to date these places have been monitored and no negative effects were observed.

Key words: Photocatalytic phenomenon, photoactive self-cleaning coatings, antimicrobial effect, nanoparticles, titanium oxide, zinc oxide, silver

Obsah

1	Úvod	12
2	Teoretická část	16
2.1	Fotokatalytický jev	16
2.1.1	Mechanismus fotokatalýzy	17
2.1.2	Vybrané materiály s fotokatalytickým účinkem	22
2.2	Příprava nanočásticových fotokatalyzátorů	25
2.2.1	Stabilita nanočásticových disperzí	26
2.2.2	Funkcionalizace nanočástic	28
2.3	Současné fotokatalytické nátěry na trhu	29
2.4	Metody hodnocení fotokatalytické účinnosti	31
2.4.1	Rozklad barviv	32
2.4.2	Rozklad dalších polutantů vody	36
2.4.3	Rozklad vzdušných polutantů	37
2.5	Antimikrobiální jev	38
2.5.1	Mikroorganismy kolonizující urbanistické prvky	42
2.5.2	Fotokatalytická sterilizace	46
2.6	Metody hodnocení antimikrobiální účinnosti	47
2.6.1	Hodnocení antibakteriální účinnosti	48
2.6.2	Hodnocení antialgální účinnosti	50
2.6.3	Hodnocení antifungální účinnosti	51
2.6.4	Hodnocení antivirální účinnosti	51
3	Experimentální část	52
3.1	Použité chemikálie	52
3.2	Použitá zařízení	53
3.3	Příprava fotokatalyticky aktivních suspenzí	54
3.4	Příprava koloidních částic stříbra	54
3.4.1	Redukce citronanem sodným	54
3.4.2	Redukce chelatonem III	54

3.4.3	Fotoredukce	55
3.5	Hodnocení fotokatalytické aktivity rozkladem MM	55
3.6	Hodnocení antialgální účinnosti	57
3.7	Hodnocení antibakteriální účinnosti	59
3.8	Aplikace připravených suspenzí	61
4	Výsledky a diskuze	62
4.1	Příprava fotokatalyticky aktivních suspenzí	62
4.1.1	Aditivace stříbrem	66
4.1.2	Aditivace pojidlem	68
4.2	Hodnocení fotokatalytické účinnosti rozkladem MM	70
4.3	Hodnocení antimikrobiální účinnosti	77
4.3.1	Hodnocení antialgální účinnosti	77
4.3.2	Hodnocení antibakteriální účinnosti	81
4.4	Hodnocení vlivu aplikace nátěru na vzhled substrátu	85
4.4.1	Volba podkladové penetrační vrstvy	85
4.4.1	Depozice připravené suspenze na fasádní omítky	87
5	Závěr	90
6	Seznam literatury	92
7	Příloha A	103
8	Příloha B – Grafy fotokatalytické degradace MM	106
9	Příloha C – Grafy antimikrobiální účinnosti	107

Seznam zkratk a symbolů

APTES	(3-aminopropyl)triethoxysilan
AV7	Acid Violet 7 (fialové barvivo)
BLB	označení UV fluorescenční zářivky z modrého skla absorbujících viditelné záření – “BlackLight Blue”
CVD	chemická depozice z plynné fáze – "Chemical Vapour Deposition"
DLS	dynamický rozptyl světla
DMSO	dimethylsulfoxid
e-	elektron
EC	<i>Escherichia coli</i> (G- bakterie).
EDS	energieově disperzní spektroskopie
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací – "Fourier Transform InfraRed (spectroscopy)"
FTK	fotokatalyzátor
h+	elektronová díra (ve valenčním pásu po excitovaném elektronu)
chAg	nanočástice stříbra stabilizované Chelatonem III
ISO	Mezinárodní organizace pro tvorbu norem “International Organization for Standardization”
KMS	kyselina metansulfonová
KTJ	jednotky tvořící kolonie (angl.. CFU = Colony Forming Units)
LMM	leuko-methylenová modř (redukovaná forma MM)
LSPR	lokalizovaná povrchová plasmonová rezonance – "Localized Surface Plasmon Resonance"
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MM	methylenová modř (barvivo)
NA	nukleová kyselina (DNA/RNA – deoxy/ribonukleová kys.) – "Nucleic Acid"

NADH	nikotinamidadeninukleotid hydrát
NP	nanočástice – “NanoParticles”
PAM	pulzně amplitudová modulace – "Pulse Amplitude Modulation"
PCA	Plate Count Agar (živný agar pro stanovení celkového počtu mikroorg.)
PIH	fotoindukovaný hydrofilní (efekt) – "photo-induced hydrophilic"
PS	polystyren
PVD	fyzikální depozice z plynné fáze – "Physical Vapour Deposition"
ROS	reaktivní formy kyslíku – "Reactive Oxygen Species"
Rz	Resazurin
Rf	Resorufin
SA	<i>Staphylococcus aureus</i> , česky též zlatý stafylokok (G+ bakterie)
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
TK	testovací komora
TOC	celkový organický uhlík – “Total Organic Carbon”
UV	ultrafialové (elektromagnetické záření) – “Ultra Violet”
UZ	ultrazvukový
VIS	viditelné (elmg. záření) – “VISible”

1 Úvod

Každodenním vystavováním přírodním vlivům podpořeným vedlejšími účinky činnosti člověka dochází k znečišťování a poškozování veškerých venkovních objektů. Fasády obytných domů, stěny historických památek, moderní budovy ale i venkovní umělecká díla (např. sochy, památníky) jsou především na stinných místech terčem pro růst mikroorganismů (bakterie, plísně, řasy). Kolonizace mikroby je podpořena klimatickými podmínkami, z nichž má největší vliv vlhkost, dále struktura (drsnost) a složení osidlovaného substrátu, pH, sluneční záření a teplota.



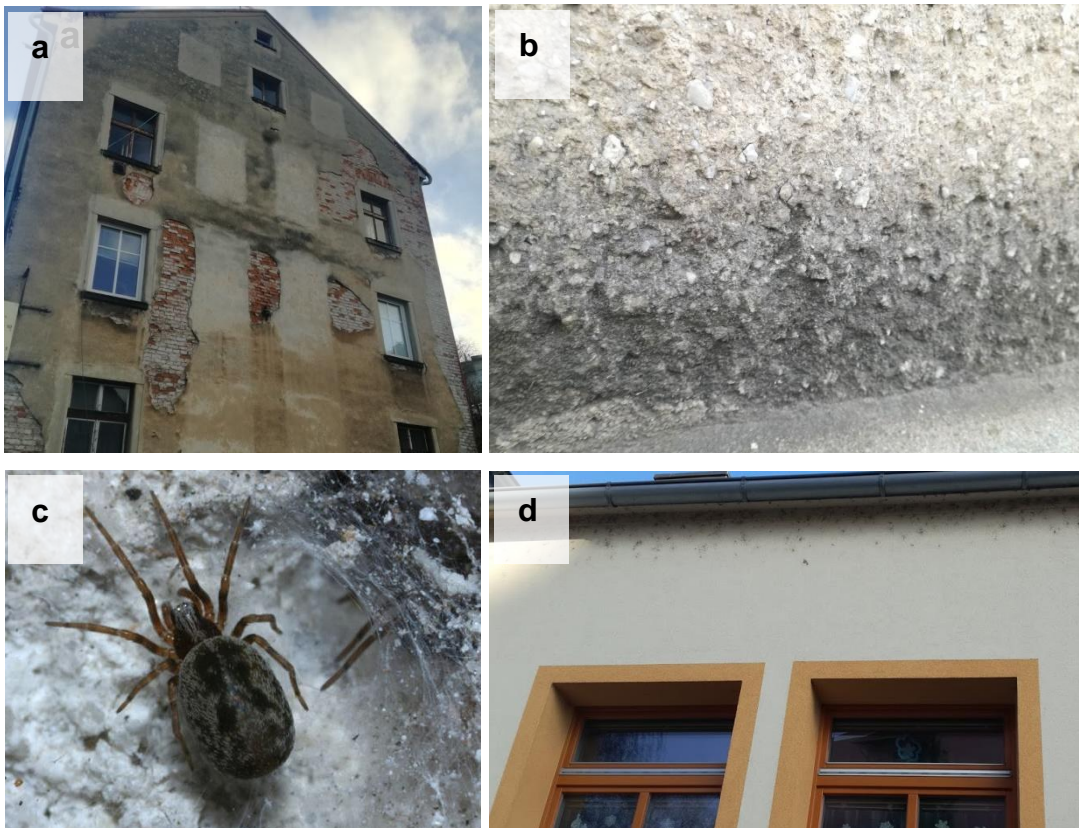
Obrázek 1: Ukázky napadení náchylných částí fasád řasami. Budovy v Liberci.

Vznik zelených (Obrázek 1), černých (Obrázek 2), šedých či hnědých a vzácněji i oranžových povlaků, není jenom estetickou záležitostí, kterou vnímá člověk nejvíce. Napadení materiálu mikroorganismy přispívá také k jeho degradaci (prorůstání do struktury, tvorba biofilmu, produkované látky). V neposlední řadě se části či produkty mikrobiologického znečištění mohou uvolňovat do ovzduší a způsobovat infekční onemocnění člověka, alergické reakce, respirační problémy či mykózy (kožní, v horším případě i systémové).

Biologickým znečištěním nemusí být pouze mikroorganismy, ale i někteří živočichové jako například drobní pavouci (Obrázek 2c). Na fasádách budov vytváří systémy pavučin, které zachytávají prach a nečistoty ze vzduchu a způsobují tak neestetické černé skvrny připomínající plíseň (Obrázek 2d). Současně na budovách může ulpívat mrtvý hmyz, jeho části a výkaly či výkaly ptactva.

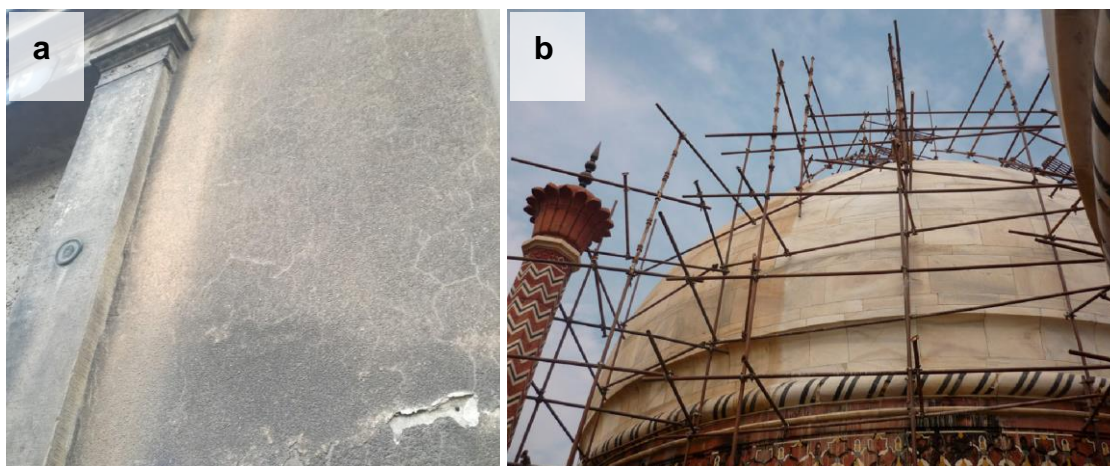
Dalším problémem (především ve větších městech) je znečištění ovzduší způsobené z velké části dopravou (zplodiny spalovacích motorů), průmyslem a vířením prachu.

Na Obrázku 3a je patrné, že pevné částice lépe ulpívají v hrubé struktuře fasád. Jedním současným příkladem problematiky znečištění ovzduší a jeho dopadu na architekturu je žloutnutí či hnědnutí významné kulturní památky Tádž Mahal (Obr. 3b), která je postavena z mramoru. V nažloutlém povlaku byla především zjištěna přítomnost částic prachu a černého (čistý) případně organického (součástí org. látek) uhlíku z nedokonalého spalování fosilních paliv či biomasy. Tyto částice ovlivňují absorpci světla a tím výsledný odstín stavby [1].



Obrázek 2: (a) Starší stavba s chátrající fasádou napadenou plísní. (b) Uchycení mikroorganismů v blízkosti římsy stavby, kde se drží vlhkost. (c) Cedivečka zápřední osidlující fasádu domu. Převzato z literatury [2]. (d) Neestetické pavučiny na budově v centru Písku.

V současné době jsou na trhu dostupné technologie takzvaných samočisticích nátěrových hmot, které poskytují ochranu obytných budov, památek, uměleckých děl a celkově všech produktů urbanismu před venkovním znečištěním a degradací materiálu. Snižují v ideálním případě náklady na údržbu, přispívají k čištění okolního ovzduší a redukují zdravotní rizika. Tyto nátěry fungují na principu tzv. fotokatalytického jevu, přičemž dochází k rozkladu většiny organických látek za účasti slunečního záření, především ultrafialové (UV) části spektra.



Obrázek 3: (a) Zanesená fasáda domu ve velmi frekventované ulici blízko centra Liberce. (b) Tádž Mahal při údržbě - vlevo nažloutlá barva způsobená znečištěním, vpravo vyčištěná plocha původní barvy. Převzato z literatury [1].

Ideální fotokatalyticky aktivní nátěr by měl mít vlastnosti antibakteriální (baktericidní) – zamezení úchytu a množení bakterií, antialgální (algicidní) – hubení/rozklad řas a antifungální (fungicidní) – účinek proti plísním a kvasinkám. Dále by měl zamezit ulpívání prachu, zplodin a produktů vyšších organismů – pavučin, výkalů apod. Také by měl být schopen čistit ovzduší zachycením a rozložením toxických látek, výfukových plynů, kouře a pomáhat dezodorizaci vzduchu. Ovšem ideální nátěr, který by fungoval se 100% účinností, neexistuje a současné produkty často trpí mnoha nedostatky (viz Kapitola 2.4). Většina z těchto komerčních nátěrů vykazujících samočisticí vlastnosti obsahuje nanočástice fotokatalyzátoru TiO_2 .

Cílem této práce je vytvoření vhodné fotokatalyticky aktivní nátěrové suspenze, která by sloužila jako samostatná vrchní vrstva k venkovnímu ošetření již natřeného objektu. Požadavky na takovou suspenzi jsou náročnější než u běžných fotokatalyticky aktivních barev, neboť zde hraje významnou roli transparentnost a to především v případě tmavých fasád (běžně používané TiO_2 či ZnO fotokatalyzátory mají též uplatnění jako bílý pigment). Předmětem práce je studium přípravy vybraných typů nanočásticových suspenzí a jejich aditivace stříbrem, které by mělo podpořit fotokatalytickou aktivitu polovodiče a antimikrobiální účinek i v situacích, kdy je přísun světla omezený. Nedostatečnou intenzitu záření zaznamenáváme především v případě tmavých, stíněných, vlhkých míst či přes noc, kdy k osvětlení fasády nedochází. Právě taková místa jsou zpravidla nejvíce napadena nežádoucími mikroorganismy. Dalším důležitým aditivem je pojivo zajišťující udržení nanočástic na substrátu a zabraňující jejich uvolňování do prostředí (například vymývání deštěm) především bezprostředně po aplikaci, než pevně

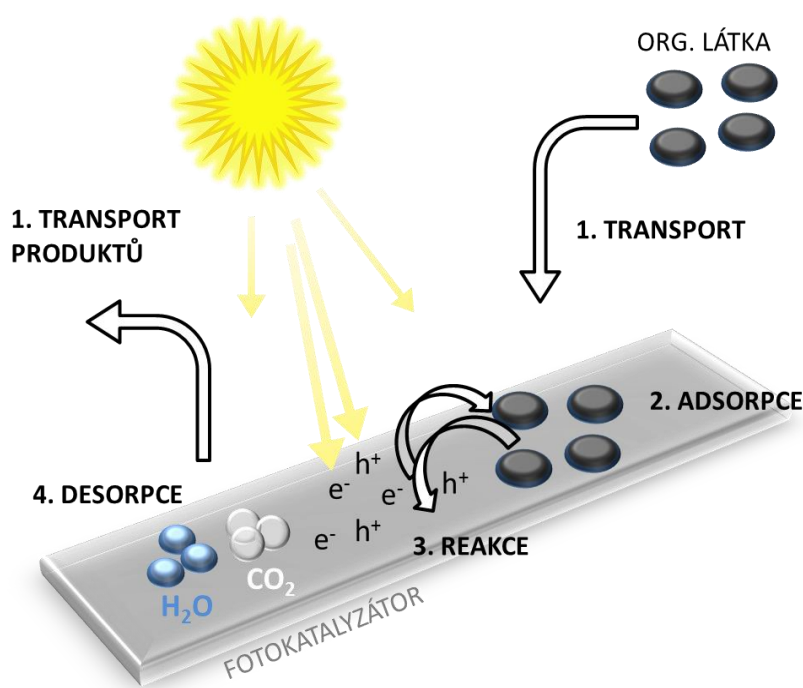
částice přilnou k substrátu. Zvažována je především odolnost natřené suspenze na úkor efektivity fotokatalýzy, jelikož přídavek pojiva znamená současně částečné zneprístupnění částic pro UV záření (stínění) a zmenšení stykové plochy, kde může docházet k přímému kontaktu nečistoty s fotokatalyzátorem v UV foto reaktoru (osvitovém boxu/komoře). Fotokatalytická aktivita je testována degradací methylenové modři podle normy ISO 10678:2010. Vybrané suspenze s nejlepší efektivitou jsou též testovány na baktericidní aktivitu dle ISO 27447:2019 nasazením kultur bakteriálního kmene 7929 *Escherichia coli* na vrstvu nátěru a počítáním životaschopných kolonií. Testy algicidní účinnosti připravených nátěrových suspenzí jsou prováděny s řasovými kmeny J201 *Interfilum terricola*, J302 *Klebsormidium flaccidum* a H1955 *Chlorella vulgaris*.

V práci je též zahrnuta studie předúpravy fasády před samotným nanesením připravené suspenze (čištění omítky) a vhodný způsob impregnace. Současně je zkoumán vliv způsobu nanášení na celkovou estetičnost finálního nátěru. Pozornost je též věnována stabilitě přípravku a návrh formy dodávání.

2 Teoretická část

2.1 Fotokatalytický jev

Fotokatalýza je děj, při kterém dochází k chemickým reakcím látek vlivem elektromagnetického záření z ultrafialové (UV), viditelné (VIS), nebo infračervené (IR) oblasti spektra za přítomnosti fotokatalyzátoru (FTK) – látky, která děj zprostředkovává či urychluje, ale v jeho průběhu se nemění [3]. Jedná se o využití energie záření k mineralizaci a oxidaci řady látek. Tyto reakce jsou obecně označovány jako fotochemický proces. Většina organických sloučenin je tímto oxidačně-redukčním (redoxním) dějem přeměněna až na oxid uhličitý a vodu. Fotokatalytické reakce jsou reakcemi heterogenními, neboť k nim dochází na fázovém rozhraní mezi pevným katalyzátorem a tekutým prostředím. Fotokatalytického jevu se v současnosti využívá především k eliminaci polutantů (chemických i biologických) ze vzduchu a k čištění vody. Na počátku studia fotokatalýzy stojí Fujishima a Honda (1972) [4] s experimentem elektrochemické fotolýzy vody, ve kterém dokázali, že použitím polovodičové elektrody (z TiO_2) dochází při osvětlení k rozkladu vody na plynné složky.



Obrázek 4: Schéma zobrazující základní kroky procesu fotokatalýzy. Vytvořeno podle literatury [5].

Fotokatalyzátor zprostředkovává vznik velmi reaktivních molekul (radikálů) zodpovědných za rozklad uhlovodíků v bezprostřední blízkosti (viz podkapitola 2.1.1). Fotokata-

lytický děj lze popsat pěti základními kroky [5] zobrazenými na schématu výše (Obrázek 4). Fotokatalyticky aktivní (fotoaktivní) pevný materiál se společně s organickými látkami nachází v tekutém prostředí (kapalném či plynném). Nejprve molekuly cílové látky migrují prostředím k povrchu fotokatalyzátoru, kde dochází k jejich adsorpci. Na povrchu fotoaktivního materiálu dojde po aktivaci dopadajícím zářením (o určité frekvenci) k migraci náboje a řadě redoxních reakcí. Výsledné produkty jsou desorbovány a transportovány zpět do prostředí.

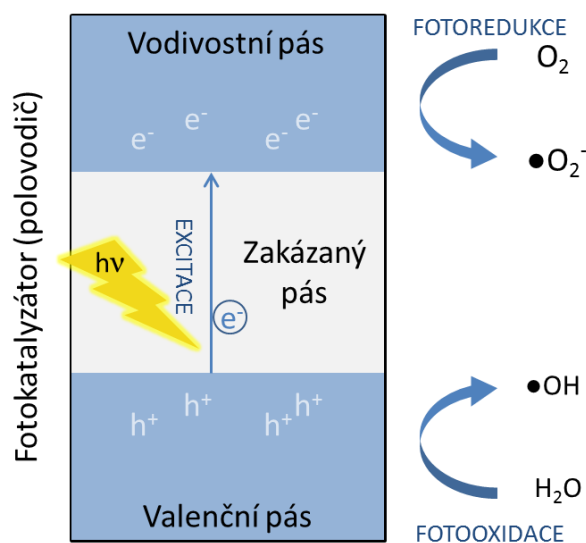
Fotokatalytický jev se často označuje jako ekologický ve smyslu aplikace v čištění životního prostředí či urbanistických objektů. Důvodem je použití jedné látky bez přídavku rozpouštědel (oproti chemickému čištění), která navíc není nijak přeměněna chemickým procesem na toxické produkty ani by se neměla do prostředí uvolňovat. Zároveň se zde využívá kyslíku neomezeně dostupného z prostředí, neupravovaných okolních podmínek (běžné teploty a tlaku) a slunečního záření (kromě interiérových aplikací), což proces dělá též ekonomičtější.

2.1.1 Mechanismus fotokatalýzy

Princip fotokatalýzy spočívá v absorpci fotonů o určité energii materiálem, který je schopen využít energii k vybuzení elektronů ze základního stavu za vzniku páru elektron-díra (přičemž nedochází k jejich bezprostřední úplné rekombinaci). Vybuzeného stavu se dále využívá ke spuštění řetězu redoxních reakcí při povrchu. Fotokatalytickým materiálem jsou typicky polovodiče. Z pásové struktury tuhých látek je známo, že polovodiče mají na rozdíl od vodičů (pásový dotyk či překryv) mezi valenčním a vodivostním pásem určitý rozsah nepřípustných energií zvanou zakázaný pás, kterou mohou elektrony z valenčního pásu překonat dodáním dostatečné energie (například z elmg. záření). U izolantů je šířka zakázaného pásu představující potenciální energii natolik velká, že k přeskoku elektronů téměř nedochází. Různé polovodiče mají rozdílnou šířku zakázaného pásu a pro každý druh je tedy nutné dodat jiné minimální množství energie. To je možné upravovat v případě fotokatalyzátorů nikoliv intenzitou, nýbrž frekvencí elektromagnetického záření (energie fotonu $E = h\nu$, kde h je Planckova konstanta a ν frekvence fotonu, případně $\lambda = c/\nu$ pro dopočet vlnové délky). Čím menší je zakázaný pás, tím se posouvá iniciační záření do nižších frekvencí (větších λ).

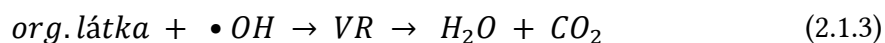
Princip aktivace polovodičového fotokatalyzátoru je znázorněn na Obrázku 5. Dopadem fotonů s minimální energií odpovídající šířce zakázaného pásu daného polovodiče dochází k excitaci elektronů (e^-) do vodivostního pásu a jejich následné difuzi k po-

vrchu, kde působí jako redukční činidla, zatímco v pásu valenčním vznikají po elektronech prázdná místa (tzv. díry) reprezentované kladným nábojem (h^+). Elektronové díry vykazují silnou afinitu k elektronům, a tedy fungují jako silná oxidační činidla.



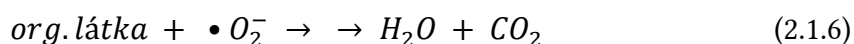
Obrázek 5: Princip fotokatalýzy zobrazený na schématu pásové struktury polovodiče. Vytvořeno podle literatury [5].

Na následujících rovnicích je ukázán mechanismus redoxních reakcí v běžném prostředí zemské atmosféry, kde se fotokatalýzy (společně s vodným prostředím) nejčastěji využívá. Osvitem generovaný pár (2.1.1) ihned reaguje s molekulami vody vzdušné vlhkosti a atmosférickým kyslíkem (ilustrováno na Obr. 5). Díry využívají svého oxidačního potenciálu k vytvoření hydroxylových radikálů (2.1.2) z adsorbované vody ze vzduchu. Hydroxylové radikály jsou oxidační činidla, která reagují s organickými sloučeninami za vzniku dalších volných radikálů (VR, R•). Ty také obsahují nepárové elektrony, čímž jsou vysoce nestabilní a existují pouze krátký čas. Mohou reagovat například s molekulárním kyslíkem (nese též nepárové e^-) za vzniku volných radikálů peroxidových (ROO•). Takto dochází k řetězové reakci za postupného oxidačního rozkladu vazeb uhlovodíků až na výsledný oxid uhličitý (2.1.3) plus příslušné minerální kyseliny [5, 6].



Organické sloučeniny (většinou snadněji oxidovatelné než voda) jsou též oxidovány děrami přímo za vzniku uhlovodíkových VR (2.1.4). Příkladem může být oxidace karboxylových kyselin RCOO⁻ za vzniku R• a CO₂ [7].

Současně probíhá reakce elektronů z vodivostního pásu se vzdušným kyslíkem, který se redukuje na superoxidový radikál (2.1.5). Superoxidový radikál přispívá k oxidačnímu procesu například tím, že reaguje s peroxidovými radikály a urychluje tak mineralizační proces organického polutantu (2.1.6). Ze superoxidového radikálu následnými reakcemi přes hydrogenperoxidový (perhydroxylový) radikál (HOO•) může vznikat peroxid vodíku H₂O₂ [8]. Kromě zmíněných reaktivních forem kyslíku, může při fotoreakcích vznikat též vysoce oxidující atomární kyslík, který napadá vazby typu uhlík-uhlík v organických molekulách [6]. Excitované elektrony mohou samozřejmě reagovat také s jinými akceptory, než je molekula kyslíku.

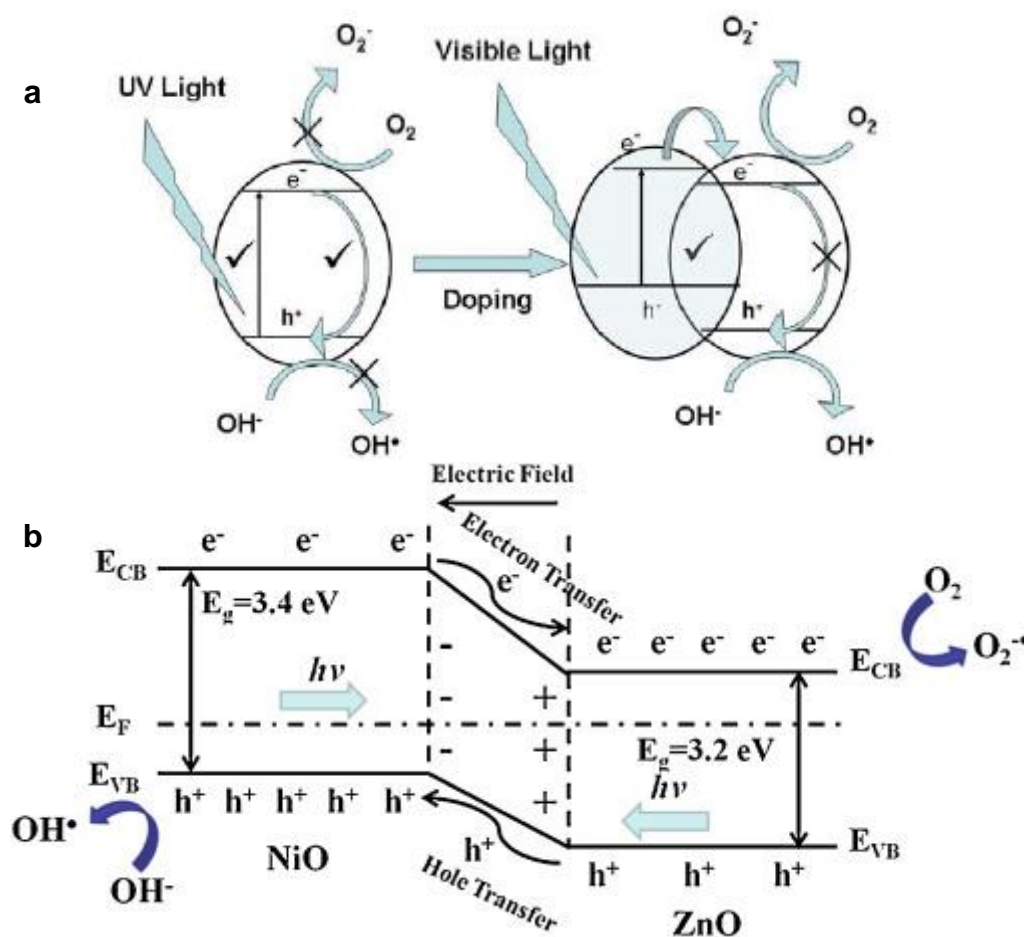


Vedle reakcí e⁻ a h⁺ s molekulami, dochází uvnitř polovodiče neustále částečně k rekombinaci páru za současného vyzařování energie v podobě tepla (vyjádřeno rovnicí (2.1.7)) v případě, kdy excitované elektrony či příslušné díry nestihnou difundovat na povrch polovodiče a reagovat. Rekombinace snižuje rychlost a tím účinnost fotokatalytického děje.

Fotokatalýza je poměrně komplexní chemický děj, při kterém dochází k mnoha reakcím ve velmi malých časových intervalech. Je těžké zkoumat přesný reakční mechanismus, neboť řada meziproductů existuje jen po krátký okamžik ve formě vysoce reaktivních radikálů, které se velmi obtížně izolují. V současné době již však existuje několik studií dokládajících podrobný popis reakčního mechanismu fotokatalytické degradace některých látek včetně vznikajících radikálů. J-M Herman [9] ve své práci uvádí například oxidaci formaldehydu a kyseliny šťavelové na vodu a oxid uhličitý. Fotokatalytická degradace látek závisí především na typu katalyzátoru, způsobu jeho přípravy a aditivách, dále je ovlivněna také charakterem polutantu a jeho koncentrací, hodnotou pH, intenzitou světla, a dalšími podmínkami. Redoxní reakce mezi fotokatalyzátorem a adsorbovanou látkou jsou řízeny energetickými hladinami vodivostního a valenčního pásu polovodiče a redoxními potenciály molekul polutantu.

Hybridní fotokatalyzátory

Problematika rekombinace může být mírněna dopováním fotokatalyzátoru kovy, nekovy či kombinací polovodičů s různou pásovou strukturou, které si generované e^- a h^+ výhodně předávají (viz Obr. 6). Často popisované dopování za účelem posunu energetických hladin zahrnuje prvky N, C a S. Některé kovy jako Ag, Au, Pt, Pd nebo Sn vytváří po přidavku do polovodiče na rozhraní tzv. Shottkyho bariéru. Ta zajišťuje posun Fermiho hladiny polovodiče či kovu a upravení pásové struktury tak, že dojde k předání části elektronů, vzniku elektrického pole, a tím potlačení rekombinace s děrami (viz Obrázek 8). Fermiho hladina (E_F) je hypotetická energetická hladina stavu, který má 50% pravděpodobnost být zaplněn elektronem (jedná se o termodynamickou veličinu). Kov zde působí jako chemický katalyzátor [6]. Obdobně může být využit p-n polovodičový přechod (spojení dvou různě dopovaných polovodičů) k redukci rekombinace fotolyticky vybuzeného páru [5].



Obrázek 6: (a) Schéma funkce dopování fotokatalyzátoru jiným FTK. Vlevo samotný polovodič, vpravo ko-dopované polovodiče. Převzato z literatury [10]. (b) Princip přenosu elektronů a děr ve spojení polovodičů p-NiO/n-ZnO. Převzato z literatury [11].

Dopování může kromě potlačení rekombinace pomáhat současně zvýšení efektivity fotokatalytických reakcí ve smyslu využití širšího spektra slunečního záření (více než jen UV složku). Například přídavek přechodného kovu (Cu, Fe, Cr apod.) může posunout hodnotu energie potřebné k aktivaci fotokatalyzátoru zářením z UV do viditelného spektra. Ultrafialová složka činí pouze nižší jednotky procent slunečního elektromagnetického záření (není plně využit foto-aktivační potenciál) a navíc celá UV-C a část UV-B složky slunečního spektra je absorbována atmosférou před dopadem na Zemský povrch [12].

V případě fotochemických reakcí se též uplatňuje u nanočástic některých kovů (Au, Ag) jev zvaný lokalizovaná povrchová plasmonová resonance (LSPR) – resonance vodivostních elektronů kolektivně oscilujících na povrchu vodiče s frekvencí dopadajících fotonů. Pomocí dopování kovem s LSPR se dokáže na povrchu fotokatalyzátoru při přisunu fotonů koncentrovat elektromagnetická pole dostatečně silná na iniciaci fotochemické reakce, které by v daném případě samotné fotony světelného záření nebyly schopny [5].

Jiným způsobem zvýšení účinnosti fotokatalytického jevu, který je také předmětem mnoha výzkumů [8, 13], je navýšení koncentrace polutantu na povrchu katalyzátoru přidávkem vhodného sorbentu (např. SiO_2 , Al_2O_3 , aktivní uhlí, zeolity apod.).

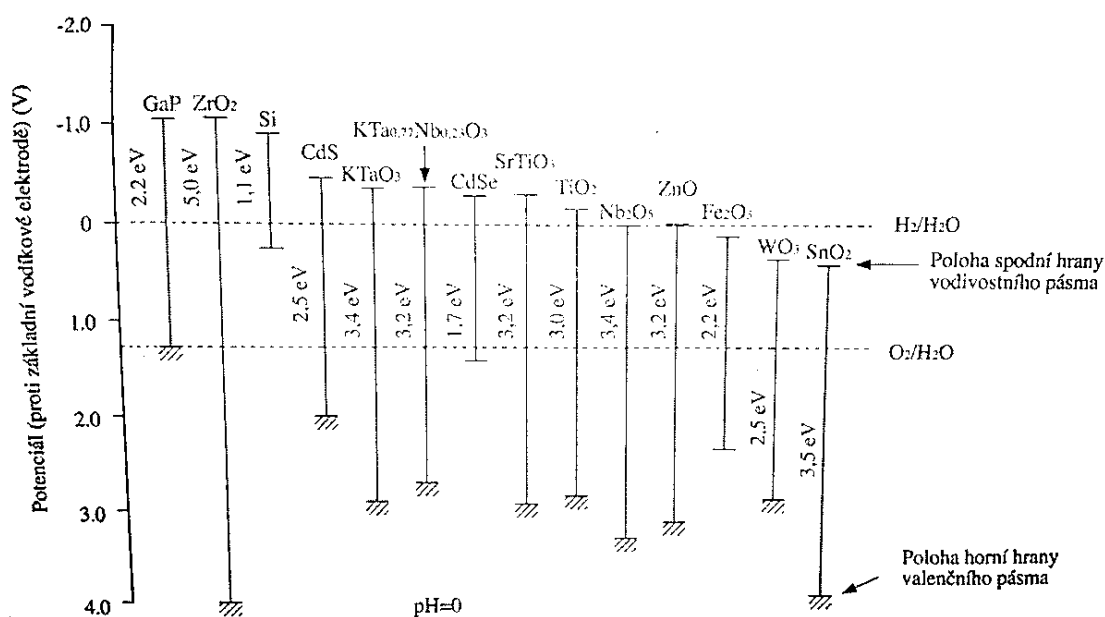
Teoreticky lze k využití viditelného spektra pouze vybrat polovodič s vhodnou šířkou zakázaného pásu odpovídající energii VIS spektra, ovšem tato energie se směrem od UV snižuje, a s ní se snižuje i šířka zakázaného pásu. Použitím polovodiče s nízkým zakázaným pásem se opět zvyšuje četnost a rychlost rekombinace (menší energie k přeskočce) páru elektron-díra [6]. Efekt zvýšení účinnosti fotokatalytické mineralizace látek je docílen vhodným použitím výše zmíněných způsobů a jejich (často složitými) kombinacemi za vzniku hybridního fotokatalytického materiálu.

Aby došlo k co největšímu využití generovaného elektron-děrového páru a tím i vyšší účinnosti fotokatalyzátoru, je potřeba elektrony a díry v co největším měřítku a co nejrychleji dostat na povrch polovodiče, kde mohou reagovat s adsorbovanými látkami. Ze zmíněného vyplývá, že čím menší částice (větší specifický povrch) bude mít fotokatalyzátor, tím lépe bude schopen redoxních reakcí s různými molekulami. Nejvhodnější formou pro efektivní fotokatalýzu se nabízejí koloidní roztoky s obsahem polovodiče ve formě rozptýlených nanočástic. Koloidy se ovšem špatně recyklují po použití a mají omezené využití (čištění roztoků org. látek). Pro potřeby ochranných samočistících

nátěrů se dá koloidů využít pouze v předaplikační fázi, po nanesení na substrát však ztrácejí nanočástice část specifického povrchu, a tím mírně klesá výsledná účinnost.

