

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie

**Příprava nanočástic stříbra ve směsném
prostředí voda-alkohol**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce:

Tomáš Svobodník

Studijní obor:

Materiálová chemie

Vedoucí diplomové práce:

doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2012

Prohlašuji, že jsem celou diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením pana doc. RNDr. Libora Kvítka, CSc. a uvedl jsem všechny použité podklady a literární prameny v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne

.....

Tomáš Svobodník

Poděkování

Při vypracování mé diplomové práce patří velký dík doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. za jeho odborné vedení a cenné poznatky, které mi po celou dobu ochotně poskytoval. Rovněž chci poděkovat RNDr. Aleši Panáčkovi za strávený čas při pořizování TEM snímků, a všem pracovníkům Katedry fyzikální chemie PřF v Olomouci. Za provedení testů antibakteriální aktivity děkuji Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty.

Bibliografická identifikace:

| | |
|--------------------------|--|
| Jméno a příjmení autora: | Tomáš Svobodník |
| Název práce: | Příprava nanočástic stříbra ve směsném prostředí voda-alkohol |
| Typ práce: | Diplomová |
| Pracoviště: | Katedra fyzikální chemie |
| Vedoucí práce: | doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc. |
| Rok obhajoby práce: | 2012 |
| Abstrakt: | Cílem diplomové práce bylo studium vlivu směsného prostředí voda-alkohol na výsledné vlastnosti nanočástic stříbra připravené redukcí komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ maltózou za stabilizace želatinou a kyselinou polyakrylovou. Byly testovány tři základní neomezeně mísitelné alkoholy s vodou – methanol, ethanol a propanol. Charakterizace vzniklých nanočástic stříbra byla provedena UV/VIS spektrometrií, TEM mikroskopií a DLS metodou měření velikosti částic. Připravené částice byly podrobeny také testování antibakteriální aktivity. |
| Klíčová slova: | Nanočástice stříbra, methanol, ethanol, propanol, želatiny, kyselina polyakrylová |
| Počet stran: | 68 |
| Počet příloh: | 0 |
| Jazyk: | čeština |

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Tomáš Svobodník

Title: Silver Nanoparticle Preparation in Mixed Media Water-Alcohol

Department: Department of Physical Chemistry

Type of thesis: Master

Supervisor: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

The year of presentation: 2012

Abstract: The aim of this diploma thesis was to study the influence of mixed media water-alcohol on the resulting properties of silver nanoparticles, which were prepared by the reduction of the complex cation $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ by maltose. The stabilizing effect of two substances, gelatin and polyacrylic acid was used. Three alcohols, which are freely miscible in water were tested – methanol, ethanol and propanol. Characterization of prepared silver nanoparticles was performed using UV/VIS spectrometry, TEM microscopy and DLS method of measurements of particles size. The prepared silver particles were also tested for antibacterial activity.

Keywords: Silver nanoparticles, methanol, ethanol, propanol, gelatin, polyacrylic acid

Number of pages: 68

Number of appendices: 0

Language: Czech

Obsah

| | |
|---|----|
| 1. Úvod..... | 8 |
| 2. Teoretická část | 9 |
| 2.1 Disperzní soustavy | 9 |
| 2.2 Koloidně disperzní systémy | 10 |
| 2.3 Vlastnosti koloidních soustav | 11 |
| 2.3.1 Kinetické vlastnosti..... | 11 |
| 2.3.2 Optické vlastnosti | 13 |
| 2.3.3 Elektrické vlastnosti..... | 14 |
| 2.3.4 Reologické vlastnosti..... | 16 |
| 2.4 Stabilita koloidních soustav | 16 |
| 2.4.1 Stérická stabilizace | 17 |
| 2.4.2 Stabilizace elektrickou dvojrůstvou..... | 17 |
| 2.5 Metody přípravy koloidních soustav | 18 |
| 2.5.1 Metody dispergační..... | 18 |
| 2.5.2 Metody kondenzační..... | 19 |
| 2.6 Metody přípravy nanočástic stříbra | 19 |
| 2.6.1 Laserová ablace..... | 19 |
| 2.6.2 Redukce působením ultrazvuku..... | 20 |
| 2.6.3 Redukce působením UV/VIS záření..... | 20 |
| 2.6.4 Redukce pomocí γ záření..... | 20 |
| 2.6.5 Chemická redukce..... | 21 |
| 2.6.5.1 Redukce anorganickými činidly | 21 |
| 2.6.5.2 Redukce organickými činidly..... | 22 |
| 2.7 Příprava nanočástic stříbra v nevodných prostředích | 23 |
| 2.8 Stabilizace nanočástic stříbra..... | 24 |
| 2.9 Antibakteriální aktivita AgNPs..... | 26 |
| 2.10 Viskózní chování disperzního prostředí | 27 |
| 3. Praktická část | 31 |
| 3.1 Chemikálie | 31 |
| 3.2 Přístrojové vybavení | 31 |
| 3.3 Příprava nanočástic stříbra ve smíšeném prostředí voda-alkohol..... | 32 |
| 3.4 Stabilizace vznikajících nanočástic stříbra | 33 |
| 3.5 Měření viskozity roztoků alkoholu | 34 |
| 3.6 Studium antibakteriální aktivity..... | 35 |
| 4. Výsledky a diskuze | 35 |
| 4.1 Viskozita roztoků alkoholů..... | 35 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.2 | Vliv směsného prostředí voda-alkohol na přípravu nanočástic stříbra při stabilizaci želatinou | 37 |
| 4.2.1 | Systém voda-methanol..... | 38 |
| 4.2.2 | Systém voda-ethanol..... | 41 |
| 4.2.3 | Systém voda-propanol | 44 |
| 4.2.4 | Shrnutí výsledků při stabilizaci želatinou..... | 47 |
| 4.3 | Vliv směsného prostředí voda-alkohol na přípravu nanočástic stříbra při stabilizaci kyselinou polyakrylovou..... | 48 |
| 4.3.1 | Výběr vhodné koncentrace PAA pro stabilizaci vznikajících AgNPs v prostředí voda-alkohol | 48 |
| 4.3.2 | Systém voda-methanol..... | 50 |
| 4.3.3 | Systém voda-ethanol..... | 53 |
| 4.3.4 | Systém voda-propanol | 56 |
| 4.3.5 | Shrnutí výsledků při stabilizaci PAA..... | 59 |
| 4.4 | Antibakteriální aktivita nanočástic stříbra | 60 |
| 5. | Závěr | 63 |
| 6. | Summary..... | 64 |
| 7. | Literatura..... | 65 |

1. Úvod

Nanočástice ušlechtilých kovů mají v lidských dějinách svoji dlouhou historii. První zmínky se datují již ve starověké Číně a v Egyptě. Mezi hlavní využití patřilo zdobení keramiky a příprava barevných inkoustů. Za dob starých Římanů se také používaly v medicíně, díky svým antibakteriálním účinkům, které vykazuje zejména kovové stříbro i jeho sloučeniny.

První vědecky zdokumentované využití stříbra v medicíně se datuje v roce 1884, kdy německý porodník C. S. F. Crede využíval stříbro k zamezení vzniku oční infekce u novorozenců.^[1] Velký rozvoj využití stříbra a jeho sloučenin v medicíně přinesla I. světová válka, kdy se pomocí sloučenin stříbra léčily popáleniny a zabráňovalo se díky nim vzniku infekce v ranách.

Po objevu antibiotik došlo k odsunutí využití a dalšího studia antibakteriálních účinků stříbra do ústraní, avšak netrvalo dlouho a koncem 20. století se zájem o antibakteriální účinky stříbra opět probudil. Bylo tomu zapříčiněno vznikem rezistence bakterií na antibiotika. V moderní medicíně se používají nanočástice stříbra na zabránění vzniku infekce při léčení popálenin, úprava katetrů^[2] a endoprotéz^[3].

Mezi další využití nanočástic stříbra (zkratka AgNPs) patří oblast instrumentálních metod, kde jsou používány například při fluorescenční spektroskopii^[4] a povrchem zesílené Ramanově spektroskopii (SERS)^[5,6]. Adsorpce molekul na povrch nanočástice stříbra nám v metodě SERS umožňuje studium i jednotlivé molekuly adsorbované na nanočástici stříbra. Nanočástice stříbra jsou v dnešní době využívány ve spoustě aplikací, mimo výše zmíněné aplikace v medicíně a instrumentálních metodách, existují aplikace také při úpravě pitné vody (desinfekční filtry), barvení skel a keramiky. Také v textilním průmyslu má stříbro své využití při vývoji antibakteriálních úprav textilií^[7].

V oblasti přípravy nanočástic stříbra zůstávají doposud některé problémy nevyřešené. Jedná se hlavně o spolehlivou kontrolu velikosti vznikajících částic a také jejich morfologii. Mnohem zásadnějším problémem je dlouhodobá agregátní stabilita, která je zejména kritická v nevodných prostředích. Právě nevodné prostředí je tím hlavním předmětem studia přípravy nanočástic stříbra v této diplomové práci. Věnuji se studiu vlivu směsného prostředí voda-alkohol na přípravu a stabilitu nanočástic stříbra, včetně jejich antibakteriální aktivity.

2. Teoretická část

2.1 Disperzní soustavy

Disperzní soustava je tvořena dvěma fázemi, první z nich je disperzní podíl (disperzní fáze), který je rozptýlen ve formě částic ve spojitém disperzním prostředí tvořícím druhou fázi. Náleží-li disperzní podíl spolu s disperzním prostředím do jediné směsné fáze, označujeme ho pak jako homogenní systém. Existuje-li naopak určitá hranice mezi oběma složkami, tzv. fázové rozhraní, mluvíme tedy o soustavě heterogenní. Toto rozdělení je jednou ze základních charakteristik disperzních soustav. Podle dalších kritérií můžeme dělit disperzní soustavy do skupin, z kterých se dále odvíjí jejich chování. Mezi tyto kritéria patří velikost částic, které jsou rozptýleny v disperzní prostředí, tvar částic, interakce částic spolu s disperzním prostředím, skupenství disperzního podílu a disperzního prostředí.^[8,13]

Částice disperzního podílu mohou být různé morfologie a velikosti. Například u částic kulového tvaru můžeme velikost vyjádřit tzv. stupněm disperzity, neboli převrácenou hodnotou velikosti průměru částice. Podle velikosti disperzních částic lze dělit disperzní soustavy do třech základních skupin: analytické disperze, koloidní disperze a hrubé disperze. Hlavní příklady těchto disperzí jsou uvedeny v tabulce 1. Nutno uvést, že velikostní limity mezi jednotlivými skupinami nejsou ostře vymezené a dochází k plynulým přechodům.

Tabulka 1: Rozdělení disperzních soustav dle velikosti částic^[9]

| | <i>Analytická Disperze</i> | <i>Koloidní disperze</i> | <i>Hrubá disperze</i> |
|---|--|--|---------------------------|
| <i>Velikost dispergovaných částic (m)</i> | menší než 10^{-9} | $10^{-9} - 10^{-6}$ | větší než 10^{-6} |
| <i>Příklad</i> | Pravé roztoky nízkomolekulárních látek | lyosoly ¹ , micelární koloidní roztoky | Děšť, mlha, dým |

Vyskytují-li se v disperzní soustavě všechny částice o stejné velikosti, označujeme ji za monodisperzní a v opačném případě se jedná o soustavu polydisperzní. Pro popis polydisperzní soustavy je třeba znát distribuční funkci velikosti dispergovaných částic, jejímž vyjádřením je distribuční křivka.

¹ Koloidní soustavy s kapalným disperzním prostředím a tuhou disperzní fází.