2.1.2 Vybrané materiály s fotokatalytickým účinkem

Studii založených na hledání alternativ fotokatalyzátorů s vyšší aktivitou, nižší toxicitou, či FTK maximálně využívajících sluneční energii neustále přibývá, a s nimi roste i množství vyvinutých materiálů pro různé fotokatalytické účely. Sudha a Sivakumar ve svém review [10] shrnují například studie zabývající se FTK na bázi CdS, WO₃ a SnS. Vedle sulfidů a oxidů je mnoho dalších, často velmi komplexních, hybridních materiálů zmíněno v rozsáhlém review [5] z roku 2017. Mezi tyto materiály patří FTK založené na halogenidech, některých solích kyslíkatých kyselin mnoha prvků (halogenidy, W, V, Bi, Nb, P, Y, In, Cd,...) kombinovaných mezi sebou nebo s dopanty kovů (Fe, Cr, Cu, Co, Mn, Mo, Ru, Nb, VAg, Au, Sn, Pt, Pd,...), nekovů (C, S, P, N,...), derivátů grafenu, uhlíkových nanotrubiček a mnoha dalších látek. Mezi zatím studovanými materiály byly objeveny i polovodiče jako je polymerní C₃N₄, které mohou absorbovat ve viditelném světle bez dopování [14].



Obrázek 7: Porovnání energetických hladin pásové struktury některých polovodičů. Hodnoty získány z fotoelektrolytického rozkladu vody. Převzato z literatury [6].

Výroba těchto materiálů je však z časového, ekonomického, nebo ekologického hlediska (mnoho vedlejších chemických látek) často velmi náročná. Některé z polovodičů mají pro danou aplikaci zase nevhodnou šířku zakázaného pásu. Výhodná je pozice zakázaného pásu tak, aby obsáhla hodnoty redoxních potenciálů k oxidaci vody a re-

dukci kyslíku. Na Obrázku 7 je uveden příklad několika polovodičů s vyobrazeným umístěním zakázaného pásu vzhledem ke standardní vodíkové elektrodě při fotoelektrolýze vody. Velkou skupinou testovaných polovodičů jsou sulfidy a oxidy. Oxidy kovů mají tu výhodu, že se mohou při kontaktu s vodou za současného osvětlení při povrchu částečně hydrolyzovat za formace hydroxidového obalu. Hydroxylové skupiny zapříčiňují snížení kontaktního úhlu při smáčení vodou, což lze obecně nazvat jako fotoindukovaný hydrofilní (PIH) efekt, kterého se využívá při samočisticích a protizamrzovacích aplikacích [15].

Oxid titaničitý

Jednoznačně dominantním a nejlépe prostudovaným polovodičem v oblasti fotokatalýzy je díky svým výhodným vlastnostem oxid titaničitý. Jedná se o materiál termodynamicky, biologicky a fotolyticky stabilní, který má nízkou toxicitu (u nanočástic se však těžko posuzuje) a je cenově dostupný pro široké využití. Lze ho díky své inertnosti zařadit mezi biokompatibilní materiály. V přírodě existují tři krystalové modifikace této sloučeniny: *anatas* (čtverečná/tetragonální krystalová struktura), *rutil* (čtverečná/tetragonální) a *brookit* (kosočtverečná/ortorombická). Detailní studii krystalických fází společně s historií vývoje TiO_2 jako FTK., jeho dalších vlastností a detailní popis mechanismů fotokatalýzy uvádí například Fujishima a kol. [15]. Nejběžnější formou TiO_2 v objemném materiálu je rutil (vysokoteplotní modifikace). Oxid titaničitý se v rutilové formě běžně používá jako bílý pigment (titanová běloba) v řadě kosmetických výrobků (opalovací krémy, zubní pasty), nátěrových barvách, ale též v potravinářství (mléčné výrobky, sladkosti – E171). Brookit je poměrně vzácná modifikace TiO_2 přítomná pouze v minerálech.

V případě syntézy nanočástic TiO_2 , je výslednou krystalovou formou nejčastěji anatas (případně obsahuje podíl rutilu), který disponuje nejvyšší fotokatalytickou aktivitou a je stabilnější při nižších teplotách než rutil [8]. Šířka zakázaného pásu pro anatas činí $E_g = 3,2$ eV, (rutil 3,02 eV). Energie potřebná k excitaci páru $e^- h^+$ musí být tedy vyšší než tato hodnota a tomu odpovídá energie fotonů UV-A záření (minimální vlnová délka pro anatas je 388 nm). Oxidační potenciál děr TiO_2 je větší než redukční potenciál elektronů [6].

Z komerčně dostupných typů fotokatalytického TiO_2 se nejčastěji používá jako standard AEROXIDE® TiO_2 P 25 od firmy Evonik (dříve Degussa), který obsahuje určitý

poměr rutilu a anatasu (udávaný poměr se liší, 30% a 70%[6], 20% a 80%[13] nebo 15% a 85%[16]) ve formě nanoprášku. Oxid v tomto výrobku není povrchově upravován.

Často diskutovaným hybridním fotokatalyzátorem je například $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$. Dopovaný oxid křemičitý by měl sloužit zároveň jako adsorbent polutantů přispívající k rychlejší degradaci [8] a inhibitor tepelné transformace anatasu v rutil. Tento hybridní materiál vykazuje zvýšený PIH efekt [17] a na jeho bázi je postavena i komerční samočisticí nátěrová hmota Balclean [18]. Obohacení TiO_2 vzácnými kovy Ag či Cu má signifikantní vliv na zvýšení pasivních (bez fotoaktivace) baktericidních účinků, které samotný oxid nevykazuje příliš vysoké. Předmětem studií o rozšiřování spektrální odezvy TiO_2 do viditelné oblasti je velmi často substituční dopování nekovovými prvky, především N, ale též S, C, případně B, P či F, které částečně nahrazují kyslíky ve struktuře anatasu [15, 19] Populárními C dopanty jsou mimo jiné uhlíkové trubičky či grafen. Z ekologického hlediska jsou velmi lákavé materiály získané tzv. "zelenou cestou" z biomasy, jako je tomu například u aktivního uhlí z kokosové skořápky [13].

Oxid zinečnatý

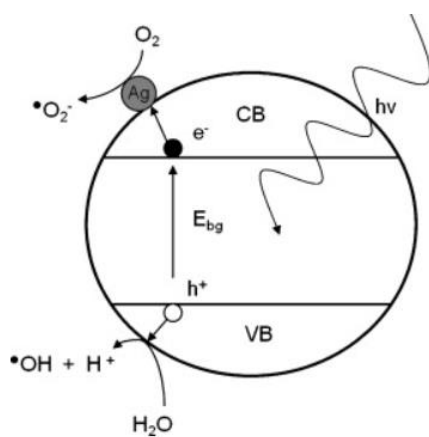
ZnO je bílý prášek, nerozpustný ve vodě, krystalizuje v šesterečné/hexagonální struktuře a dá se získávat z přírodního nerostu zinkit. Tvoří též důležitou součást průmyslu, především sklářského, keramického, plastařského a gumárenského. Bílý pigment (zinková běloba) se obdobně jako titanová běloba využívá v malířství. Oxid zinečnatý se též hojně využívá v polovodičové elektronice jako polovodič typu *n*.

Velikost zakázaného pásu u tohoto polovodiče je srovnatelná s TiO_2 a činí cca 3,2 eV (viz Obr. 7). Oxid zinečnatý ve formě nanočástic vykazuje díky přítomnosti zinku do jisté míry biocidní účinek (viz Kapitola 2.5) i bez využití fotokatalytického jevu [20]. Dopování oxidu zinku za účelem zvýšení fotokatalytické účinnosti bylo studováno s obdobnými prvky a látkami jako v případě TiO_2 .

Hybridní oxidy s přidavkem stříbra (TiO_2/Ag a ZnO/Ag)

Jak již bylo zmíněno, stříbro jakožto ušlechtilý kov disponuje mimo jiné výbornou tepelnou a elektrickou vodivostí. Jak je zobrazeno na Obrázku 8 a popsáno v předchozí části práce, může sloužit jako prostředek záchytu elektronů na rozhraní kov–polovodič (Schottkyho bariéra) a eliminovat rekombinaci. Přídavek nanočástic stříbra má navíc za následek nejen zvýšení absorpce ve viditelné oblasti v důsledku LSPR, ale přispívá také ke zvýšení antimikrobiálních účinků (viz Kapitola 2.5) fotokatalyzátoru i v případě, kdy

není dodáváno záření. Stříbro je velmi známé pro svou antibakteriálnost a koloidní roztoky nanostříbra jsou komerčně dostupné jako dezinfekční prostředky v nespočtelných provedeních. Hybridní polovodiče typu TiO_2/Ag či ZnO/Ag mohou nalézt vhodné využití ve fotokatalytické sterilizaci nemocničních a sanitárních prostor [20]. Stříbro v hybridním (kompozitním) materiálu TiO_2/Ag může bránit tvorbě biofilmu na jinak biokompatibilním povrchu TiO_2 a v případě kompozitního ZnO/Ag se antimikrobiální efekt obou složek doplňuje, což může být výhodné především při dezinfekci prostor, kde se vyskytují i bakterie rezistentní vůči působení stříbra. ZnO/Ag podle Pathak a kol. [21] vykazuje též vyšší fungicidní účinek oproti nedopovanému oxidu.



Obrázek 8: Záchyt elektronu excitovaného (při ozáření) v polovodiči částici stříbra. Převezato z literatury [20].

Příliš vysoká koncentrace Ag dopantu však může způsobovat snížení fotoefektivity důsledkem zastínění fotokatalyzátoru, a proto je důležité vhodně nastavit poměr složek těchto hybridních fotokatalyzátorů. Funkce stříbra v kompozitním materiálu je závislá na osvětlení (při osvětlení Ag stabilizují elektrony z polovodiče, ve tmě oxiduje a uvolňuje stříbrné ionty), přičemž v obou případech má za následek zvýšení biocidní účinnosti. Často publikovanou formou materiálů TiO_2/Ag či ZnO/Ag jsou tenké vrstvy deponované pomocí fyzikální (PVD) či chemické depozice z plynné fáze (CVD) a především metodou dip-coating [22, 23]. Stříbro lze dopovat také přímo polovodičem katalyzovanou fotoredukcí, například z AgNO_3 (ionty stříbra jsou redukovány na kovové NP) [24].

2.2 Příprava nanočásticových fotokatalyzátorů

Jak již bylo zmíněno výše, vědeckých studií i připravených fotokatalytických polovodičových materiálů neustále přibývá. Některé z FTK (především na bázi TiO_2) jsou již běžně vyráběny pro průmysl. Mezi nejčastější způsoby přípravy FTK patří především

metoda sol-gel, jejímž produktem může být rovnoměrná tenká vrstva na nosiči (dip-coating, spin coating) obsahující nanočástice fotokatalyticky aktivního polovodiče. Takto připravené vrstvy lze aplikovat například při výrobě fotokatalytických dlaždiček, skla či podobných hladkých materiálů. Tenké vrstvy lze též připravit prostřednictvím PVD nebo CVD. Tento přístup je většinou velmi neekonomický, složitý přípravou vhodného prekurzoru a v praxi nátěrových hmot nepoužitelný. Prakticky využitelnějším způsobem je syntéza nanočástic ve formě prášku, který je následně míchán do různých aplikačních prostředků (nátěrové barvy). Z práškové formy lze však bez chemických úprav jen obtížně připravit stabilní nízko-viskózní suspenze. Práškovou formu lze dostat též metodou spalování prekurzorů za vysokých teplot (termický rozklad). Vhodnou metodou pro využití v průmyslu samočisticích nátěrů je příprava koloidů, ve kterých jsou nanočástice stabilizované a po depozici na substrát rovnoměrně distribuované.

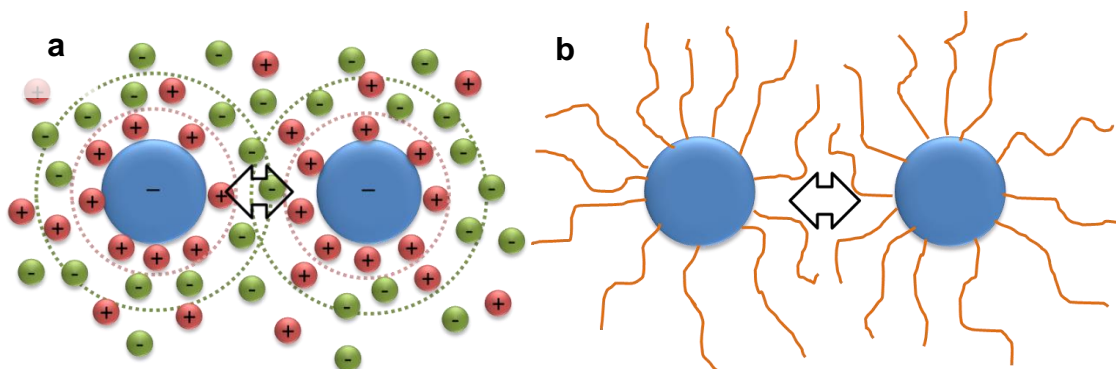
2.2.1 Stabilita nanočásticových disperzí

Nejprve je nutné definovat některé pojmy týkající se fyzikální chemie koloidních soustav. Disperzní soustavy obecně jsou tvořeny disperzním prostředím a disperzním podílem (rozptýlené částice). Disperze se rozdělují na jednosložkové, které jsou nestabilní (vznikají výjimečně, například mokrá pára) a vícesložkové, které se dále dělí na homogenní (roztoky, emulze) a heterogenní (suspenze, aerosol, gel, pěna) v závislosti na fázi disperzního podílu a prostředí. Další rozdělení těchto systémů pak může být na základě velikosti částic. Roztoky, neboli analyticky disperzními systémy, se označují nízkomolekulární disperze o velikosti částic zhruba do 1 nanometru. Rozptýlené nanočástice (NP), tedy částice o velikosti cca 1-1000 nm, se označují jako koloidní (koloidně disperzní) systémy a větší částice tvoří systémy hrubě (mikro/makro) disperzní. Suspenze se řadí mezi hrubé disperze a představují systém částic pevné fáze v kapalném prostředí. Tato práce se zabývá konkrétně heterogenními koloidy pevných částic (kov, oxid kovu) v tekutém médiu (voda). Jelikož hranice mezi koloidními a hrubými disperzními soustavami není ostrá (není stanovena obecně platná přesná velikost částic), využívá se zde pro zkrácení též označení suspenze (ačkoli se jedná o částice menší, než bylo řečeno výše) [25].

Pojem suspenze nabývá na významu především z hlediska řešení stability soustavy. Jedním z nežádoucích jevů v oblasti heterogenních disperzních soustav je agregace částic. Pokud v disperzi není zajištěno vyrovnaní sil různého charakteru (elektrostatic-

ká interakce nábojů či dipólů, Pauliho repulze molekul či zachování entropie) dochází k agregaci částic ve větší celky (z koloidu se tedy stává skutečná suspenze). Vratná agregace (slabě vázané částice) se nazývá flokulace (vločkování), zatímco nevratná, kde jsou částice pevně vázané, se nazývá koagulace. Když koagulát dosáhne určité velikosti, dojde k jeho sedimentaci a zániku disperzního systému (oddělení fází).

Příprava koloidních systémů může probíhat postupy (obecně platnými u nanomateriálů) označovanými jako "bottom up" a "top down". První přístup představuje kondenzaci (spojování, syntézu) molekul za postupného růstu zárodku a druhý naopak dispergaci (rozbíjení) velkých částic na menší. V obou případech je však nutno zajistit stabilitu připraveného koloidu. Stabilizace koloidů (suspenzí) probíhá několika způsoby. Použitím elektrolytu jako disperzního prostředí (např. rozpuštění iontových sloučenin ve vodě) je zajištěna elektrostatická stabilizace (Obrázek 9a) částic elektrickou dvojrivrstvou vznikající na fázovém rozhraní částice-prostředí. Dalším způsobem je stérická stabilizace (viz. Obr. 9b) způsobená přidavkem látek (typicky polymerů), které jsou rozpustné v disperzním prostředí a zároveň se adsorbují (fyzisorpce či chemisorpce) na povrch částic, které obalí a brání jejich agregaci. Stabilizovat mohou i makromolekulární látky se slabou tendencí k adsorpci, takzvané disperzanty, které jsou volně v roztoku, separují částice a zamezují agregaci. V případě spojení elektrostatické a stérické stabilizace se využívá látek nesoucích náboj, které při vhodně nastavených podmínkách zajišťují repulzi podpořenou odpuzováním nábojů [25]. Běžně používané stabilizační povrchově aktivní látky (tenzidy) fungují na principu hydrofobní interakce ve vodných koloidech (hydrofobní část se koncentruje u povrchu částic, zatímco hydrofilní část, která může a nemusí nést náboj, směřuje do disperzního prostředí) a snižují povrchové napětí na fázovém rozhraní částic.



Obrázek 9: Způsoby stabilizace nanočástic. (a) Elektrostatická stabilizace. (b) Stérická stabilizace.

2.2.2 Funkcionalizace nanočástic

Stérická či elektrostérická stabilizace koloidů navázáním molekul (často tenzidů) na povrch dispergovaných nanočástic, může být označena jako povrchová modifikace či funkcionlizace (jedná o navázání, či výměnu funkčních skupin při povrchu NP). Obecně však funkcionlizace představuje komplexní proces tvorby často velmi složitých nanostruktur, které mají potenciál v různých vědních odvětvích (například tvorba senzorů, drug delivery systémů, prostředků čištění vody a mnoho dalších). Při syntéze nanočástic metodou "bottom up" lze jejich povrch funkcionlizovat bezprostředně po jejich tvorbě v roztoku (vodné i nevodné prostředí). Například volbou vhodného redukčního činidla lze nanočástice vyredukovat ze soli a zároveň je rovnou stabilizovat tím samým činidlem.

Stříbrné nanočástice

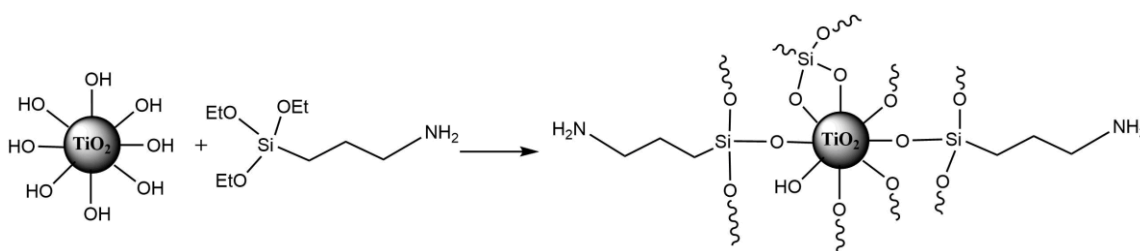
Nejčastěji popisovaný způsob přípravy nanočástic stříbra probíhá redukcí citrátem sodným [26], který působí současně jako redukční i stabilizační činidlo. Citrát se po vyredukování čistého stříbra a formace nanočástic naváže na povrch částice. Ke kovovému povrchu se váže pouze elektrostaticky, což má za následek menší stabilitu a je tudíž vhodné ho používat pouze jako přechodnou stabilizační molekulu. Obdobně (dvojí funkcí) působí kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) [27] případně její disodná sůl nesoucí triviální název chelaton III [26]. Dobrými stabilizačními ligandy v případě Ag NP a Au NP jsou například thioly (obecně organosírné sloučeniny). Atom síry vykazuje afinitu k těmto ušlechtilým kovům. Stříbrné nanočástice lze též stabilizovat některými polymery. Příkladem je polyvinylpyrrolidon nesoucí heterocyklus s atomem dusíku v monomerní jednotce [23].

Nanočástice oxidu titaničitého a zinečnatého

Typickou povrchovou modifikací řady nanomateriálů (především oxidů) je silanizace. Jedná se o tvorbu sítě oxidu křemičitého, která obaluje povrch nanočástice a brání jí před agregací s ostatními NP. Modifikovaný povrch vzniká opakovanou reakcí alkoxy-silanů s přístupnými skupinami –OH (případně –SH) na povrchu částice (v tomto případě TiO₂). Zároveň se může na částici zavádět jiná funkční skupina jako je například –NH₂ v případě reakce aminopropyltriethoxysilanu (APTES). Wei a kol. ve své práci [28] z roku 2018 využili zavedené aminoskupiny k další funkcionlizaci jiné sloučeniny vhodné k pevnému navázání TiO₂ na bavlněná vlákna. Grasset a kol. [29] zase studova-

li způsob funkcionalizace nanočástic oxidu zinečnatého pomocí APTES. Použili k tomu komerčně dostupné ZnO NP v práškové formě rozmíchané ve vodě zásadité, okyselené a v toluenu pod argonovou atmosférou s přidavkem APTES. Po vyžhání na 800°C bylo pozorováno, že nemodifikované částice vykazují značný nárůst velikosti zrna, kdežto modifikované nanočástice zůstávají po vypálení téměř nezměněné.

Stabilizace nanočástic oxidu zinečnatého i titaničitého může být docílena také navázáním různých polymerů, které by neměly ovlivňovat antimikrobiální účinnost. Často využívanými k tomuto účelu bývají polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, polyethylenglykol, nebo kyselina poliglikolická [30].



Obrázek 10: APTES funkcionalizace nanočástic TiO₂.

2.3 Současné fotokatalytické nátěry na trhu

Materiály využitelné pro fotokatalytické účely mohou mít různou formu. Dostupné fotokatalyzátory mohou být ve formě prášků, deponovaných vrstev (na sklo, textilie, keramické aj. substráty), kompozitních materiálů, či suspenzí. K čištění vody se mohou používat například kuličky z keramiky či jiných materiálů s inkorporovanými částicemi fotokatalyzátoru. Pro dezinfekci vnitřních prostor náchylných na kontaminaci mikroorganismy, jako jsou například nemocniční sály, toalety či koupelny (ve kterých navíc zvýšená vlhkost vytváří ideální prostředí), jsou vhodným materiálem fotokatalyticky aktivní kachličky, či opakovatelné nátěry ve formě interiérových barev. Pro venkovní účely se používají fotokatalyzátory buď již zakomponované ve fasádních barevných nátěrech nebo jako samostatné ochranné samočistící a biocidní transparentní nátěry ve formě suspenzí. Transparentní nátěr je možné využít k ochraně nejen fasád staveb, ale i architektonických prvků, památek a uměleckých děl z jiných materiálů [6].

Jednou ze zmíněných variant fotokatalyticky aktivních venkovních nátěrů jsou omítky s již přímo inkorporovanými (nano)částicemi polovodiče. Příkladem takového produktu je omítka označovaná jako "chytrá" od firmy Weber – weberpas extraClean active [31] či samočistící omítka NanoporTop od Baumit [32]. Podobné na trhu běžně

dostupné omítky, které jsou označovány jako fotokatalytické, vykazují často nedostačnou až neměřitelnou účinnost z důvodu nízkého obsahu částic, které jsou prakticky “utopené” v objemu omítkové hmoty a jen malé procento na povrchu je schopno vykazovat fotokatalytický jev.

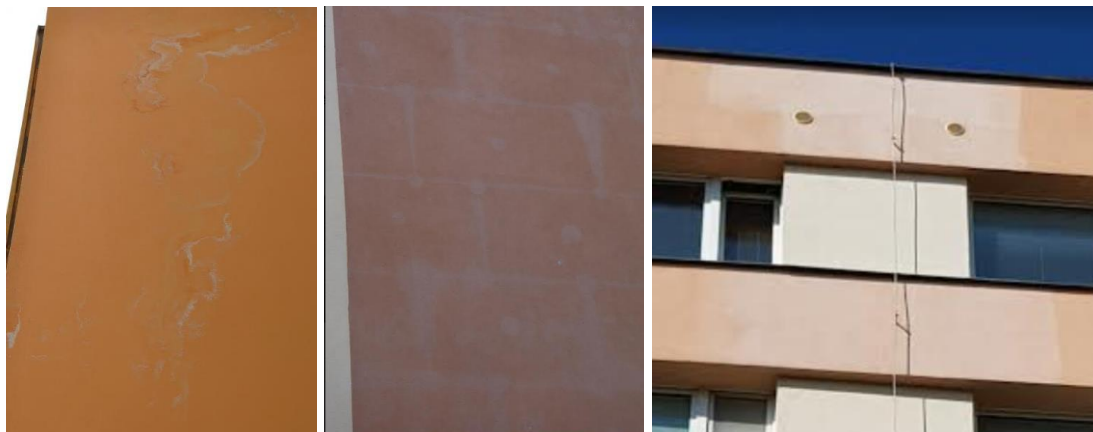
V současnosti se běžně používají bílé nátěrové barvy pro interiér i exteriér s obsahem oxidu titaničitého, který zároveň dodává bílý pigment. Česká značka FN-NANO s.r.o nabízí takovýto barevný nátěr pod označením FN[®]2 [33] a ze zahraniční nabídky lze pořídit například Soldalit[®]-ME od firmy KEIM [34]. Tyto barvy však nelze plně využít pro všechny barevné odstíny fasád, především ty tmavší. Hlavní problém nastává v případě nároku na zachování struktury a vzhledu podkladového materiálu jako je beton, přírodní kámen a jiné.

Požadavek na zachování barvy a celkového vzhledu ošetřovaného substrátu řeší transparentní fotokatalytické nátěry typu FN[®]1 TRANSPARENT též od FN-NANO [33] nebo Balclean vyvinutý na Technické univerzitě v Liberci ve spolupráci s BARVY A LAKY TELURIA, s.r.o., Ústavem anorganické chemie a Ústavem fyzikální chemie J Heyrovského na Akademii věd ČR [18]. Mají obecně o něco nižší účinnost než hutné bílé barvy, ve kterých je obsažen oxid titaničitý ve větší koncentraci, ale dostatečně dobrou pro účely dlouhodobé samočistící funkce povrchu.

Celkovým problémem však ve všech případech zůstává nutnost přítomnosti UV záření. To je problematické především pro stinná místa s větší vlhkostí, která zajišťují ideální podmínky pro růst mikroorganismů. Možným řešením tohoto nedostatku pro venkovní aplikace je přidavek látek (například stříbra) s antimikrobiálním účinkem, které zajistí ochranu substrátu i v podmínkách s nedostatečným ozářením fotony z UV spektra.

Fotokatalytické nátěry se setkávají s řadou po aplikačních problémů, které mohou mít vliv nejen na estetický vzhled (příklady uvedené na Obrázku 11) natřeného objektu. Částice fotokatalyzátoru musí být dostatečně uchyceny na substrátu, aby nedocházelo k jejich vymývání a tudíž krátké životnosti nátěru. Substrát by měl být také ochráněn před dopadem fotokatalýzy. Při nedostatečné ochraně a vysoké účinnosti nátěru může docházet k fotokatalytickému rozkladu barev či organických pojiv, které jsou přítomny v substrátu. Dalším problémem může být vliv aplikace ochranného nátěru na výsledný vzhled fasády. U transparentních suspenzí kde se předpokládá použití i na barevné omítky je riziko, že při opětovném nátěru bude odstín výrazně bělejší. Aplikací

ochranného nátěru do předchozí stále ještě vlhké vrstvy, může zapříčinit vysrážení částic na povrchu v souvislosti se vzlínáním vlhkosti.



Obrázek 11: Příklady estetických vad souvisejících s aplikací stávajících fotokatalytických ochranných nátěrů.

Při aplikaci fotokatalytických nátěrů za účelem ochrany fasád před znečištěním, především mikrobiologickým napadením, je nutné zvážit všechna rizika související s možným následným výskytem výše popsaných vad, vyřešit klempířské prvky (např. provedení parapetů, okapů, hromosvodů apod.) a dále důsledně dodržovat doporučené technologické postupy (očištění substrátu, aplikace předepsané penetrace v odpovídajícím množství, vyschnutí podkladu před aplikací, rovnoměrnost nanesených vrstev aj.).

2.4 Metody hodnocení fotokatalytické účinnosti

V současné době lze k posouzení fotokatalytické aktivity různých materiálů použít několik metod. Některé tyto metody jsou certifikované mezinárodní organizací pro tvorbu norem (ISO), čímž by měla být zajištěna porovnatelnost výsledků různých publikací a laboratoří řídících se přesně určenými postupy. Mills a kol. v review z roku 2012 [35] přehledně shrnuje a komentuje příslušné normy a některé další návrhy a metody testování fotokatalytických materiálů. U samočisticích fotokatalyticky aktivních nátěrových systémů je také podstatná dále zmiňovaná účinnost algicidní, baktericidní a fungicidní, která může i nemusí být přímo důsledkem fotokatalytické aktivity v závislosti na složení FTK. Antimikrobiální vlastnosti je nutné řádně otestovat s kontrolami bez ozáření, jelikož mohou být způsobeny toxicitou samotného přípravku, či některých jeho složek. Obecně se účinek usmrcující mikroorganismy hodnotí jako samostatná kategorie vedle fotokatalytické aktivity. Hodnocení antimikrobiální účinnosti se věnuje Kapitola 2.5.

Přehled všech aktuálních ISO norem pro hodnocení fotokatalytické, samočistící a anti-mikrobiální aktivity polovodičových fotokatalyzátorů je uveden v tabulce v Příloze A. Uvedené zkušební metody jsou vhodné pro testování hladkých pevných materiálů, povrchů, tenkých filmů, či nátěrů, které jsou předmětem této práce. Metody hodnocení fotokatalytické aktivity jsou v tabulce rozdělené podle potenciálních aplikací na oblasti čištění vzduchu (odstraňování oxidů dusíku, acetaldehydu, toluenu a dalších látek) a čištění vody (především rozklad roztoků barviv). Speciální kategorie (nazvaná samočištění) představuje měření kontaktního úhlu kapky tekutiny (např. vody) na povrchu při osvětlení a porovnává s úhlem bez osvětlení (povrch může být hydrofobní, oleofobní, hydrofilní). Část norem je specifikována při osvětlení testovaných vzorků UV zářením v testovací komoře (TK) a část je při pokojovém osvětlení (stejný polutant, jiné osvětlení). Jednotlivé přístupy hodnocení fotokatalytické účinnosti jsou blíže popsány v následujících podkapitolách.

Důležitým parametrem při testování je charakter použitého UV záření. Dle ISO 10677:2011 [36] určující UV světelné zdroje pro testování fotokatalytických materiálů, jsou pro měření fotokatalytické aktivity doporučeny fluorescenční UV zářivky nebo xenonové výbojky poskytující spojitě spektrum v požadované oblasti vlnových délek. Konkrétně se používají fluorescenční lampy s maximem intenzity záření při 351 nm (vhodné pro materiály k aplikacím uvnitř budov) a 368 nm. Xenonové výbojky emitují záření v širokém pásmu vlnových délek (pod 200 nm až po infračervené) a tudíž se používají hlavně pro fotokatalytické materiály využívající sluneční záření.

2.4.1 Rozklad barviv

Hodnocení fotokatalytické aktivity materiálů rozkladem organických barviv je metoda založená na poměrně jednoduchém principu. Materiál, nejlépe v pevné formě s hladkým povrchem nebo ve formě vrstvy na substrátu, je vystaven roztoku barviva (methylenová modř, methylořanž, resazurin a další), které je vlivem fotokatalýzy při osvětlení oxidováno na nebarevné složky. Odbarvování roztoku je hodnoceno různými způsoby. Krýsa a kol. [37] například použili acid oranž 7 jako testovací azobarvivo k určení fotokatalytické účinnosti pomocí absorpční spektrofotometrie a ke zkoumání optimálních podmínek experimentu. Bylo mimo jiné zjištěno, že rychlost degradace velmi závisí na počáteční koncentraci roztoku barviva. Výrazně pomalejší odbarvování koncentrovanějších roztoků by mohlo mít na svědomí nejen obsazení aktivních míst fotokatalytic-

kého povrchu, ale též stínění dopadu UV fotonů na povrch fotokatalyzátoru částicemi barviva v roztoku. Na rychlost degradace má též vliv způsob míchání roztoku.

Rozklad methylenové modři

Mezi nejpoužívanější barviva v laboratořích (v praxi se ještě používá v textilním a papírenském průmyslu) patří methylenová modř (MM). Toto barvivo vykazuje poměrně velkou molární absorptivitu (molární extinkční koeficient, ϵ_{MM} – míra absorpce světla dané vlnové délky) s maximem při osvětlení zářením o vlnové délce $\lambda_{max} = 665$ nm (červená), zajišťující snadné měření odbarvování barviva spektrofotometrickou metodou, silnou adsorpci na oxidy kovů a odolnost vůči samotné UV degradaci [13].

Přesný postup stanovení fotokatalytické aktivity povrchů prostřednictvím rozkladu methylenové modři v roztoku udává například norma ISO 10678:2010 [38]. Testy zahrnují ponoření vzorku fotokatalytické vrstvy či materiálu s hladkým rovným povrchem pod roztok MM o určité koncentraci (10^{-5} mol·l⁻¹) a objemu (35 ml) a následné osvětlování použitím umělého záření o vlnové délce 320 až 400 nm (UV-A) při pokojové teplotě. Roztok je míchán minimálně každých 20 minut (případně konstantně na magnetické míchačce) po dobu několika hodin. Zároveň je proveden porovnávací experiment bez osvětlení vzorku (blank). Množství fotokatalyticky nerozloženého barviva se stanovuje měřením absorbance vodného roztoku (přímo či odběrem do kyvety) pomocí UV/VIS spektrofotometrie v pravidelných intervalech během osvětlení (či uzavření ve tmě). Sleduje se rychlost odbarvování roztoku (závislost absorbance na čase) a ze získaných dat je nakonec vypočítána tzv. fotonická účinnost ζ_{MM} (%) dle rovnice (2.4.1). Specifická fotoaktivita P_{MM} určuje rozdíl rychlosti fotokatalytické degradace barviva při osvětlení UV zářením a ve tmě (rovnice (2.4.2)), která se vždy vypočítá dle rovnice (2.4.3) z úbytku absorbance ΔA_λ na daném časovém intervalu Δt , objemu roztoku V , molární absorptivity ϵ , optické délky kyvety d a obsahu testované plochy vzorku A . Fotonická intenzita UV záření $E_{p,av}$ se vypočítá dle rovnice (2.4.4) na základě změřené intenzity UV záření E_{av} , která zůstává konstantní ($10 \text{ W}\cdot\text{m}^2$) během experimentu, použité vlnové délky λ_{max} (maximum spektra) a konstant ($N_A = 6,022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ je Avogadrova konstanta, c rychlost světla a $h = 6,626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$ Planckova konstanta).

Úplná fotomineralizace MM probíhá podle rovnice (2.4.5), ačkoli mnoho meziproduktů (především redukovaná forma leukomethylenová modř, LMM) probíhajícími redoxními reakcí je také bez zbarvení a tudíž odbarvení nastává zpravidla dříve, než dojde k úpl-

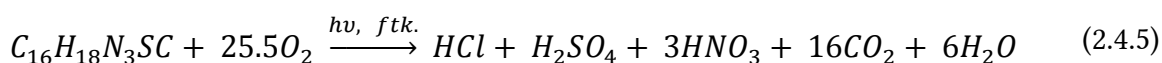
nému rozkladu na základní anorganické sloučeniny [39]. Podrobnější mechanismus degradace MM diskutuje Houas a kol. [7] včetně vývoje iontů, předpokládaného postupného rozpadu vazeb v molekule barviva a podmínek reakce.

$$\text{Fotonická účinnost:} \quad \zeta_{MM} = \frac{P_{MM}}{E_{p,av}} \times 100 \quad (2.4.1)$$

$$\text{Specifická fotoaktivita:} \quad P_{MM} = R_{UV} - R_{tma} \quad (2.4.2)$$

$$\text{Specifická rychlost degradace:} \quad R = \frac{\Delta A_{\lambda} V}{\Delta t \epsilon d A} \quad (2.4.3)$$

$$\text{Fotonická intenzita UV záření:} \quad E_{p,av} = \frac{\lambda_{max} E_{av}}{hc N_A} \quad (2.4.4)$$



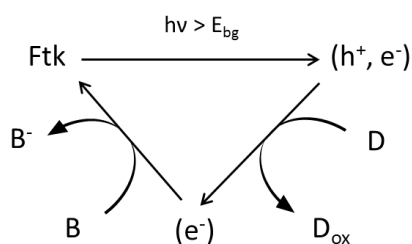
Kinetika adsorpce MM na povrch polovodiče (TiO₂) vykazuje charakter klasické Langmuirovy adsorpční izotermy (základ povrchové chemie). Saturace povrchu barvivem bez osvětlování nastává do hodiny od umístění do roztoku nezávisle na jeho koncentraci. Vzhledem ke kationtové formě MM v roztoku (díky skupině -S⁺) probíhá adsorpce lépe v zásaditějším prostředí (vyšší pH), kdy se na povrchu TiO₂ tvoří záporný náboj (TiO⁻). ISO norma neurčuje striktně počáteční pH, což může mít vliv na opakovatelnost a porovnatelnost experimentů. Vliv na měření má též čistota MM v prášku, která zkresluje koncentraci barviva v roztoku a tím i výchozí absorbanci. Mills ve své publikaci [39] navrhuje změnu těchto dvou (dané výchozí pH a absorbance roztoku) a dalších parametrů (míchání roztoku, světelný zdroj, rozměry aparatury a objem) jako vhodnou úpravu normy.

Rozklad inkoustů

Trochu jinou metodou, ovšem stále založenou na rozkladu barviv, je použití inkoustů na bázi například Resazurinu (Rz), Basic Blue 66 [40] (používán spíše pro fotokatalyzátory s nižší účinností), Acid Violet 7 (AV7) [41] (FTK s vysokou účinností). Pro inkoustovou metodu lze využít i MM. Hlavní rozdíl spočívá v získávání a vyhodnocování dat, které je založené na využití digitální analýzy obrazu (strojové vidění) nasnímaných vzorků inkoustů na fotokatalyzátoru v určitých časových intervalech osvětlování UV-A. Data z obou metod fotokatalytického rozkladu barviv porovnávají ve své práci [42] Mills a kol na komerčně dostupném samočisticím skle. Metody (spektrofotometrické

měření a digitální analýza) vykazují vzájemnou lineární korelaci, což značí, že mladší inkoustová metoda je spolehlivou náhradou měření absorbance roztoku MM.

Princip fotokatalytické degradace inkoustu je schematicky ilustrován na Obrázku 12. Inkousty obsahují složku představující donor elektronu D (např. glycerol), který zaplňuje díry vzniklé fotoexcitací polovodiče. Donor se oxiduje (alkohol na aldehyd či karboxylovou kyselinu) a ponechává možnost fotogenerovaným elektronům redukovat molekuly barviva B (například Rz).



Obrázek 12: Reakční schéma fotokatalytické interakce inkoustu s fotokatalyzátorem. Převezato z literatury [35] a upraveno.

Hlavní osobností v tématice rozkladu inkoustů je Andrew Mills, který se svým kolektivem představil rychlou, snadnou a levnou metodu stanovení fotokatalytické účinnosti na bázi resazurinu [43]. Přísun elektronů v inkoustu zajišťuje glycerol, který se oxiduje na glyceraldehyd (příp. kyselinu glycerovou), přičemž je současně modrý pigment Rz redukován na růžovou formu resorufin (Rf) jak je patrné z rovnice (2.4.6).



Od roku 2018 je digitální metoda na určování rozkladu inkoustového barviva Resazurinu standardizována pod označením ISO 21066:2018 [44]. Metoda zahrnuje kvalitativní a semi-kvantitativní testování polovodičové vrstvy (povrchu). Inkoust je v tenké vrstvě rozetřen po povrchu FTK. Fáze osvětlení probíhá obdobně jako u testování rozkladu MM, pouze čas je zkrácen na maximálních 45 min. Změna barevného odstínu roztoku je snímána ve formě digitálních snímků, nejjednodušeji pomocí ručního skeneru (případně digitálního fotoaparátu, u kterého je však obtížnější zajištění stejných podmínek osvětlení atd.) v pravidelných intervalech. Yusufu a Mills [45] uvádí použití digitální analýzy obrazu systému TiO₂/thionin/glycerol při testování samočisticího skla Activ® pomocí digitální kamery mobilního telefonu a UV/VIS spektrofotometrické metody.

Pro digitální analýzu obrazu existuje řada druhů softwaru, které výpočetně určují poměr jedné složky RGB rozboru (typicky červená pro Rz, zelená pro AV7) na dané ploše digitální fotografie (skenu) a vykreslují do grafu časový vývoj této složky z jednotlivých snímků. Na Obrázku 13 je ukázka sekvence digitálních snímků inkoustu na fotokatalyticky ošetřeném a obyčejném neošetřeném skle. Jednotlivé snímky (sloupce čtverečků) byly pořizovány po 30 sekundách (od času 0 do 450 s) během osvitů. Je patrná fotokatalyzovaná redukce barviva Rz na Rf.



Obrázek 13: Názorný obrazový časový vývoj (zleva doprava) fotokatalyzované barevné změny inkoustu na bázi Rz-Rf (horní řádek) a kontrolních vzorků (dolní řádek) bez fotokatalytického účinku. Převzato z literatury [43].

Kvalitativní metoda slouží k určení, zda je materiál fotokatalyticky aktivní a popřípadě k nalezení správného indikačního inkoustu pro kvantitativní testy (některé fotokatalyzátory mohou reagovat pomalu s určitým inkoustem, nebo zreagují ještě před osvitem). Výhoda této metody je v rychlosti vyhodnocení (kratší než 10 min) bez potřeby složitého laboratorního vybavení.

2.4.2 Rozklad dalších polutantů vody

Stanovení fotokatalytické účinnosti polovodiče určeného pro čištění vody je vhodné prostřednictvím měření schopnosti tvorby aktivního kyslíku. Vybraným polutantem pro normu ISO 10676:2010 [46] je dimethylsulfoxid (DMSO), který se rozkládá až na kyselinu metansulfonovou (KMS). DMSO je bezbarvé, tepelně a chemicky stabilní rozpouštědlo často používané v laboratořích. Stanovení probíhá v neuzavřeném průtokovém fotoreaktoru za současného UV osvětlování (obdobný princip viz Kapitola 2.4.3, kde místo vody proudí nad vzorkem určitá směs plynů). Účinnost fotokatalyzátoru se stanovuje koncentrací degradovaného DMSO (případně také vznikající KMS), která se zjišťuje iontovou nebo plynovou chromatografií, a porovnáním s testovanou adsorpcí DMSO bez osvitů (blank).

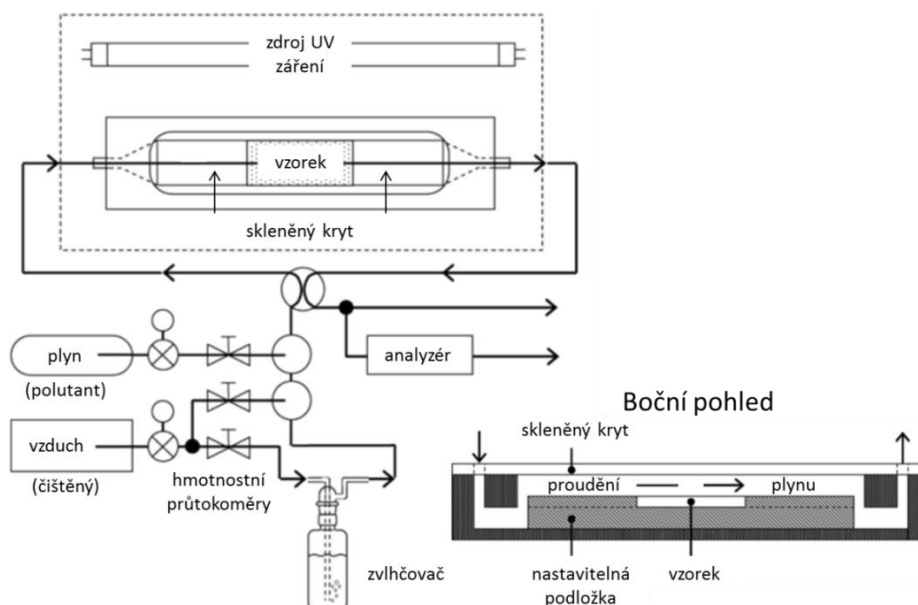
Další metodu stanovení fotokatalytické aktivity (za účelem čištění vody) prostřednictvím měření rozpuštěného kyslíku (pomocí elektrody) spotřebovávaného při katalyzované oxidaci fenolu udává norma ISO 19722:2017 [47]. Oxidativní rozklad fenolu

využívá též norma ISO 22601:2019 [48], která měří fotokatalytickou účinnost kvantitativní analýzou celkového organického uhlíku (TOC).

2.4.3 Rozklad vzdušných polutantů

Jiný přístup testování se zakládá na rozkladu molekul plynné fáze adsorbované na povrch fotokatalyzátoru. Jednotlivé metody se dělí dle druhu použitého polutantu a využívá se jich především k testování materiálů pro čištění vzduchu.

Existující ISO normy zahrnují testování rozkladu pěti různých polutantů při osvětlení UV zářičem: oxidu dusíku (ISO 22197-1:2016 [49]), acetaldehydu (ISO 22197-2:2019 [50]), toluenu (ISO 22197-3:2019 [51]), formaldehydu (ISO 22197-4:2013 [52]), methylmerkaptanu (ISO 22197-5:2013 [53]) a stejných polutantů při pokojovém osvětlení vzorků. Zmíněné plyny se používají především proto, že se běžně vyskytují ve vzduchu. Pro testování polutantů se používá stejný systém fotoreaktoru. UV světlo dopadá skrz křemenný nebo borosilikátový skleněný kryt na předem očištěný vzorek polovodiče. Zvolený plyn je smíchan se vzduchem, zvlhčen a přiveden ke vzorku (viz Obrázek 14). Rychlost proudění plynu je regulována systémem hmotnostních průtokoměrů. Po průchodu štěrbinou (5 mm) kolem aktivovaného vzorku je plynná směs analyzována.



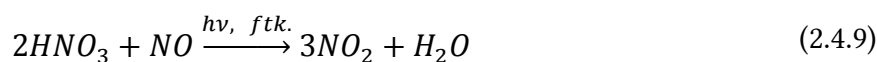
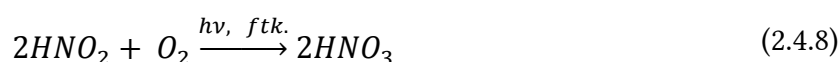
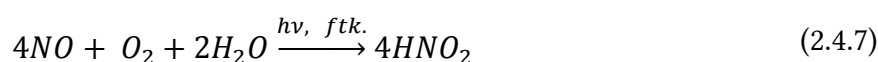
Obrázek 14: Schéma fotoreaktoru pro stanovení fotokatalytické účinnosti plochých vzorků a vrstev čištěním vzduchu (odstraňováním plynných polutantů). Převzato z literatury [35] a upraveno.

Jednotlivé normované polutanty vyžadují některé rozdílné podmínky zahrnující koncentraci, rychlost proudění plynu, testovací čas a především analytickou metodu. Pro

komplexní analýzu fotokatalytického čištění vzduchu je pořízení veškerého analytického vybavení dosti nákladné.

Rozklady NO_x

První z metod stanovení fotokatalytické účinnosti materiálů pro čištění vzduchu bylo odstraňování oxidů dusíku (NO_x). Je to také zřejmě nejvyužívanější metoda, neboť kvůli nízkému redoxnímu potenciálu (vůči standardní elektrodě) NO/NO₃⁻ je velmi účinná pro široké spektrum polovodičů [35].



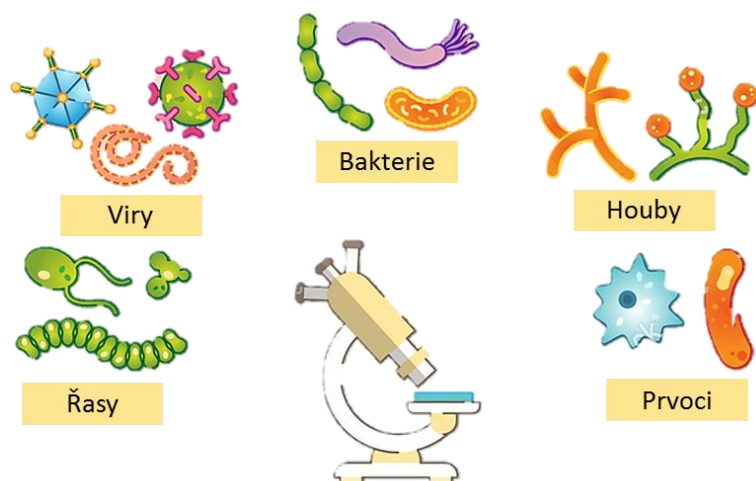
Standardizovaný výchozí plyn obsahuje směs NO (30-100 ppm) s N₂ a po smíchání se vzduchem proudí komorou o koncentraci 1 ppm. Základními rovnicemi fotokatalýzy je zde oxidace NO přes kyselinu dusitou (2.4.7) na kyselinu dusičnou (2.4.8). Kyselina dusičná se ovšem začne hromadit na povrchu FTK a když není odstraňována (v praxi např. omytím vodou, deštěm) reaguje zase s NO za vzniku toxického NO₂ (2.4.9). Jelikož se stanovuje celková schopnost odstranit NO_x polutanty, počítá se rozdíl mezi úbytkem oxidu dusného (n_{NO}) a příbytkem oxidu dusičitého (n_{NO₂}). Koncentrace oxidů dusíku je měřena chemiluminiscencí [54]

2.5 Antimikrobiální jev

Jako mikroorganismy se označují živé organismy o mikroskopických rozměrech. Řadí se mezi ně mikroskopické houby, řasy, bakterie, prvoci a viry. Morfologie jednotlivých skupin je uvedena na Obrázku 15. Nejedná se pouze o parazity a organismy způsobující infekce a nemoci, ale mnoho mikrobiálních druhů má své místo ve výrobě léčiv, chemikálií, potravin apod. (např. celulóza), či v likvidování odpadu. Mnoho z nich funguje v symbióze s vyššími organismy (například bakterie tvořící střevní mikroflóru), případně tvoří základní prvky potravinového řetězce (plankton).

Ačkoli patogenních (nemoci způsobujících) mikroorganismů je menšina, představují největší hrozbu pro lidský organismus. Proti těmto zástupcům lidstvo začalo již dávno

bojovat antimikrobiálními prostředky, které mají za úkol nebezpečné mikroby hubit a zamezit tak interakci jejich buněk a metabolických produktů s organismem. Antibiotika, vakcíny a různé dezinfekční prostředky jsou neustále vyvíjeny za účelem zvýšení účinku v boji proti mikrobiálním onemocněním všeho druhu. Antimikrobiální látky působí různými způsoby na buňky a jednotlivé chemické sloučeniny, které jsou součástí stavby mikrobů.



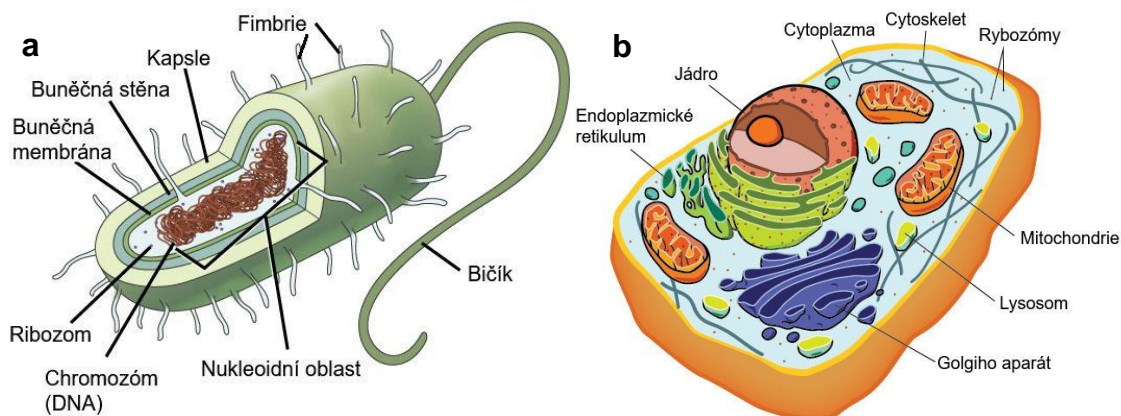
Obrázek 15: Druhy mikroorganismů. Převzato z webové stránky [55] a upraveno.

Organismy obecně můžeme dělit dle stavby buňky na prokaryotické (Obrázek 16a) a eukaryotické (Obr. 16b). Mezi prokaryota patří bakterie a archea a jedná se o jednobuněčné organismy, které zpravidla neobsahují membránové organely, nukleoid (obdoba jádra) není ohraničen jadernou membránou a jejich buněčná stěna je až na výjimky tvořena peptidoglykanem. Eukaryota naproti tomu obsahují ohraničené jádro a další organely se specifickými vlastnostmi. Mezi eukaryota se řadí všechny rostliny, živočichové a houby. Z mikroorganismů jsou eukaryotickými buňkami tvořeni prvoci, řasy a z hub kvasinky a plísně. Samostatnou skupinou mikrobů jsou viry, které nejsou tvořeny buňkou ale takzvanou virovou částicí [56].

Antimikrobiální jev (též mikrobicidní) je jev způsobující usmrcení a kontrolu růstu mikroorganismů. Je zprostředkován:

- fyzikálními vlivy (např. plamen, horký vzduch, pára, chlad, vysoký tlak, UV záření, ionizující záření, lyofilizace, osmotický tlak)
- chemickými látkami (deriváty fenolu, halogeny – I_2 , Cl_2 , alkoholy – etanol, IPA, těžké kovy – Cu, Ag, Hg a jejich sloučeniny, surfaktanty, aldehydy, reaktivní formy kyslíku (ROS)).

O chemických či biologických materiálech a fyzikálních jevech hubících mikroorganismy se hovoří jako o prostředcích s antimikrobiálním účinkem.



Obrázek 16: Struktura buňky (a) prokaryotické (převzato z webové stránky [57] a upraveno), (b) eukaryotické (převzato z webové stránky [58] a upraveno).

Ve spojitosti s antimikrobiálním jevem můžeme hovořit o několika termínech, mezi které patří dezinfekce a sterilizace, které zajišťují preventivní kontrolu mikrobiologického růstu a antibiotika, která zajišťují poinfekční kontrolu růstu mikroorganismů (odstranění, usmrcení). Jelikož nemoci a působení mikrobů *in vivo* (uvnitř organismu) není předmětem práce, antibiotika nejsou dále rozebírána, ačkoli princip účinku léčiv se v některých případech shoduje s některými chemickými dezinfekčními prostředky. Sterilizace je většinou fyzikální proces zajišťující odstranění všech mikrobiálních forem včetně endospor, klasicky zahříváním (vlhkým vzduchem/parou, nebo též plynem jako je etylenoxid). Dezinfekce je proces, při kterém se odstraňují patogenní mikroorganismy fyzikálně i chemicky (UV ozařováním, varem, párou, chemickými látkami). Přípravky způsobující přímou smrt mikroorganismů se označují biocidy (obecnější pojem, nejen pro mikroby) nebo germicidy. Konkrétně lze přípravky rozdělit na virucidní, fungicidní, algicidní a baktericidní případně sporicidní (ničí spory bakterií).

Způsobů inhibice či usmrcení mikroorganismů je několik v závislosti na použitém antimikrobiálním činiteli, případně též na druhu buňky, na kterou působí. Sušení či mráz způsobuje zamezení růstu a dělení buněk některých mikroorganismů. Osmotický tlak v solných roztocích může obdobně potlačit růst mikrobů (hypertonické prostředí vytahuje vodu). Poškození lipidů (fenolické deriváty, alkoholy) nebo proteinů v cytoplazmatické membráně může zapříčinit únik buněčného obsahu, nebo ovlivnit růst buňky. Zahříváním, chemicky, či radiací (UV-C) je možné poškodit nukleové kyseliny (DNA a RNA), následkem čehož se buňka nemůže dělit nebo syntetizovat důležité látky.

Zahřívání či některé chemikálie (chlor) způsobují nevratné přerušení vodíkových či disulfidických můstků v prostorové struktuře proteinů a poškodí tím jejich funkci (denaturace) i funkci enzymů, kterých jsou proteiny součástí. Etylenoxid způsobuje alkylation chemických skupin, což vede k síťování proteinů a nukleových kyselin (NA) a zamezení jejich správné funkce. Obdobně působí i například formaldehyd či glutaraldehyd. Oxid siřičitý se používá jako konzervační prostředek, jelikož napadá metabolismus plísní nebo cytoplazmatickou membránu a potlačuje jejich růst. Dusičnany a dusitany se používají jako baktericidní konzervační prostředky především masa. Častými biocidními prostředky jsou také látky poskytující aktivní formy kyslíku. Ozon se používá k dezinfekci vody nebo vzduchu. Velmi dobrým dezinfekčním prostředkem je peroxid vodíku, ve vysokých koncentracích může být i sporicidní. Mezi nejúčinnější prostředky proti sporům se řadí kyselina peroctová, která účinně ničí též viry, bakterie či houby. [56]

Také některé kovy mají antibakteriální efekt. Princip toxicity kovů pro některé organismy spočívá v uvolňování kovových iontů (buněčná stěna bakterií je záporně nabitá a tudíž vykazuje afinitu ke kationtům), které mohou reagovat s –SH skupinami buněčných proteinů, což opět vede k jejich denaturaci a k deaktivaci enzymů. Některé kovy mohou být biocidní i při malých koncentracích, to je známé pod pojmem oligodynamický účinek. Především stříbro je pro tento jev známé už po staletí (stříbrné mince k čištění vody) a dusičnan stříbrný se používá jako antiseptikum (dezinfekce na kůži) v pouhém 1% roztoku. Stříbrné ionty mohou již při mikro-molární koncentraci způsobit buněčnou smrt tím, že naruší transport protonů (H^+) přes membránu organely zvané mitochondrie, která zajišťuje buněčnou respiraci (dýchání). Ag^+ vykazuje afinitu k fosfátům a inhibují tvorbu ATP (adenosintrifosfátu), který je zdrojem energie v buněčných cyklech [59]. Historicky obdobně jako stříbro je na tom měď, která se dávno používala k čištění ran a vody. Měď se dnes používá jako algicid ve formě sulfidu a také jako fungicid. Její výborné antibakteriální vlastnosti (účinná např. proti MRSA) se využívají též v nemocnicích. Snadno vytváří hydroxylové radikály, pomocí nichž může rozkládat membránu, denaturovat DNA a blokovat buněčné dýchání. Měď snadno oxiduje a její oxidy též disponují biocidními vlastnostmi [60]. Nanočástice stříbra a mědi jsou předmětem velkého zájmu v oblasti antibakteriálních materiálů, ačkoli stejně jako u stříbra v současné době existuje několik druhů bakterií rezistentních vůči mědi. Nanočástice obecně zvyšují účinek v důsledku většího kontaktu (velký měrný povrch) s buňkou

a možností průniku dovnitř cytoplasmy bakterie, kde následně působí buď přímo, či nepřímo (tvorba ROS). Dalším účinným kovem je zinek, který se používá jako biocid a někdy se přidává jako ZnCl do ústní vody [56]. Nanočástice oxidu zinečnatého vykazují též toxické účinky proti mikroorganismům (i bez fotonické aktivace) [61].

Ve všech zmíněných případech dezinfekce či sterilizace nedochází k očištění povrchu či prostředí od uhynulých buněk. To může být v případě vodného prostředí zajištěno filtrací a u pevných materiálů a kůže prostřednictvím mechanického čištění za přítomnosti povrchově aktivních látek (surfaktantů). Mýdla a detergenty (některé mají též přímo germicidní účinky – např. kvartérní amonné sloučeniny) snižují povrchové napětí tekutin. Ve vodném roztoku mohou obalit organické nečistoty včetně olejnatých filmů (přilnutých k povrchu), které jsou následně omyty. Skupiny činitelů způsobujících antimikrobiální jev jsou v současnosti rozšířené o fotokatalytické materiály, které zajišťují hubení mikroorganismů a současně očištění prostředí od uhynulých buněk.

2.5.1 Mikroorganismy kolonizující urbanistické prvky

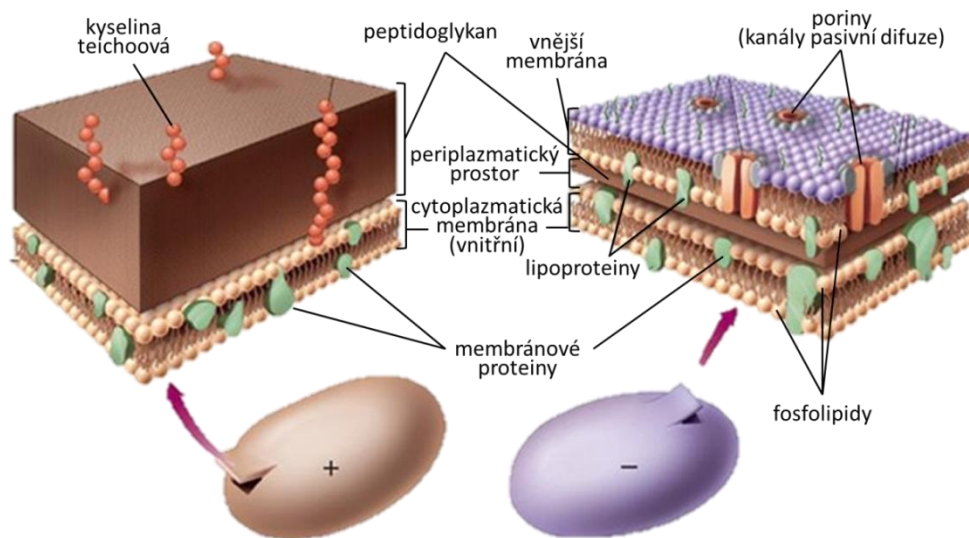
Mikroorganismy, které kolonizují různé architektonické celky, sochy a podobná venkovní umělecká díla z různých materiálů, způsobují často fatální škody na površích těchto prvků nebo jejich částí. Škody způsobené biologickými vlivy jsou nejen vizuálního charakteru, ale mohou zasahovat i strukturu substrátu. Dlouhodobé osidlování především fasádních omítek, ale i jiných materiálů, plísněmi či řasami tam, kde jsou ideální podmínky (teplota prostředí, drsnost substrátu, pH, vlhkost) a tudíž je obtížné jejich trvalé odstranění, může způsobovat postupnou degradaci materiálu. Mikroby běžně se vyskytující na substrátech urbanistických objektů jsou přiblíženy v následujících kategoriích.

Bakterie

Tvoří hlavní doménu prokaryotických jednobuněčných organismů. Velikost buňky bakterie se pohybuje od desetin až po jednotky mikrometrů a její základní tvary se označují koky (sféry), bacily (tyčinky) a spirily (spirály). Tyto tvary se mohou dále spojovat ve větší celky (dvojitě – diplokoky, diplobacily, řetízkovité – streptokoky, streptobacily, větší shluky – stafylokoky) tvořící bakteriální kolonie. Na povrchu buněčné stěny mohou mít různé krátké vláscité útvary a dlouhé bičíky napomáhající pohybu buňky. Většina buněk se rozmnožuje binárním dělením na dvě identické buňky, pří-

padně pučením. Bakterie se mohou stát rezistentní vůči některým látkám (některým antibiotikům), což je činí velmi nebezpečnými [56].

Většina bakterií lze dle složení buněčné stěny rozdělit na dvě skupiny gram-pozitivní (G+) a gram-negativní (G-). Označení je odvozeno od způsobu identifikace Gramovým barvením (G+ fialová a G- růžová barva buněk). Rozdíl mezi G+ a G- bakteriemi je patrný z Obrázku 17. Gram-pozitivní bakterie mají tlustou buněčnou stěnu tvořenou mnoha vrstvami proteinového komplexu peptidoglykanu a kyselinou teichoovou, která zajišťuje navázání a transport kationtů do buňky. Mezi G+ bakterie se řadí jedna z nejznámějších bakterií zlatý stafylokok (*Staphylococcus aureus*, SA), často obávaná v nemocnicích především ve formě MRSA (Meticilin-rezistentní SA). Gram-negativní buňky jsou tvořeny tenkou buněčnou stěnou s malou vrstvou peptidoglykanu (periplazmatický prostor), ale navíc obsahující vnější membránu z fosfolipidů (negativní náboj) a lipopolysacharidů. Speciální podskupinou jsou fotosyntetizující bakterie, mezi které se řadí sinice (cyanobacteria), jež produkují kyslík podobně jako řasy. Sinice jsou známy nejvíce ve formě tzv. vodního květu, ale některé suchozemské druhy mohou osidlovat vápencové skály a ve stavebnictví používané horniny typu travertin. Zástupcem G- bakterií je také nejznámější a laboratořemi nevyužívanější *Escherichia coli* (EC).



Obrázek 17: Stavba buněčné stěny gram pozitivních (vlevo) a gram negativních (vpravo) bakterií. Převzato z literatury [62] a upraveno.

Některé druhy se nedají zařadit ani k jedné z výše zmíněných skupin, neboť buňky mají pouze cytoplazmatickou membránu a buněčná stěna jim zcela chybí, případně je atypická. Některé bakteriální kmeny jsou schopné při vystavení stresu vytvářet tzv. spory – dehydrované buňky s posílenou stěnou, které jsou schopné přežít ex-

trémní podmínky (vysoké teploty, radiace, sucho, toxické látky). Endospory jsou nejčastějšími typy, vznikají uvnitř (endo-) bakteriální buňky převážně G+ druhů. Bakteriální spory představují riziko nedostatečné sterilizace, neboť mohou přežít a založit nové kolonie [56].

Houby (plísňe)

Plísňe patří do říše mikroskopických hub. Jedná se o mnohobuněčná eukaryota. Tělo plísni je tvořeno pospojovanými vlákny buněk zvanými hyphae. Většina plísni má hyphae rozděleno tzv. septy na jednotky podobné buňkám (tyto předěly však většinou mají otvor umožňující výměnu cytoplazmy skrz celé hyphae). Některé druhy však tyto předěly nemají a celé hyphae tvoří v podstatě jedna buňka obsahující mnoho jader. Buněčná stěna plísni neobsahuje peptidoglykan jako bakterie, obsahuje však chitin. Hyphae se dělí na vegetativní (přijímá živiny) a reproduktivní (zajišťuje růst nových buněk) část. Všechny části hyphae jsou schopné růstu, včetně ulomených fragmentů (nepohlavní rozmnožování). Plísňe tvoří viditelné vláknité útvary zvané mycelia. Houby se mohou rozmnožovat vedle zmíněných fragmentů pohlavně (spojení jader dvou buněk, meióza) i nepohlavně (mitóza, buněčné dělení) prostřednictvím spor (výtrusů), které jsou běžně přítomny v prachu. Ve skupině hub je též spousta patogenních druhů způsobujících vážné onemocnění u lidí a zvířat (mykózy a efekty vypouštěných mykotoxinů), ale také napadajících různé hospodářské rostliny [56].

Druhým mikroorganismem ve skupině hub jsou kvasinky (jednobuněčné, typicky oválné, větší než bakterie). O nich však nelze hovořit jako o kolonizátorech povrchů, ačkoli mohou být i součástí prachu (převážně však osidlují rostliny či živočichy).

Řasy

Jedná se o většinou fotosyntetizující eukaryota, přičemž některé jsou jednobuněčné, některé tvoří vlákna a některé mnohobuněčné řasy mají stéku (nečleněné tělo). Do této skupiny se zahrnují i relativně nepříbuzné druhy nižších rostlin. Většina řas jsou vodní organismy, některé jsou suchozemské a tvoří povlakovité porosty na skalních i urbanistických objektech. K životu a reprodukci potřebují vodu, světlo a živiny. Při fotosyntéze složitějších karbohydrátů z CO₂ vzniká jako vedlejší produkt kyslík (uvádí se, že řasy tvoří asi 80% světové produkce O₂). Na rozdíl od většiny rostlin přijímají potravu celým povrchem těla. Buněčná stěna řas je nejčastěji tvořena celulózou (rozšívky mají pektin a oxid křemičitý). Mnohobuněčné řasy se mohou množit nepohlavně

pomocí fragmentů (úlomků), ze kterého se vytvoří nová stélka či filament. Jednobuněčné se dělí buněčným dělením (mitóza) na dvě dceřiné buňky. Některé řasy se mohou dělit i pohlavně [56].

Rozdělení řas probíhá dle pigmentace, struktury či rRNA sekvencí na:

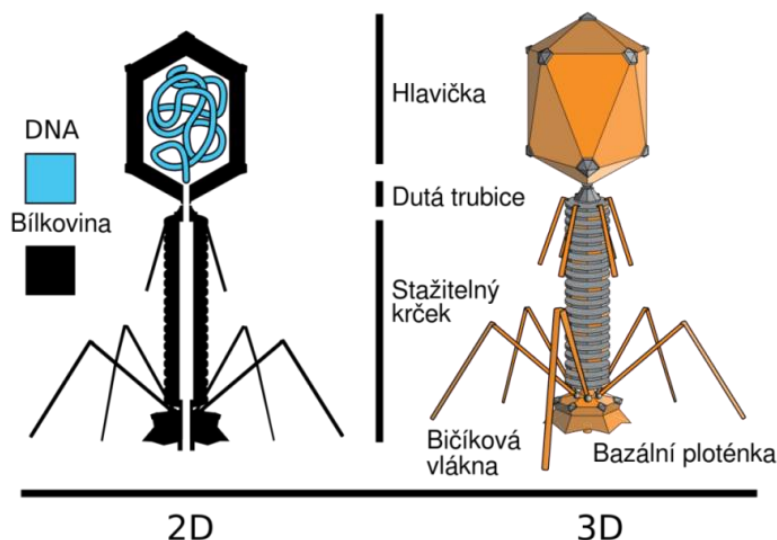
- hnědé řasy (chaluhy) – makroskopické vodní organismy;
- červené řasy (ruduchy) – převážně mnohobuněčné, mohou žít ve větších hloubkách, některé tvoří povrchy na skalách;
- zelené řasy (chlorophyta) – jednobuněčné (např. v potravinářství známý rod *Chlorella*) i mnohobuněčné většinou mikroskopické organismy;
- rozsivky – jednobuněčné či mnohobuněčné vláknité organismy s křemičitou schránkou;
- obrněnky – bičíkaté mikroorganismy, často produkují neurotoxiny;
- krásnoočka – převážně sladkovodní jednobuněčné bičíkaté organismy

a další třídy převážně primitivních organismů [56]. Zástupci mikroskopických zelených řas, kteří mohou být izolováni například na fasádách ve Francii jsou *Klebsormidium flaccidium*, *Stichococcus bacillaris* a *Chlorella cf. mirabilis* [63].

Viry

Viry jsou tvořeny virovou částicí rozmanitých tvarů a struktur o velikosti desítek až stovek nanometrů nesoucí jádro s DNA či RNA (pouze jeden druh), obalené proteinem a případně lipidovou obálkou. Tyto částice mohou též ulpívat na veškeré povrchy venkovního prostředí, jelikož se přenáší i vzduchem. Ačkoli netvoří buňku, lze je považovat za živé organismy, jelikož jsou nitrobuněční parazité ostatních živých forem. Nejpočetnější skupinou virů jsou druhy infikující bakterie – tzv. bakteriofágy (viz Obrázek 18). Některé viry mohou napadat i jiné větší viry – satelitní viry, virofágy [56].

Viry se umí reprodukovat pouze za použití buněk jiných organismů a mimo hostitele jsou netečné. Z tohoto pohledu není řazení mezi živé organismy zcela výstižné (nejsou schopné samostatného množení). Viry jsou schopné přenášet svou nukleovou kyselinu a proteiny do buňky, syntetizovat nové struktury a pomocí nich se replikovat. Mohou způsobit smrt buňky či rakovinné bujení. Druhů virů na Zemi existuje pravděpodobně obrovský počet a nám známé je jen velmi malé procento z nich.

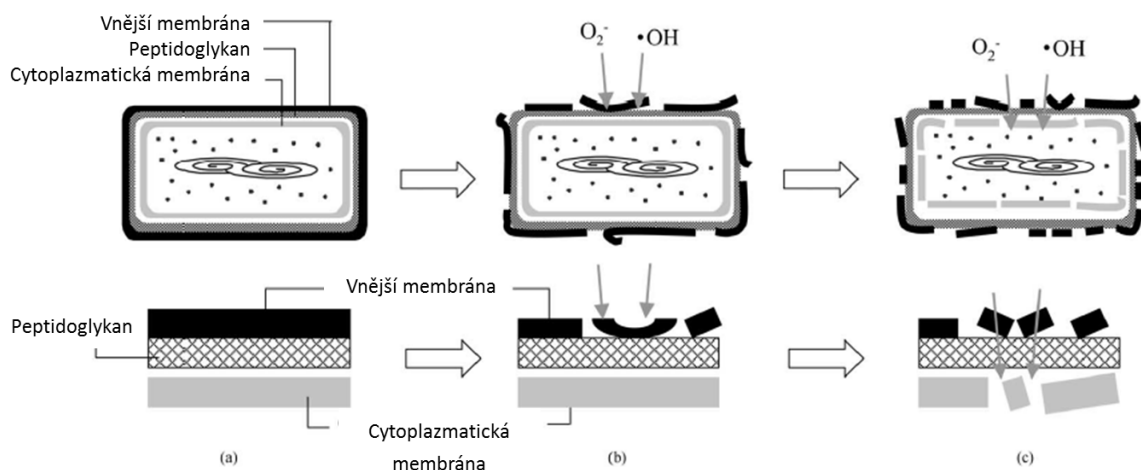


Obrázek 18: Vnitřní a vnější stavba virové částice bakteriofágů – skupiny virů infikujících bakterie. Převzato z literatury [64].

2.5.2 Fotokatalytická sterilizace

Antimikrobiální účinky většiny chemických látek nejsou stoprocentní, nefungují na endospory, nebo zapříčiní sice úhyn buněk mikrobů, které však mohou dále působit toxickými látkami v organismu. Mimo organismus na antimikrobiálních substrátech může vzniklý biofilm s uhynulými buňkami poskytovat vhodný mezisubstrát pro nové mikroby a blokovat germicidní účinek materiálu. Tyto problémy by měly být řešitelné použitím fotokatalýzy. Antimikrobiální účinek se rozšíří o úplný rozklad mikrobiálních buněk na základní netoxické látky. Například u bakterií se navíc těžko vyvíjí rezistivita, jako k některým látkám (buňky nemusí interagovat jen přímo s polovodičem, nýbrž také s meziprodukty fotokatalýzy).

Vznik superoxidového radikálu v důsledku fotoaktivace polovodičového materiálu a dalších ROS zmíněných v Kapitole 2.1.1, může při interakci s mikrobiologickým materiálem způsobit buněčnou smrt. Ta nastává po částečné degradaci buněčné stěny a následným průnikem ROS (volných radikálů), které napadají cytoplazmatickou membránu. Účinek na buňku bakterie je ilustrován na Obrázku 19. Rozpad membrány peroxidací lipidů vede k možnému následnému úniku cytoplazmy do okolí a ztrátě životaschopnosti buňky [65]. Rychlost usmrcení závisí na typu buňky (bakterie, houby, viry atd.) a především na tloušťce a struktuře buněčné stěny. Na fotokatalyticky ošetřeném povrchu tedy dochází k oxidaci mikrobiálních buněk, spor a biomolekul až na CO_2 [66].