Další charakteristickou vlastností disperzních soustav je morfologie disperzní fáze, která zejména ovlivňuje optické a mechanické vlastnosti. Jsou-li částice vyvinuty ve všech třech rozměrech přibližně stejně (částice jsou ve všech třech směrech mikrodisperzní), jedná se o soustavu *korpuskulárně* disperzní. Další možností jsou částice ve dvou směrech mikrodisperzní neboli *laminárně* disperzní (částice jsou ve tvaru lamel nebo destiček) Posledním typem jsou částice mikrodisperzní pouze v jednom směru (částice ve tvaru tyčinek nebo vláken), které jsou nazývány *fibrilárně* disperzní.

2.2 Koloidně disperzní systémy

Jak již bylo uvedeno výše, rozsah velikostí u koloidních disperzí se pohybuje řádově v rozmezí $10^{-9} - 10^{-6}$ m. Pokud tyto částice splňují velikostní rozsah 1 – 100 nm, jsou nazývány pojmem nanočástice. Se zmenšováním rozměru částic jsou spojeny i specifické vlastnosti, které souvisí mimo jiné také s velkou plochou fázového rozhraní.

Koloidně disperzní systémy – soly – lze rozdělit do osmi skupin (viz tabulka 2). Disperzní soustavu, ve které se vyskytuje disperzní prostředí kapalné, lze označit předponou *lyo* (z řeckého lyos = rozpouštědlo). V případě, že se jedná o plynné prostředí, uvádíme předponu *aero* (z řeckého aero = vzduch). V případě, že se nejedná o koncentrované systémy tak disperzní prostředí určuje skupenský stav celé soustavy.

Tabulka 2: Rozdělení koloidních soustav dle skupenství disperzní fáze a disperzního prostředí^[9]

| <i>Disperzní prostředí</i> | <i>Disperzní fáze</i> | <i>Označení koloidní disperze</i> |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| plynné | plynná | Netvoří koloid |
| | kapalná | aerosoly |
| | pevná | aerosoly |
| kapalné | plynná | pěny |
| | kapalná | emulze |
| | pevná | lyosoly |
| pevné | plynná | tuhé pěny |
| | kapalná | tuhé emulze |
| | pevná | tuhé soly |

Mezi další dělení koloidních soustav patří dělení podle afinity pevné disperzní fáze ke kapalnému disperznímu prostředí. Na základě vlastností fázového rozhraní rozlišujeme tři skupiny: lyofilní, lyofobní a micelární koloidy.

Lyofilní koloidy jsou termodynamicky stabilní a jejich vznik je samovolný. Fázové rozhraní u lyofilních koloidů není ostře vymezené a převažují zde adhezní síly nad kohezními. Disperzní fáze je tvořena z vysokomolekulárních organických látek, podle kterých se systém nazývá také jako molekulární koloid.

Lyofobní koloid je heterogenní systém, ve kterém mezi molekulami převládají kohezní síly nad adhezními a který se vyznačuje ostře vymezeným fázovým rozhraním. Disperzní podíl zde tvoří ve většině případů anorganická látka a k jejich vzniku je nutno dodat dostatečné množství energie, která souvisí se vznikem fázového rozhraní. Lyofobní soustava je termodynamicky nestálá a před jejím samovolným zánikem je třeba ji dostatečně stabilizovat.

Vznik micelárních koloidů je zapříčiněn samovolným reverzibilním sdružováním molekul povrchově aktivní látky (PAL). Těmto objektům koloidní velikosti se říká micely.

Asociativní koloidy se vyznačují tím, že nemají ostře vymezené fázové rozhraní, neboť dochází k neustálé výměně molekul PAL mezi samotnou micelou a disperzním prostředím. Z termodynamického pohledu jsou tyto soustavy stabilní.

2.3 Vlastnosti koloidních soustav

Změna fyzikálně chemických vlastností u koloidních soustav souvisí s faktem, že s klesající velikostí částic roste počet povrchových molekul, stýkajících se s disperzním prostředím a zvětšujících plochu fázového rozhraní, oproti počtu molekul uvnitř částice.

2.3.1 Kinetické vlastnosti

Brownův pohyb. Při pozorování pylových zrn pod mikroskopem se skotskému botanikovi Robertu Brownovi (1773 – 1858) naskytl v té době ještě nepopsaný jev. U pylových částíček v suspenzi pozoroval rychlý a velmi nepravidelný pohyb. Tento chaotický pohyb zrn se skládal z krátkých a rychlých posuvů, vibrací a rotací. Později byl tento jev pojmenován jako Brownův pohyb.

Pohyb částic koloidního systému je způsoben molekulami disperzního prostředí, které díky tepelným pohybům narážejí do částic a mění tak jejich směr. Díky těmto srážkám se mění rychlost a směr koloidních částic pohybujících se po složitých drahách. Intenzita těchto srážek je závislá na teplotě a velikosti částic. Čím je vyšší teplota a snižující se velikost částic, tím roste intenzita pohybu.^[10]

Difúze je tendence molekul pohybovat se z prostředí o vyšší koncentraci do prostředí s nižší koncentrací. Jedná se o takzvaný pohyb na základě koncentračního gradientu.

Difúzní tok J_i neboli rychlost difúze ve stacionárním prostředí je definován jako látkové množství difundující látky i , která projde jednotkovou plochou kolmou ke směru difúze za jednotku času a je úměrný koncentračnímu gradientu dc_i/dx

$$J_i = -D_i \frac{dc_i}{dx} \quad (1)$$

kde D_i je difúzní koeficient závislý jak na vlastnostech difundující látky, tak na vlastnostech prostředí.

Pro pohyb sféricky symetrických částic ve viskózním prostředí platí Stokesova rovnice

$$B = 6\pi\eta \cdot r \quad (2)$$

kde B je koeficient tření závislý na viskozitě prostředí η a poloměru částic r za předpokladu, že molekuly prostředí jsou mnohem menší než v něm pohybující se částice.^[11]

Mezi další kinetické vlastnosti patří **sedimentace**. Při působení gravitačního a odstředivého pole dochází u hrubě a koloidně disperzních systému k separaci fází – sedimentaci. Gravitační síla působí pouze na systémy o nižším stupni disperzity, v opačném případě je působení zanedbatelné.

Průběh sedimentace závisí nejen na vlastnostech prostředí, ale také na charakteru částic. Mezi vlastnosti, které popisují charakter částic, patří velikost, tvar, hmotnost a hustota. V gravitačním poli budou sedimentovat směrem dolů těžší částice s větší hustotou než má disperzní prostředí, a naopak lehčí částice se budou držet v celém objemu díky Brownovu pohybu. V odstředivém poli sedimentují těžší částice radiálním směrem, tzn. do místa nejvzdálenějšímu osy otáčení.

Osmóza je děj, při kterém dochází k vyrovnání rozdílných koncentrací roztoků přes polopropustnou (semipermeabilní) membránu, která je schopna propustit pouze

molekuly rozpouštědla. Hnací silou tohoto jevu je osmotický tlak neboli snaha vyrovnání chemických potenciálů rozpouštědla na obou stranách membrány. Velikost osmotického tlaku je u ideálně se chovajících soustav úměrná koncentraci částic c v roztoku.^[11]

2.3.2 Optické vlastnosti

Díky studiu interakce elektromagnetického záření s částicemi disperzní soustavy můžeme nejen charakterizovat jejich vnitřní strukturu, ale také koncentraci a získat informace o rozměrech a molárních hmotnostech. U koloidních soustav dochází při průchodu světla ke dvěma jevům, pravé absorpci a rozptylu světla. Jedna z těchto možností převládá v závislosti na charakteru disperze. U analytické disperze převládá především pravá absorpce, zatímco u koloidních disperzí se setkáváme více s rozptylem světla.^[8]

Při rozptylu světla na rozdíl od pravé absorpce nedochází k pohlcení kvanta energie záření, ale světlo je náhodně rozptýleno do všech směrů beze změny světelné energie (nemění se vlnová délka). Podmínkou pro vznik rozptylu světla je, že vlnová délka záření je podstatně větší než velikost částic v disperzi. Není-li tato podmínka splněna a částice jsou větší, než vlnová délka, dochází k odrazu a lomu světla, které je zároveň polarizováno. U hrubých disperzí se toto chování projevuje zakalením pozorovatelným ve všech směrech.

U koloidních disperzí, kde velikost částic je menší nebo srovnatelná s vlnovou délkou záření, se rozptyl světla projevuje tvorbou světelného kužele. Tímto jevem se zabýval britský fyzik Tyndall, podle kterého je tento jev rozšiřujícího se paprsku pojmenován – Tyndallův jev.

Anglický fyzik Rayleigh se zabýval teoretickými základy rozptylu světla a v roce 1871 byl tento jev popsán na základě elektromagnetické teorie světla. Částice obsažené v disperzi jsou po průchodu světla polarizovány účinkem elektromagnetického pole a vznikají oscilující indukované dipóly. Ty jsou pak zdrojem rozptýleného světla o stejné vlnové délce. Rayleigh odvodil na základě těchto úvah rovnici pro intenzitu světla rozptýleného na jednotku objemu ve zředěném disperzním systému pod úhlem θ :

$$I_{\theta} = I_0 \cdot \frac{\pi^2 \cdot a^2 \cdot \nu}{\varepsilon_0^2 \cdot \lambda^4 \cdot r^2} \cdot \frac{(1 + \cos^2 \theta)}{2} \quad (3)$$

kde I_0 je celková intenzita primárního záření, ν je počet částic na jednotku objemu, ε_0 je permitivita vakua, λ vlnová délka primárního i rozptýleného světla v disperzním prostředí, r je vzdálenost detektoru od zdroje rozptýleného záření, θ je úhel pozorování, a je

polarizovatelnost částice. Tato teorie je aplikovatelná pouze na velmi zředěné disperzní systémy, ve kterých se nacházejí pouze částice menší než vlnová délka ($< \lambda/20$) a mající polarizovatelnost ve všech směrech stejnou.^[8]

Na rozdíl od klasického rozptylu světla, kde je použito nekoherentního zdroje záření a rozptýlené světlo se šíří všemi směry, je u **dynamického rozptylu** světla použito koherentního zdroje záření (laser). V disperzi dochází vlivem Brownova pohybu k interferencím na nestacionárních částicích, které způsobují změnu intenzity rozptýleného záření. Výsledným efektem jsou fluktuace (kolísání) intenzity rozptýleného záření kolem průměrné hodnoty. Tento jev je podstatou dynamického rozptylu světla. Ze změn intenzity rozptýleného záření v čase není obtížné získat rychlost pohybující se částice. Toto lze provést pouze za předpokladu, že teplota a viskozita rozpouštědla nejsou neznámými veličinami. Na základě rychlosti částice lze stanovit její rozměr.

Metoda dynamického rozptylu světla je využívána v mnoha přístrojích, které nám umožňují měřit velikost a distribuci koloidních částic. Přístroje na tomto principu jsou velmi oblíbené pro časovou nenáročnost měření a také pro plnou výtěžnost vzorku.