Obrázek 19: Ilustrace procesu fotokatalytického usmrcení buňky bakterie (*E. coli*) na TiO_2 filmu. Převzato z literatury [65] a upraveno.

Pravděpodobně poprvé byl sterilizační efekt fotokatalyzátoru sledován Matsunagou a jeho týmem [67] v roce 1985, kdy se podařilo fotoelektrochemicky usmrtit buňky mikroorganismů *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Escherichia coli* na platinou dopovaném oxidu titaničitým (TiO_2/Pt). Způsobem usmrcení buněk je uvedena oxidace koenzymu A. Postupně navazovaly další studie zkoumající antimikrobiální účinky polovodiče TiO_2 , který se osvědčil v usmrcování bakterií, virů, řas nebo rakovinových buněk pod UV osvětlením [15]. Oxid zinečnatý může být vhodný antimikrobiální (dezinfekční/sterilizační) prostředek hned z několika hledisek. Jakožto polovodič vykazuje fotokatalytický antimikrobiální jev, jakožto sloučenina zinku vykazuje biocidní účinky a ve formě nanočástic se projevuje jistá cytotoxicita pro mikroorganismy vyplývající z malých rozměrů. Antibakteriální toxické účinky zmiňuje Sirelkhatim a kol. [30]. Jak bylo zmíněno dříve, také přídavek stříbra k fotokatalyzátoru může mít pozitivní účinky na zvýšení germicidního účinku při dostatku (zvýšení fotokatalytické aktivity odvodem elektronů) i nedostatku (formace Ag^+ iontů) osvětlení.

2.6 Metody hodnocení antimikrobiální účinnosti

V současné době existuje mnoho metod určování antimikrobiální efektivity materiálů, které jsou uzpůsobeny pro daný mikroorganismus (antibakteriální, antialgální, antifungální, antivirální účinnost) a typ materiálu (roztoky, částice prášku, hladké povrchy, porézní povrchy, textilie a další). Pozornost se musí věnovat především zajištění vhodných podmínek pro kultivaci daného mikroorganismu. Například fotosyntetizující organismy vyžadují pro správnou funkci osvětlení, některé druhy mikrobů zase potřebují

vysokou vlhkost a podobně. Při hodnocení antimikrobiálnosti u fotokatalyzátoru musí být na tyto podmínky brán větší zřetel, jelikož osvit může u běžného antimikrobiálního experimentu značně zkomplikovat výsledky (zahřívání a vysušování prostředí, germicidní účinek určitých vlnových délek, nevhodná intenzita širokospektrálního světla pro řasy a sinice a další.). Pro určité testy je vhodné volit vůči UV záření odolnější druhy mikrobů, někdy je zase třeba počítat s přirozenou odolností organismů obsahujících pigment a vybrat i zástupce méně odolné pro obecnější posouzení germicidních účinků.

Přehled současných ISO metod na hodnocení účinku fotokatalyzátoru proti mikrobům je uveden v Příloze A s ostatními metodami hodnocení fotokatalytické účinnosti. V tabulce A jsou normy těchto typů testování shrnuty v kategorii označené dezinfekce.

2.6.1 Hodnocení antibakteriální účinnosti

Obecně antibakteriální testy slouží ke zjištění míry toxicity pro zástupce různých skupin bakterií. Různé druhy bakterií mohou mít jinou odezvu na testovaný materiál, a proto se testují vybrané bakterie vhodné pro danou aplikaci. Rozdílná odezva (vitalita buněk) se očekává u bakterií G+ a G- vzhledem k rozdílné stavbě jejich buněčné stěny. Mezi nejznámější kvalitativní metody určení antibakteriálních účinků obecně patří diskový difuzní test – disk filtračního papíru je namočen do chemikálie a umístěn na bakteriálním kmenem předem inokulovaný agar. Muthuvel a kol. ve své práci [68] například použili diskovou metodu k určení antibakteriální účinnosti chemicky a biosyntetizovaných nanočástic ZnO. Zda je nějaký povrch (běžně vystavený vhodným podmínkám pro kolonizaci) antibakteriální, lze určit i pomocí známé otiskové metody. Mezi metody hodnocení textilních materiálů patří například zkouška šíření agarovou destičkou (kolečko textilie umístěné na inokulum obsahující agar) dle ISO 20645:2004 [69] nebo AATCC TM100-2004 [70], kde jsou vzorky inokulovány testovaným organismem a následně vytřepány do určitého množství neutralizačního roztoku. Vlastní speciální metodiky stanovení antibakteriálního účinku mají také stříbrné nanočástice ve formě koloidního roztoku či prášku (základní doporučené specifikace, charakteristiky a postupy určuje norma ISO 22601:2019 [71]). Pro testování plastů a jiných neporézních materiálů, zahrnující i vrstvy nanosené na podkladu (nátěry), je vhodná například metoda ISO 22196:2011 [48].

Zmíněné běžné metody nelze použít v případě fotokatalytických materiálů z důvodu absence ozařování v průběhu testů. Je však možné některé tyto metody použít paralelně, kdy je žádoucí testovat pasivní cytotoxický účinek polovodiče bez přísunu

UV záření (jako například u zmíněných ZnO na stinných místech fasád). Norma ISO 27447:2009 [72] je vhodná pro testování fotokatalytických hladkých povrchů včetně tenkých vrstev (tedy nátěrů) a současně též pro textilní materiály. Norma zahrnuje dvě metody: metodu adheze filmu (pro hladké rovné materiály) a metodu adheze skla (pro textilie). U první metody se testují kmeny *E. coli* a *Staphylococcus aureus*, u druhé také kmen SA a *Klebsiella pneumoniae*. Z vybraného kmene se připraví inokulum (po kultivaci při 37°C) a stanoví se koncentrace bakterií buď optickým mikroskopem (počítání) nebo měřením optické hustoty (takzvané měření zákalu pomocí densitometru). Roztok je doředěn přidáním živného média na koncentraci 10^5 - 10^6 buněk·ml⁻¹. Vzorky o rozměrech 5x5 cm a tloušťce max 1 cm jsou sterilizovány a umístěny do Petriho misek s navlhčeným filtračním papírem zajišťujícím dostatečnou vlhkost vzorku při osvětlení (zabraňující vysychání buněk), inokulovány připravenou suspenzí daného bakteriálního kmene, zakryty UV propustným víkem a umístěny do fotoreaktoru. Pro metodu adheze filmu je inokulovaný vzorek před umístěním do TK ještě zakryt propustnou folií, která zajišťuje rovnoměrnou distribuci bakterií. Pro metodu adheze skla je naopak vzorek textilie (příp. podobného materiálu) umístěn nejprve na podložní sklo. Vzorky jsou vystaveny UV záření několik hodin o intenzitě světla dle požadované aplikace (max 0,25 mW·cm⁻²). Část vzorků je umístěna do temného prostředí bez přístupu UV (slouží jako kontroly fotokatalytického účinku) a část vzorků je ihned dále zpracovaná metodou přímého oplachu. Oplach u všech vzorků probíhá pomocí oplachového roztoku v sáčku, ve kterém je vzorek promnut tak, aby celá biomasa přešla do suspenze. Počet vitálních bakterií se zjistí prostřednictvím diluční metody v agaru. Oplachová suspenze se odebere přesně rozředí desetinnou řadou a zalije agarem v Petriho miskách, které jsou následně inkubovány 24 h. Narostlé bakterie jsou automaticky či manuálně počítány v jednotkách KTJ. Fotokatalytická antibakteriální aktivita (ΔR) může být vyhodnocena dle rovnice (2.6.1), kde koeficient L značí průměrný počet životaschopných bakterií na fotokatalyticky neošetřeném (B_L) a ošetřeném (C_L) vzorku po osvětlení a koeficient D značí ty samé vzorky uchovávané ve tmě.

$$\Delta R = \log\left(\frac{B_L}{C_L}\right) - \log\left(\frac{B_D}{C_D}\right) \quad (2.6.1)$$

Téměř stejný postup je aplikován u metody ISO 17094:2014 [73] popisující stanovení antibakteriální účinnosti polovodičů při pokojovém osvětlení. Rozdíl je především ve zdroji záření (je navíc použit filtr pohlcující UV vlnové délky specifikovaný v normě

ISO 14605:2013 [74]). Jiným přístupem je měření suspenzí v časových intervalech, které Synnott a kol. [75] aplikovali na stanovení fotokatalytické účinnosti nanočástic ZnS v suspenzi bakteriálního kmene při pokojovém osvětlení. Jejich testování potvrdilo, že zmíněný materiál má jisté baktericidní vlastnosti i bez ozařování (NP o průměru 4 nm).

2.6.2 Hodnocení antialgální účinnosti

Pro posouzení biocidního efektu materiálu vůči řasám se provádějí testy antialgální účinnosti. Pro nátěrové hmoty je určena například česká technická norma s označením ČSN EN 15458 [76]. Zabývá se testováním konzervačních prostředků v nátěrech proti působení řas. Nátěr na substrátu je umístěn na agar a inkubován se suspenzí řas, přičemž antialgální aktivita je hodnocena počtem výsledných vitálních buněk řas.

Pro stanovení této aktivity u fotokatalytických materiálů je určena norma ISO 19635:2016 [77]. Jako testovaný organický materiál je použita zelená řasa *Chlorella vulgaris*, která se kultivuje na šikmém agaru a posléze v přesně definovaném roztoku média za přísunu světla a vzduchu. Přesná koncentrace řasových buněk se určí absorbcí a několikanásobnou centrifugací roztoku. Vzorke polovodičových fotokatalytických materiálů a vzorky bez fotoaktivní úpravy jsou inokulovány připravenou suspenzí řas, zakryty tenkou folií a v nádobách s kontrolovanou vlhkostí osvěcovány pod UV zdrojem při intenzitě $1 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ a teplotě 25°C . Antialgální aktivita (v %) je určena měřením absorpčního spektra chlorofylu testovaných řas po oplachu vzorků oplachovým roztokem (včetně krycí folie, doporučeno očištění zubním kartáčkem od biomasy) a odečtem hodnot pro vzorky umístěné ve tmě a vzorky bez fotokatalytické úpravy.

Běžně používaná metoda posouzení vitálnosti buněk fototrofních mikroorganismů je též fluorescenční (především fluorometrie pulzní amplitudovou modulací, PAM), která je založená na sledování fluorescence chlorofylu [78]. Molekuly chlorofylu *a* absorbují dopadající záření a po částečné spotřebě energie na fotochemické procesy zpět emitují část ve formě záření s větší vlnovou délkou (fluorescence). Zbývající část energie přejde na teplo. Pro měření přenosu energie redoxními systémy (fotosyntetický aparát) buňky se používá metoda saturačních pulzů. Metoda je založena na předpokladu, že tepelné vyzářování je pomalejší proces než fotochemická a fluorescenční odezva. Aby mohla být měřena fluorescence, je nutno ještě potlačit fotochemickou deexcitaci. Toho lze docílit krátkým, ale intenzivním zábleskem, který zajistí saturaci fotosystému II (proteinový komplex účastnící se fotosyntézy) a dočasně zastaví transport elektronů, které nepřijímají další excitační energii. Vyhodnocení probíhá pomocí základního flu-

orescenci poměru též označovaného jako efektivní kvantový výtěžek QY (rovnice 2.6.2), který reprezentuje míru poškození či snížení funkce reakčních center fotosyntému II. Zdravé, nestresované fotosyntetizující organismy mají QY až 0,83, po negativním ovlivnění fotosyntetizujícího aparátu dochází ke snižování hodnoty k nule.

$$QY = \frac{F_V}{F_M} = \frac{(F_M - F_0)}{F_M} \quad (2.6.2)$$

F_V v rovnici (2.6.2) představuje variabilní fluorescenci (okamžitou, sníženou o počáteční fluorescenci F_0) a F_M maximální fluorescenci získanou po krátkém saturačním ozáření. F_0 se získá ozářením organismu (v tomto případě řas), který byl předem uzavřen do tmy, velmi malou intenzitou světla, při které nedochází k transportu elektronů a fluorescence není ovlivněná kapacitou fotosyntetizujícího aparátu [79, 80].

2.6.3 Hodnocení antifungální účinnosti

Pro fotokatalyticky aktivní nátěry je vhodné testování též fungicidní aktivity, která určí, zdali je materiál účinný proti působení plísní a likviduje jejich spory. Zatím jedinou normou ISO pro stanovení antifungální aktivity FTK je 13125:2013 [81]. Standardizovaná metoda je založena na inaktivaci suspenze spor plísní při ozařování UV. Spory jsou následně kultivovány na pevném médiu a obdobně jako u antibakteriálního testu jsou počítány kolonie buněk spor. Jako standardní druh plísně se používá *Aspergillus niger* a *Penicillium pinophilum*. Antifungální aktivita se zjišťuje z rozdílu fotokatalyticky ošetřeného vzorku a neošetřené kontroly (po odečtu působení materiálu ve tmě).

2.6.4 Hodnocení antivirální účinnosti

Fotokatalyzátory lze v poslední řadě testovat také na účinnost v usmrcování virů. Například Zhang a kol. [82] nedávno testovali dezinfekční účinky fotokatalyticky aktivního hybridního materiálu na lidský adenovirus. Spojení kyslíkem dopovaného karbon nitridu s uhlíkem z hydrotermální karbonace kompletně inaktivovalo virus do 120 min osvitů UV zářením.

Normovaná metoda ISO 18061:2014 [83] slouží pro stanovení antivirální aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů a jako testovaný organismus se je použit bakteriofág Q-beta (nepatogenní virus, slouží jako model chřipkových virů).

3 Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

- AEROXIDE TiO₂ P25 (Evonik) – práškový TiO₂, specifická plocha 35-65 m²/g
- TiO₂ disperze (Tronox): CristalACTiV™ PC-S7 (pH=8,5); CristalACTiV™ S5-300B (pH=11); CristalACTiV™ S5-300A (pH=1)
- nZ-BOCH 01 (Bochemie) – práškový ZnO, velikost částic 21-23 nm (primárních 10-11 nm), velikost specifického povrchu 90-110 m²/g
- ZnO disperze: Zinc oxide, dispersion (Sigma-Aldrich) – 20 hm.%, prům. velikost částic <40 nm; nZ-BOCH 202 (Bochemie) – 35 hm.%, velikost částic 30-40 nm, 33 hm. % disperzantů, (pH=10)
- Balclean (Barvy a laky Teluria)
- Methylenová modř (FUNCHEM)
- COL.9® (BASF) – akrylátové nanokompozitní pojivo
- Silikonové NAPOUŠTĚDLO (Lučební závody Kolín) - Lešticí přípravek s hydrofobním účinkem
- Lukofob KLASIK (Lučební závody Kolín) – Silikonový hydrofobizační přípravek
- Lukofob ELX (Lučební závody Kolín) – Silikonový hydrofobizační přípravek
- Bindzil CC301 (Akzonobel) - koloidní silika, 29 hm.% SiO₂
- Pastovitá omítka BARLET silikon (Barvy a laky)
- (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES) 99% (Sigma-Aldrich)
- Dusičnan stříbrný P.A. (Lach-Ner)
- Dihydrát citrátu sodného: Sodium citrate dihydrate (Sigma-Aldrich)
- Hydroxid sodný č. (FUNCHEM)
- Chelaton III (Lach-Ner) - dihydrát disodné soli kys. ethylendiamintetraoctové
- TRYPTONE SOYA BROTH (Oxoid Microbiology Products) – kaseinové kulturační médium ze sojových bobů
- Nutrient Agar (HiMedia)
- PCA (Plate count agar), bez dextrozy (Bio-Rad)
- Kultury pro antibakteriální testy od CCM (Česká sbírka mikroorganismů)
- Kultury pro antialgální testy od CCALA (Culture collection of Autotrophic Organisms)

3.2 Použitá zařízení

- Kádinkový fotoreaktor (Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR) – zdroj: fluorescent BLB (blacklight blue) lamp Philips 8 W, převážně UV-A 365 nm (dle ISO10677:2011 [36]), délka 300 mm, prům. 16mm; pro antimikrobiální testy též širokospektrální UV/VIS zářivka AQUA-GLO T5 8W, hlavní pík ve fialové oblasti, 300 mm, prům. 16mm)
- XX-15BLB Blak-Ray® UV Bench Lamp (UVP) – UV lampa (365 nm pík, 15 W, 230 V)
- UV/VIS spektrofotometr DR3900 (HACH LANGE) – Rozsah fotometrického měření: $\pm 3,0$ Abs, rozsah vlnových délek: 340 - 900 nm, + kyvety 1,5 ml semimicro – 12,5x12,5x45mm (Ps BRAND GMBH)
- Handy FluorCam FC 1000-H (PSI) – PAM fluorimetr
- AquaPen AP-C 100 (PSI) – kapesní fluorimetr
- InoLab pH 720 (WTW) – laboratorní pH/mV-metr
- Pocket pH-Meter ad 110 – kapesní pH metr
- ZETASIZER Nano-ZS (Malvern Panalytical) – distribuce velikosti částic
- EDS Oxford X-Max20 – energiově-disperzní spektroskop pro analýzu lokálního chemického složení
- Thermo Scientific Nicolet iS10 FTIR Spectrometer – infračervený spektrometr s Fourierovskou transformací
- RSM-04-H Magnetická míchacka s ohřevem (Phoenix Instrument)
- SK-O330-Pro (DLAB) – digitální orbitální třepačka
- Laboratorní ultrazvuková vana K-18LM (Kraintek) – nerezová, mech. ovládání
- Sonopuls mini 20 (Bandelin) – homogenizátor ultrazvukový
- Microjet (Enbio) – laboratorní autokláv (teplota sterilizace 135°C, čas 7-12,5 min)
- CLASSIC Vortex Mixer (VELP Scientifica)
- Denzitometr McFarland DEN-1B (Biosan)
- Laminar-flow cabinet H120 (Alpina)
- UM100 Broedstoof (Mettler) – laboratorní inkubátor
- Centrifuga MiniSpin® (Eppendorf)

3.3 Příprava fotokatalyticky aktivních suspenzí

Pro přípravu suspenze byl použit nanoprášek TiO_2 (AEROXIDE TiO_2 P25, Evonik). 1 g (1 hm. %) TiO_2 byl přidán do 100 ml destilované vody a následně homogenizován použitím různých metod (ruční míchání, magnetická míchačka, UZ lázeň, UZ homogenizátor). Stejný postup byl aplikován v případě nanoprášku ZnO (nZ-BOCH 01, Bochemie) a později též při přípravě 1 hm. % disperzí z komerčních produktů CristalACTiV (TiO_2 NP), nZ-BOCH 01 (ZnO NP) a ZnO od Sigma Aldrich.

Pro povrchovou modifikaci nanočástic oxidu zinečnatého byl vybrán běžně používaný tenzid (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES). Vycházeno bylo z postupu uvedeného v práci Grasseta a kol. [29]. 1,5 g prášku ZnO NP bylo dispergováno v 50 ml destilované vody a disperze byla homogenizována pomocí ultrazvuku 5 min při 20 kHz. Suspenze byla dále míchána na magnetické míchačce po dobu 1 h, během které bylo upraveno pH na 6,5 přidávkem kyseliny dusičné. Po 1 h míchání byl přidán 1 ml APTES, čímž vzrostlo pH po ustálení na hodnotu 9,0. Suspenze byla dalších 24 h ponechána na míchačce za laboratorních podmínek. Následně byly nanočástice přefiltrovány, promyty etanolem a sušeny cca 16 h při 60 °C.

Připravené suspenze oxidů byly obohaceny přidávkem níže specifikovaných nanočástic stříbra a vybraným, komerčně dostupným pojivem na bázi silikonu v různých poměrech jednotlivých složek.

3.4 Příprava koloidních částic stříbra

Syntéza částic kovového stříbra byla provedena třemi způsoby.

3.4.1 Redukce citronanem sodným

Koloidní roztok stříbra byl připraven redukcí citrátem sodným (citronan trisodný) z dusičnanu stříbrného. Dusičnan stříbrný byl navážen (17 mg) do kádinky a rozpuštěn ve 100 ml destilované vody. Roztok ($c(\text{AgNO}_3) = 1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) byl za stálého míchání přiveden k varu a postupně k němu byl přikapáván roztok citrátu sodného připravený rozpuštěním 34 mg $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v 5 ml H_2O ($c(\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) = 2,3 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Po zbarvení do žlutohněda se roztok nechal zchladit.

3.4.2 Redukce chelatonem III

Druhým způsobem přípravy koloidního roztoku nanostříbra byl obdobný postup – redukcí chelatonem III (dihydrát disodné soli kyseliny ethylendiamintetraocto-

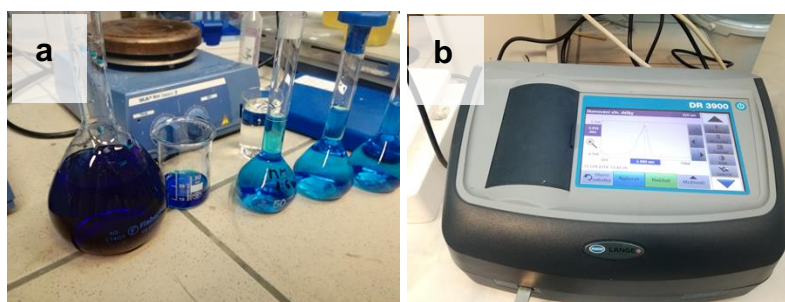
vé) vycházející z literatury [26, 27]. Pro přípravu koloidního roztoku stříbrných částic byly nejprve vytvořeny zásobní roztoky AgNO_3 (70 mg v 3,8 ml destilované H_2O), NaOH (63 mg v 2 ml H_2O) a Chelatonu III (23 mg v 2 ml H_2O). 385 ml destilované vody bylo přivedeno k varu pod zpětným chladičem a poté bylo ze zásobních roztoků přidáno 268 μl chelatonu III ($c(\text{chelaton III}) = 1,64 \times 10^{-4}$), 89 μl NaOH ($c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) a 485 μl dusičnanu ($c(\text{AgNO}_3) = 2,60 \times 10^{-2}$). Roztok byl refluxován po dobu 15 minut a poté postupně zchlazen. Výsledný koloidní roztok chelatonem modifikovaných nanočástic stříbra (chAg) byl nažloutlé barvy.

3.4.3 Fotoredukce

Fotoredukce stříbra byla testována přidáváním 0,1 g práškového TiO_2 (P25) do 10 ml roztoku AgNO_3 o různé koncentraci (výchozí $1 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ byla postupně snižována). Později byla testována též fotoredukce stříbra přidáním AgNO_3 k 1% suspenzi ZnO . Vzorke suspenzí byly umístěny pod zdroj UV záření (BLB zářivka) a po uplynutí 10 minut odstaveny.

3.5 Hodnocení fotokatalytické aktivity rozkladem MM

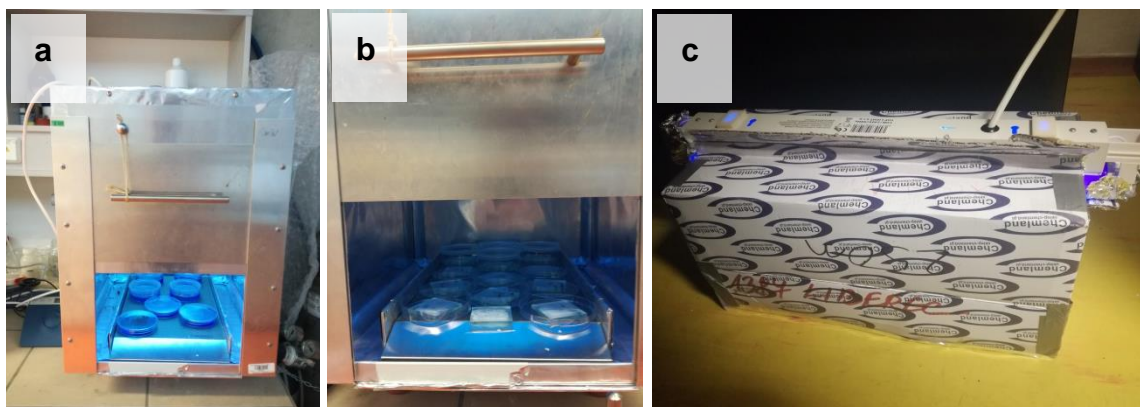
Pro měření fotokatalytické aktivity nanosených suspenzí bylo vycházeno z normy ISO 10678:2010 [38] určené pro měření účinnosti hladkých povrchů rozkladem methylenové modři. Postup byl přizpůsoben potřebám experimentu a podmínkám v laboratoři. Nejprve byl připraven pro každý experiment čerstvý zásobní roztok methylenové modři rozpuštěním 0,035 g MM ve 100 ml destilované vody, ze kterého bylo odebráno a do 50 ml doředěno množství (10 ml) zajišťující výchozí absorbanci MM kolem jedné. Pro různé koncentrace MM bylo nejprve změřeno absorpční spektrum (patrné z Obrázku 20b a Grafu 6) s cílem ověření absorpčního maxima použité látky a porovnání s literaturou, která běžně uvádí $\lambda_{\text{max}} = 665 \text{ nm}$. Koncentrace testovacího roztoku byla stanovena na $c(\text{MM}) = 2,188 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 20: (a) Roztoky methylenové modři. (b) UV/VIS spektrofotometr s naměřeným absorpčním spektrem MM.

Na předem očištěná matná sklíčka 5×5 cm byly v duplikátech naneseny testované vzorky připravených nanočásticových suspenzí (100 μ l). Tyto vzorky byly dostatečně vysušeny a za účelem aktivace a očištění FTK umístěny na 12 h do osvitového testovacího boxu (kádinkový fotoreaktor, viz Obrázek 21a a 21b) pod UV zářivky nastavené tak, aby ve výšce vzorku byla intenzita $E = 1 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Sklička byla poté umístěna do Petriho misek a zalita 50 ml připraveného testovacího roztoku MM. Z testovacího roztoku bylo ihned odebráno 800 μ l do kyvety pro změření absorbance (UV/VIS spektrofotometr, 665 nm, nulování vůči čisté destilované vodě) a odebrané množství bylo vráceno zpět do misky pro zachování původního objemu. Vzorky byly zakryty plastovým, UV propustným víčkem (ochrana před odpařováním roztoku) z čírého polystyrenu (PS) a umístěny do boxu bez přístupu světla na 12 hodin za účelem došlo adsorpce barviva na povrch natřené vrstvy před jejím aktivováním. Po uplynutí této doby byla opět změřena výchozí absorbance a byl zapnut UV osvit (intenzita záření 1 mWcm^{-2}). V krátkých časových intervalech 20 min byl ze vzorků opakovaně odebírán roztok, byla změřena absorbance a roztok byl opět vrácen ke vzorkům. Intervalů i celková doba osvitů byly dle potřeby prodlouženy. Hodnoty absorbance byly zapisovány vždy ve dvou po sobě jdoucích měření pro každý vzorek v každém čase, ze kterých byl později vypočítán průměr. Data byla zpracována formou rozdílu okamžité A a počáteční A_0 absorbance.



Obrázek 21: (a) Osvitový kádinkový fotoreaktor při testování rozkladu MM. (b) Natřené vzorky testovaných fotokatalytických suspenzí aktivované UV osvit. (c) Sestavený provozní osvitový box.

Současně bylo provedeno několik pouze kvalitativních okometrických testů, které spočívaly v nanesení testované fotoaktivní suspenze na substrát a umístění vzorku společně s kontrolou do nádoby s roztokem MM. Nádoby byly umístěny pod sestavený osvitový box (viz Obr. 21c) a bylo sledováno odbarvení roztoku vzorku vůči kontrole.

3.6 Hodnocení antialgální účinnosti

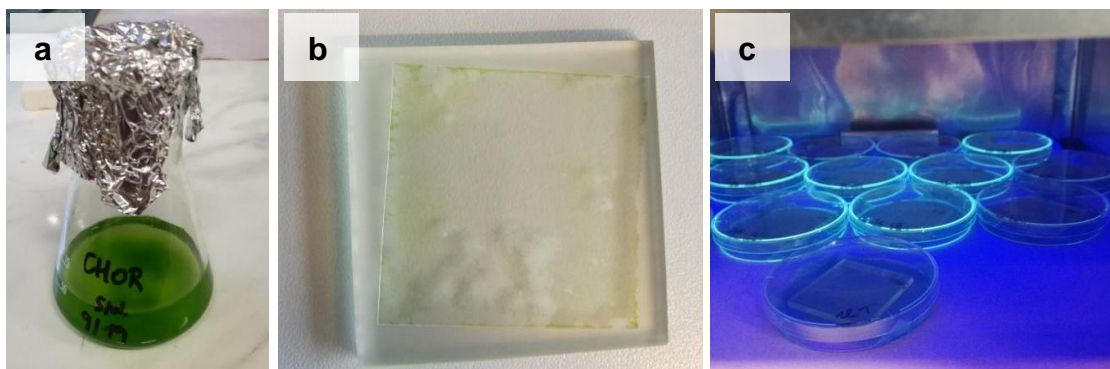
K posouzení antialgálních vlastností bylo provedeno testování orientační – okometrické a testování kvantitativní – měření fluorescence chlorofylu řas vystavených stresu na nanesených suspenzích.

Okometrický test fotokatalytického rozkladu zelených řas na deponované vrstvě připravené suspenze byl prováděn na travertinovém substrátu. Předem připravené řasové inokulum obsahující kmeny J201 *Interfilum terricola* a J302 *Klebsormidium flaccidum* převedené do tekutého média bylo nanášeno na obroušené a očištěné kvádry travertinu (5 × 5 × 1 cm), ošetřené vybranou připravenou suspenzí (Obrázek 22a, 22b). Inokulum bylo připraveno na základě dřívější analýzy řasových kultur přirozeně se vyskytujících na tomto typu substrátu (vzorky z katedrály Nanebevzetí Panny Marie a svatého Štěpána a Ladislava v Záhřebu). Některé kvádry byly předem rozděleny na kvadranty (Obrázek 22c) a ošetřeny byly pouze dva protilehlé na diagonále. Kontrolní plochy byly ponechány bez nátěru. Tekuté médium s biomasou řas o objemu 5 ml bylo po zaschnutí suspenze nanášeno na travertin a přiklopeno tenkou světlo propustnou fólií (4,5 × 4,5 cm) zajišťující rovnoměrné rozprostření řas na povrchu substrátu a ochranu před vysoušením tekuté biomasy. Takto nanášené vzorky byly umístěny do Petriho misek z části naplněných vodou a zakryty průhledným obalem (PS víčko, fólie), čímž bylo zajištěno dostatečně vlhké prostředí pro růst řas. Některé kvádry byly ponechány týden přirozenému světlu na parapetu a vybrané vzorky byly umístěny na týden do osvitové klimakomory pro zajištění stabilnějších podmínek (23 °C, 75 % vlhkost, UV a bílá zářivka pro podporu růstu bakterií, intenzita UV záření na úrovni běžného denního osvětlení).



Obrázek 22: (a) Na travertin nanášené testované fotokatalyticky aktivní suspenze. (b) Ošetřené kvádry s řasovým inokulem a fólií. (c) Ošetřený kvádr rozdělený na kvadranty.

Postup kvantitativního stanovení algicidní účinnosti vycházel z normy ISO 19635:2016 [77] upravené pro snadnější a rychlejší vyhodnocení prostřednictvím fluorimetrie s pulzně amplitudovou modulací (PAM). Na předem očištěná (omytá vodou, odmaštěná jarem a usušená proudem vzduchu) sklíčka 5 × 5 cm byly nanесeny vzorky testovaných suspenzí (100 µl) a ponechány přes noc dostatečně oschnout. Před testováním byly vzorky hodinu osvětčovány pod UV lampou z důvodu aktivování a očištění natřené vrstvy. K hodnocení algicidní účinnosti byl použit předpisový kmen z pražské sbírky řas (CCALA) – H1955 *Chlorella vulgaris*. Řasová kultura byla již předem převedena do roztoku (Obrázek 23a) a udržována na třepačce při laboratorních podmínkách. Byla změřena hustota roztoku (kapesní fluorimetr, při 680 nm), který byl následně zahuštěn centrifugací (odebráno 12 × 1,5 ml do mikrozkušavek, 30 s při 500 ot/min) na požadovanou koncentraci $7 \cdot 10^8$ KTJ·ml⁻¹. Na připravenou sklíčku se vzorky bylo přeneseno 40 µl zahuštěného média, jenž bylo bezprostředně zakryto fólií tak, aby nikde nezůstaly vzduchové bubliny a řasy byly rovnoměrně distribuovány po povrchu (Obrázek 23b). Sklíčka byla umístěna do kultivačních misek na navlhčený ubrousek zabraňující vysoušení inokula, zakryta PS víčkem a umístěna do fotoreaktoru (Obrázek 23c, 2 bílé AQUA-GLO a 2 UV BLB zářivky, celková intenzita 1 mW·cm⁻²).



Obrázek 23: (a) *Chlorella vulgaris* v tekutém médiu používaná k testování algicidních účinků. (b) Sklíčko s nanesenou suspenzí a řasovým inokulem. (c) Vzorky ve fotoreaktoru.

Od každé testované suspenze bylo připraveno několik vzorků současně s kontrolami čistých sklíček, přičemž každý byl vystavený UV osvětlení po jiný časový interval (např. 3 sklíčka pro osvit 10 min 3 sklíčka pro osvit 1 h, atd.) pro vyhodnocení časové závislosti životaschopnosti buněk řasy. Po uplynutí dané doby vystavení řas stresu z osvětlení byly vzorky vždy vyndány z boxu a umístěny na deset minut do tmy (kvůli zregenerování fotosyntetického aparátu) před měřením algicidní aktivity pomocí laboratorního PAM fluorimetru. Přístroj FluorCam byl nastaven dle vhodného protokolu pro experi-

ment, který měří základní parametry F_0 , F_M a počítá z nich hodnotu QY_{max} podle rovnice (2.6.2). Tato hodnota byla zaznamenána pro každý vzorek s časem expozice v osvitové komoře.

3.7 Hodnocení antibakteriální účinnosti

Pro antibakteriální testy byly použity kolonie bakterií od CCM 7929 *Escherichia coli*. Nejprve byla kultura z disku oživena ve 100 ml SOY bujónu (24 h v inkubátoru při 37 °C) a následně uskladněna přenesením na tzv. korálky (ITEST KRYOBANKA B), které byly uchovávány několik měsíců v mrazicím boxu pro další testy (kultura z korálku vždy oživena v 10 ml SOY bujónu a 24 h inkubována při 37 °C). Příprava živného média a fyziologického roztoku (8,5 g·l⁻¹) probíhala navážením daného množství látky (např. 7 g Nutrient agaru, 5,25 g PCA) do sterilní skleněné DURAN lahve a rozpuštěním v 250 ml destilované vody. Lahve byly umístěny do autoklávu a rozeřtý agar a fyziologický roztok byl následně ponechán zchladnout na cca 50 °C před použitím. PCA agar byl rozlit do Petriho misek a po ztuhnutí využit k vyočkování inokula oživených bakterií. Očkování probíhalo ve formě křížového roztěru inokula kmene *E. coli* na tři agarové plotny sterilními jednorázovými kličkami. Petriho misky s inokulem byly umístěny dnem vzhůru do termostatu a opět kultivovány 48 h při 37 °C.