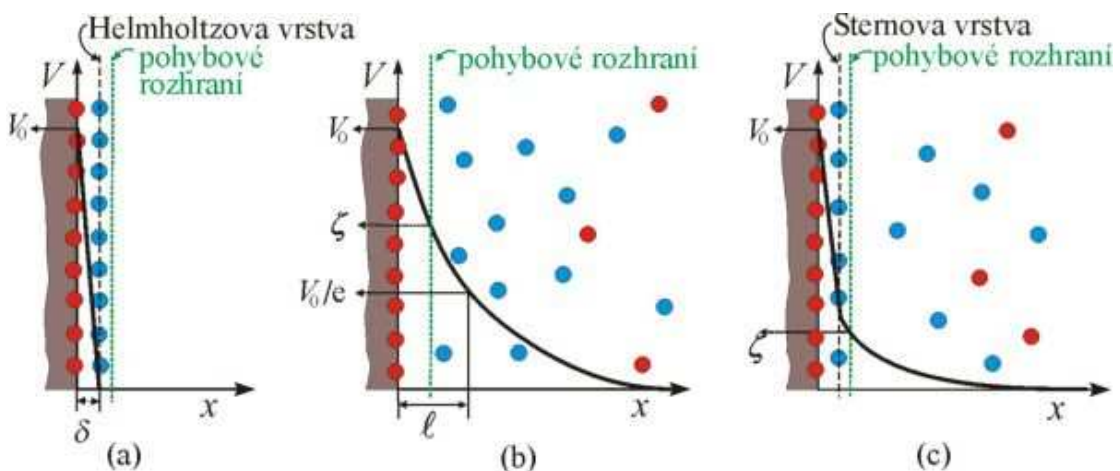
2.3.3 Elektrické vlastnosti

Existence elektrického náboje na fázovém rozhraní nese velký vliv na elektrické vlastnosti koloidních soustav. Tento náboj na povrchu částice může vznikat řadou mechanismů, z nichž nejdůležitější je přednostní adsorpce iontů z roztoku, ionizace povrchových skupin, izomorfní substituce a specifická adsorpce organických iontů. Takhle vzniklý povrchový náboj částice ovlivňuje rozmístění iontů v okolí povrchu částice. Ionty, se souhlasným nábojem jsou od povrchu částice odpuzovány do větších vzdáleností a ionty s opačným nábojem jsou přitahovány – tzv. protiionty. Tento jev společně s tepelným pohybem formuje kolem částice elektrickou dvojvrstvu, která se skládá z nabitého povrchu částice, k němuž je těsně vázaná vrstva opačně nabitých iontů. Ve větší vzdálenosti od povrchu se vyskytují ionty difúzně rozptýlené v roztoku.^[10]

Z historického hlediska byl pohled na tuto problematiku rozdílný a jako první model uspořádání elektrické dvojvrstvy byl navržen model na základě podobnosti s deskovým kondenzátorem. Vypracoval jej Helmholtz, podle něhož se mu také tak říká – *Helmholtzův model*. Náboj vnitřní vrstvy (povrchu) je zcela kompenzován ionty vnější vrstvy. Tato teorie však neodpovídá skutečnosti, kvůli existenci tepelného pohybu molekul v disperzním prostředí a později byla vylepšena.

Pánové *Goüy a Chapman* přišli s vylepšenou teorií. Ionty vyskytující se na povrchu částice nemohou vázat stejné množství protiiontů, z důvodu pohybu iontů vlivem difúze. K povrchu částice je připoutáno pouze určité množství protiiontů a zbytek se nachází v tzv. difúzní vrstvě. Tato teorie elektrické dvojvrstvy také neodpovídá realitě a při výpočtech vycházely velké koncentrace nábojů v blízkosti fázového rozhraní. *Goüy a Chapman* navíc pohlíželi na ionty pouze jako na bodové náboje a nepočítali se skutečnými rozměry iontů.

Sternův model elektrické dvojvrstvy se nejvíce přiblížil skutečnosti a ukázal se jako nejvhodnější. Vnitřní vrstva iontů se vyskytuje na povrchu pevné fáze (částici), nebo ji tvoří vrstva o tloušťce jednoho iontu adsorbovaná na povrchu částice. K povrchu těsně přiléhá vrstva protiiontů, která je nazývána Sternova vrstva. Ionty jsou v ní vázány převážně adsorpčními silami a společně s ionty na povrchu částice tvoří vnitřní vrstvu. Zbytek náboje je kompenzován ionty z difúzní vrstvy, které jsou vázány elektrostatickými silami. Tato difúzní vrstva se s částicí nepohybuje. Potenciál dvojvrstvy nejprve klesá rychle na potenciál Sternovy vrstvy a pak pozvolna k nule. Rozhraní mezi difúzní vrstvou a Sternovou vrstvou se nazývá pohybové rozhraní. Na tomto rozhraní vzniká tzv. elektrokinetický potenciál (ζ (zeta) potenciál), který nám udává míru stability koloidních částic. S rostoucí koncentrací elektrolytu dochází ke snižování hodnoty ζ potenciálu a důsledkem může být pokles stability koloidních částic. Zeta potenciál, resp. elektrický náboj koloidních částic v disperzi, je tak jednou z hlavních příčin tzv. kinetické stability koloidních soustav, kdy odpuzování stejně nabitých koloidních částic brání jejich spojování ve větší útvary – agregáty. Všechny modely jsou zobrazeny na obr. č. 1.



Obr. č. 1: Modely elektrické dvojvrstvy^[12]
a) Helmholtzův model, b) Gouyův-Chapmanův model, c) Sternův model

2.3.4 Reologické vlastnosti

Obor reologie se zabývá tokem a deformací hmoty vlivem působení vnějšího mechanického napětí v závislosti na čase. Tělesa, na které, působí vnější mechanické napětí, se mohou projevovat buď elastickým, viskózním nebo viskoelastickým chováním.

Reologické chování disperzí koloidních částic je závislé na viskozitě disperzního prostředí, ale také na vlastnostech částic a interakcích mezi částicemi samotnými a mezi částicí a prostředím. Mezi vlastnosti částic, které ovlivňují viskozitu, patří koncentrace, velikost a také morfologie. Díky těmto vlivům je viskozita disperze vždy větší, než viskozita samotného disperzního prostředí.^[8]

2.4 Stabilita koloidních soustav

Pro koloidní soustavy je charakteristický velký přebytek povrchové energie díky velké ploše fázového rozhraní. Tyto soustavy mají tudíž sklon minimalizovat povrchovou energii a zmenšit plochu fázového rozhraní. Tento děj je podporován tepelným pohybem, který způsobuje přiblížení částic. Takto přiblížené částice se vlivem přitažlivých sil v místě dotyku spojí. Při opakování tohoto děje postupně vznikne vločkovitý agregát, který sedimentuje a vzniká sraženina – koloidní systém koaguluje. Proti koagulaci je třeba vytvořit dostatečně velkou energetickou bariéru, která je schopná zamezit agregaci částic a následnou koagulaci.^[9]

Stabilitu koloidních soustav lze popsat jako schopnost soustavy odolávat procesům, které by vedly ke změně jejich struktury, velikosti částic nebo stupně disperzity. Jednou z možností je kinetická stabilita, která v systému udržuje stabilitu při sedimentaci částic. Další možnost představuje agregátní stabilita. Pod tímto pojmem rozumíme schopnost zachovat stupeň disperzity v systému. Jak je napsáno výše, částice v koloidním systému mají tendenci se shlukovat (agregovat). Jsou-li agregáty pevně vázané a nelze je změnou vlastností systému vrátit do původního tvaru, nazýváme je koaguláty. Mezi základní způsoby stabilizace koloidních systémů patří stérická stabilizace a stabilizace elektrickou dvojrůstvou.^[8]

2.4.1 Stérická stabilizace

K tomu, aby se mohlo jednat o stérickou stabilizaci je zapotřebí látek, které jsem schopné se dostatečně pevně adsorbovat na povrch částice, a zároveň jsou schopny se dostatečně rozpouštět v disperzním prostředí. Mezi tyto látky patří nejčastěji makromolekuly (polymery) a povrchově aktivní látky (tenzidy). Adsorpce těchto látek může probíhat dvěma způsoby, reversibilně a ireverzibilně. Pod pojmem ireverzibilní rozumíme zakotvení koncové skupiny makromolekuly na povrchu koloidní částice. Naopak reverzibilní adsorpce znamená vytvoření souvislé a silné vrstvy kolem částice bez toho aniž by vznikla chemická vazba.^[8]

Hlavním parametrem při interakci dvou stéricky stabilizovaných částic je kvalita rozpouštědla. Při přiblížení dvou koloidních částic pokrytých vrstvou makromolekul se můžou jejich vrstvy buď stlačit, nebo prostoupit. Při použití špatné kvality rozpouštědla dojde k samovolnému pronikání vrstev a shluku částic. V případě dobrého rozpouštědla nastane zabránění stlačování a omezení prostupování adsorpčních vrstev rozpouštědla. Tím pádem se zabrání přiblížování a následná koagulace částic.^[8]

2.4.2 Stabilizace elektrickou dvojvrstvou

Elektrostatická stabilizace je častým způsobem, jak lze zabránit agregaci u systému s vodným disperzním prostředím. Při přiblížení dvou stejně nabitých povrchů dojde k prostoupení difuzní části jejich elektrických dvojvrstev. Následně se ustavuje nové rozložení iontů a s tím se projeví i změna průběhu potenciálu a také místní hustoty náboje. Při zúžení mezery mezi částicemi dojde k desorpci iontů a vzroste Gibbsova energie systému. Výsledkem je vznik odpudivých sil mezi dvěma částicemi, které se od sebe opět vzdálí vlivem tepelného pohybu.^[8,11]

Přesnější popis chování částic přinesla teorie DLVO - teorie stability lyofobních heterogenních disperzí vypracovaná Děrjaginem a Landauem a také nezávisle na nich Verweyem a Overbeekem. Stabilita vodných disperzí je popsána energetickými změnami probíhajícími při vzájemném přiblížení dvou částic. Soutěž odpudivých sil (elektrostatické) se silami přitažlivými (van der Waalsovy) při prolnutí elektrických dvojvrstev rozhoduje o tom, zda budou částice ochráněny před koagulací. Při převážení odpudivých sil nedojde ke kontaktu částic a k následné koagulaci. V případě převážení přitažlivých sil dojde

ke vzniku aglomerátů (soubor částic, který není pevně vázán) nebo agregátů (pevně vázané částice).^[8]

2.5 Metody přípravy koloidních soustav

Koloidní částice se z hlediska velikosti částic pohybují mezi analytickými a hrubými disperzemi. Z toho nám vyplývají dvě cesty, jak připravit koloidní částice. Jedním z možných přístupů je mechanické či vibrační rozměňování částic makroskopického materiálu přes hrubě disperzní soustavy až na koloidní rozměry – jedná se o metody dispergační. Druhým možným přístupem je spojování atomů a molekul pravých roztoků na částice koloidních rozměrů – metody kondenzační.

2.5.1 Metody dispergační

Při přípravě koloidních částic pomocí dispergačních metod se používá mechanických postupů. Větší částice se nejčastěji roztírají, drtí tlakem nebo úderem. Mezi další způsoby přípravy koloidních částic patří rozměňování pomocí ultrazvuku, elektrická dispergace za působení elektrického výboje a nevhodnější a nejpoužívanější pro přípravu koloidních disperzí kovů je laserová ablace. Jak vyplývá z pojmů „drcení a roztírání“ je potřeba při vzniku koloidních částic pomocí dispergačních metod vynaložit práci.

Kulové mlýny jsou zástupcem mechanického rozměňování. Optimalizace podmínek mletí probíhá volbou koulí, které na sobě mohou obsahovat vhodné výstupky, které nám zajistí vyšší stupeň disperzity. Při mletí se získává jemný prach, který se dále suspenzací převádí na koloidní disperzi. Takhle připravené částice ovšem nejsou stabilní a je tudíž nutná stabilizace pomocí surfaktantů a polymerů. Nevýhodou metody je kontaminace připravených koloidních částic materiálem koulí nebo válců.

Jednou z metod přípravy koloidních disperzí je také využití ultrazvuku. Mechanické vlnění o kmitočtech 16 – 20 kHz vyvolá po dopadu na materiál vznik trhlin, které způsobují rozpad materiálu. Ultrazvuk se využívá pouze u málo pevných materiálů, které nejsou schopny odolat střídající se kompresi a expanzi látky.

Mezi nejnovější a nejpoužívanější dispergační metodu přípravy koloidních disperzí kovů patří laserová ablace. Tato metoda se může pyšnit svou jednoduchostí a variabilitou z hlediska připravovaných druhů kovů. Pro optimalizaci velikosti částic lze měnit parametry, jako jsou použitá vlnová délka laseru, doba jednotlivých pulsů, použité

rozpouštědlo a také přítomnost tenzidů. Principem této metody je lokální přehřátí povrchu materiálu vlivem vysokoenergetického laseru, ze kterého jsou následně odtrhávány částice. Mezi přednosti této metody uvedené výše, patří i vznik čistých koloidních částic, které nejsou kontaminovány jiným materiálem.

2.5.2 Metody kondenzační

Kondenzační metody jsou v praxi mnohem častěji využívány, jak pro jejich jednoduchost, tak i pro vznik vysoce dispergovaných soustav, které jsou poměrně monodisperzní. Kondenzace částic může probíhat fyzikální i chemickou cestou. Fyzikální cestou rozumíme změnu rozpouštědla, ve kterém má daná látka nízkou rozpustnost. Chemické reakce jsou ovšem mnohem častěji využívány, jejich výhodou je možnost připravit koloidní disperze ve velkých objemech a o různém složení. V následující kapitole se budeme věnovat těmto postupům podrobněji u přípravy nanočástic stříbra.

2.6 Metody přípravy nanočástic stříbra

Volbou vhodné metody přípravy koloidní disperze stříbrných částic můžeme zásadně ovlivnit charakteristické vlastnosti koloidu. Jedná se zejména o velikost, tvar, strukturu, s velikostí spojený povrch a také stabilitu. Kondenzačními i dispergačními postupy lze volit optimální vlastnosti připravené disperze, ovšem v praxi se častěji setkáváme s kondenzačními metodami díky jejich jednoduchosti a časové nenáročnosti.

2.6.1 Laserová ablace

Z makroskopického stříbrného materiálu (fólie) je možné pomocí metody laserové ablace připravit částice v nano velikostech. Výhodou metody je vznik velmi čistých nanočástic, které neobsahují zbytky iontů z roztoku a jsou tudíž chemicky čisté. Této vlastnosti je využito v oblasti Ramanovy spektroskopie (SERS). Optimalizace vlastností vzniklých nanočástic lze řídit především změnou parametrů laseru – počet laserových pulsů, vlnová délka a intenzita laseru a také délka ozařování.^[14] Ovlivnit vlastnosti vzniklých nanočástic lze také změnou použitého rozpouštědla a přidavek surfaktantů.

Skupina vědců Darroudi a kol. zkoumali laserovou ablaci stříbrného plátu za přídavku želatiny o 1% hmotnostním zlomku v systému. Hlavní parametrem, kterým

ovlivňovali velikost vznikajících nanočástic byla doba osvitů destičky laserem. Použili frekvenci pulsů 40 – 10 Hz a bylo zjištěno, že čím menší frekvence pulsů, tím vznikaly menší nanočástice. Při frekvenci 40 Hz byla pozorována velikost 14,7 nm, která se dále zmenšovala až na velikost 8,9 nm, při použití frekvence 10 Hz.^[14]

2.6.2 Redukce působením ultrazvuku

Použití účinku ultrazvuku je vhodné nejen pro dispergační postupy, jak bylo uvedeno výše, ale také mohou být použity při kondenzačních postupech přípravy nanočástic. Vliv ultrazvuku na reakční směs se projevuje rozkladem molekul vody na vodíkový a hydroxylový radikál, které při přítomnosti vhodných chemických látek (aditiv) reagujících s vodíkovými radikály mají za následek vznik organických radikálů. Organické radikály poté zprostředkovávají redukci stříbrných iontů přítomných v roztoku.

Přítomnosti ultrazvuku se využívá také při přípravě nanočástic stříbra, kdy se použije k redukci slabé redukční činidlo, jako je například citrát sodný. Vzniklé nanočástice stříbra mají distribuční velikost v rozmezí 2 – 5 nm.^[15]

2.6.3 Redukce působením UV/VIS záření

Jednoduchá experimentální fotochemická metoda využívající zdroje záření nejčastěji rtuťovou výbojku (vlnová délka je 258,7 nm) k redukci. Při reakci je zapotřebí v reakčním systému kromě stříbrné soli a stabilizátorů také přítomnost vhodné organické fotoaktivní sloučeniny, poskytující při interakci se zářením radikály, které v systému mají úlohu vlastních redukčních látek.

Například při přípravě nanočástic stříbra na modifikovaný skleněný povrch bylo použito citrátu jako redukční látky při ozáření sodíkové lampy (vlnová délka 589 nm). Na době osvitů reakční směsi (rozmezí 0 až 8 hodin) závisela velikost vzniklých nanočástic na skleněném povrchu.^[16]

2.6.4 Redukce pomocí γ záření

Výhodou této metody je vysoká energie γ záření, která nám dovoluje přímé ozařování roztoku, ve kterém je stříbrná sůl a minimum přítomnosti jiných chemických látek. Na povrchu částic stříbra nejsou absorbovány chemické látky a díky tomu se nemění

charakteristické vlastnosti nanočástic. Mechanismus redukce iontů stříbra je způsoben vodíkovými atomy, které vznikají spolu s hydratovanými elektrony vlivem γ záření. Negativem v tomto postupu je vznik hydroxylových radikálů, které reoxidují ionty stříbra. Abychom zamezili nežádoucí reoxidaci, je systém zaveden do vodíkové atmosféry, ve které část hydroxylových radikálů reaguje s molekulou H_2 . Tímhle získáme další atomy vodíku, které se také podílejí na redukčním procesu.

Pomocí γ záření byly připraveny nanočástice stříbra stabilizované chitosanem. Velikost závisela převážně na hmotnostní koncentraci chitosanu, která se měnila od 0,1 až do 2 hmotnostních procent. Nejvhodnější hmotnostní procento chitosanu se ukázalo 1%, kdy byla absorbance a stabilita připravených částic největší, a také distribuční křivka měla nejmenší rozmezí velikosti mezi 3 – 8 nm.^[17–19]

2.6.5 Chemická redukce

V současné době je příprava nanočástic stříbra pomocí chemické redukce velmi populární a nejrozšířenější metodou. Hlavními výhodami jsou nenáročnost na vybavení, a také schopnost změnou podmínek generovat částice v námi požadovaných velikostních distribucích. Na redukci stříbrných iontů se používají anorganické i organické redukční látky. Nejčastěji se používá například: H_2 , N_2H_4 , $HaBH_4$, NH_2OH , ethylenglykol, ethanol, kyselina askorbová, citrát sodný a jednoduché cukry.

2.6.5.1 Redukce anorganickými činidly

Při přípravě nanočástic stříbra redukcí pomocí anorganických redukčních činidel má velkou převahu tetrahydroboritan sodný – $NaBH_4$. Jeho velká redukční síla nám zajistí vznik malých částic, ale pro přípravu větších částic není příliš vhodný. Změnou částicových parametrů při redukci tetrahydroboritanem sodným za využití různých modifikátorů se zabývá mnoho týmů. Například D. Seo a kol. při redukci stříbrných iontů pomocí $NaBH_4$ použil jako modifikátor kyselinu olejovou. V reakční směsi bylo upravováno pH v rozmezí 2 – 11 pomocí zředěné kyseliny sírové a hydroxidu amonného. Z výsledků bylo zjištěno že pH má vliv na stabilitu a také na monodisperzitu připravených částic při stabilizaci kyselinou olejovou. Při pH 11 byly tyto parametry mnohem lepší než při nižších hodnotách pH. Velikost se pohybovala kolem 8 nm a nanočástice byly monodisperzní.^[20]

Další tým se zabýval přípravou nanočástic zakotvených na povrchu hydroxyapatitu. Při redukci tetrahydroboritanem byla velikost vzniklých částic adsorbovaných na povrchu hydroxyapatitu 12 nm. Při studiu vlivu změny koncentrace stříbrných iontů bylo zjištěno, že se vzrůstající koncentrací stříbrných iontů se zvyšuje počet nanočástic na povrchu hydroxyapatitu. Po přidání surfaktantu se nezměnila velikost částic, pouze se staly více monodisperzní a snížil se počet deponovaných částic na povrchu.^[21]

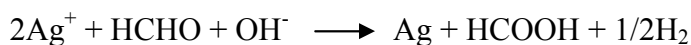
2.6.5.2 Redukce organickými činidly

Široká nabídka organických redukčních činidel zajistila v současné době velký rozmach v oblasti přípravy nanočástic stříbra chemickou redukcí. Velmi hojně se používá například citrát sodný, který je klasifikován jako slabé redukční činidlo. Přínosnou vlastností citrátového aniontu je schopnost stabilizace vznikajících nanočástic. Příprava je snadná, smíchání 10 ml 1 % roztoku citrátu sodného spolu s 500 ml 1 mM roztoku dusičnanu stříbrného nám zajistí vznik stříbrných nanočástic. S porovnání s borohydridovou metodou vznikají větší a polydisperznější částice v rozmezí velikostí od 30 do 120 nm.^[22]

Jednou z dalších metod je velice známá Tollensova reakce, jejíž pomocí jsou připravovány tenké stříbrné filmy na různých površích. Při modifikaci této metody upravením koncentrací výchozích látek v reakčním systému, a také volbou vhodného redukčního činidla, nevzniká souvislá vrstva, nýbrž nanočástice v roztoku. Optimalizací Tollensovy metody se zabývala skupina L. Kvítka a kol. Jako redukční činidlo byly testovány čtyři redukující cukry; dva monosacharidy – glukosa a galaktosa a dva disacharidy – maltosa a laktosa. Dalším parametrem, který ovlivňoval velikost vznikajících nanočástic z diaminstříbrného komplexu byla koncentrace amoniaku, pohybující se v rozmezí 0,005 – 0,20 M, a také pH reakční směsi (11,5 – 13,0). Z naměřených výsledků bylo patrné, že se vzrůstající koncentrací amoniaku rostla také velikost částic a záviselo také na výběru sacharidu. Velikost částic se pohybovala v rozmezí 25 – 450 nm. Nejvhodnějším redukčním cukrem byla maltóza, která zajistila vznik nanočástic stříbra ve velikosti 25 nm s úzkou distribucí.^[23]

Jako další používané organické redukční činidlo je formaldehyd. Skupina kolem Chou a kol. studovala vlastnosti připravených nanočástic pomocí redukce formaldehydem.

Reakce probíhala v alkalickém prostředí a redukce stříbrného iontu probíhala v závislosti na pH reakční směsi dvěma různými mechanismy:



Vznikající nanočástice byly stabilizovány polyvinylpyrrolidonem (PVP). Bylo zjištěno, že hodnota pH při redukci hraje velmi důležitou roli jak na velikost připravených částic, tak také na stabilitu. Zvyšující se pH směsi ovlivňuje redukční sílu formaldehydu a také stabilizační účinek PVP. V optimálním rozmezí pH bylo touto metodou možné připravit nanočástice ve velikosti od 5 do 10 nm.^[24]

2.7 Příprava nanočástic stříbra v nevodných prostředích

Dosud byly zmiňovány pouze přípravy nanočástic stříbra z velké části ve vodném prostředí. Ovšem i oblast přípravy v nevodných prostředích je vědecky zajímavá a mnoho vědeckých týmů se ubírá tímto směrem přípravy nanočástic stříbra.

Mezi nevodnými rozpouštědly se především uplatňují jednoduché alkoholy jako je methanol, ethanol, propanol, ale také rozpouštědla jako jsou dimethylsulfoxid, N,N-dimethylformamid^[25, 26], glycerol^[27, 28], n-hexanol^[29], ethanol^[30, 31] a jiné.