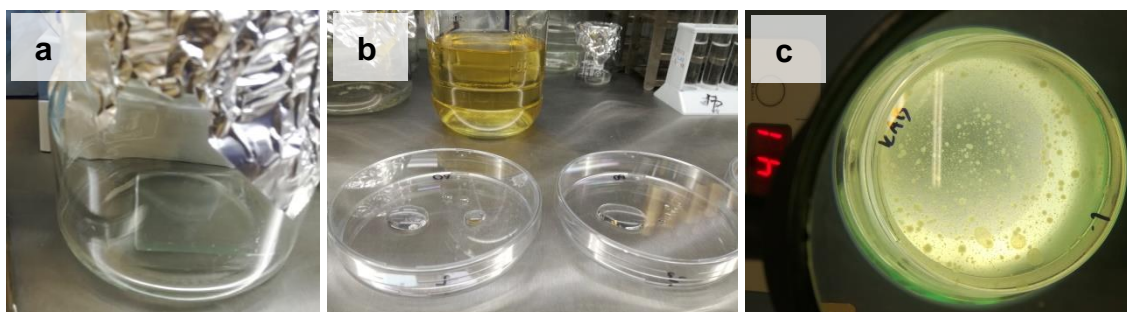
Pro samotné testování antibakteriální účinnosti byly suspenze nanášeny opět na očištěná sklíčka 5 × 5 cm a ponechány na vzduchu do zaschnutí případně osušeny proudem vzduchu. Z kultivovaného inokula na pevném agaru byly odebrány kolonie a rozpuštěny ve fyziologickém roztoku na přijatelnou hustotu určenou změřením zákalu (cca 1 stupeň Mc Farlanda), což dle operačního manuálu densitometru [84] odpovídá přibližně koncentraci 3.10⁸ KTJ·ml⁻¹). Pro stanovení baktericidní účinnosti byl vždy připraven ošetřený vzorek aktivní (osvětřovaný), ošetřený vzorek ve tmě (neosvětřovaný), kontrolní (neosvětřovaný) vzorek aktivní a kontrolní vzorek ve tmě (čistá sklíčka) a přímý oplach čistého sklíčka připraveným roztokem. Všechna sklíčka byla umístěna na navlhčený (1 ml demi. H₂O) kousek buničiny do Petriho misek. Na každý vzorek bylo pipetou nanášeno 150 µl připraveného tekutého, řádně rozmíchaného inokula bakteriálního kmene *E. coli* ve fyziologickém roztoku a jemně rozetřeno sterilní hokejkou. Zakryté misky s aktivními vzorky a kontrolami byly na 2 (4) hodiny umístěny do UV osvitového boxu (intenzita 0,25 mW·cm²), neaktivní vzorky byly na stejnou dobu umístěny do tmy. Po uplynutí stanovené doby byla aplikována oplachová metoda přenesení živých bakterií zpět do roztoku. Na diluční metodu pro každý vzorek bylo připraveno

5 sterilních zkumavek s 9 ml fyziologického roztoku. Zároveň bylo odebráno 10 ml fyz. roztoku do skleněných lahví s širokým hrdlem pro vytřepávání sklíček (viz Obrázek 24a). Sklíčko bylo vždy opláchnuto 1 ml odebraného roztoku z lahve, ponořeno dnem vzhůru do celého objemu a důkladně protřepáno pomocí Vortexu. Z 10 ml oplachového roztoku s bakteriemi byl odebrán 1 ml do první zkumavky s 9 ml čistého fyz. roztoku, obsah byl řádně promíchán a novou špičkou byl odebrán 1 ml a přenesen na sterilní kultivační misku. Stejnou špičkou byl odebrán další 1 ml a přenesen do vedlejší zkumavky s roztokem. Takto se postupovalo při desetinném ředění až do pátého stupně. Příslušné koncentrace bakterií z každého ředění jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Koncentrace bakterií v jednotlivých ředěních diluční metody

Označení ředění	Stupně McFarlanda (zákal)	Koncentrace bakteriálních buněk [KTJ/ml]
0 (základní inokulum)	1	$\sim 3 \times 10^8$
oplachový roztok (1,5:100)	0,1	$\sim 3 \times 10^6$
-1	0,01	$\sim 3 \times 10^5$
-2	0	$\sim 3 \times 10^4$
-3	0	$\sim 3 \times 10^3$
-4	0	$\sim 3 \times 10^2$
-5	0	$\sim 3 \times 10^1$

Odebrané roztoky z diluční řady na pěti kultivačních miskách (Obrázek 24b, ředění označené -1 až -5) byly přelity tekutým Nutrient agarem (cca 50°C) a rozmíchány krouživým pohybem. Po ztuhnutí agarů byly plotny umístěny dnem vzhůru do termostatu a inkubovány 48 h při teplotě 37,5 °C. Narostlé kolonie byly počítány ručně za pomoci počítačky kolonií (viz Obrázek 24c) a výsledky byly stanoveny jako počet kolonie tvořících jednotek (KTJ).

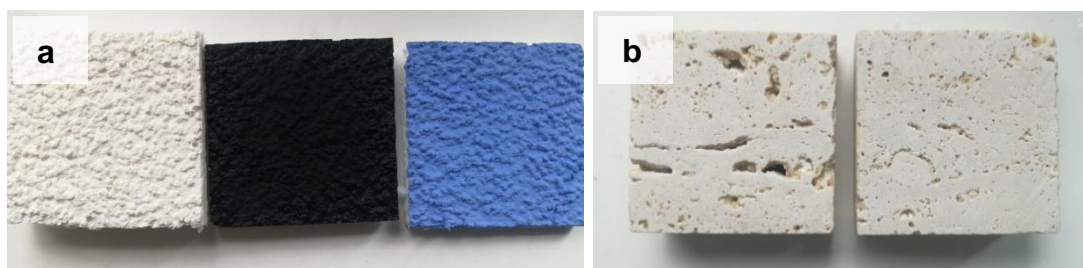


Obrázek 24: (a) Oplach bakterií fyziologickým roztokem ze sklíčka. (b) Bakteriální suspenze z diluční metody na kultivační misce před zalitím agarem. (c) Počítačka kolonií s Petriho miskou na agaru kultivovaných bakterií.

3.8 Aplikace připravených suspenzí

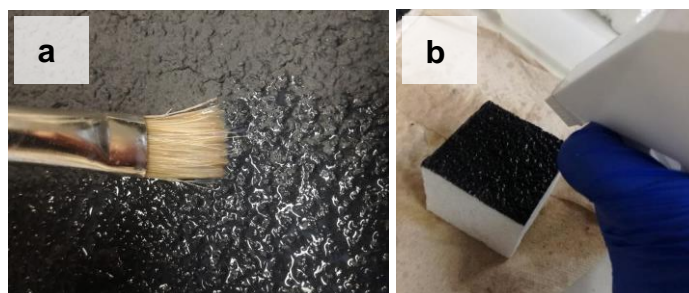
K simulaci nanášení výsledné nátěrové suspenze na venkovní stěny budov byly vybrány komerčně používané fasádní omítky nanesený na polystyrenové desky. Byly vybrány tři barvy omítky – bílá, světle modrá a černá (Obrázek 25a) – pro sledování vlivu připraveného fotokatalyticky aktivního nátěru na celkový vzhled. Vedle strukturálních omítek byl jako zástupce přírodních materiálů testován také travertin, přírodní hornina na bázi uhličitanu vápenatého (na rozdíl od vápence má pórovitý charakter) v podobě obroušených kvádrů 5 × 5 × 1 cm (Obrázek 25b).

Pro výběr vhodné penetrace jako mezivrstvy před nanesením připravené suspenze byl opět posuzován vliv přípravku na povrch substrátu. Po konzultaci s firmou bylo vybráno několik potenciálních přípravků: COL.9®, Silikonové NAPOUŠTĚDLO, Lukofob KLASIK, Lukofob ELX a Bindzil CC301.



Obrázek 25: (a) Vzorky natřené fasádní omítky, vyčištěné peroxidem vodíku. (b) Čisté broušené vzorky travertinu.

V praxi před samotnou aplikací fotoaktivního nátěru (včetně penetrace) je nutné venkovní fasády nejprve očistit. K tomu se využívá především tlakového čištění proudem vody následované aplikací čistícího přípravku. Pro simulování podmínek, kterým je fasáda ve výsledku vystavena, byly vzorky omývány pod proudem tekoucí vody a očištěny peroxidem vodíku. K testování vzorků na vybraných substrátech byl nejprve zvolen postup natírání štětcem (Obrázek 26a), nahrazen později za spray coating (nástřík penetrace i samotného fotokat. aktivního přípravku, Obrázek 26b).



Obrázek 26: (a) Nátěr vs. (b) postřík omítky připravenou fotoaktivní suspenzí.

4 Výsledky a diskuze

Experiment byl rozdělen na pět základních oblastí:

- volba fotokatalyticky aktivních materiálů a příprava nanočásticových suspenzí s ohledem na stabilitu
- příprava aditiv do suspenzí na bázi Ag a přídavek pojiva
- hodnocení fotokatalytické účinnosti – rozklad methylenové modři
- hodnocení antimikrobiální efektivity – antialgální a antibakteriální účinky
- hodnocení vlivu aplikace nátěru na vzhled substrátu, volba podkladové vrstvy

4.1 Příprava fotokatalyticky aktivních suspenzí

Důležitými parametry při hledání materiálu vhodného k použití jako fotokatalyticky aktivního finálního ochranného nátěru pro venkovní objekty (především fasády bytových domů) byly:

- použití vodného rozpouštědla za účelem snížení enviromentální zátěže a škodlivosti pro zdraví člověka,
- dobrá cenová dostupnost,
- snadná příprava (časová nenáročnost),
- transparentnost
- a především dostatečná antimikrobiální a fotokatalytická účinnost.

První fáze diplomové práce byla zaměřena na volbu vhodných vstupních materiálů pro přípravu koloidů. V literatuře jsou s fotokatalytickými jevy velmi často spojeny dva materiály – TiO_2 a ZnO (viz Kapitola 2.1). Oba tyto materiály by měly jevit obdobnou fotokatalytickou účinnost, jsou levné a snadno dostupné. Z těchto důvodů byly pro tuto práci zvoleny k testování suspenze založené na oxidu titaničitém ve formě anatasu a na oxidu zinečnatém. S ohledem na dostupnost a cenu byly postupně za účelem přípravy suspenzí testovány produkty uvedené v Tabulce 2.

Pro přípravu fotokatalytických suspenzí byl nejprve použit komerčně neznámější forma oxidu titaničitého nanoprášek P25, který byl dispergován v destilované vodě. Neefektivnější ze zmíněných homogenizačních metod (ruční míchání, magnetická míchačka, UZ lázeň, UZ homogenizátor) se u všech připravovaných suspenzí jeví využití ultrazvukových vln doprovázené mícháním na magnetické míchačce. Práškový TiO_2 však poměrně rychle sedimentoval a po přídavku pojiva (studováno dále v práci)

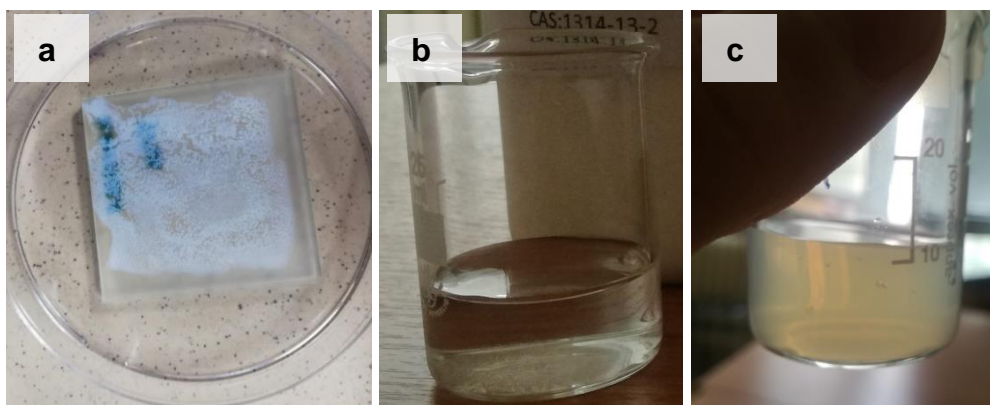
a nanesení na sklíčko docházelo k urychlení destabilizace suspenze a vysrážení částic (viz Obr. 27a).

Jako náhrada byl vybrán nanoprášek oxidu zinečnatého, který by měl být navíc potenciálně účinnější v otázce biocidního charakteru připravovaného ošetřujícího nátěru. ZnO ve formě nanoprášku je navíc dle průzkumu téměř o polovinu levnější než prášková forma anatasu (Sigma-Aldrich). Po procesu homogenizace však ZnO agregoval a sedimentoval ještě rychleji než TiO₂ i přes snahu stabilizace změnou pH. Bylo tedy přistoupeno k modifikaci nanočástic ZnO prostřednictvím APTES.

Tabulka 2: Přehled vyzkoušených druhů fotokatalyzátorů pro přípravu nátěrové suspenze.

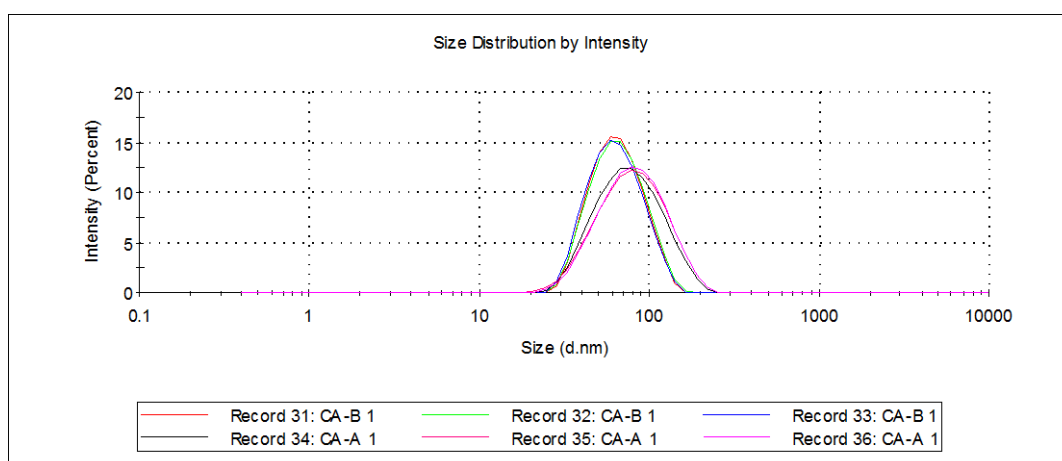
materiál/forma	prášek	disperze
TiO ₂	AEROXIDE TiO ₂ P25	CristalACTiV™ PC-S7
		CristalACTiV™ S5-300B
		CristalACTiV™ S5-300A
ZnO	nZ-BOCH 01	Zinc oxide, dispersion (SA)
		nZ-BOCH 202

Modifikovaný prášek APTES-ZnO byl znovu pomocí UZ homogenizátoru dispergován v destilované vodě. Na Obrázku 27b a 27c je porovnání obou disperzí nemodifikovaných a modifikovaných NP ZnO po 1 h od homogenizace. Jak je patrné, modifikované nanočástice oxidu zinečnatého vykazovaly významně vyšší stabilitu, jelikož použitý tenzid obalil částice a zabránil tak jejich agregaci.



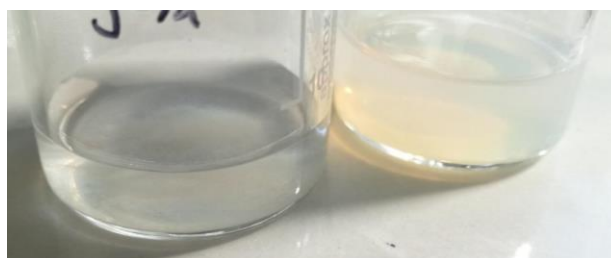
Obrázek 27: (a) Vysrážení TiO₂ NP z prášku na povrchu sklíčka. (b) Suspenze ZnO NP z prášku (nZ-BOCH 01) a (c) suspenze APTES-ZnO NP po 1 h od homogenizace.

Postup přípravy takto modifikovaných nanočástic je však náročný především časově a obzvláště při výrobě většího množství je proces neefektivní. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno k použití komerčně dostupných nanočásticových disperzí. Pro alternativu práškových nanočástic TiO_2 byly vybrány tři typy stabilizovaných nanočásticových disperzí s označením CristalACTiV™ od společnosti Tronox. Jednotlivé koloidy se lišily formou stabilizátorů a tím i hodnotou pH. Velikost částic TiO_2 v kyselějším (max intenzita pro poloměr 70 nm) a zásaditějším (maximum pro 60 nm) produktu byla stanovena metodou dynamického rozptylu světla (DLS) na přístroji ZETASIZER.

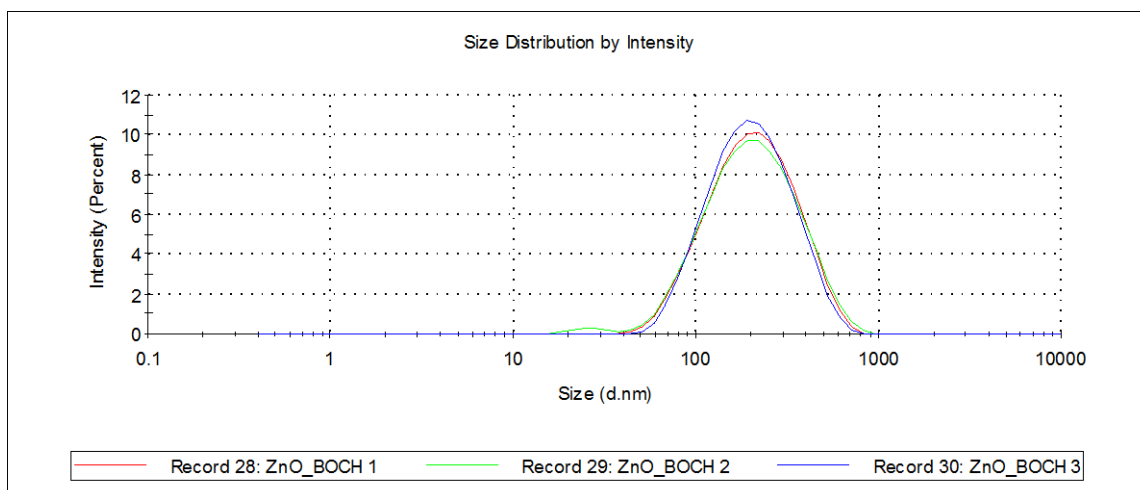


Graf 1: Distribuce částic disperzí CristalACTiV™ S5-300B (CA-B) a CristalACTiV™ S5-300A (CA-A)

Disperze oxidu zinečnatého uvedené v Tabulce 2 byly porovnávány z hlediska stability. Zatímco výrazně dražší disperze od Sigma-Aldrich po rozředění v demineralizované vodě (1 hm. %) sedimentovala již druhý den, disperze od společnosti Bochemie byla částečně stabilní ještě pátý den od rozředění a rozmíchání (stav disperzí druhý den viz Obrázek 28). Distribuce velikosti částic ředěné ZnO koloidní disperze nZ-BOCH 202 je uvedena na Grafu 2. Průměrná velikost částic činí 173 nm což je velký rozdíl oproti výrobcem udávaných 40 nm. Z grafu je slabě patrný pík v oblasti 28 nm, který by udávané hodnotě odpovídal, nicméně disperze obsahuje značnou část agregátů > 200 nm.



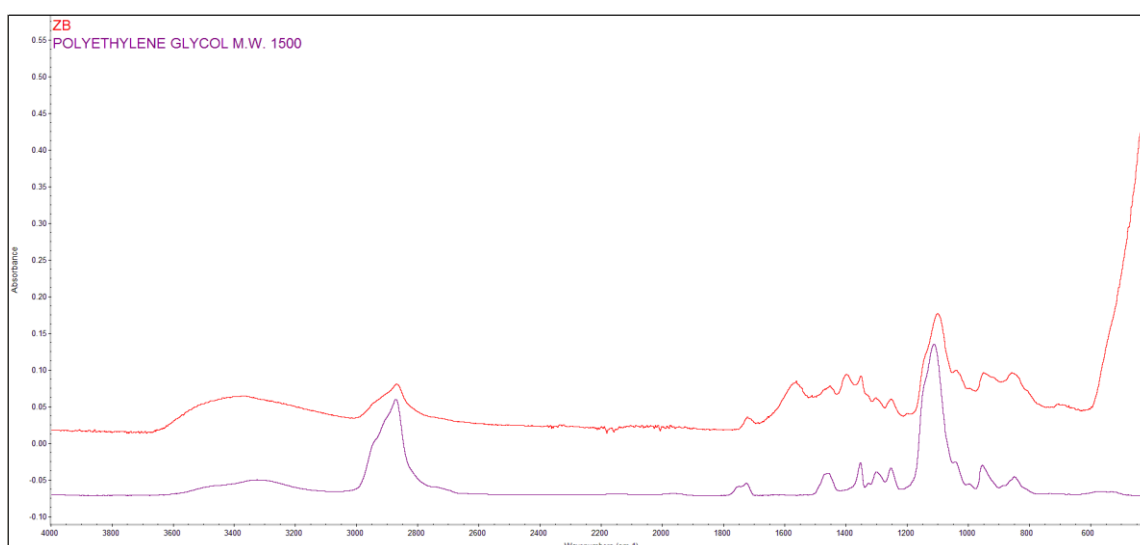
Obrázek 28: Porovnání stability dvou komerčních disperzí ZnO NP. Vlevo Zinc oxide, dispersion ; vpravo nZ-BOCH 202 druhý den od homogenizace



Graf 2: Distribuce částic v disperzi nZ-BOCH 202

Vlivem ředění může docházet k navolnění objemu polymerního stabilizátoru, který drží stabilní suspenzi v gelovité formě zhruba při 40% obsahu nanočástic. Prostřednictvím FTIR spektroskopie bylo potvrzeno, že jsou nanočástice stabilizovány polymerem, konkrétně na bázi polyethylenglykolu (PEG) jak je patrné z porovnání spekter v Grafu 3.

Některé disperze (ZnO) vykazovaly tixotropní charakter s hysterezí (viskozita klesá s rostoucí intenzitou míchání) a tudíž při nedostatečném rozmíchání či prudkém ředění disperze docházelo k destabilizaci. Bylo nutné zaměřit se na vhodnou metodu dispergace (jak již bylo zmíněno dříve). Postupným ředěním za konstantního mechanického míchání magnetickým míchadlem, přidávkem tenzidu či za využití UZ rázů, které zajistily rozbíjení nanočásticových koagulátů, byly získány stabilní vodné koloidy na bázi TiO_2 ve formě anatasu i ZnO.



Graf 3: FTIR spektrum vysušené koloidní disperze ZnO.

Zvolené výchozí koloidy (CristalACTiV a nZnO od Bochemie) byly postupně ředěny destilovanou vodou až na 1 hm. % podíl fotokatalyticky aktivní fáze v roztoku. Při této koncentraci byly nanočásticové suspenze lehce mléčně zbarvené. Po zaschnutí tvořily na substrátech bezbarvý transparentní film a vykazovaly fotokatalytickou aktivitu.

Všechny formy nanočásticových suspenzí byly testovány na schopnost degradace methylenové modři za účelem posouzení fotokatalytické aktivity a výběru nejvhodnějšího materiálu pro nátěrové aplikace (viz Kapitola 4.2.).

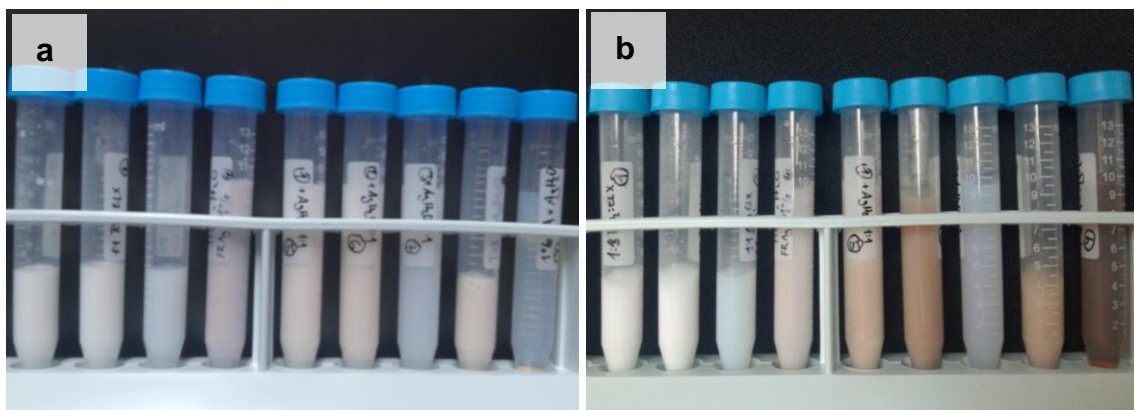
Jako referenční vzorek pro testování byl do experimentu zařazen také koloidní nátěrový systém Balclean [18] vyvinutý na TUL ve spolupráci s Akademií věd a firmou BARVY A LAKY TELURIA, s.r.o.

4.1.1 Aditivace stříbrem

Volba nanočástic stříbra za účelem dopování fotokatalyticky aktivní nátěrové suspenze byla učiněna z několika důvodů – jedná se o levný a běžně dostupný materiál (poměrně snadná výroba z prekursoru dusičnanu stříbrného), který disponuje biocidními, především antibakteriálními (dezinfekční prostředky) účinky. Přítomnost fotokatalyzátoru v kombinaci se stříbrem může vést ke zvýšení i fotokatalytické aktivity tím, že odebírá excitované elektrony a brání rekombinaci.

Na základě předchozích prací bylo zjištěno, že aditivace Ag NP ve formě prášku je nevhodné řešení [85]. Bylo proto přistoupeno k testování koloidního stříbra. Nejčastěji citovaným jednoduchým způsobem přípravy koloidního stříbra je redukce citrátem (citronanem) sodným, který po syntéze nanočástic zaujímá funkci stabilizační. Stabilizace citrátem sodným však není nejvhodnější, neboť slabé elektrostatické vazby mezi citrátem a kovovou nanočásticí jsou lehce rozrušitelné.

Koloidní stříbro stabilizované citrátem (cAg) bylo v prvotních pokusech aditivováno k práškové titance a TiO₂ disperzi CristalACTiV™ PC-S7 (CA). Přídavek cAg mírně hnědé barvy měl za následek (při dlouhodobém uskladnění (Obr. 29) či depozici suspenze na sklíčko (Obr. 30)) hnědnutí. Změna barvy značí nestabilitu koloidního roztoku (snadné přerušení vazby citrátu). Na Obrázku 29a jsou suspenze na bázi TiO₂/ELX, přičemž první čtyři zkumavky zleva jsou bez přídavku koloidního stříbra a zbylých pět je aditivováno cAg. Na Obrázku 29b jsou ty samé suspenze po 5 dnech ponechání v místnosti. Je patrné výrazné zhnědnutí vzorků obsahujících koloidní stříbro.



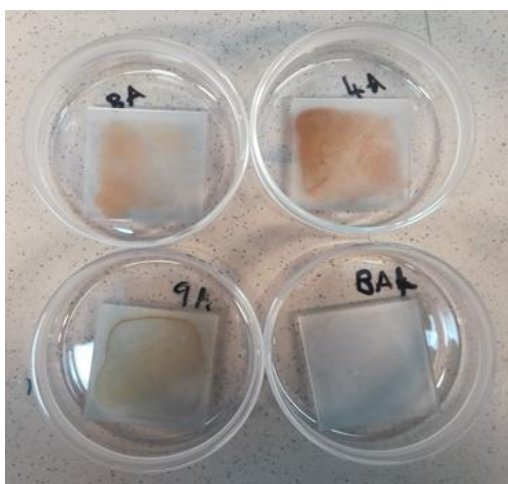
Obrázek 29: Přípravené TiO₂ suspenze aditivované stříbrem (a) v den přípravy a (b) 5. den uskladnění.

Vedle přidavku koloidního stříbra byla testována možnost fotoredukování stříbra přidavkem dusičnanu stříbrného k fotokatalyzátoru a ponecháním přístupu UV záření, které by mělo aktivovat fotokatalytické děje a redukovat jednomocné stříbro (oxidační stav +I) na kovové (ox. stav 0).

Později bylo zjištěno, že vzhledem k barvě suspenze, produkt, který vzniká jak v případě destabilizace koloidního cAg, tak v případě fotoredukce, může být oxid stříbrný. Ten snadno vzniká smísením dusičnanu stříbrného s libovolným hydroxidem rozpustným ve vodě (reakcí přes nestabilní hydroxid stříbrný) dle rovnice (4.1.1).

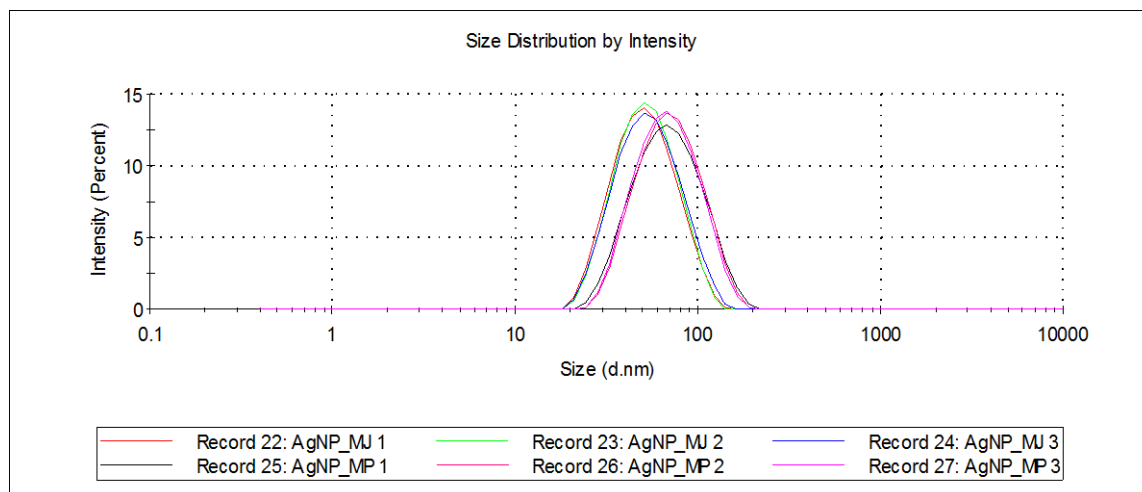


Sodné kationty jsou v koloidu přítomné z citrátu sodného a v suspenzi mohou být též díky přidavku ELX. Hydroxidy mohou být produkty fotokatalýzy, proto je přítomnost například právě tohoto hydroxidu sodného možná.



Obrázek 30: Hnědé zbarvení natřené suspenze s vysokou koncentrací koloidního stříbra.

Z výše zmíněných důvodů bylo přistoupeno k přidavku koloidního stříbra lépe stabilizovaného, tedy použitím chelatonu III. Distribuce velikosti částic koloidního stříbra stabilizovaného chelatonem III (chAg) je patrná z Grafu 4. V závislosti na jemné variaci podmínek při syntéze koloidů byly syntetizovány nanočástice stříbra o průměrné velikosti 44 nm a 60 nm.



Graf 4: Distribuce velikosti částic v připraveném koloidním roztoku chAg.

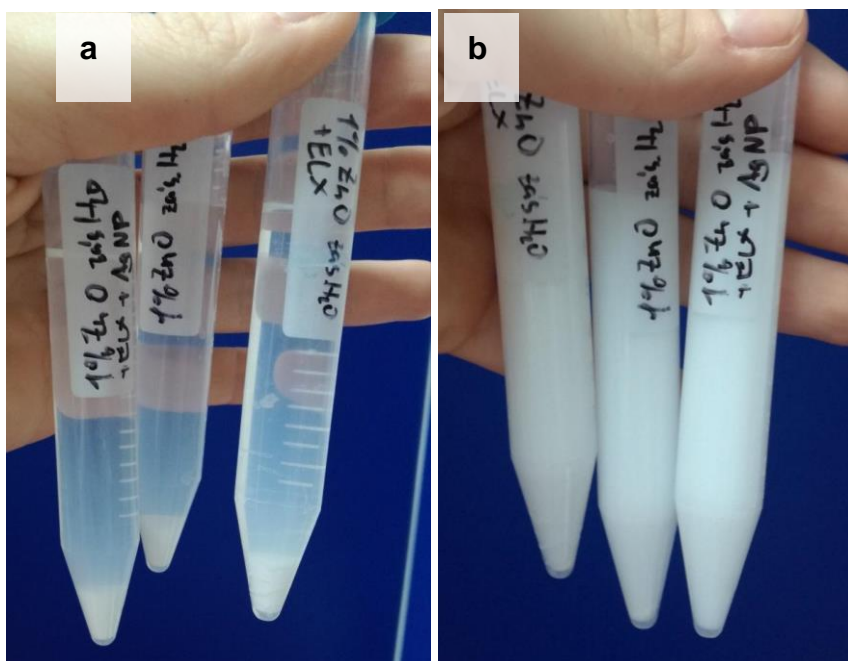
Přídavek chelatonem stabilizovaného koloidního stříbra nažloutlé barvy v následujících experimentech neměl za následek žádné výrazné změny zbarvení suspenzí.

4.1.2 Aditivace pojidlem

Použité fotokatalytické nanočástice by po zaschnutí suspenze nebyly k povrchu nijak fixovány a mohlo by docházet k jejich vymývání či odprašování. Z tohoto důvodu bylo žádoucí nalézt vhodné pojivo, které by částice po depozici fixovalo. Použité pojivo by mělo odolávat redoxním reakcím vyvolaným přítomným FTK, musí být dostatečně ředitelné vodou a vytvářet transparentní film, aby nenarušoval celou koncepci transparentního bezbarvého ošetřujícího nátěru. Hlavním ze sledovaných parametrů byla koncentrace pojivového aditiva. Koncentrace musí být optimální, aby pojivo zajistilo dostatečnou fixaci a zároveň aby nedocházelo k výraznému snížení fotokatalytické účinnosti suspenze. Vliv koncentrace přídavku pojiva na fotokatalytickou aktivitu je testován na rozkladu MM v následující Kapitole 4.2.

Po vyzkoušení několika komerčních pojidel, která lze využít též jako ošetřující penetrační nátěry (jemuž se věnuje kapitola 4.3.3) a která měla nežádoucí efekty na suspenzi (sklovatění nátěru, bělení, destabilizace), byl zvolen Lukofob ELX (vodná emulze silikonové pryskyřice). Po přidavku do koloidní disperze došlo postupně k destabilizaci roz-

toku v čase (viz Obrázek 31a), který však po protřepání působil opět homogenně (Obr. 31b). Z tohoto důvodu byl navrhnout dvousložkový systém, přičemž pojivo bude do nátěrové suspenze přidáváno vždy těsně před aplikací. Bylo otestováno, že v časovém úseku několika hodin, od rozmíchání (homogenizace) je systém dostatečně stabilní a po zaschnutí poskytuje dostatečnou fixaci (vliv vymývání na stabilitu deponované vrstvy viz následující podkapitola.)



Obrázek 31: Stabilita připravených suspenzí ZnO po přidavku ELX. (a) Připravené suspenze obsahující ELX po uskladnění. (b) Vzhled suspenzí po protřepání.

Posouzení stability deponované vrstvy vůči vymytí

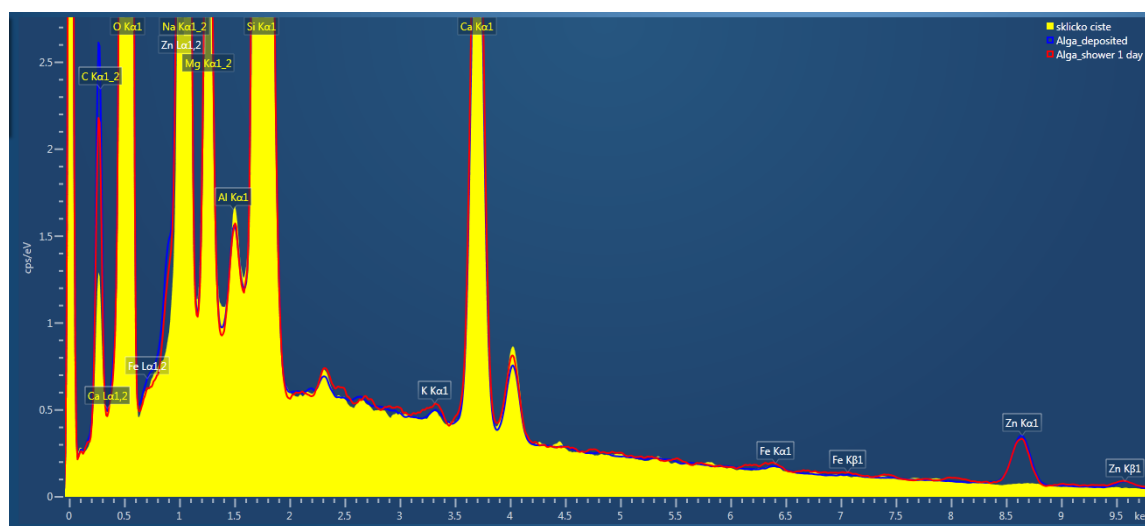
Odolnost nátěru suspenze vůči vymývání byla testována depozicí vrstvy 1%ZnO/10%ELX na sklíčko a nepřetržitým sprchováním po dobu 24 h. Vyhodnocena byla pomocí EDS.

V Grafu 5 jsou porovnána EDS spektra čistého skla (žluté), skla po nanesení fotokatalytické suspenze (modré) a téhož vzorku po 24 hodinovém oplachu pod tekoucí vodou (červené). Po nanesení je výrazný nárůst píku Zn (8,63 keV). Jak je patrné, po oplachu se pík Zn prakticky nezměnil, což značí velmi dobrou odolnost vrstvy vůči vymývání tekoucí vodou. V tabulce 3 jsou porovnány kvantitativní hodnoty počítané ze spekter. Hodnoty získané z vrstvy po sprchování jsou do tabulky zaneseny dvakrát, (pokaždé EDS z jiného místa). Z kvantitativních výsledků (v hm. %) je vidět jen zanedbatelný pokles koncentrace Zn. Mírný pokles koncentrace uhlíku může být zapříčiněn vymytím

organických reziduí tekoucí vodou anebo důsledkem fotokatalytického rozkladu surfaktantů (stabilizátorů koloidu) navázaných na nanočástice ZnO. Stopové prvky K a Fe představují nečistoty přítomné buď v chemických látkách (složení pojiva), případně z laboratorního nádobí.