Skupina vědců Kim a kol. studovala přípravu nanostříbra v superkritickém alkoholu bez použití redukční látky a stabilizátoru. Pod pojmem superkritický alkohol se myslí alkohol při tlaku 300 barů a teplotě 400 °C. Methanol a ethanol použité v této syntéze sloužily nejen jako rozpouštědlo, ale i jako redukční činidlo. Částice stříbra připravené touto metodou měly velikost 390 nm a byly sférického tvaru.^[32]

Další studii zabývající se přípravou nanočástic stříbra v nevodných prostředích vypracovala skupina vědců okolo Ke Shao. Podstatou byla redukce dusičnanu stříbrného o koncentraci 10^{-2} M silným zdrojem UV záření v rozdílných disperzních prostředích. Jedním z použitých disperzních prostředí byl také ethanol, který poskytoval mnohem větší koncentraci vzniklých nanočástic než vodné disperzní prostředí. Koncentrace byly sledovány pomocí UV/VIS spekter. Na spektru se objevila silná absorpce kolem vlnové délky 300 nm. Tento absorpční pík byl přisuzován velmi malým částicím. Postupem času přecházely tyto částice do větších shluků a pík ztrácel na intenzitě. Výsledná velikost po úpravě reakčních podmínek se pohybovala v úzké distribuci kolem velikosti 20 nm.^[33]

Redukcí a stabilizací nanočástic v ethanolu se zabývá práce Liz-Marzán a Lado-Tourino. Redukce probíhala díky konverzi oxyethylenových skupin surfaktantů, za vzniku hydroperoxidů. Koncentrace surfaktantu byla hlavním parametrem pro proběhnutí kompletní redukce a stabilizace. Testovány byly následující surfaktanty, Brij 92, Brij 72, Brij 97 a Tween 80. Výsledné velikosti nanočástic stříbra a rychlost reakce závisely také na koncentraci stříbrných iontů v roztoku a na teplotě, při které docházelo k redukci. Velikost částic v disperzi se pohybovala od 6 do 9 nm, ale obsahovala také větší částice, které měly velký vliv na polydisperzitu.^[31]

Následující metoda přípravy nanočástic stříbra probíhá v reverzních micelách v systému methanol - n-heptan. Jako redukční činidlo je zde použit NaBH_4 , který byl o koncentraci 0,1 M v roztoku micel přidán k 0,1 M AgNO_3 taktéž v roztoku reverzních micel. Po smíchání obou roztoků docházelo k formaci nanočástice v jádru methanolové reverzní micely. Tento proces je velmi pomalý a trvá několik dní. Velikost výsledné částice je srovnatelná s velikostí micely 4 nm. Postupem času dochází ovšem ke zvětšení velikosti vysvětlené interakcemi micel mezi sebou.^[34]

V jiné práci jsou uváděny výsledky výzkumu přípravy nanočástic stříbra v dendritické polyolové disperzi na základě směsi ethanol-voda. Touto metodou byly vytvořeny částice velmi dobře definovaných tvarů ve velikostní škále 10 – 600 nm.^[36]

2.8 Stabilizace nanočástic stříbra

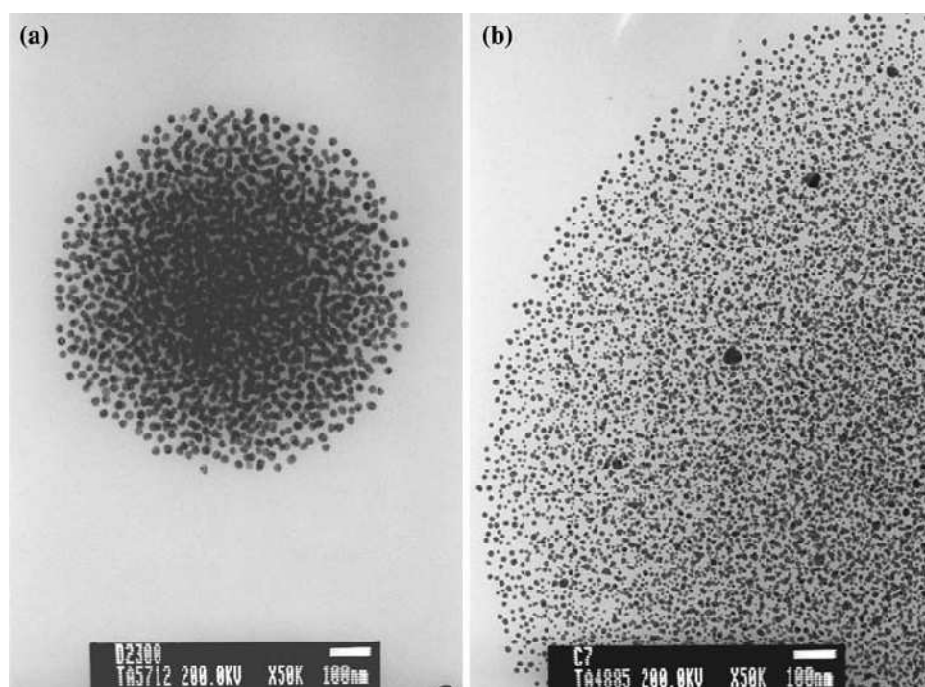
Stabilizaci vznikajících nanočástic lze zajistit dvěma povahově odlišnými druhy chemických látek. Jedním z nich jsou surfaktanty (povrchově aktivní látky – PAL) a další tvoří skupina polymerních látek. PAL jsou schopny stabilizovat disperzní soustavu díky změně fázového rozhraní, na kterém probíhá jejich adsorpce. Změna stability soustavy je závislá nejenom na povaze látky, ale také na obsazenosti povrchu částice surfaktantem. Iontové povahy surfaktantů ovlivňují zeta potenciál systému, který určuje stabilitu koloidů. Anionické PAL (SDS – dodecyl sulfát sodný) mají velký vliv na zeta potenciál a během reakce zvyšují jeho zápornou hodnotu. SDS během reakce způsobuje silné přitažlivé síly vůči kationtu Ag^+ , čímž dochází k urychlení reakce a vznik většího počtu zárodečných jader, který vede k produkci menších částic.^[35] Kationické surfaktanty (CTAC – cetyltrimetylamonium chlorid) při adsorpci na povrch nanočástic mění zeta potenciál do kladných hodnot, důsledkem toho je vznik odpuzivých sil ke kationtům Ag^+ . V koloidní

disperzi vzniká méně zárodečných jader a také rychlost reakce se zpomalí. Velikost připravených nanočástic díky malému počtu zárodečných jader vzrůstá.^[35]

Naopak neionické PAL jako je Tween 80 nemají vliv na zeta potenciál systému, dochází pouze ke zlepšení polydisperzity, díky tvorbě adsorpčních vrstev na povrchu rostoucích nanočástic.

Při stabilizaci za využití adsorpce polymerní látky na povrch částice dochází k vytvoření tzv. ochranného obalu. Na stabilizaci působí řada faktorů, mezi které patří např. relativní molekulová hmotnost ochranné látky, hodnota pH reakční směsi a disperzita částic. Mechanismus stabilizace se také může projevovat v odpuzování volných konců makromolekul, které jsou navázány na částice pouze částečně (jednotlivými úseky) a také vlivem tepelného pohybu.

Jedním z nejpoužívanějších polymerních látek při stabilizaci nanočástic stříbra je polyvinylpyrrolidon – PVP.^[39] Ve studii Lee a kol. byl zkoumán vliv hmotnostního zlomku a molekulové hmotnosti PVP ve směsi na velikost částic. Nanočástice byly připraveny jednoduchou metodou sprejové pyrolýzy z vodného roztoku AgNO_3 a PVP při teplotě v rozmezí 250 – 400 °C. Hmotnostní zlomek PVP v roztoku byl v rozmezí 0,3 – 1,2 % a molekulová hmotnost polyvinylpyrrolidonu byla testována od 10.000 do 30.000. Velikost nanočástic závisela jak na hmotnostním zlomku, tak také na molekulové hmotnosti PVP (obrázek č. 2) ve směsi. Čím větší byly oba měněné parametry v udaném rozmezí, tím se snižovala velikost získaných nanočástic. Získané velikosti se pohybovaly v rozmezí 31 – 4 nm a částice byly monodisperzní.^[37]



Obr. č. 2: TEM snímky stříbrných nanočástic připravených při stabilizaci PVP s různou molekulovou hmotností: (a) MW = 10.000 (b) MW = 30.000 ^[37]

Další vhodnou polymerní látkou pro stabilizaci stříbrných koloidů je polyvinyl alkohol (PVA). Tým okolo Patakfalvi se zabýval kinetikou homogenní nukleace stříbrných nanočástic stabilizovaných polymery. Mimo jiné použili PVA o molekulové hmotnosti 72.000 a zkoumali vliv změny jeho koncentrace na kinetiku a výsledné vlastnosti koloidu. Se zvyšující se koncentrací PVA se zvyšovala doba reakce a velikost částic se snížila až k velikosti 4 nm při koncentraci 0,5g PVA na 100 ml reakční směsi. PVA má podle této studie menší stabilizační účinek než PVP způsobenému díky jinému mechanismu adsorpce na povrch stříbrné částice.^[38]

2.9 Antibakteriální aktivita AgNPs

Před objevem antibiotik byly baktericidní účinky stříbra hojně testovány, avšak v důsledku objevu již zmíněných antibiotik došlo ke zpomalení těchto studií. V posledních letech stoupá rezistence mnoha druhů bakterií vůči antibiotikům, a proto roste znovu zájem o účinky stříbra na mikroorganismy.

I přes využití antimikrobiálních vlastností nanočástic stříbra v mnoha aplikacích, není vlastní mechanismus účinků dosud zcela znám a vysvětlen. Jednou z možných teorií

je změna buněčné membrány bakterie vlivem ireverzibilní vazby iontů stříbra na membránu.

Mnoho aplikací baktericidního účinku stříbra lze nalézt v moderní medicíně. Obvazové materiály impregnované nanočásticemi stříbra se hojně využívají při léčbě popálenin. Při jejich použití je zabráněno vzniku zánětu v ráně. Mezi další uplatnění v medicíně patří například úprava katetrů a endoprotéz pomocí nanočástic stříbra.^[40]

Skupina vědců Tripathi a kol. připravila nanočástice stříbra takzvanou green syntézou a poté testovali antibakteriální aktivitu vzniklého koloidu. Redukční látkou zde byl extrakt z rostliny *Ficus benghalensis*. Antibakteriální aktivitu testovali proti kmenu bakterie *E.coli* MTCC 1302. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) pro připravené nanočástice o velikosti 16 nm byla 25 µg/ml. Podle studií závisí antibakteriální aktivita také na velikosti nanočástic stříbra. Menší částice mají větší plochu pro interakci s kmenem bakterie, a proto jsou účinnější.^[41]

Antibakteriální aktivitou nanočástic stříbra se také zabývá skupina L. Kvítka. Testování bylo prováděno na částicích stříbra redukovaných monosacharidy a disacharidy majícími redukční vlastnosti. V závislosti na použitém redukujícím cukry vznikaly rozdílné velikosti připravených nanočástic stříbra. Bylo potvrzeno předešlé tvrzení, že v závislosti na snižující se velikostí částic antibakteriální aktivita roste.^[23]

V běžném životě se člověk také může setkat s povrchově upravenými materiály nanočásticemi stříbra. Textilní látky jsou velmi oblíbené mezi sportovně založenými lidmi, např. ponožky, které zabraňují šíření bakterií a vzniku zápachu. Nanočástice stříbra pronikly i mezi domácí spotřebiče, kde lze nalézt pračku nebo ledničku s povrchem upraveným stříbrnými nanočásticemi. V kosmetice našlo stříbro uplatnění například v šampónech, kdy při použití je zabito 99,9 % bakterií ve vlasech. Počet aplikací v běžném životě se neustále rozšiřuje.

2.10 Viskózní chování disperzního prostředí

Pro reálné kapaliny je viskozita jednou z charakteristických vlastností. U směsi neomezeně mísitelných kapalin jako je voda a jednoduchý alkohol dochází k nelineárním změnám viskozity se složením těchto směsí. Maximum viskozity pro tyto směsi odpovídá 50 – 60 objemových % alkoholu.

Mezi jednotlivými vrstvami reálné kapaliny dochází k posunu a vzniku vnitřního tření neboli viskozitě. Viskozita je tak mírou vnitřního odporu kapaliny vznikajícího při pohybu v kapalině. Základní charakteristiku viskózního chování kapalin popisuje Newtonův zákon viskózního toku

$$F = -\eta \cdot S \cdot \frac{dv}{dx} \quad (4)$$

kde poměr dv/dx je nazýván gradientem rychlosti a popisuje tvarové deformace v proudící tekutině ve směru kolmém ke směru proudění. Veličina η je dynamický viskozitní koeficient, S je plocha vrstvy, na kterou působí síla F .

Přístroje na měření viskozity se nazývají viskozimetry. Podle principu, na kterém pracují, rozlišujeme několik druhů viskozimetrů. Mezi hlavní tři typy patří průtokové (kapilární), pádové (tělískové) a rotační.

Kapilární metoda je založena na principu měření viskozity pomocí Poiseuillovy rovnice, která popisuje průtok kapaliny kapilárou o poloměru r a délce l

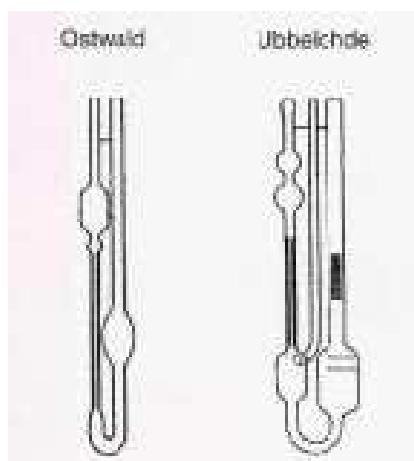
$$\eta = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot \Delta p \cdot t}{8V \cdot l} \quad (5)$$

kde Δp je rozdíl tlaků, daný hydrostatickým tlakem kapaliny ve svislé kapiláře, který je úměrný hustotě kapaliny, t je čas, během kterého protekl kapilárou objem kapaliny V . Pro zjednodušení se provádí tzv. relativní měření, při kterém se porovnávají časy průtoků dvou látek, z nichž jedna má pro danou teplotu změřenou nebo tabulkovou viskozitu. Ze vztahu (6) pak určíme jednoduše neznámou hodnotu viskozity druhé kapaliny.

$$\frac{\eta}{\eta_{ref}} = \frac{t}{t_{ref}} \cdot \frac{\rho}{\rho_{ref}} \quad (6)$$

kde t (t_{ref}) je doba průtoku měřené kapaliny (srovnávací kapaliny), ρ (ρ_{ref}) je hustota měřené kapaliny (srovnávací kapaliny).

Mezi kapilární viskozimetry patří Ostwaldův, Eulerův a Ubbelohdeův. Nejpoužívanějším typem viskozimetru je třetí typ – Ubbelohdeův (obr. č. 3). Ten je složen ze tří ramen, přes první rameno se plní zásobní baňka kapalinou, jejíž hladina by se měla pohybovat mezi dvěma ryskami. Druhé rameno slouží pro nasávání kapaliny, která se dostane do měrné baňky pomocí podtlaku a následně se nechá kapalina samovolně protékat kapilárou a je měřena doba průchodu mezi ryskami.



Obr. č. 3: Ostwaldův a Ubbelohdeův viskozimetr^[44]

Mezi další metody patří **metoda padající kuličky**. Tento princip měření viskozity je založen na měření rychlosti pohybu kuličky v kapalině, jejíž viskozitu stanovujeme. Ze Stokesova vztahu (7) pro pád koule o poloměru r ve viskózním prostředí lze vypočítat viskozitu u stanovované kapaliny.

$$\eta = \frac{2}{9} \cdot \frac{r^2 \cdot g \cdot (\rho_k - \rho)}{u} \quad (7)$$

kde g je tíhové zrychlení, ρ_k je hustota kuličky, ρ je hustota kapaliny a u je rychlost pádu kuličky. Tak jako u kapilární metody se obvykle měří srovnávacím způsobem. Nejprve se proměří známá kapalina (nejčastěji voda) a ze vztahu (8) se vypočítá viskozita námi měřené kapaliny.

$$\frac{\eta}{\eta_{ref}} = \frac{u_{ref}}{u} \cdot \frac{(\rho_k - \rho)}{(\rho_k - \rho_{ref})} \quad (8)$$

kde veličiny mají stejný význam jako u předchozího vztahu (7), dolní index *ref* je hodnota srovnávací kapaliny.

Mezi pádové viskozimetry patří například Stokesův viskozimetr a Höpplerův viskozimetr (obr. č. 4). Oba dva typy jsou založeny na principu měření doby pádu kuličky, z které se vypočítá viskozita.



Obr. č. 4: Höpplerův viskozimetr (Haake) ^[45]

Rotační viskozimetr je složen ze dvou soustředných válců, mezi kterými je malá mezera, v které se nachází měřená kapalina. Místo válců se používá také kužele a desky. Princip rotačního viskozimetru je založen na měření torzní síly, kterou vyvíjí rotující kapalina na vnější válec zavěšený na torzním vlákně. Jeden z válců je uveden do rotačního pohybu konstantní úhlovou rychlostí ω , která je přenášena vnitřním třením kapaliny na druhý válec zavěšený na torzním vlákně. Měří se úhel pootočení zavěšeného válce od původní polohy φ , který je úměrný viskozitě kapaliny a úhlové rychlosti.

$$\varphi = K \cdot \eta \cdot \omega \quad (9)$$

kde φ je úhel pootočení, K je konstanta přístroje, η je viskozita kapaliny a ω je úhlová rychlost.

3. Praktická část

3.1 Chemikálie

Na přípravu disperze nanočástic stříbra byly použity následující chemikálie: dusičnan stříbrný (99,9%, Tamda), amoniak (vodný roztok, min. 25 % (v/v), Lachema), hydroxid sodný (p.a., Lachema), methanol (Penta), ethanol (Penta), propan-1-ol (p.a., Lachema). Jako redukující látka byla použita D-maltóza monohydrát (p.a., Sigma Aldrich). Ke stabilizaci koloidní disperze stříbra byly použity následující látky: želatina (p.a., Loba Feinchemie), kyselina polyakrylová (m.w. 100000, 35 % (w/w), Sigma Aldrich). Na přípravu všech roztoků byla použita demineralizovaná voda o čistotě $0,05 \text{ S.cm}^{-1}$ – přístroj AQUAL 29 (MERCİ).

3.2 Přístrojové vybavení

Zeta Potential Zeta Plus (90Plus)

Na měření velikosti částic byl využit přístroj americké firmy Brookhaven Instruments Corporation, Zeta Plus (obr. č. 5). Přístroj pracuje na principu dynamického rozptylu světla (DLS). Měří částice v rozsahu od 1 nm do 6 μm a umožňuje i měření zeta potenciálu. Výstupními daty pro mě byla průměrná velikost částic a polydisperzita. Software nabízí i možnost grafického znázornění distribučního rozložení velikosti částic v jednotlivých velikostních třídách.



obr. č. 5: Přístroj Zeta Potential Zeta Plus (90Plus) ^[42]

Spektrofotometr Specord S600

Pro měření UV/VIS spekter byl využit spektrofotometr Specord S600 (obr. č. 6) od firmy Analytik Jena. UV-VIS spektrofotometr je rychlý a přesný díky DAD detektoru (detektor diodového pole). Umožňuje nám měřit spektra v rozmezí vlnových délek 190 – 1020 nm v čase pod 12 milisekund.



Obr. č. 6: Spektrofotometr SPECORD S600

Transmisní elektronový mikroskop JEOL

Při ověřování velikosti a morfologie částic pomocí TEM snímků byl použit mikroskop JEM-2010 od firmy JEOL. Vzorky byly připraveny nakápnutím zředěné disperze nanočástic stříbra na měděnou síťku opatřenou uhlíkovou nosnou vrstvou. Po zaschnutí byly připravené vzorky pozorovány na uvedeném mikroskopu při urychlovacím napětí 200 kV. Vyhodnocení TEM snímků bylo prováděno pomocí programu Gwyddion, který poskytl přesné velikosti částic pomocí poloměru ekvivalentního kruhu. Ze získaných dat byly konstruovány následně grafy velikostních distribucí částic.

3.3 Příprava nanočástic stříbra ve směsném prostředí voda-alkohol

Hlavním cílem této práce bylo studium možností přípravy nanočástic stříbra ve směsném prostředí voda-alkohol. Z alkoholů byly vybrány tři základní, všechny mísitelné s vodou: methanol, ethanol a propan-1-ol. Při přípravě byl používán modifikovaný Tollensův proces, založený na redukci komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ díky přidání redukujícího cukru do reakční směsi. Při mých experimentech jsem používal

jako redukční látku maltózu. Pod pojmem směsné prostředí je myšleno prostředí, ve kterém jsou různé objemové koncentrace alkoholů v reakční směsi. Objemové koncentrace alkoholů se pohybovaly v rozmezí od 0 % do 90 % v kroku po 5 %, při přípravě směsi byla brána v úvahu objemová kontrakce při míšení alkoholu s vodou. Základním postupem při přípravě bylo smíchání následujících složek, jejichž uvedené koncentrace odpovídají výsledným koncentracím v reakční směsi.

0,001 mol.dm⁻³ AgNO₃

0,005 mol.dm⁻³ NH₃

x ml H₂O s alkoholem

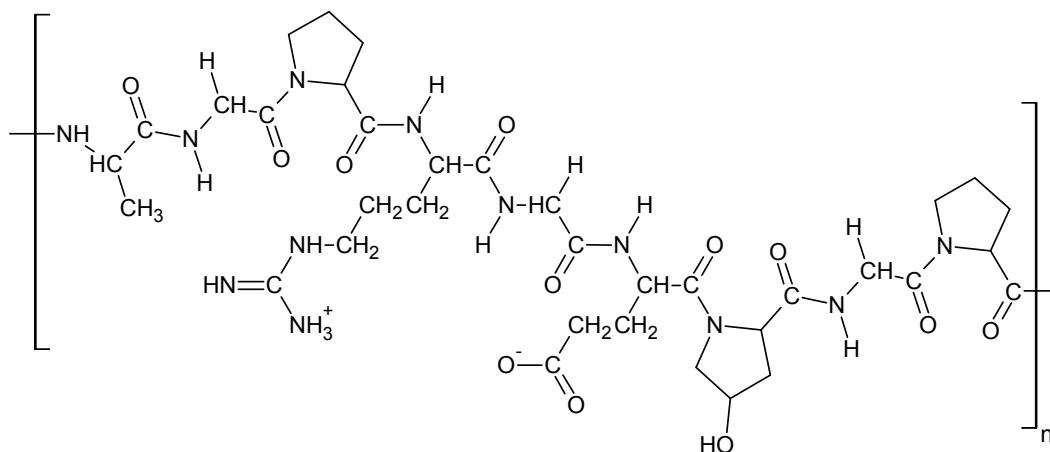
0,01 mol. dm⁻³ NaOH společně s 0,01 mol. dm⁻³ maltóza

Jednotlivé reakční komponenty byly přidávány ve výše zmíněném pořadí bezprostředně za sebou. Celkový objem reakční směsi byl 25 ml a celý experiment probíhal za míchání na elektromagnetické míchačce při laboratorní teplotě (25 °C) ve 100 ml kádince. Po proběhnutí reakce byla odebrána část vzorku na analýzu. Měřila se velikostní distribuce a polydisperzita vzniklých částic metodou DLS. UV/VIS absorpční spektra byla snímána v rozmezí vlnových délek 250 – 800 nm za použití křemenných kyvet a při desetinasobném zředění koloidu demineralizovanou vodou. Před dalším experimentem byly kádinka, míchadélko i kyveta vyčištěny ve zředěné kyselině dusičné (1:1).