Tabulka 3: Hodnocení odolnosti nátěru proti vymývání

Hm. %	C	O	Na	Mg	Al	Si	K	Ca	Fe	Zn	Total
Čisté sklo	3.44	46.23	9.49	2.49	0.30	32.13		5.93			100.00
Vrstva před	7.01	42.43	8.61	2.12	0.27	28.98	0.08	5.01	0.37	5.12	100.00
Vrstva po 1	5.39	43.37	8.72	2.23	0.28	29.91	0.08	5.51	0.17	4.33	100.00
Vrstva po 2	5.61	41.82	8.49	2.15	0.29	30.56	0.11	5.58	0.38	5.01	100.00

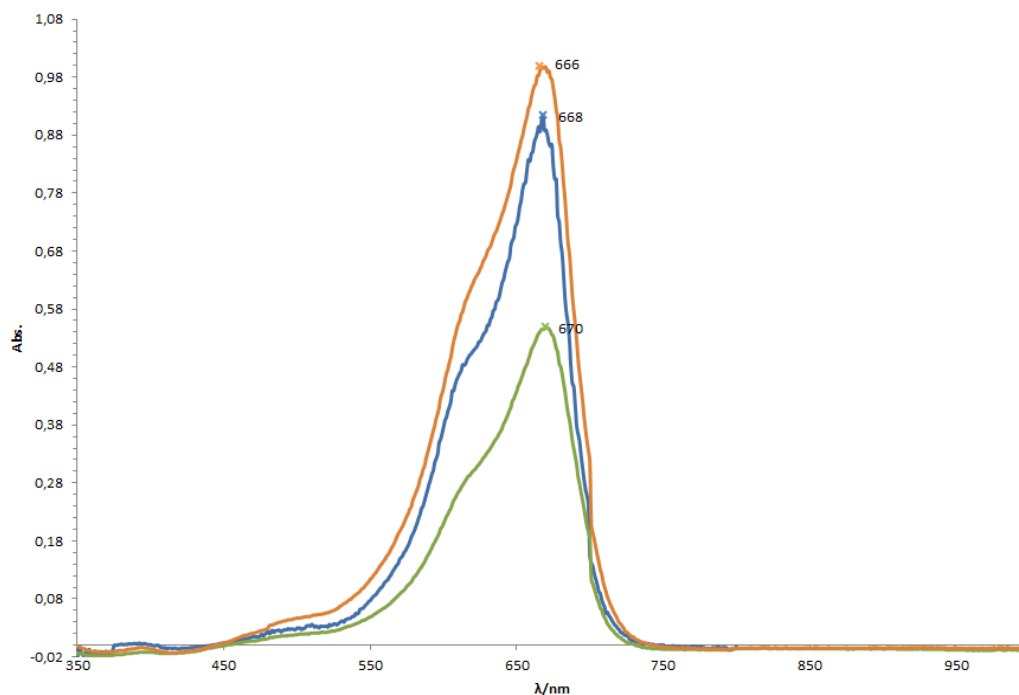


Graf 5: EDS spektrum čistého skla (žluté spektrum), na sklo deponované fotokatalytické vrstvy připravené suspenze (modrá čára) a stejné vrstvy po sprchování (červená čára).

4.2 Hodnocení fotokatalytické účinnosti rozkladem MM

Pro zjištění absorpčního maxima methylenové modři za účelem optimalizace měření absorbance vzorků na UV/VIS spektrofotometru a ověření funkčnosti přístroje bylo proměřeno absorpční spektrum pro několik různých koncentrací. Tři z nich jsou zobrazené v Grafu 6 a vycházejí z ředění zásobního roztoku MM 1:10, 1:6 a 1:5. Z grafu je patrné, že při absorbanci blížící se jedné je λ_{max} ve shodě s literaturou – nastavení vlnové délky při měření absorbance dle normy [38] je $\lambda = (664 \pm 5 \text{ nm})$.

Absorpční spektrum methylenové modři

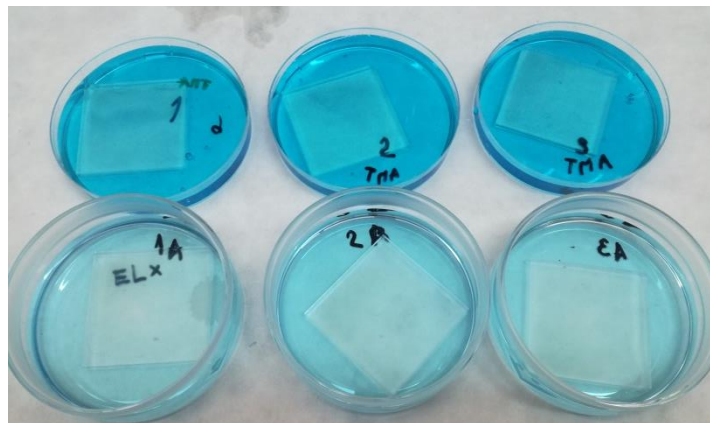


Graf 6: Závislost absorpce MM na vlnové délce, vybráno několik testovaných koncentrací ředěním výchozího roztoku (zelená 1:10, modrá 1:6, červená 1:5).

Všechny připravené suspenze na bázi TiO_2 a ZnO samotné či s přidavkem pojidla nebo koloidního stříbra byly testovány nejprve na fotokatalytickou aktivitu rozkladem barviva methylenové modři pod UV zářičem. Jako referenční vzorek byl současně testován přípravek Balclean. Byly provedeny též kontrolní testy, kdy vzorky nebyly vystaveny UV záření (viz Obrázek 32) a několik kontrol fotodegradace samotného roztoku MM. Příklad takových testů je uveden v Grafu 7. Z testování degradace MM důsledkem přírodního UV záření vyplynulo, že hodnoty absorpce z osvitů a kontrol ve tmě jsou stejné. Tím bylo ověřeno, že při použité vlnové délce zářiče nedochází k degradaci testovacího roztoku. V průběhu experimentů byla vybrána suspenze nejvíce vyhovující pro potřeby dané aplikace (samočisticí, ochranný, bezbarvý a fotokatalyticky aktivní nátěr), která byla dále testována vybranými antimikrobiálními metodami popsány v Kapitole 4.3. Tyto metody byly založené na účinnosti nanosených vrstev spočívající v hubení řas a bakterií.

Zvolená koncentrace testovacího roztoku v experimentech byla oproti ISO normě vyšší a také testovaný objem roztoku byl vzhledem ke koncepci experimentu větší, což zapříčinilo pozvolnější sledování odbarvování roztoků. Zvýšená koncentrace polutantu (zde MM) má za následek snížení efektivity jeho degradace vlivem zvýšené adsorpce mole-

kul na FTK. Molekuly barviva brání adsorpci OH^- , které iniciují fotokatalytický rozklad polutantu tvorbou reakčních forem kyslíku a volných radikálů. Navíc vyšší koncentrace barviva absorbuje více záření, a tudíž odebírá hnací energii fotokatalyzátoru [5]. Vzorčky tedy byly vystaveny výrazně větší zátěži.

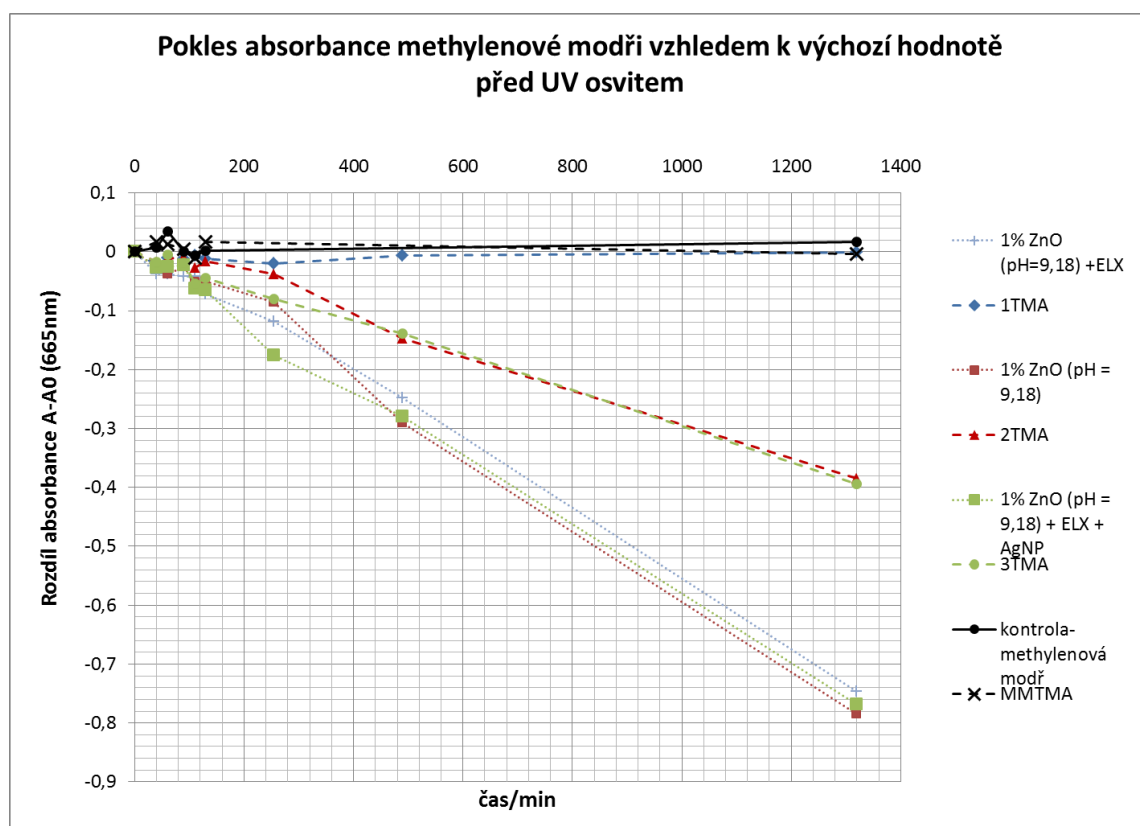


Obrázek 32: Porovnání testovaných suspenzí ZnO v průběhu osvitů (dole) s kontrolami uzavřenými ve tmě (nahore)

Bylo provedeno množství testů, které sloužily pro výběr a porovnávání připravovaných suspenzí mezi sebou a vzhledem ke zvolenému referenčnímu produktu Balclean. Přesných výpočtů dle normy zde není zapotřebí vzhledem k tomu, že porovnání slouží pouze pro účel této práce a neodkazuje se zde na hodnoty z publikované literatury. Výstupem jsou grafy, v nichž porovnání fotokatalytické účinnosti je vyjádřeno strmostí křivky poklesu absorbance MM vůči výchozí hodnotě v čase 0. Pokles absorbance je přímo úměrný úbytku koncentrace MM.

Nejprve byly testovány vzorky oxidu titaničitého (prášková forma a CA) s přísadkou koloidu cAg (který byl diskutován v Kapitole 4.1.1) nebo fotoredukovaného AgNO_3 . Nejhorší aktivitu vykazovaly suspenze založené na práškovém TiO_2 . Další testy proběhly s práškovým ZnO, který byl dispergován v zásaditém vodném prostředí. Zásadité prostředí zvyšuje adsorpci barviva MM na povrch FTK. Hodnocen byl vliv aditiv ELX a chAg na fotokatalytickou účinnost. Na Grafu 7 lze vedle kontroly degradace MM pod osvitom pozorovat též vliv přísadky pojiva na odbarvování roztoku. Methylenová modř je totiž známý indikátor redoxních reakcí v analytické chemii. V přítomnosti redukčního činidla přechází na bezbarvou formu LMM. Pojivo ELX tedy pravděpodobně obsahuje nějakou silně redukční složku. Z grafu je dále patrné, že čistý 1% ZnO a 1% ZnO/chAg/ELX mají velmi blízké hodnoty. Aditivovaná suspenze měla dokonce několik hodnot poklesu absorbance v kratším časovém úseku experimentu vyšších než

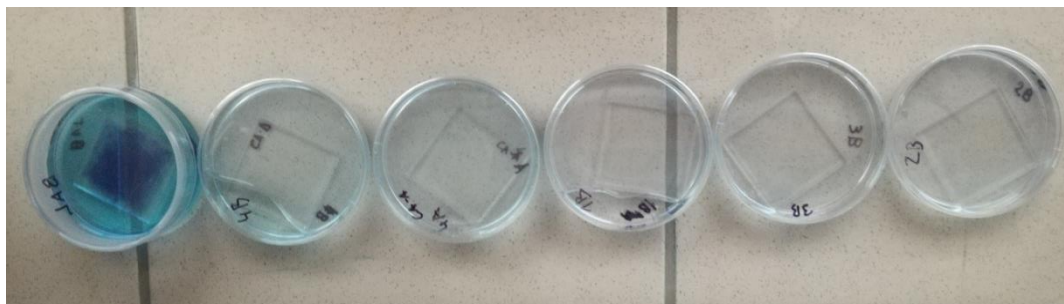
suspenze neaditivovaná. Vzhledem k porovnání zmíněných hodnot se suspenzí obsahující pouze přírůdek pojiva, u které byly hodnoty o něco horší, je možné, že stříbro kompenzuje negativní účinek pojiva v aditivované suspenzi. Tato skutečnost by mohla být indikátorem žádoucího pozitivního efektu přírůdku nanostříbra k fotokatalyzátoru. Stejný závěr byl vyvozený v případě experimentu vyhodnoceného v Grafu B1 v Příloze B, kde na kratším časovém úseku (hodnoty do 140 min) aditivace chAg i fotoredukovaným Ag vykazovala větší pokles absorbance než samotná disperze ZnO. Odbarvené roztoky z experimentu po testování jsou zachyceny na Obrázku 33, ze kterého je zleva patrné neodbavení referenčního vzorku roztoku s nátěrem Balclean, částečné odbarvení roztoku s CA-B a CA-A a úplné odbarvení v přítomnosti vrstev obsahujících ZnO.



Graf 7: Porovnání fotokatalytické aktivity testovaných suspenzí práškových ZnO s kontrolami ve tmě a s kontrolou UV degradace MM.

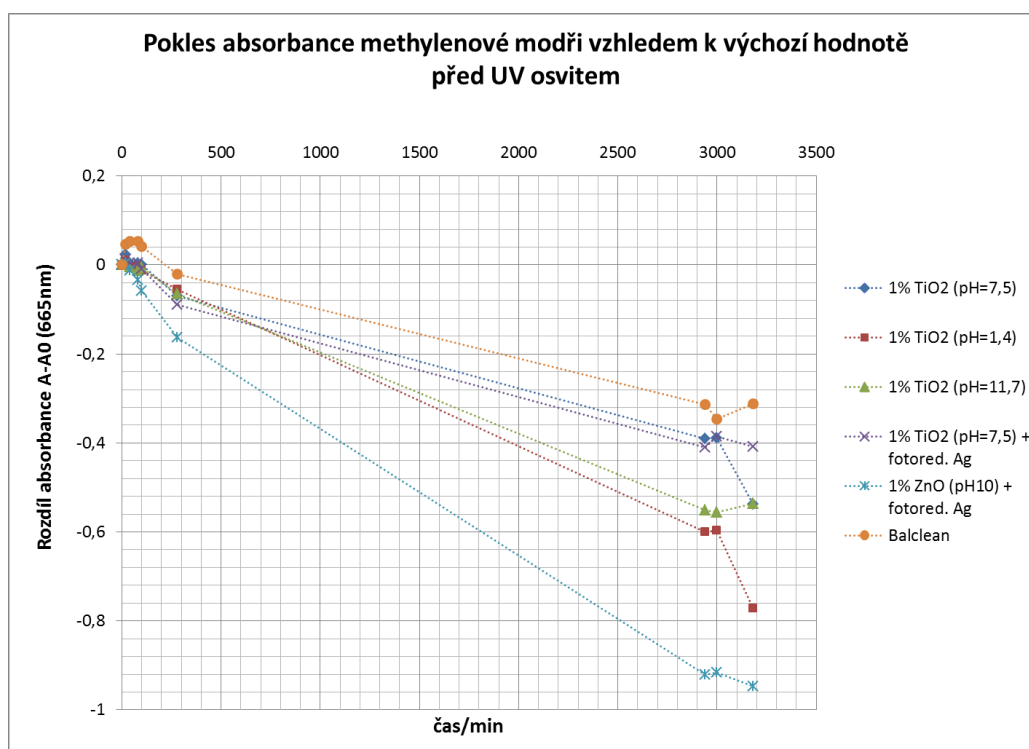
Vzhledem k dřívější diskutované problematickosti používání práškových forem nanočástic byly v dalších experimentech hodnoceny vybrané koloidní disperze ZnO a TiO₂. Jeden z experimentů je vyhodnocen na Grafu 8. Porovnány jsou v něm všechny typy testovaných koloidních disperzí CA, CA-A, CA-B a nZ-BOCH 202. Na první pohled je patrná výrazná převaha účinnosti ZnO nad ostatními fotokatalytickými vrstvami zalo-

ženými na TiO_2 . Vzhledem k referenčnímu nátěru Balclean je zde suspenze na bázi ZnO v určitém čase až trojnásobně účinnější.



Obrázek 33: Roztoky degradované MM se vzorky deponovaných fotoaktivních vrstev

V počátečních experimentech referenční nátěrový systém Balclean konkuroval testovaným suspenzím na bázi TiO_2 (CA). V průběhu několika měsíců testování však došlo zřejmě k částečné degradaci přípravku a snížení fotokatalytické účinnosti. Balclean navíc vykazoval zvýšenou aktivitu u kontrol ve tmě. To je přisuzováno SiO_2 složce, která v nátěrovém systému vystupuje jako adsorbent. Zvýšená adsorpce barviva je v korespondenci s hromaděním modrého filmu na povrchu nátěru v průběhu testování (viz Obrázek 33). Na většině obrázků z experimentů byla patrná tato tvorba filmu zapříčínující přesycení povrchu vrstvy a zamezení přístupu světla. Tím byla pravděpodobně způsobená inhibice fotokatalýzy.



Graf 8: Porovnání fotokatalytické účinnosti suspenzí na bázi TiO_2 oproti ZnO .

Tetování proběhlo také na směsích suspenzí obsahujících TiO_2 a ZnO . Míchána byla vždy suspenze s jednotlivými typy koloidů CristalActiv. 1% suspenze ZnO NP s acidickým CA-A ihned tvořila sraženinu. Bylo zjištěno že pH koloidní ZnO je 9,2 a z toho důvodu byla dále míchána se zásaditým koloidem CA-B. Na této směsi proběhlo hodnocení závislosti fotokatalytické aktivity na poměru obsahu nanočástic TiO_2 : ZnO . Testování potvrdilo, že disperze oxidu zinečnatého je oproti oxidu titaničitým daleko účinnější. Výsledky z tohoto měření jsou shrnuty ve formě grafu v Příloze B (Graf B2).

Na základě výše uvedených vyhodnocení byl ZnO dopovaný přídatkem stříbra stabilizovaných chelatonem III vybrán jako základ výsledné fotokatalyticky aktivní nátěrové suspenze.

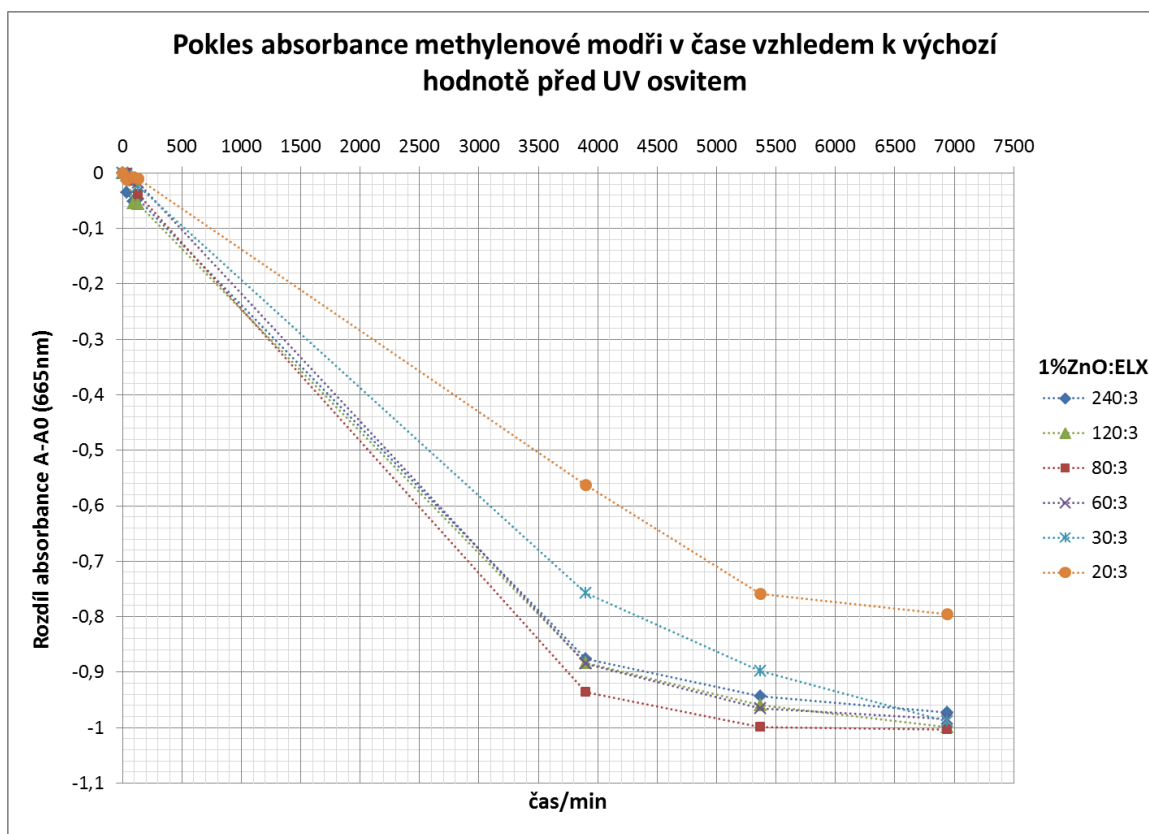
Závislost množství pojiva v suspenzi na fotokatalytickou účinnost oxidu zinečnatého

Pro studium vlivu přídatku vybraného pojiva ELX na fotokatalytickou aktivitu koloidní suspenze ZnO bylo zvoleno šest různých objemových poměrů míchání 1% ZnO : ELX. Ke 2 ml 1% suspenze ZnO bylo přidáváno 25, 50, 75, 100, 200 a 300 μl neředěného ELX (v grafu přepočteno na poměry celých čísel, tedy 240:3 až 20:3).

Podle hodnot z Grafu 9 by největší fotokatalytickou aktivitu měl mít hmotnostní poměr fotokatalyzátor/pojivo 80:3. Nabízejícím se vysvětlením může být vymývání fotoaktivních částic při nedostatečné fixaci pojivem a jejich uvolňování do roztoku, které má za následek snižování efektivity vrstvy. Hodnoty poměrů 240:3, 120:3 a 60:3 se od sebe také příliš neliší a všechny tyto hodnoty představují stále dostatečnou fotokatalytickou aktivitu.

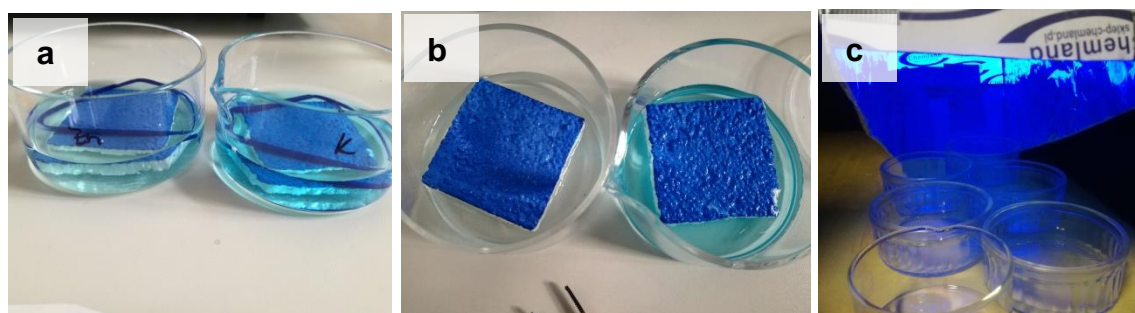
Výsledná vyvíjená nátěrová suspenze byla tedy založena na bázi nanočástic oxidu zinečnatého (1hm. %) s přídatkem chAg koloidu a 10% ELX přidávaného v poměru 2:1 zajišťujícím dostatečně velkou fixaci nanočástic k substrátu. Suspenze je dále označována jako 1% ZnO /chAg/10%ELX.

Vedle stanovení fotokatalytické účinnosti formou měření absorbance byly provedeny některé okometrické testy, pro něž byl zhotoven provizorní osvitový box s jednou BLB zářivkou (viz Obr. 34c). Jedním z testů bylo ověření funkčnosti fotokatalytického rozkladu MM v kombinaci suspenze 1% ZnO /chAg/10%ELX a strukturní fasádní omítky. Na Obrázku 34b je viditelné úplné odbarvení roztoku s ošetřenou omítkou již po 4 hodinách osvitů v boxu v porovnání s kontrolní neošetřenou omítkou.



Graf 9: Vliv koncentrace přidávaného pojiva na fotokatalytickou aktivitu ZnO.

Výchytky v měření pomocí UV/VIS spektrofotometrie (kolísání absorbance) mohou být zapříčiněny několika aspekty. Vzorky nebyly míchány automaticky kontinuálně, ale pouze mechanicky v daných časových intervalech což mohlo zapříčinit nedostatečnou distribuci barviva před odebráním jednotlivých vzorků do kyvety. Spektrofotometrické metody jsou obecně velmi citlivé na mnoho faktorů a tudíž by pro přesnější stanovení fotokatalytické aktivity materiálů měla být současně použita i některá z dalších metod.



Obrázek 34: Okometrický test fotokatalytického odbarvení roztoku MM nad suspenzemi natřenými na fasádní omítku po 2 h a po 4 h osvitě v boxu.

4.3 Hodnocení antimikrobiální účinnosti

Antimikrobiální účinnost byla hodnocena dvěma metodami. Algicidní testy byly provedeny za účelem ověření účinku připravených fotokatalytických nátěrů na kultury zelených řas. Testy s koloniemi baterií sloužily ke stanovení antibakteriálního účinku nátěrových suspenzí.

4.3.1 Hodnocení antialgální účinnosti

Pro hodnocení algicidních účinků připravené suspenze byly zvoleny dvě metody. První metodou (orientační) byl okometrický test spočívající v pozorování eliminace nasazených řas J302 *Klebsormidium flaccidum* a J201 *Interfilum terricola* v tekutém médiu na travertinovém podkladu. Rozkladem chlorofylu totiž dochází ke ztrátě typického zeleného zbarvení biofilmu. Na Obrázku 35 je uveden výsledek testu na travertinovém kvádru, který byl rozdělen na 4 kvadranty zajišťující duplikované nanesení fotokatalyticky aktivního přípravku. Levý horní kvadrant a jemu do kříže protilehlý byl ošetřen připravenou suspenzí 1%ZnO/chAg/10%ELX (1% suspenze ZnO nanočástic aditivovaných koloidním stříbrem a přísadkou pojiva ELX v poměru 2:1). Zbylé dva kvadranty byly ponechány v nativním stavu kamene jako reference. V případě nanesení řasového média na vrstvy natřené suspenze (viz Kap. 3.6, Obr. 22) a na kontroly samostatných kvádrů, nebyly zajištěny stejné podmínky následné kultivace řas (kmeny *Klebsormidium* a *Interfilum*), jelikož pod každou fólií, na každé Petriho misce vzniká mírně odlišné prostředí, byť jsou vzorky ve stejné komoře. Po týdnu umístění vzorku v klimakomoře zajišťující stabilní prostředí pro růst řas (teplota, vlhkost) za současného UV osvětlování bylo možné pozorovat úplné vymizení řas z kvadrantů ošetřených fotokatalyticky aktivní suspenzí.

Na Obrázku 35 jsou dobře patrné „samo očištěné“ kvadranty od dříve nanesených řas v místě nanesené suspenze. Navíc je zde možné pozorovat tzv. halozóny, tedy místa, kde došlo k úbytku řasového biofilmu, ačkoliv nebyla přímo ošetřena, ale vyskytují se v blízkosti hranice natřených kvadrantů. Vznik halozón může souviset s charakterem substrátu – přírodní pórovitá forma CaCO_3 s příměsemi – který je savý a v důsledku toho mohlo dojít před zaschnutím suspenze k migraci ZnO NP i do sousedních kvadrantů. Na neošetřených kvadrantech jsou dobře viditelná zelená místa s výskytem řasových kmenů především v oblastech hranice krycí fólie, což může být vysvětleno kapilárními vlivy, kdy na krajích zůstává více vody a současně zde mohou být řasy méně stresovány působícím tlakem pod fólií.



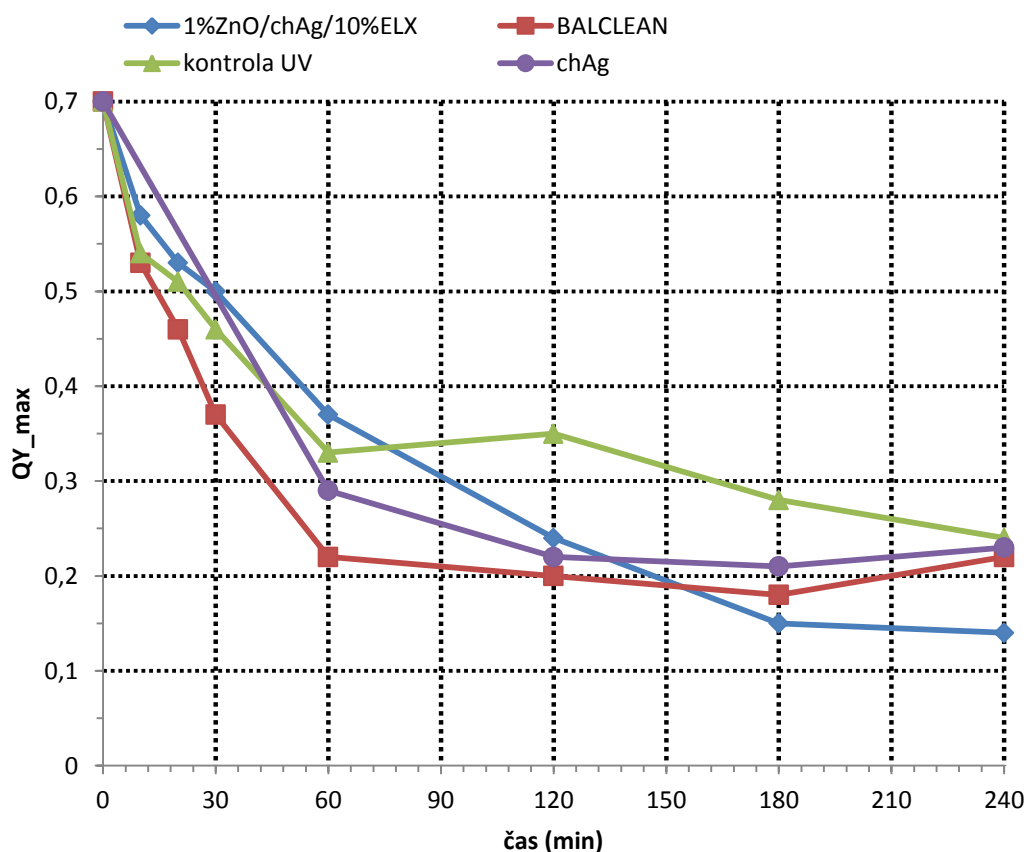
Obrázek 35: Výsledek okometrického testu algicidní účinnosti nátěru na travertinu.

V případě vzorků umístěných pouze na vnitřní parapet místnosti nebyl úbytek řas tolik patrný, jelikož intenzita UV záření je v místnosti velmi malá především důsledkem absorpce většiny UV složky okenním sklem. Přesto, že by byl povrch s nanesenou suspenzí pro řasy toxický, na nedostatečně aktivované vrstvě pravděpodobně nestihnou dojít k rozkladu mrtvých buněk a jejich chlorofylu. Navíc by mohlo při nedostatečném osvětlení docházet k tvorbě biofilmu z nerozložených řas, chránícího zbylé živé buňky před kontaktem s toxickým povrchem. V praxi by však pravděpodobně k tomuto stavu nedošlo, jelikož čistý venkovní povrch není najednou vystavený takovéto koncentraci řas z roztoku, ale kolonie se zde postupně uchytlí a dále narůstají.

Druhou metodou stanovení antialgální účinnosti bylo měření fluorescence chlorofylu řas po vystavení stresu z osvětlení na fotokatalyticky aktivních suspenzích. Měřenou veličinou v tomto testu byl maximální kvantový výtěžek QY_{max} fotosystému II, který stanovuje vitalitu fotosyntetického aparátu. Tato veličina je relativní a tudíž bez jednotky. Výpočet dle vzorce (2.6.2) použitý přístroj FluorCam provádí sám. Nabývá hodnot 0 až 1 (v praxi ojediněle víc než 0,8). Za normálních okolností mívá vitální řasová kultura hodnotu $QY_{max} \sim 0,75$. Když začne hodnota této veličiny klesat, symbolizuje to omezení funkčnosti aparátu (nedodává buňce energii) a tedy i vitálnosti buněk. Fluorimetr měří průměrnou hodnotu z vybrané testované plochy.

Výchozí hodnota nestresované kultury H1955 *Chlorella vulgaris* byla $QY_{max} 0 = 0,7$ což značí velmi dobrou vitalitu řasových buněk. V Grafu 10 je tato hodnota uvedena v čase nula. Testována byla opět stejná finální suspenze jako v případě okometrického hodnocení 1%ZnO/chAg/10%ELX zároveň s referenčním nátěrem Balclean. Jako kon-

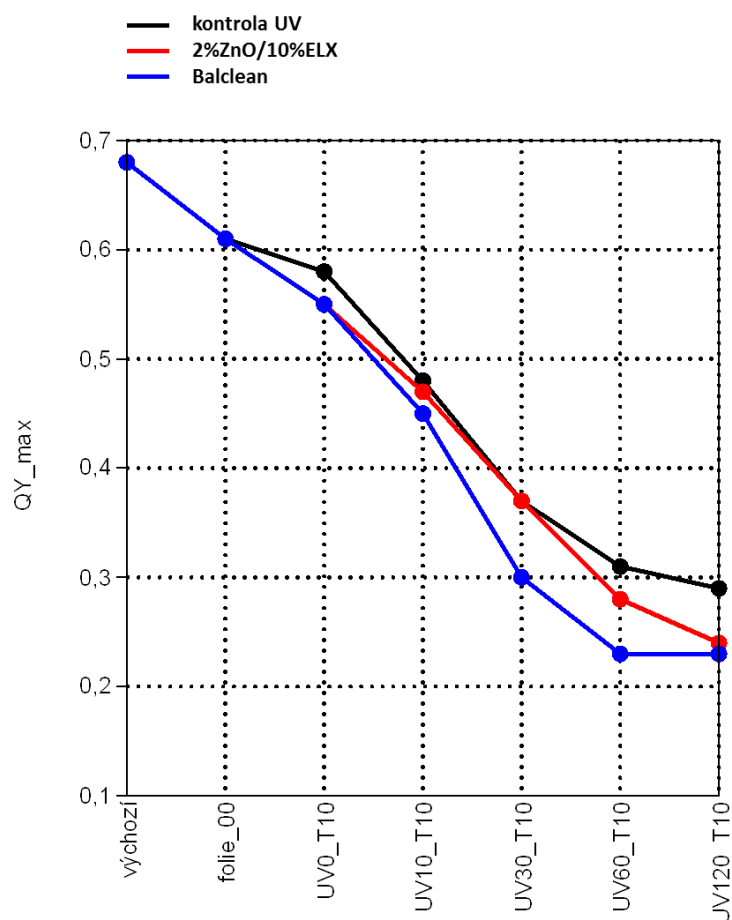
trola bylo inokulováno a osvětováno čisté sklíčko. Z Grafu 10 je patrné, že z testovaných vzorků způsobuje nejrychlejší pokles vitality řasových buněk suspenze Balclean. Ovšem po určité době (přibližně 3 hodiny) dosahuje tato suspenze minima a již dále neklesá. V případě ZnO suspenze je pokles pozvolnější, nicméně od určité doby (cca 2,5 h) vykazuje nižší hodnoty QY_max než referenční Balclean. Kontrolní hodnoty kultury uskladněné ve tmě činily v průměru 0,645. V tomto experimentu bylo navíc testováno samotné koloidní stříbro (pouze pro hodnoty od 1 h výše) pro ověření podpory antialgálních vlastností. Na grafu je viditelné kopírování průběhu hodnoty přípravku Balclean, pouze s očekávanou nižší účinností. V porovnání s kontrolou pod UV osvětlením, která určuje stres řasových buněk vyvolaný zářením samotným, jsou jisté algicidní účinky doře viditelné (měřené hodnoty v časech 1h a 2h byly pro koloidní stříbro nižší, než pro fotokatalytickou ZnO suspenzi). Bylo tedy ověřeno, že i samotné koloidní stříbro disponuje značnou antialgální účinností.



Graf 10: Závislost maximálního kvantového výtěžku fotosyntetického aparátu II řasových buněk na čase osvětlení ošetřených sklíček

Podobně jako v případě sklíček byla později testována koncentrovanější suspenze 2%ZnO/10%ELX deponovaná na předem očištěnou modrou fasádní omítku. Tyto testy

byly již provedeny Mgr. Martinem Pusztaiem na Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace (Cxi). Z Grafu 11 vyplývají obdobné závěry jako v případě nátěru suspenze oxidu zinečnatého na sklo a hodnocení agicidních účinků při osvětlení.



Graf 11: Závislost maximálního kvantového výtěžku na čase osvětlení ošetřených fasád

Prudký pokles kvantového výtěžku v případě Balcleanu může být způsoben přímou toxicitou přípravku vůči řasám způsobenou aditivou, jejichž složení není uvedeno, ale v užitém vzoru[18] je zmíněno použití smáčidel, rozlivových aditiv, oděňovačů a dispergátorů.

Další graf je uveden v Příloze C (Graf C1). Na něm je porovnání připravené nátěrové suspenze aditivované a neaditivované koloidním stříbrem nanesené též na fasádní omítku. Z tohoto grafu vyplývá naopak, že přidavek stříbra má spíše negativní vliv na antialgální účinnost, tento test byl však proveden jako prvotní na fasádách (před tím zobrazeným na Grafu 11) a pouze v krátkém časovém úseku.