3.4 Stabilizace vznikajících nanočástic stříbra

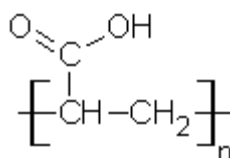
Při překročení určitých objemových procent alkoholu v reakční směsi docházelo k okamžité agregaci nanočástic stříbra.^[43] Z tohoto důvodu bylo nutné systém stabilizovat. V první části této diplomové práce jsem se zabýval stabilizací za pomoci želatiny. Výsledná koncentrace želatiny v reakční směsi byla 0,05 hmotnostních procent.

Želatina je nestejnoroďý polymer přírodní povahy, který vzniká spojováním aminokyselin do řetězců. Pořadí aminokyselin –Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro- je považováno za základní jednotku želatiny (obr. č. 7). Hlavní použití je v potravinářství jako přísada do různých cukrovinek a dortů. Za zmínku stojí i použití ve farmacii, kdy se používá jako pojivo při výrobě tobolek.^[43]



Obr. č. 7: Strukturální uspořádání želatiny^[43]

V další fázi experimentální části byla jako stabilizátor testována kyselina polyakrylová (PAA).



Obr. č. 8: Strukturální vzorec kyseliny polyakrylové (PAA)

Vyhodnocení účinnosti stabilizace nanočástic stříbra bylo prováděno na základě porovnání základních měřených vlastností (distribuce velikosti částic a polydisperzita, absorpční spektrum) u čerstvě připravené disperze a disperze, která byla ponechána 24 hodin v temnu při laboratorní teplotě.

3.5 Měření viskozity roztoků alkoholu

Pro správné měření velikosti nanočástic stříbra metodou DLS je nezbytné znát přesnou viskozitu disperzního prostředí. Bylo tedy nutné proměřit viskozitu pro všechny tři alkoholy v daném rozsahu objemových procent. Želatina obsažená v reakční směsi v hmotnostním zlomku 0,05 % výrazně ovlivňuje viskozitu, proto byly měřeny 2 série viskozit. První obsahovala pouze alkohol v dané objemové koncentraci a druhá navíc obsahovala želatinu. Měření viskozit bylo prováděno za pomoci kapilárního viskozimetru umístěného v termostatu temperovaném na 25 °C a byl měřen čas průtoku kapalin. Pro výpočet pomocí srovnávací metody bylo také zapotřebí znát hustotu daných roztoků.

Hustota byla měřena na přístroji TD 1 vyrobeného firmou Lauda. Také hustota byla měřena za konstantní teploty 25 °C.

3.6 Studium antibakteriální aktivity

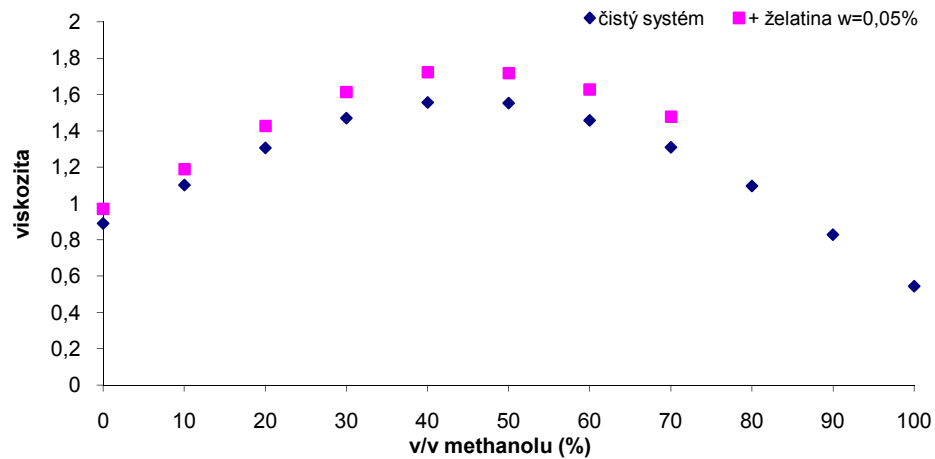
U připravených nanočástic stříbra byla rovněž studována antibakteriální aktivita. Testování antimikrobiálního efektu bylo prováděno standardní diluční metodou. Tato metoda určuje minimální inhibiční koncentraci (MIC) testované látky, při které je zablokovan bakteriální růst. Při stanovení MIC studovaných koloidních disperzí byly využity mikrotitrační destičky, na kterých dochází k ředění disperzí pomocí Mueller-Hintonova kultivačního média inokulovaného testovaným bakteriálním kmenem. Koncentrace bakteriálních kmenů byla v rozmezí 10^5 až 10^6 CFU·ml⁻¹ (CFU – colony-forming units). MIC hodnoty byly posuzovány po 24 hodinové inkubaci při 37 °C. Výstupní hodnotou testu byla minimální koncentrace zkoumané látky, která inhibovala růst daného bakteriálního kmenu. Všechny testy antibakteriální aktivity byly provedeny v Ústavu mikrobiologie LF UP Olomouc pod vedením prof. MUDr. M. Koláře, Ph.D.

4. Výsledky a diskuze

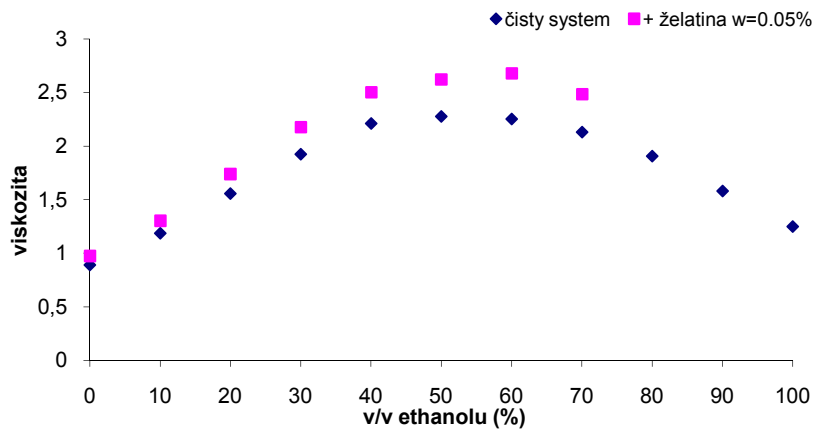
4.1 Viskozita roztoků alkoholů

Pro měření velikosti a velikostní distribuce připravovaných nanočástic stříbra metodou DLS je nutná přesná znalost viskozity disperzního prostředí. Proto byly viskozity všech studovaných směsí s různou objemovou koncentrací alkoholů změřeny za použití Ubbelohdeho kapilárního viskozimetru (výrobce Schott, typ 0a). Za pomoci automatických stopek ViscoClock (Schott) byla měřena doba, za kterou proteče stanovovaná kapalina mezi ryskami viskozimetru. Všechna měření probíhala v termostatované nádobě při konstantní teplotě 25 °C. Referentní kapalinou pro měření viskozit byla destilovaná voda, která má při dané teplotě viskozitu $\eta_{25} = 0,8903$ mPa.s a hustotu $\rho = 997$ g·dm⁻³. Všechna měření byla prováděna dvakrát a získané časy průtoku se od sebe nesměly lišit o více jak 1%. Jelikož želatina v hmotnostním zlomku $w = 0,05$ % ovlivňuje výslednou viskozitu,

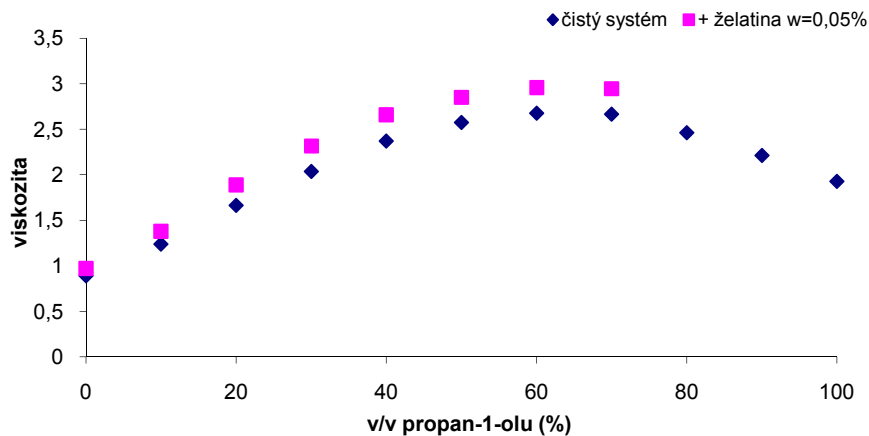
bylo tedy nutné měřit nejenom čisté roztoky alkoholů, ale také roztoky obsahující želatinu jako stabilizační látku. Nově provedená měření potvrdila výsledky získané v rámci vypracování mé bakalářské práce^[43], proto jsou zde uvedeny pouze grafy závislosti viskozity použitých směsí voda-alkohol v závislosti na koncentraci alkoholu ve směsi.



Obr. č. 9: Graf závislosti viskozity systému voda-methanol na objemovém % methanolu



Obr. č. 10: Graf závislosti viskozity systému voda-ethanol na objemovém % ethanolu



Obr. č. 11: Graf závislosti viskozity systému voda-propanol na objemovém % propanolu

Naměřené viskozity roztoků alkoholů se vzrůstajícím objemovým procentem alkoholu ve vodě postupně rostly až do koncentrace 50 – 60 % alkoholu ve vodě. Poté začala viskozita opět klesat až na hodnotu pro čistý alkohol. Jedná se o nelineární chování viskozity. Tento jev je pravděpodobně způsoben interakcemi vody s molekulami alkoholu, které zvyšují viskozitu. V systému s želatinou je viskozita vyšší a kopíruje graf čistého roztoku alkoholu ve vodě, jak je vidět na obrázcích 9, 10 a 11.