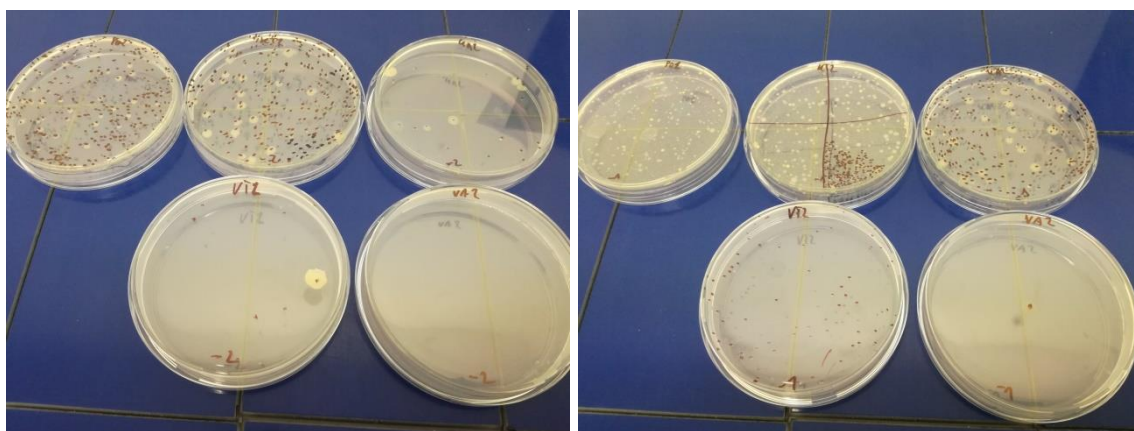
Z hlediska dalšího vývoje vitality buněk řasové kultury vystavené připravené fotokatalyticky aktivní suspenze na bázi ZnO by bylo vhodné provést testování na delším časovém horizontu.

4.3.2 Hodnocení antibakteriální účinnosti

Antibakteriální účinnost byla hodnocena na základě diluční metody bakteriálních suspenzí v agaru. Diluční metoda se běžně používá k určení minimální inhibiční koncentrace (MIC). Zde je metoda založená na rozředění výchozího bakteriálního inokula desetinnou koncentrační posloupností (ředění 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000 a 1:100 000, viz Tabulka 1) a nanesení na Petriho misky, které jsou zality agarem (tzv. plotnový test), jak je popsáno v postupu v Kapitole 3.7. V případě zde uvedených testů nelze počítat MIC, neboť se jedná o minimální koncentraci antibakteriálního prostředku, která inhibuje viditelný růst (v mg/ml) a zde se používá vždy jen jedna koncentrace FTK naneseného na sklíčku, a liší se pouze koncentrace bakterií.

Výsledky testování byly získány v jednotkách KTJ (kolonie tvořící jednotky) spočítaných pro každou plotnu jednotlivých ředění (5 misek pro každý vzorek). Za nepočítatelné se považují plotny, kde je více než 300 KTJ v případě takovéto koncentrace není totiž prokázána dostatečná antibakteriální účinnost. Příklad výsledného nárůstu bakterií na plotnách je uveden na Obrázku 36 (vzadu zleva: kontrola přímým oplachem, kontrola ve tmě, kontrola při UV osvit; ve předu zleva: vzorek ve tmě a vzorek při UV).

Antibakteriální testy byly provedeny na vybraných suspenzích oxidu zinečnatého: 1%ZnO/chAg/10%ELX a referenčním přípravku Balclean. Byl také sledován vliv aditivace testováním zvláště koloidního stříbra chAg a pojiva ELX.



Obrázek 36: Plotny narostlých kolonií z prvního a druhého ředění diluční metody testování antibakteriální účinnosti.

Bakteriální testy byly nejprve provedeny na samotné finální fotoaktivní suspenzi. Bylo zjištěno, že vykazuje poměrně vysoké antibakteriální účinky i bez přístupu UV záření (viz Tabulka 4). Tato skutečnost je velmi žádoucí především vzhledem k potenciální aplikaci nátěrové suspenze na místa ne tolik bohatá na přísun slunečního záření. Grafické vyjádření tabulky je uvedeno v Příloze C (Graf C2).

Tabulka 4: Záznam z měření antibakteriální aktivity vrstvy nátěrové suspenze 1%ZnO/chAg/10%ELX

KTJ	ředění				
	-1	-2	-3	-4	-5
vzorek					
Kontrola přímým oplachem	300+	300+	300+	300+	43
Kontrola ve tmě	300+	300+	300+	65	6
Kontrola pod osvitem	300+	300+	300+	79	12
Vzorek ve tmě	104	7	2	0	0
Vzorek pod osvitem	0	0	0	0	0
BALCLEAN pod osvitem	0	0	0	0	0
BALCLEAN ve tmě	300+	159	25	3	0

Dalším testem bylo porovnání antibakteriální aktivity připravené suspenze s aktivitou Balcleanu. Testování probíhalo se zředěným výchozím inokulem E. Coli o koncentraci $3 \cdot 10^7$ KTJ·ml⁻¹ a při osvitu po dobu 4 h a také o výchozí koncentraci $3 \cdot 10^8$ KTJ·ml⁻¹ a při osvitu po dobu 2 h. Výsledky druhého zmiňovaného testování jsou uvedeny v Tabulce 4. Na první pohled je patrné, že při daném ředění jsou suspenze stejně aktivní. Přehledné vyobrazení výsledků z tabulky je vyneseno v Grafu C3 (viz Příloha C). Nárůst jednotek v posledních ředěních bývá pravděpodobně způsoben znečištěním zkumavky či Petriho misky před inkubací.

Tabulka 5: Záznam z měření antibakteriální aktivity vrstvy nátěrové suspenze Balclean a připravené 1%ZnO/chAg/10%ELX

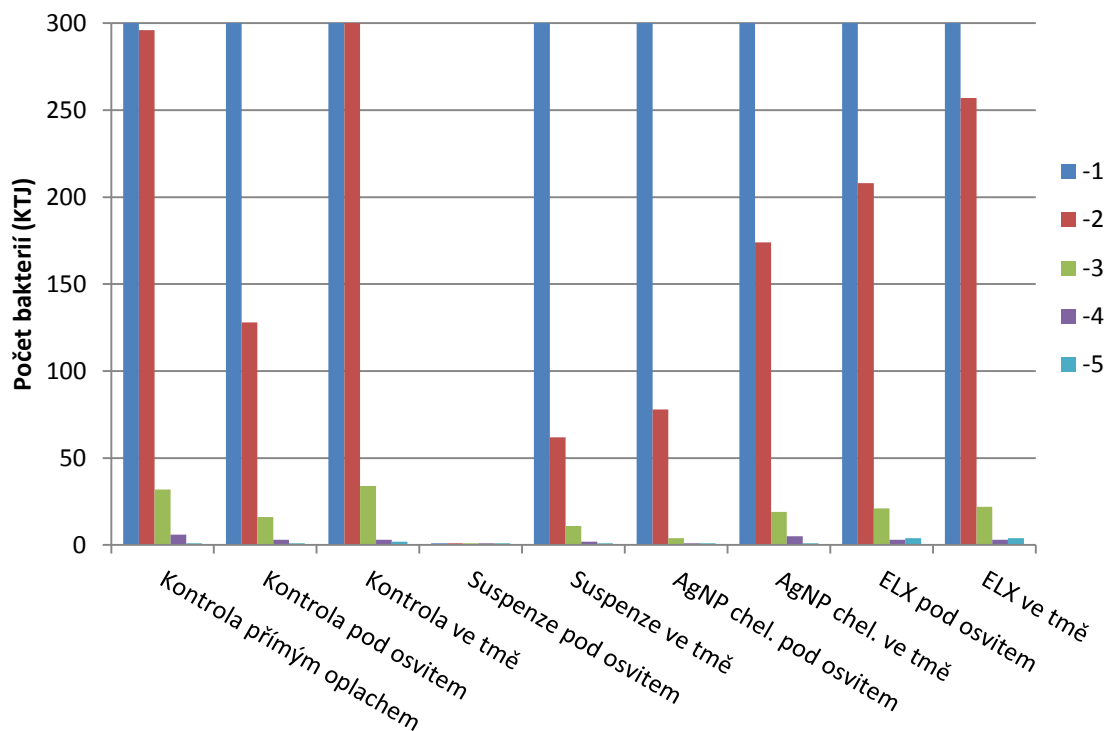
KTJ	ředění				
	-1	-2	-3	-4	-5
vzorek					
Kontrola přímým oplachem	300+	198	24	1	0
Kontrola pod osvitem	76	7	0	1	0
Kontrola ve tmě	300+	229	21	3	2
1%ZnO/chAg/10%ELX pod osvitem	0	0	0	0	4
1%ZnO/chAg/10%ELX ve tmě	183	25	3	0	0
BALCLEAN pod osvitem	0	0	0	0	0
BALCLEAN ve tmě	300+	159	25	3	0

Poměrně velkou komplikací u všech experimentů je velká míra mortality buněk pod UV zářením, která mohla způsobit značné komplikace ve vyhodnocování. Celková fotokatalytická antibakteriální aktivita (ΔR) byla hodnocena dle vzorce (2.6.1) v Kapitole 2.6.1. Výpočet je však komplikovaný poměrem, ve kterém aktivní povrch vystupuje ve jmenovateli, což v případě úplného vyhubení bakterií je 0 a nulou dělit nelze. Nulové hodnoty byly proto pro výpočet nahrazeny jedničkami. Výpočet R se provádí tam, kde nefigurují hodnoty KTJ 300+. Hodnoty této veličiny byly velmi variabilní vzhledem k jednotlivým experimentům a vůči suspenzi Balclean výrazně nižší. To v tomto případě ovšem neznamená, že by byl Balclean lepší, naopak bylo potvrzeno, že Balclean na bázi TiO_2 funguje čistě na principu fotokatalýzy, kdežto ZnO, jakožto sloučenina zinku, působí silně antibakteriálně sama o sobě (jak již bylo zmíněno).

Grafy byly vyhotoveny dvěma způsoby. Přehlednější formou pro hrubé porovnání antibakteriální účinnosti vzorků a kontrol je vnesení jednotlivých druhů na osu x a pro každý vzorek je pohromadě set diluční řady (Graf 12). Druhým způsobem, který je vhodnější, pro sledování účinnosti vzorků při jednom daném ředění (např. nižší hodnoty, které se v grafu ztrácí) a porovnávání vzorků, které mají podobnou antibakteriální aktivitu, je vnesení diluční řady na osu x a porovnání jednotlivých materiálů v každém stupni ředění (Příloha C, Graf C3).

Druhou částí bylo stanovení vlivu aditiv na antibakteriální fotokatalytickou aktivitu připravené suspenze. Antibakteriální účinnost obou aditiv (chAg a ELX) byla sledována v porovnání s aditivovanou suspenzí. Výchozí koncentrace inokula byla opět zředěna na $3 \cdot 10^7$ KTJ/ml. Z Grafu 12 je patrné, že stříbro vykazuje jisté antibakteriální účinky, ovšem ne tak vysoké, jak se očekávalo. Ze srovnání s kontrolou vyplývá, že i aplikované UV záření má vyšší účinnost proti bakteriím, než připravené koloidní stříbro. ELX má dle očekávání velmi špatnou antibakteriální účinnost. Pozitivní je, že z porovnání s kontrolou ve tmě vyplývá, že se nejedná o prostředí, které bakteriím vyhovuje. Může tedy mírně snižovat fotokatalytickou antibakteriální účinnost, ovšem efektivita připravené suspenze je dostatečně vysoká na to, aby se tento negativní vliv pojava projevil.

Vypočtená celková antibakteriální aktivita suspenze a jejích složek je uvedena v Tabulce 6. Vzhledem k účinku UV záření, vychází hodnota pro ELX záporná, což je v pořádku, neboť ELX není fotokatalyticky aktivní látka.



Graf 12: Životaschopnost bakterií na testovaných vrstvách v pěti stupních desetinné diluční řady.

Výše uvedené experimenty by bylo vhodné provést též při snížené intenzitě záření a případně otestovat vliv délky ozařování na vitalitu bakteriálních buněk. Na pozdějších testech se také projevovalo stárnutí uskladněného kmene, který s postupem času častěji tvořil na plotnách závoj znehodnocující výsledky, a samotné inokulum po vyočkování porůstalo agar slaběji. Stáří inokula mohlo také ovlivnit odolnost bakterií vůči UV záření.

Tabulka 6: Celková antibakteriální aktivita stanovená výpočtem dle rovnice (2.6.1)

Testovaná vrstva	ΔR vypočtena pro ředění -3 (10^2 KTJ)
Suspence 1%ZnO/chAg/10%ELX	0,714034
Ag NP stabilizované chelatonem III	0,349335
Pojivo ELX	-0,30716

4.4 Hodnocení vlivu aplikace nátěru na vzhled substrátu

Celkový vzhled aplikovaného nátěru výsledné suspenze 1%ZnO/chAg/ELX byl posuzován na barevných fasádních omítkách, které byly pro jednoduchou manipulaci nanášeny na polystyrenové desky (tloušťka cca 5 cm). Černá fasáda byla vybrána především jako kontrastní substrát k bílému zabarvení vyvíjených fotoaktivních suspenzí. Byť tato barva není příliš hojně využívanou na budovách, slouží jako nejvyšší kontrola transparentnosti produktu. Od testování bílé fasádní omítky bylo upuštěno, jelikož neposkytovala vhodný kontrast pro sledování vlivu nátěru na substrát a v případě fotoredukovaných vrstev byl negativní barevný vliv pozorován již v suspenzi či na skle. Podobný případ představoval povrch travertinových kvádrů, které jsou světlé. Lze však tedy konstatovat, že na bílé povrchy je vyvíjený nátěr vhodný.

V této kapitole bylo sledováno několik vlivů aplikace vyvíjeného nátěru. Fasády byly vždy před depozicí suspenze očištěny proudem vody. Voda nijak neovlivní charakter povrchu, pokud je omítka vždy řádně vysušena. Vzhledem k potenciální aplikaci ošetřujícího nátěru na již znečištěné omítky je nutné též nejprve provést odstranění biologických a organických zbytků, které na fasádě přetrvávají i po tlakovém čištění.

Za tímto účelem byl testován peroxid vodíku, který je šetrný k životnímu prostředí, jelikož se rozkládá pouze na vodu a kyslík a je běžně používaný jako dezinfekční prostředek. Čištění omítek peroxidem vodíku (viz Obr. 25a), mělo za následek pouze zkontrastnění barvy omítky. Degradace materiálu nebyla pozorována ani po 24 hodinovém ponoření omítky do 35% roztoku. H_2O_2 .

4.4.1 Volba podkladové penetrační vrstvy

Vlivem fotokatalytického jevu by mohlo docházet k degradaci samotné fasádní barvy či jejích organických složek. Bylo proto přistoupeno k výběru a aplikaci vhodného penetračního nátěru na bázi silikonů či koloidní siliky, který poskytuje ochranu a zpevnění substrátu. Vliv testovaných komerčních výrobků na substrát je shrnut v Tabulce 7. Vzhled testovaných typů přípravků společně s několika koncentracemi suspenzí ZnO (nZ-BOCH 202) a TiO_2 (CristalACTiV™ PC-S7: CA) je zobrazený na Obrázku 37.

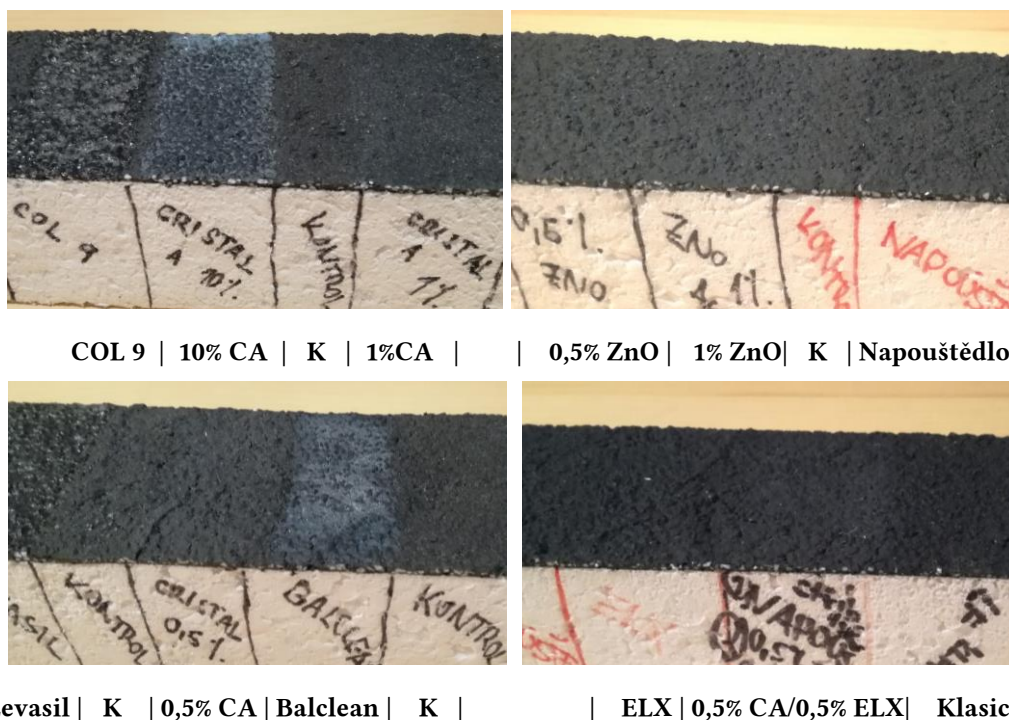
Na základě pozorovaných změn vzhledu černé fasádní omítky byly vybrány potenciálně nejvhodnější penetrační přípravky. Lukofob ELX, Lukofob Klasik (nevýhoda neředitelnosti vodou) a Lukofob Napoštědlo, které je zároveň nejlevnější variantou, nezpůsobily výraznou barevnou změnu. Diskutována by v budoucnu měla být přede-

vším dlouhodobá odolnost této penetrace, která sice vytváří ochrannou bariéru omítkového substrátu pro působení fotokatalyticky aktivních nátěrů, ale přeci jen je též tvořená organickými vysokomolekulárními sloučeninami, které mohou být fotokatalyticky degradovány.

Tabulka 7: Porovnání komerčních přípravků vhodných pro penetrační nátěr fasád

Penetrační mezivrstva	Vliv na vzhled fasády
COL 9	extrémní změna vzhledu, tvorba lesklého hydrofóbního povlaku, koncentrovanější místa neprůhledná
Lukofob Napouštědlo	ztmavnutí barvy, kontrastnější, může být žádoucí
Lukofob Klasic	přijatelná nevýrazná změna
Lukofob ELX	nevýrazná změna barvy
Levasil CC 301 (bindzil)	výrazná změna, lesklý plastický povrch

Na Obrázku 37 lze také pozorovat vzhled nátěru Balclean na černé omítce, který v této práci vystupuje jako referenční. Je patrné, že jeho aplikace na jakékoli tmavší fasády je nežádoucí z důvodu výrazné barevné změny bílých map.



Obrázek 37: Porovnání vlivu některých nátěrů a penetrací a na vzhled černé fasádní omítky. Kontrolní neošetřená omítka je označena K.

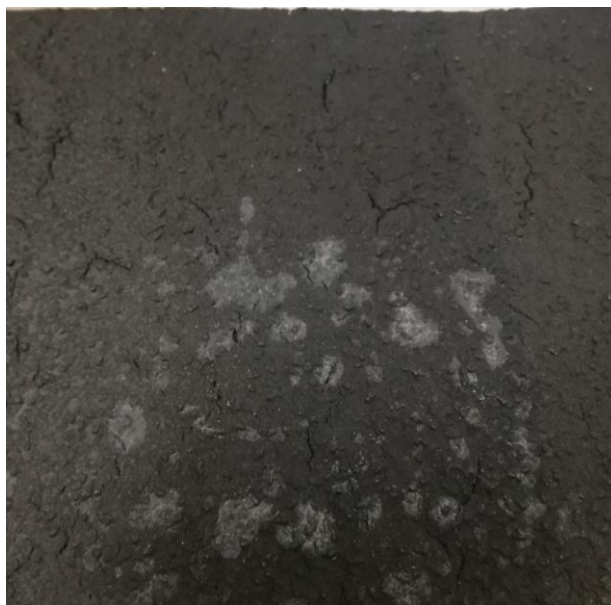
4.4.1 Depozice připravené suspenze na fasádní omítky

Nátěrem štětcem

Depozice připravených fotokatalyticky aktivních dopovaných suspenzí byla zpočátku prováděna štětcem. Později byl tento postup vzhledem k některým negativním vlivům (odírání omítky, nerovnoměrná distribuce) nahrazen za postřík (také možno označit jako spray coating).

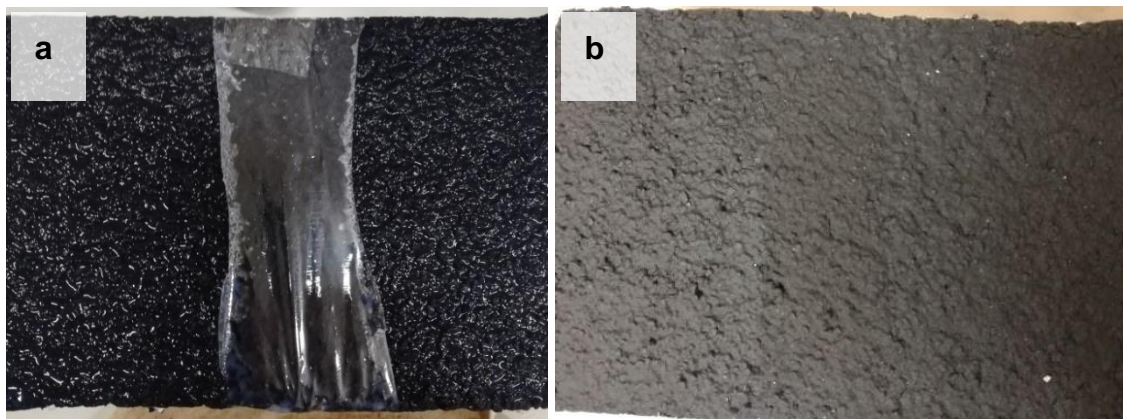
Nízkotlakým postříkem

Jelikož 1% suspenze ZnO disponují nízkou viskozitou, je možné depozici (i v praxi) na fasády i jiné povrchy provádět prostřednictvím nízkotlakého (ze zásobníku) postříku. Tímto způsobem může být aplikována též podkladová penetrační vrstva. Velká výhoda spočívá v jednoduchosti aplikace (i na velké plochy) a časové úspoře. Doporučeno je postřík aplikovat ve dvou vrstvách pro zajištění dostatečné distribuce a koncentrace FTK na povrchu substrátu. Mezi jednotlivými vrstvami, především po aplikaci penetrace, je důležité nechat substrát před dalším postříkem důkladně oschnout. Při aplikaci finální ošetřující suspenze do ještě mokré penetrační vrstvy Lukofob KLASIC, která není vodou ředitelná, dojde k oddělení silikonové fáze, což má za následek neestetické skvrny na omítce a narušení funkčnosti jednotlivých vrstev (viz Obrázek 38).



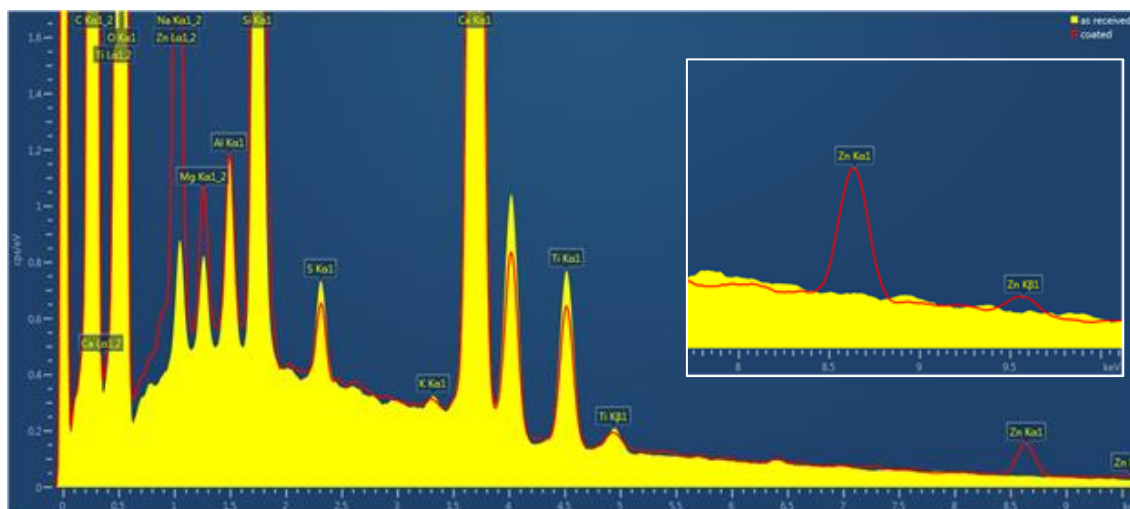
Obrázek 38: Znehodnocený povrch fasádní omítky aplikací připravené suspenze do penetrace Lukofob Klasic („mokrě do mokrého“).

Sledování vlivu aplikace připravené suspenze 1%ZnO/chAg/10%ELX ve více vrstvách probíhalo na světlé i tmavé fasádě. Na modré fasádě nebyl pozorovatelný rozdíl ani vůči neošetřené části. Na Obrázku 39a je uvedena aplikace postřiku penetrace i samotného fotokatalyticky aktivního přípravku na černou fasádní omítku. Vlevo byla nanesena 1 vrstva, vpravo 2 vrstvy a prostřední pruh byl ponechán jako kontrola pouze penetrované omítky. Na Obrázku 39b je viditelný rozdíl ve vzhledu omítky pouze oproti penetrované fasádě, aplikace druhé vrstvy se změnou barvy neprojevila.



Obrázek 39: (a) Postřik fotokatalytické suspenze v 1 (levá část) a ve 2 (pravá část) vrstvách. (b) Vzhled fasády po zaschnutí postřiku.

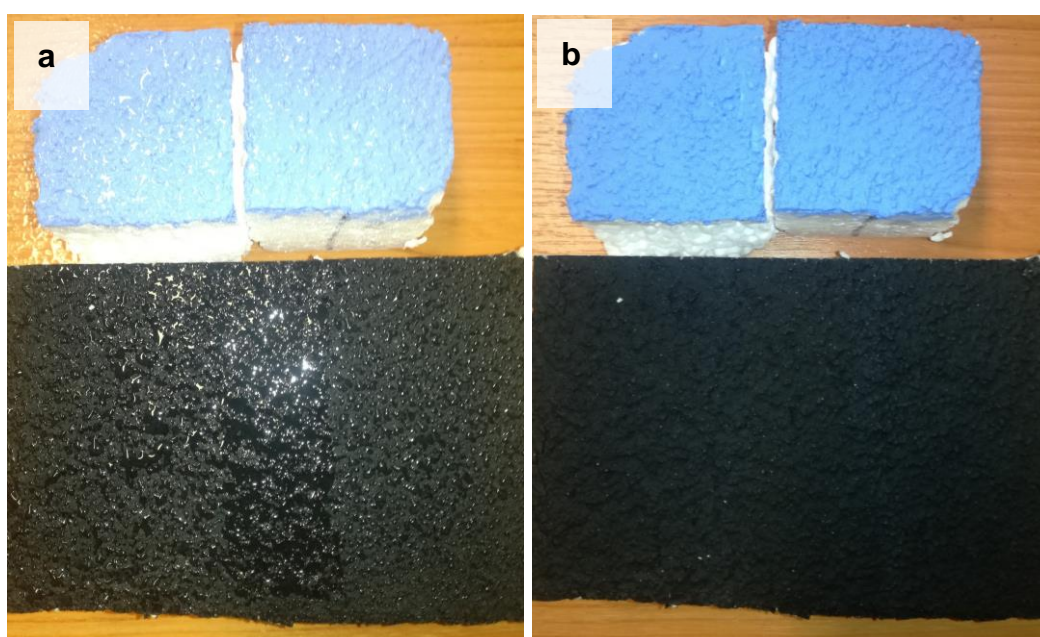
Modrá fasádní omítky byla charakterizována pomocí EDS analýzy před a po ošetření suspenzí 1%ZnO/10%ELX. Ze spektra jsou patrné výrazné signály zinku pocházející z deponované fotokatalyticky aktivní suspenze. Ve složení samotné omítky je zajímavý například výrazný pík Ti, který může značit obsah oxidu titaničitého jakožto bílého pigmentu.



Graf 13: EDS spektrum modré fasádní omítky (žlutě) a omítky ošetřené

Testování odolnosti deponované vrstvy vůči simulovaným podmínkám

Provizorní osvitový box byl také využit pro simulaci některých venkovních podmínek. Fasády natřené finálním přípravkem (zmiňované u Obrázku 39) byly náhodně opakovaně po dobu dvou týdnů roseny kohoutkovou vodou (simulace deště, viz Obr. 40a) a dlouhodobě osvětčovány pod UV zářivkou za přirozeně (výkonem zářivky) zvýšené teploty (simulace horkých letních dnů), nakonec byly na sedm dní umístěny do mrazicího boxu (simulace zimního období). Nebyl pozorován žádný vliv vystavení zmíněným podmínkám na ošetřenou fasádu (viz Obr. 40b).



Obrázek 40: Testování vlivu okolních podmínek (simulace deště a silného záření) na charakter celkového omítkového nátěru

Na obrázku výše (Obr. 40a) je též dobře viditelný hydrofobní efekt nátěrové suspenze. Zatímco prostřední, neošetřený pruh smáčí poměrně hodně, na levé a ještě více na pravé straně se tvoří kapky vody. Z pozorovaného vyplývá, že aplikace ošetřující nátěrové suspenze je vhodné aplikovat ve více vrstvách za účelem podpory samočisticích hydrofobních účinků fasády.

5 Závěr

Cílem diplomové práce bylo vytvořit transparentní fotokatalyticky a antimikrobiálně aktivní suspenzi aplikovatelnou jako ošetřující nátěr barevných fasád bytových domů tvořenou cenově dostupnými nanočásticovými fotokatalyzátory a sledovat vliv přidávku aditiv na její fotokatalytické a antimikrobiální vlastnosti. Zvláštní důraz byl kladen na zamezení vzniku nežádoucích změn vzhledu substrátu v důsledku depozice či probíhajících fotokatalytických reakcí.

Výsledkem práce je dvousložkový koloidní nátěrový systém tvořený pojivem ve formě vodní emulze silikonové pryskyřice a aktivní složkou na bázi vodní suspenze nanočástic oxidu zinečnatého obohacených stříbrem s vysokou fotokatalytickou, baktericidní a algicidní účinností.

Ve všech hodnocených parametrech (stabilita, fotokatalytická, antibakteriální a antialgální účinnost) bylo dosaženo lepších výsledků, než u konkurenčního nátěrového systému, jež byl využit jako referenční vzorek.

Součástí vývoje byl také návrh a testování vhodné metodiky úpravy substrátu před aplikací nátěrového systému. Pro očištění se osvědčila kombinace peroxidu vodíku a takového oplachu vodou. Jako vhodné podkladové materiály pro vytvoření ochranné mezivrstvy byly zvoleny komerční přípravky Lukofob Napouštědlo, Lukofob Klasik a Lukofob ELX. Při výběru podkladového materiálu pro ochranu substrátu je nutné zohlednit strukturu a materiál konkrétní ošetřované plochy.

Nátěrový systém byl dlouhodobě testován v laboratoři při simulovaných zpřísněných podmínkách (vysoká intenzita UV záření, oplachy vodou, změny teploty) na fasádních omítkových nátěrech nanesených na polystyrenu a na travertinových kvádrech. Nebyly zaznamenány žádné negativní vlivy na vzhled ošetřeného substrátu.

Vyvinutý nátěrový systém byl také aplikován v praxi na celé řadě exteriérových testovacích ploch po ČR (bytové domy v Liberci, Praze, Jablonci n. N; fasáda Fakultní nemocnice v Plzni, ZŠ Mendíků v Praze, drobné plochy na fasádě TU v Liberci...) i ve světě (Katedrála Nanebevzetí Panny Marie, svatého Štěpána a svatého Ladislava v Záhřebu, IGH v Záhřebu, cca 20 ploch napříč Chorvatskem, vybrané monumenty v Indii, Salamanderparken v Dánsku...). Všechny testovací plochy jsou průběžně sledovány.

Řešení zadané problematiky otevřelo spoustu dalších dílčích témat, kterým by bylo vhodné se důkladně věnovat v následujícím výzkumu:

- Testování fotokatalytické aktivity pomocí rozkladu NO_x (či jiného plynného polutantu) za účelem studia čištění ovzduší v bezprostřední blízkosti nátěru
- Optimalizace metodiky aditivace nátěrové suspenze Ag⁺ ionty, případně ionty dalších vzácných kovů
- Optimalizace podílu dopantů s ohledem na maximalizaci fotokatalytické a mikrobicidní aktivity
- Vývoj hybridního systému kombinací stávajícího fotokatalyzátoru s dopanty, jako např. Cu₂O s cílem navýšení rekombinačního času, rozšíření spektra excitačního záření do oblasti viditelného světla a navýšení antimikrobiálních vlastností
- Optimalizace a testování fixace NPs k substrátu
- Optimalizace složení koloidu s ohledem na strukturu a materiál substrátu (přírodní substráty, beton, keramika, kov a další)
- Substitute ZnO jinými pokročilejšími polovodiči, např. ZnTiO₃
- Optimalizace a modifikace metodik hodnocení fotokatalytické a mikrobicidní aktivity s ohledem na materiál substrátu

6 Seznam literatury

- [1] BERGIN, M. H., S. N. TRIPATHI, J. Jai DEVI a kolektiv. The Discoloration of the Taj Mahal due to Particulate Carbon and Dust Deposition. *Environmental Science & Technology* [online]. 2015, 49(2), 808–812. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es504005q
- [2] PROCHÁZKOVÁ, D.. Skvrny na fasádách má na svědomí třímilimetrový pavouk. *Českobudějovický deník* [online]. 2012 [vid. 2019-12-05]. Dostupné z: https://ceskobudejovicky.denik.cz/zpravy_region/skvrny-na-fasadach-ma-na-svedomi-trimilimetrovy-pavouk-20120921.html
- [3] ČSN P CEN/TS 16981:2016. Fotokatalýza - Terminologický slovník. B.m.: CEN (European Committee for Standardization). listopad 2016
- [4] FUJISHIMA, A. a K. HONDA. Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode. *Nature* [online]. 1972, 238(5358), 37-+. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/238037a0
- [5] BORA, L. V. a R. K. MEWADA. Visible/solar light active photocatalysts for organic effluent treatment: Fundamentals, mechanisms and parametric review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews* [online]. 2017, 76, 1393–1421. ISSN 1364-0321. Dostupné z: doi:10.1016/j.rser.2017.01.130
- [6] FUJISHIMA, A., K. HASHIMOTO a T. WATANABE. TiO₂ fotokatalýza, základy a aplikace. 1. vyd. Přel. Zdeněk DOŠKÁŘ a František PETERKA. B.m.: Silikátový svaz, 2002. ISBN 80-903113-3-4.
- [7] HOUAS, A., H. LACHHEB, M. KSIBI a kolektiv. Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water. *Applied Catalysis B-Environmental* [online]. 2001, 31(2), 145–157. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:10.1016/S0926-3373(00)00276-9
- [8] BEZDEKOVA, K. a M. VESELY. Vliv adsorpce polutantů na rychlost jejich fotokatalytické degradace. *Chemické listy* [online]. 2002, 96(10) [vid. 2020-04-16]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2293>
- [9] HERRMANN, J.-M.. Titania-based true heterogeneous photocatalysis. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 2012, 19(9), 3655–3665. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-011-0697-8

- [10] SUDHA, D. a P. SIVAKUMAR. Review on the photocatalytic activity of various composite catalysts. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification* [online]. 2015, 97, 112–133. ISSN 0255-2701. Dostupné z: doi:10.1016/j.cep.2015.08.006
- [11] LIU, Y., G. LI, R. MI a kolektiv. An environment-benign method for the synthesis of p-NiO/n-ZnO heterostructure with excellent performance for gas sensing and photocatalysis. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2014, 191, 537–544 [vid. 2020-04-25]. ISSN 0925-4005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2013.10.068
- [12] Solar Radiation & Photosynthetically Active Radiation. *Environmental Measurement Systems* [online]. 21. březen 2014 [vid. 2020-04-13]. Dostupné z: <https://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/weather/photosynthetically-active-radiation/>
- [13] LE, H. A., L. T. LINH, S. CHIN a J. JURNG. Photocatalytic degradation of methylene blue by a combination of TiO₂-anatase and coconut shell activated carbon. *Powder Technology* [online]. 2012, 225, 167–175. ISSN 0032-5910. Dostupné z: doi:10.1016/j.powtec.2012.04.004
- [14] WANG, X., K. MAEDA, A. THOMAS, A metal-free polymeric photocatalyst for hydrogen production from water under visible light. *Nature Materials* [online]. 2009, 8(1), 76–80. ISSN 1476-1122. Dostupné z: doi:10.1038/NMAT2317
- [15] FUJISHIMA, A., X. ZHANG a D. A. TRYK. TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surface Science Reports* [online]. 2008, 63(12), 515–582 [vid. 2019-12-05]. ISSN 0167-5729. Dostupné z: doi:10.1016/j.surfrep.2008.10.001
- [16] EVONIK INDUSTRIES. AEROXIDE®, AERODISP® and AEROPERL® Titanium Dioxide as Photocatalyst - Technical information 1243 [online]. Dostupné z: <https://www.aerosil.com/sites/lists/RE/DocumentsSI/TI-1243-Titanium-Dioxide-as-Photocatalyst-EN.pdf>
- [17] MACHIDA, M., K. NORIMOTO, T. WATANABE a kolektiv. Effect of SiO₂ addition in super-hydrophilic property of TiO₂ photocatalyst. *Journal of Materials Science* [online]. 1999, 34(11), 2569–2574. Dostupné z: doi:10.1023/A:1004644514653
- [18] F. PETERKA, J. PRUDIL, J. ŠUBRT a kolektiv. Akrylátová nátěrová hmota s fotokatalytickou funkcí. CZ 30198 U1.

- [19] WEN, J., X. LI, W. LIU a kolektiv. Photocatalysis fundamentals and surface modification of TiO₂ nanomaterials. *Chinese Journal of Catalysis* [online]. 2015, 36(12), 2049–2070 [vid. 2020-04-30]. ISSN 1872-2067. Dostupné z: doi:10.1016/S1872-2067(15)60999-8
- [20] G.MCEVOY, J. a Z. ZHANG. Antimicrobial and photocatalytic disinfection mechanisms in silver-modified photocatalysts under dark and light conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* [online]. 2014, 19, 62–75 [vid. 2020-04-17]. ISSN 1389-5567. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochemrev.2014.01.001
- [21] PATHAK, Trilok K., R. E. KROON a H. C. SWART. Photocatalytic and biological applications of Ag and Au doped ZnO nanomaterial synthesized by combustion. *Vacuum* [online]. 2018, 157, 508–513. ISSN 0042-207X. Dostupné z: doi:10.1016/j.vacuum.2018.09.020
- [22] THONGSURIWONG, K., P. AMORNPITOKSUK a S. SUWANBOON. Photocatalytic and antibacterial activities of Ag-doped ZnO thin films prepared by a sol-gel dip-coating method. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* [online]. 2012, 62(3), 304–312 [vid. 2020-04-30]. ISSN 1573-4846. Dostupné z: doi:10.1007/s10971-012-2725-7
- [23] YOUSEFI, H. R. a B. HASHEMI. Photocatalytic properties of Ag@Ag-doped ZnO core-shell nanocomposite. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* [online]. 2019, 375, 71–76. ISSN 1010-6030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2019.02.008
- [24] LIU, Y., X. WANG, F. YANG a X. YANG. Excellent antimicrobial properties of mesoporous anatase TiO₂ and Ag/TiO₂ composite films. *Microporous and Mesoporous Materials* [online]. 2008, 114(1), 431–439 [vid. 2020-04-26]. ISSN 1387-1811. Dostupné z: doi:10.1016/j.micromeso.2008.01.032
- [25] BARTOVSKÁ, L. a M. ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 6. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2010. ISBN 978-80-7080-745-3.
- [26] P. ŽVÁTORA, K. ZÁRUBA, P. ŘEZANKA a V. KRÁL. STUDIUM POVRCHOVÉ MODIFIKACE STRÍBRNÝCH NANOČÁSTIC A JEJICH MOŽNÉ VYUŽITÍ V ANALYTICKÉ CHEMII. *Chemické listy*. 2009, 103(1), 221–225.

- [27] HUTTER, E. aj. H. FENDLER. Size quantized formation and self-assembly of gold encased silver nanoparticles. *Chemical Communications* [online]. 2002, (4), 378–379 [vid. 2020-01-07]. ISSN 1364-548X. Dostupné z: doi:10.1039/B108163B
- [28] WEI, M., S. WANG, C. SUN a kolektiv. Modificati-on and Characterization of Nano-TiO₂ for Efficient Fixation on Cotton Fibers. *Fibers and Polymers* [online]. 2018, 19(11), 2278–2283. ISSN 1229-9197. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-018-8594-0
- [29] GRASSET, F., N. SAITO, D. LI a kolektiv. Surface modification of zinc oxi-de nanoparticles by aminopropyltriethoxysilane. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2003, 360(1–2), 298–311. ISSN 0925-8388. Dostupné z: doi:10.1016/S0925-8388(03)00371-2
- [30] SIRELKHATIM, A., S. MAHMUD, A. SEENI a kolektiv. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters* [online]. 2015, 7(3), 219–242. ISSN 2311-6706. Dostupné z: doi:10.1007/s40820-015-0040-x
- [31] weberpas extraClean active. Cz.Weber [online]. [vid. 2020-04-10]. Dostupné z: <https://www.cz.weber/vnejsi-omitky-natery/tenkovrstve-pastovite-omitky/weberpas-extraclean-active>
- [32] Baunit NanoporTop | Baunit.cz [online]. [vid. 2020-04-10]. Dostupné z: <https://baunit.cz/produkty/3897/baunit-nanopor-top>
- [33] Princip fungování fotokatalytické technologie FN® | FN NANO [online]. [vid. 2019-10-12]. Dostupné z: <https://fn-nano.com/jak-to-funguje/>
- [34] KEIM S.-ME - Keimfarben [online]. [vid. 2020-04-11]. Dostupné z: <https://www.keim.com/en-gb/mineral-products/keim-exterior-paints/soldal-it-me/>
- [35] MILLS, A., C. HILL a P. K. J. ROBERTSON. Overview of the current ISO tests for photocatalytic materials. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* [online]. 2012, 237, 7–23. ISSN 1010-6030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2012.02.024
- [36] ISO 10677:2011 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Ultraviolet light source for testing semiconducting photocatalytic materials [onli-ne]. 7. leden 2011. Dostupné z: <https://www.iso.org/standard/46018.html>

- [37] KRYSA, J., S. PAUSOVA, M. ZLAMAL a A. MILLS. Photoactivity assessment of TiO₂ thin films using Acid Orange 7 and 4-chlorophenol as model compounds. Part I: Key dependencies. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* [online]. 2012, 250, 66–71. ISSN 1010-6030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2012.09.009
- [38] ISO 10678:2010 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Determination of photocatalytic activity of surfaces in an aqueous medium by degradation of methylene blue [online]. září 2010 [vid. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/04/60/46019.html>
- [39] MILLS, A.. An overview of the methylene blue ISO test for assessing the activities of photocatalytic films. *Applied Catalysis B-Environmental* [online]. 2012, 128, 144–149. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:10.1016/j.apcatb.2012.01.019
- [40] MILLS, A., C. O'ROURKE a N. WELLS. A smart ink for the assessment of low activity photocatalytic surfaces. *Analyst* [online]. 2014, 139(21), 5409–5414. ISSN 0003-2654. Dostupné z: doi:10.1039/c4an01375a
- [41] MILLS, A., C. O'ROURKE, K. LAWRIE a S. ELOUALI. Assessment of the Activity of Photocatalytic Paint Using a Simple Smart Ink De-signed for High Activity Surfaces. *Acs Applied Materials & Interfaces* [online]. 2014, 6(1), 545–552. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/am4046074
- [42] MILLS, A., N. WELLS a C. O'ROURKE. Correlation between Delta Abs, Delta RGB (red) and stearic acid destruction rates using commercial self-cleaning glass as the photocatalyst. *Catalysis Today* [online]. 2014, 230, 245–249. ISSN 0920-5861. Dostupné z: doi:10.1016/j.cattod.2013.11.023
- [43] MILLS, A., J. HEPBURN, D. HAZAFY a kolektiv. A simple, inexpensive method for the rapid testing of the photocatalytic activity of self-cleaning surfaces. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* [online]. 2013, 272, 18–20. ISSN 1010-6030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2013.08.004
- [44] ISO 21066:2018 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Qualitative and semiquantitative assessment of the photocatalytic activities of surfaces by the reduction of resazurin in a deposited ink film [online]. září 2018 [vid. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/98/69815.html>

- [45] YUSUFU, D. a A. MILLS. Spectrophotometric and Digital Colour Colourimetric (DCC) analysis of colour-based indicators. *Sensors and Actuators B-Chemical* [online]. 2018, 273, 1187–1194. ISSN 0925-4005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2018.06.131
- [46] ISO 10676:2010 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for water purification performance of semiconducting photocatalytic materials by measurement of forming ability of active oxygen [online]. *prosi-nec 2010* [vid. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/04/60/46017.html>
- [47] ISO 19722:2017 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for determination of photocatalytic activity on semiconducting photocatalytic materials by dissolved oxygen consumption [online]. *leden 2017* [vid. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/61/66118.html>
- [48] ISO 22601:2019(en), Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for determination of phenol oxidative decomposition performance of semiconducting photocatalytic materials by quantitative analysis of total organic carbon (TOC) [online]. 2019 [vid. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:73548:en>
- [49] ISO 22197-1:2016 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for air-purification performance of semiconducting photocatalytic materials – Part 1: Removal of nitric oxide [online]. *listopad 2016* [vid. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/54/65416.html>
- [50] ISO 22197-2:2019 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for air-purification performance of semiconducting photocatalytic materials – Part 2: Removal of acetaldehyde [online]. *říjen 2019* [vid. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/07/23/72347.html>
- [51] ISO 22197-3:2019 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for air-purification performance of semiconducting photocatalytic materials – Part 3: Removal of toluene [online]. *říjen 2019* [vid. 2020-05-12]. Do-

- stupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/07/23/72348.html>
- [52] ISO 22197-4:2013 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for air-purification performance of semiconducting photocatalytic materials – Part 4: Removal of formaldehyde [online]. duben 2013 [vid. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/30/53010.html>
- [53] ISO 22197-5:2013 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for air-purification performance of semiconducting photocatalytic materials – Part 5: Removal of methyl mercaptan [online]. duben 2013 [vid. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/30/53011.html>
- [54] MOTOLA, M., S. LEONID, R. TOMÁŠ a kolektiv. Anatase TiO₂ nanotube arrays and titania films on titanium mesh for photocatalytic NO_x removal and water cleaning. *Catalysis Today* [online]. 2017, 287, Selected contributions of the 9th European Meeting on Solar Chemistry and Photocatalysis: Environmental Applications (SPEA-9), 59–64 [vid. 2020-05-12]. ISSN 0920-5861. Dostupné z: [doi:10.1016/j.cattod.2016.10.011](https://doi.org/10.1016/j.cattod.2016.10.011)
- [55] Microorganisms. Shutterstock [online]. [vid. 2020-05-27]. Dostupné z: <https://www.shutterstock.com/tr/image-vector/microorganism-microbe-microscopic-organism-which-may-797210923>
- [56] GERARD J. TORTORA. *Microbiology: an Introduction*. 10th edition. San Francisco, CA: Pearson Education, Inc., 2010. ISBN 978-0-321-55007-1.
- [57] Prokaryotic cells. Khan Academy [online]. [vid. 2020-05-24]. Dostupné z: <https://www.khanacademy.org/science/high-school-biology/hs-cells/hs-prokaryotes-and-eukaryotes/a/prokaryotic-cells>
- [58] Eukaryotic Cell Structures and Functions [online]. [vid. 2020-05-24]. Dostupné z: <http://staarbiologyreview.weebly.com/eukaryotic-cell-structures-and-functions.html>
- [59] DIBROV, P., J. DZIOBA, K. K. GOSINK a C. C. HASE. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag⁺ in *Vibrio cholerae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2002, 46(8), 2668–2670. ISSN 0066-4804. Dostupné z: [doi:10.1128/AAC.46.8.2668-2670.2002](https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2668-2670.2002)

- [60] SÁNCHEZ-SANHUEZA, G., D. FUENTES-RODRÍGUEZ a H. BELLO-TOLEDO. Copper Nanoparticles as Potential Antimicrobial Agent in Di-sinfecting Root Canals: A Systematic Review. *International journal of odontostomatology* [online]. 2016, 10(3), 547–554 [vid. 2020-05-08]. ISSN 0718-381X. Dostupné z: doi:10.4067/S0718-381X2016000300024
- [61] AAMIR, S., Z. A. ANSARI, H. FOUAD a kolektiv. Effect of Inoculum Size and Surface Charges on the Cytotoxicity of ZnO Nanoparticles for Bacterial Cells. *Science of Advanced Materials* [online]. 2015, 7(12), 2515–2522. ISSN 1947-2935. Dostupné z: doi:10.1166/sam.2015.2431
- [62] ARYAL, S. Differences between Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Microbiology Info.com* [online]. 13. květen 2015 [vid. 2020-05-15]. Dostupné z: <https://microbiologyinfo.com/differences-between-gram-positive-and-gram-negative-bacteria/>
- [63] BARBEROUSSE, H., R. BRAYNER, A. M. BOTELHO DO REGO a kolektiv. Adhesion of facade coating colonisers, as mediated by physico-chemical properties. *Biofouling* [online]. 2007, 23(1), 15–24. ISSN 0892-7014. Dostupné z: doi:10.1080/08927010601093026
- [64] Bakteriofág [online]. 2019 [vid. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Bakteriof%C3%A1g&oldid=17032441>
- [65] SUNADA, K., T. WATANABE a K. HASHIMOTO. Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [online]. 2003, 156(1), 227–233 [vid. 2020-04-27]. ISSN 1010-6030. Dostupné z: doi:10.1016/S1010-6030(02)00434-3
- [66] WOLFRUM, E.J., J. HUANG, D.M. BLAKE a kolektiv. Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces. *Environmental Science and Technology* [online]. 2002, 36(15), 3412–3419. Dostupné z: doi:10.1021/es011423j
- [67] MATSUNAGA, T., R. TOMODA, T. NAKAJIMA a H. WAKE. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 1985, 29(1–2), 211–214. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6968.1985.tb00864.x
- [68] MUTHUVEL, A., M. JOTHIBAS a C. MANOHARAN. Effect of chemically synthesis compared to biosynthesized ZnO-NPs using *Solanum nigrum* leaf extract and

- their photocatalytic, antibacterial and in-vitro antioxidant activity. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. 2020, 8(2), UNSP 103705. ISSN 2213-2929. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2020.103705
- [69] ISO 20645:2004 Textile fabrics – Determination of antibacterial activity – Agar diffusion plate test [online]. [vid. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/03/54/35499.html>
- [70] AATCC TM100-2004 Test Method for Antibacterial finishes on Textile Materials: Assessment of [online]. B.m.: American Association of Textile Chemists and Colorists. 2004 [vid. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://members.aatcc.org/store/tm100/513/>
- [71] ISO/TS 20660:2019 Nanotechnologies – Antibacterial silver nanoparticles – Specification of characteristics and measurement methods [online]. [vid. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/87/68771.html>
- [72] ISO 27447:2009 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials [online]. červen 2009 [vid. 2020-05-16]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/04/41/44156.html>
- [73] ISO 17094:2014 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials under indoor lighting environment [online]. [vid. 2020-05-19]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/80/58094.html>
- [74] ISO 14605:2013 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Light source for testing semiconducting photocatalytic materials used under indoor lighting environment [online]. [vid. 2020-05-19]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/48/54897.html>
- [75] SYNNOTT, D. W., M K. SEERY, S. J. HINDER a kolektiv. Anti-bacterial activity of indoor-light activated photocatalysts. *Applied Catalysis B-Environmental* [online]. 2013, 130, 106–111. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:10.1016/j.apcatb.2012.10.020

- [76] ČSN EN 15458 (672032) Nátěrové hmoty - Laboratorní metody zkoušení účinnosti ochranných povlaků proti působení vodních řas. leden 2015
- [77] ISO 19635:2016 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for antialgal activity of semiconducting photocatalytic materials [onli-ne]. březem 2016 [vid. 2020-05-15]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/55/65574.html>
- [78] GLADIS, F. a R. SCHUMANN. Influence of material properties and photocatalysis on phototrophic growth in multi-year roof weathering. *International Biodeterioration & Biodegradation* [online]. 2011, 65(1), 36–44. ISSN 0964-8305. Dostupné z: doi:10.1016/j.ibiod.2010.05.014
- [79] KOLEKTIV AUTORŮ. FLUORESCENCE CHLOROFYLU JAKO INDIKÁTOR STRE-SU [online]. B.m.: Oddělení fyziologie a anatomie rostlin, MU Brno. Dostupné z: https://www.sci.muni.cz/~fyzrost/index_cv.htm
- [80] EGGERT, A., N. HAEUBNER, S. KLAUSCH, U. KARSTEN a R. SCHUMANN. Quantification of algal biofilms colonising building materials: chlorophyll a measured by PAM-fluorometry as a biomass parameter. *Biofouling* [online]. 2006, 22(2), 79–90. ISSN 0892-7014. Dostupné z: doi:10.1080/08927010600579090
- [81] ISO 13125:2013 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for antifungal activity of semiconducting photocatalytic materials [on-line]. březem 2013 [vid. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/30/53009.html>
- [82] ZHANG, C., M. ZHANG, Y. L. a D. SHUAI. Visible-light-driven photocatalytic disinfection of human adenovirus by a novel heterostructure of oxygen-doped graphitic carbon nitride and hydrothermal carbonation carbon. *Applied Catalysis B-Environmental* [online]. 2019, 248, 11–21. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:10.1016/j.apcatb.2019.02.009
- [83] ISO 18061:2014 Fine Ceramics (Advanced Ceramics, Advanced Technical Ceramics) – Determination of antiviral activity of semiconducting photocatalytic materials – Test method using bacteriophage Q-beta [online]. červen 2014 [vid. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/06/12/61245.html>

- [84] DEN-1B, Densitometer (suspension turbidity detector) - Operating Manual [online]. B.m.: Bioosan SIA. 2016 [vid. 2020-01-08]. Dostupné z: <https://biosan.lv/show-product/183/>
- [85] B. AMARTUVSHIN. Vliv aditivace tenkých vrstev na bázi SiO₂/TiO₂ nanočásticemi na jejich fotokatalytickou a antimikrobiální účinnost. Liberec, 2019. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci.
- [86] ISO - International Organization for Standardization. ISO [online]. [vid. 2020-04-18]. Dostupné z: <https://www.iso.org/home.html>

7 Příloha A

Tabulka A: Přehled současných ISO norem (případně návrhů) pro stanovení fotokatalytické a antimikrobiální aktivity fotokatalytických materiálů. Částečně převzato z literatury [39] a doplněno z webu [86].

Označení normy	Název (specifikace)	Polutant
Čištění vody**		
ISO 10678:2010	Stanovení fotokatalytické aktivity povrchů ve vodném médiu degradací Methylenové modři	MM
ISO 19722:2017	Stanovení fotokatalytické aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů (prášek, film) spotřebou rozpuštěného kyslíku (při fotokatalytické oxidaci fenolu)	fenol
ISO 21066:2018	Kvalitativní a semikvantitativní stanovení fotokatalytické aktivity povrchů redukcí Resazurinu v deponovaných inkoustových filmech	Rz
ISO 20814:2019*	Testování fotokatalytické aktivity nanočástic oxidací nikotinamidadenin dinukleotid hydrátu (NADH) ve vodném prostředí	koenzym NADH
ISO 22601:2019	Zkušební metoda stanovení oxidační dekompozice fenolu na polovodičových fotokatalytických materiálech pomocí kvantitativní analýzy celkového organického uhlíku (TOC)	fenol
ISO 10676:2010	Metoda testování čištění vody polovodičovými fotokatalytickými materiály měřením schopnosti tvorby aktivního kyslíku	DMSO
Dezinfekce**		
ISO 19635:2016	Metoda testování antialgální aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů	řasy
ISO 13125:2013	Metoda testování antifungální aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů	plísně
ISO 18061:2014	Stanovení antivirové aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů - metoda testování s použitím bakteriofága Q-beta	viry

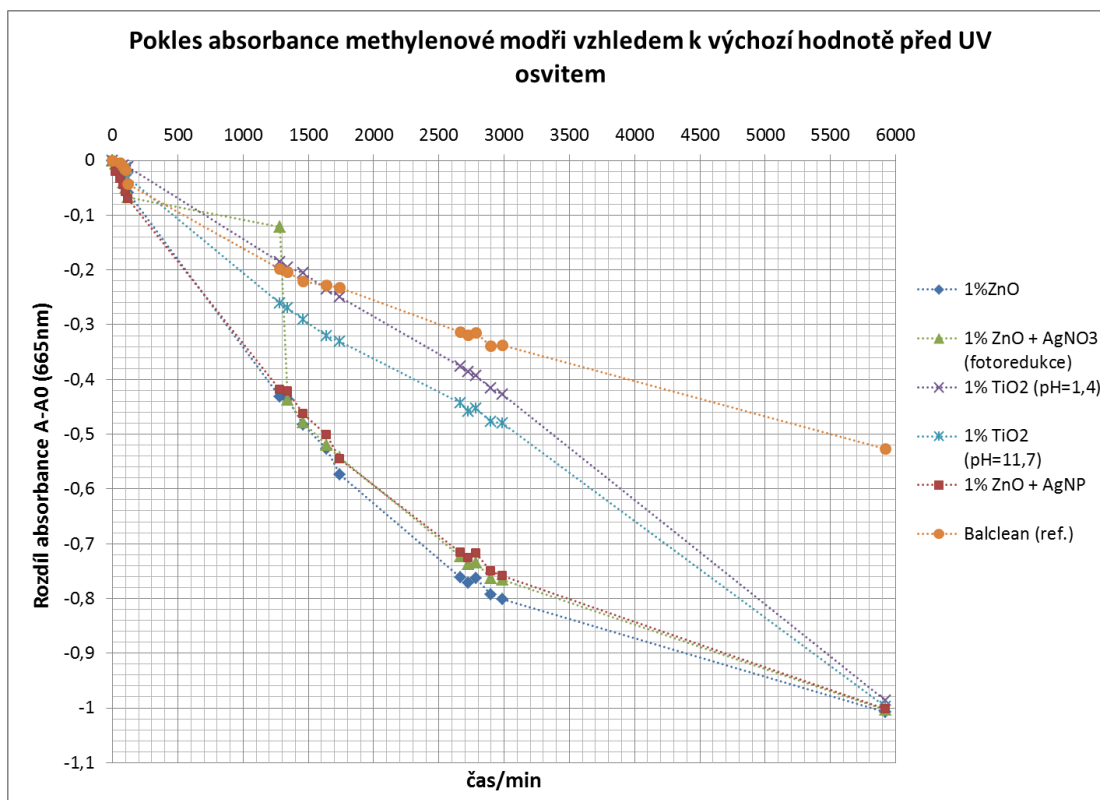
ISO 18071:2016	Stanovení antivirové aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů při pokojovém osvětlení - metoda testování s použitím bakteriofága Q-beta	viry
ISO 27447:2019	Metoda testování antibakteriální aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů	bakterie
ISO 17094:2014	Metoda testování antibakteriální aktivity polovodičových fotokatalytických materiálů při pokojovém osvětlení	bakterie
ISO 22196:2011	Měření antibakteriální aktivity na ošetřených plastových a jiných neporózních površích	bakterie
ISO/CD 17721-2 v procesu	Kvantitativní stanovení antibakteriální aktivity keramických povrchů - keramické povrchy s inkorporovanými fotokatal. antibakteriálními činidly	bakterie
ISO 22551:2020	Stanovení míry bakteriální redukce polovodičovými fotokatalytickými materiály při pokojovém osvětlení - polosuchá metoda stanovení antibakteriální aktivity	bakterie
Samočištění**		
ISO 27448:2009	Metoda testování samočisticího efektu polovodičových fotokatalytických materiálů - měření kontaktního úhlu	kapka vody
Čištění vzduchu**		
ISO 22197-1:2016	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch	NO
ISO 22197-2:2019	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch	acetaldehyd
ISO 22197-3:2019	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch	toluen
ISO 22197-4:2013	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch	formaldehyd
ISO 22197-5:2013	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch	methylmerkaptan
ISO 18560-1:2014	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch v testovací komoře (TK) při pokojovém osvětlení	formaldehyd

ISO 17168-1:2018	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch v TK při pokojovém osvětlení	NO
ISO 17168-2:2018	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch v TK při pokojovém osvětlení	acetaldehyd
ISO 17168-3:2018	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch v TK při pokojovém osvětlení	toluen
ISO 17168-4:2018	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch v TK při pokojovém osvětlení	formaldehyd
ISO 17168-5:2018	Metoda testování schopnosti polovodičových fotokatalytických materiálů čistit vzduch v TK při pokojovém osvětlení	methylmer- kaptan
ISO 19652:2018	Zkušební metoda kompletní dekompozice polutantu na polovodičových fotokatalytických materiálech při pokojovém osvětlení	acetaldehyd

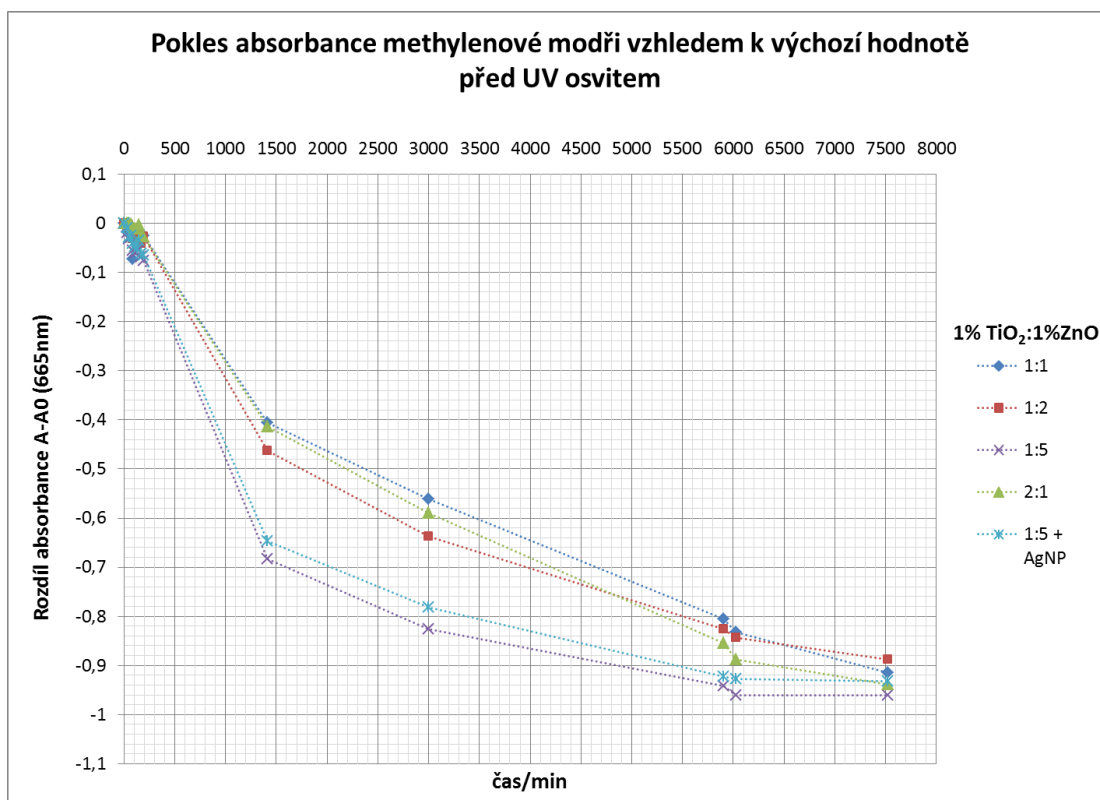
*nevhodná metoda pro testování povrchů (možnost testování vodné suspenze)

**rozdělení dle testovaných vlastností není definitivní - například to, že se daná norma zabývá rozkladem roztoku inkoustů, též může vypovídat o samočisticím účinku materiálu a podobně.

8 Příloha B – Grafy fotokatalytické degradace MM

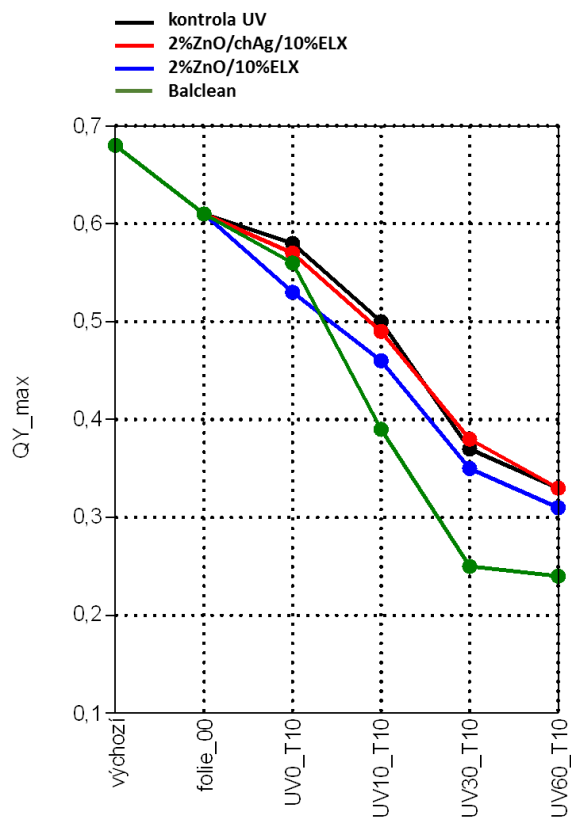


Graf B1: Hodnocení fotokatalytické účinnosti suspenzí na bázi nanočástic TiO₂ a ZnO

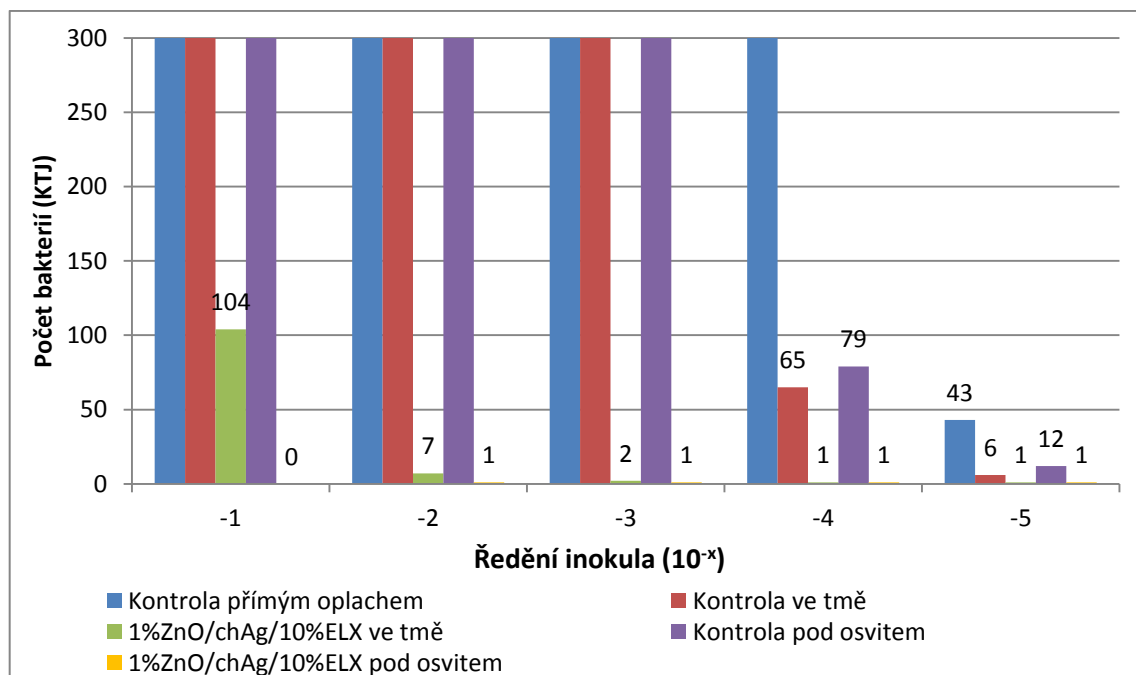


Graf B2: Vliv poměru míchání TiO₂ NP a ZnO NP na výslednou fotokatalytickou účinnost.

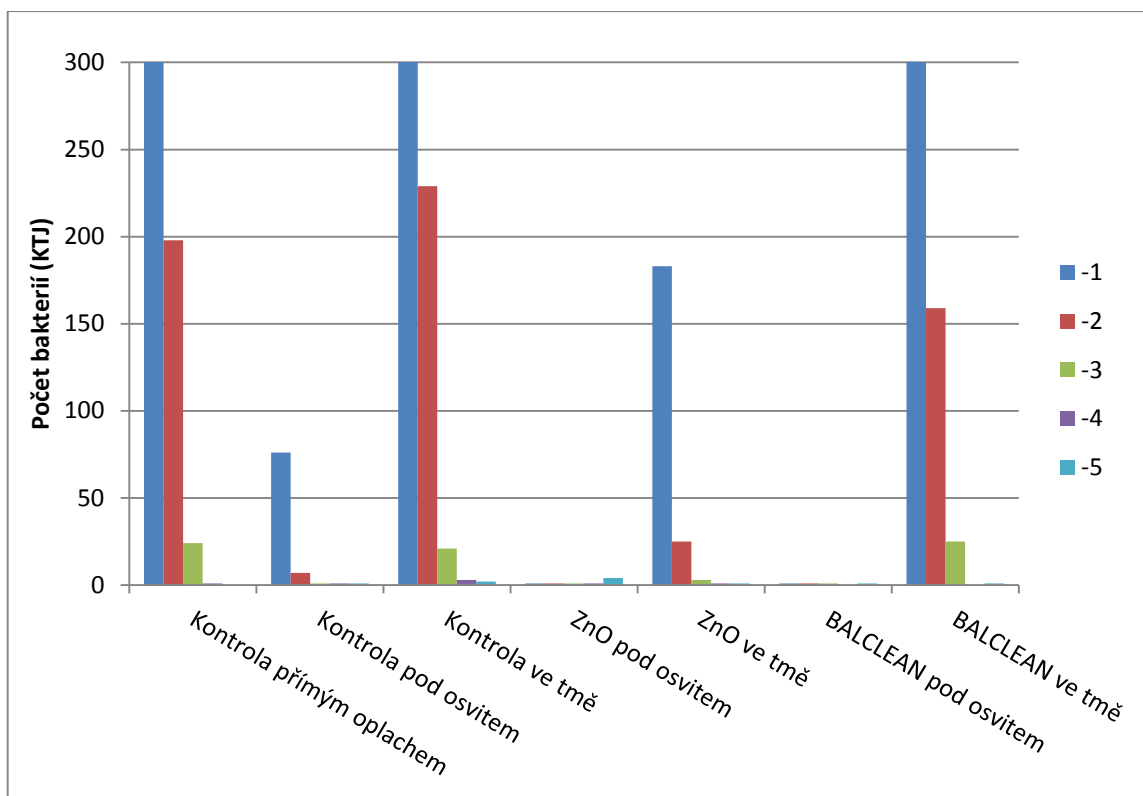
9 Příloha C – Grafy antimikrobiální účinnosti



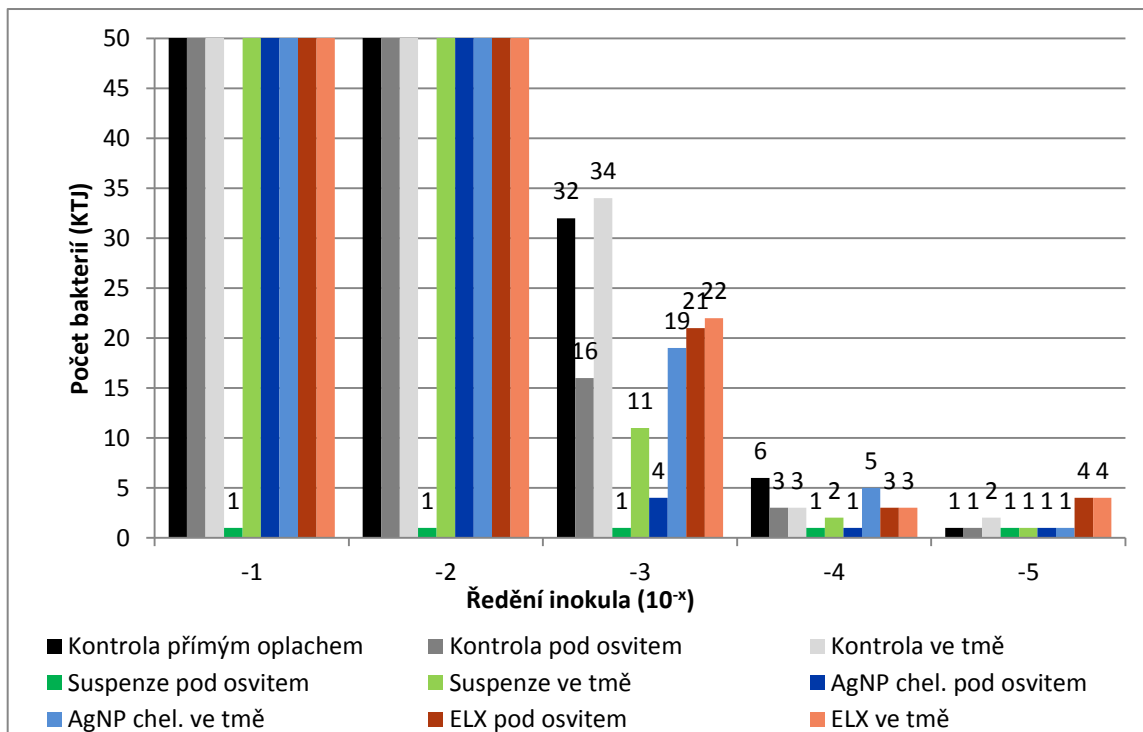
Graf C1: Závislost maximálního kvantového výtěžku na čase osvitů ošetřených fasád



Graf C2: Životaschopnost bakterií na testovaných vrstvách v pěti stupních desetinného ředění



Graf C3: Životaschopnost bakterií na testovaných vrstvách v pěti stupních desetinného ředění



Graf C4: Životaschopnost bakterií na testovaných vrstvách po desetinném ředění