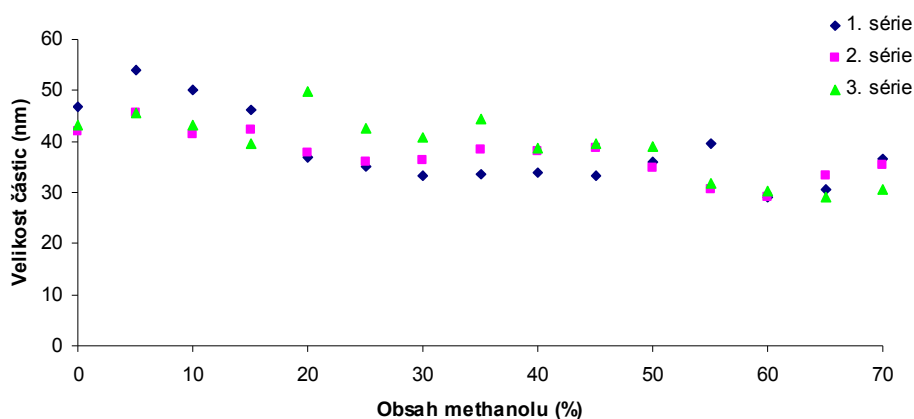
4.2 Vliv směsného prostředí voda-alkohol na přípravu nanočástic stříbra při stabilizaci želatinou

Jak bylo zjištěno v mé bakalářské práci, zabývají se přípravou nanočástic stříbra v prostředí voda-alkohol, bez vhodného stabilizátoru není možné připravit stabilní koloidní disperzi nanočástic stříbra v prostředí, obsahujícím více než 40 objemových % alkoholu v reakční směsi. Při studiu stabilizačních účinků jednotlivých látek bylo prokázáno, že želatina je pro toto prostředí velmi dobrým stabilizátorem nanočástic stříbra. Hlavním úkolem v této části mé práce bylo podrobnější studium stabilizačního účinku želatiny při přípravě nanočástic stříbra v prostředí voda-alkohol a současně i posouzení vlivu tohoto prostředí na základní částicové charakteristiky připravených nanočástic stříbra. V disperzním prostředí byla zvyšována objemová koncentrace alkoholu po 5 %. Následující kapitola bude věnována přípravě nanočástic stříbra ve směsném prostředí voda-alkohol za stabilizace želatinou o výsledné koncentraci 0,05 hm. %..

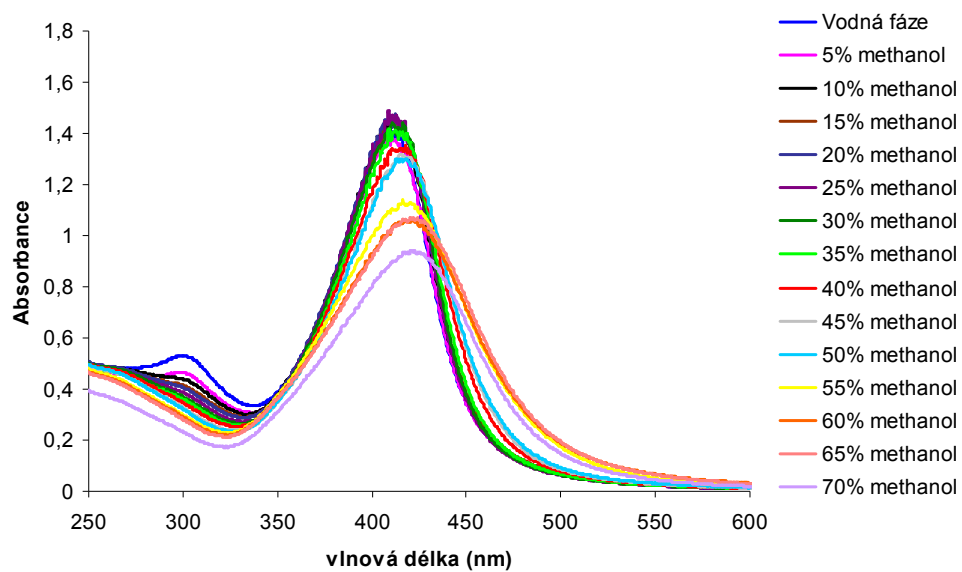
4.2.1 Systém voda-methanol

Ve směsném prostředí voda-methanol bylo možné připravit nanočástice stříbra za stabilizace želatinou pouze do koncentrace 70 obj. %. Při vyšší koncentraci methanolu již poklesla rozpustnost želatiny natolik, že přestala stabilizovat vznikající nanočástice stříbra.

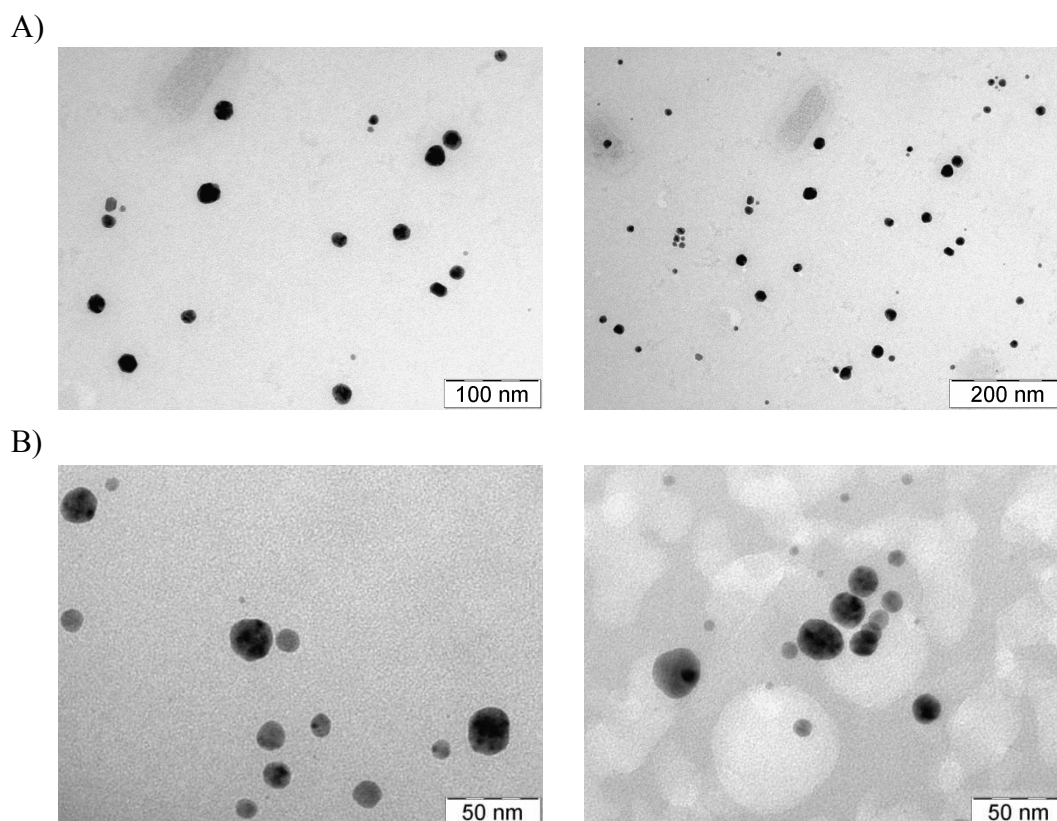
Při studiu vlivu směsného prostředí voda-methanol na přípravu nanočástic stříbra modifikovanou Tollensovou metodou při stabilizaci želatinou byly získány následující výsledky. Při měření velikosti částic pomocí DLS metody se velikost pohybovala od 50 nm, a se zvyšujícím obsahem methanolu klesala až na hodnotu 30 nm. Hodnoty pro všechny tři připravené série jsou uvedeny na obr. č. 12. Polydisperzity naměřené pomocí DLS se pohybují v rozmezí 0,15 až 0,3. U polydisperzit není patrný žádný trend. Na UV/VIS spektrech (obr. č. 13) je patrný pokles absorpčního maxima při vyšším obsahu methanolu v reakční směsi a také mírný posun absorpčního maxima do vyšších vlnových délek. Tento jev by mohl být způsoben změnou velikosti nanočástic, kdy větší částice mají absorpční maximum při vyšších vlnových délkách. Další možností by mohl být zvyšující se obsah alkoholu v květetě při měření spekter. Při změně polaroty prostředí taktéž dochází k posunu maxima.



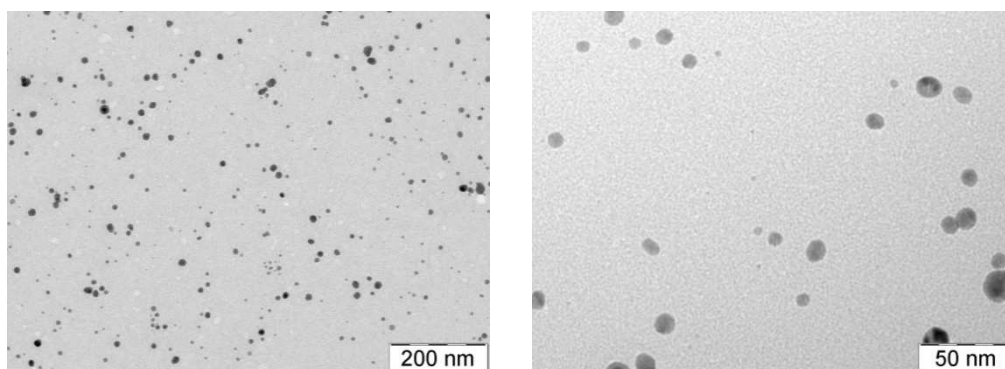
Obr. č. 12: Graf závislosti velikosti nanočástic stříbra na objemovém obsahu methanolu v reakční směsi při stabilizaci želatinou o hmotnostním zlomku $w = 0,05$ %. Měřeno pomocí DLS metody.



Obr. č. 13: Absorpční spektra nanočástic stříbra připravených v systému voda-methanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití želatiny jako stabilizátoru o hmotnostním zlomku $w = 0,05\%$. Spektra byla měřena 24 hodin od přípravy.

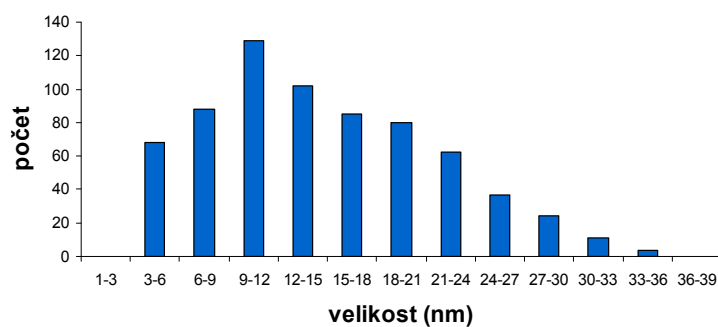


C)

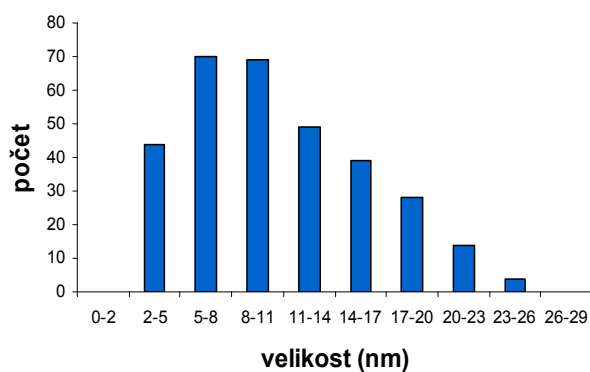


Obr. č. 14: TEM snímky nanočástic stříbra připravených ve směsném prostředí voda-methanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití stabilizačního účinku želatiny o hmotnostním zlomku $w = 0,05\%$. A) čistá vodná fáze B) 30 % methanolu, C) 60 % methanolu v reakční směsi.

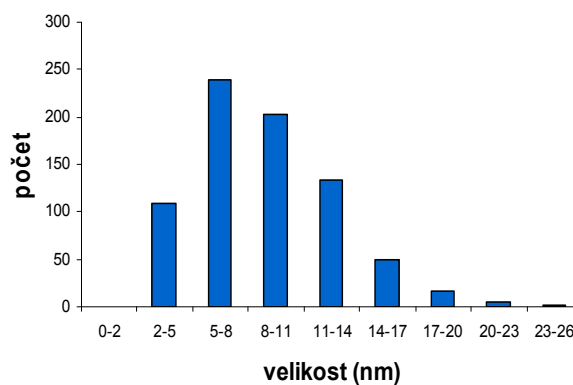
A)



B)



C)



Obr. č. 15: Distribuce velikostí částic získaná z TEM snímků: A) Čistá vodná fáze, B) 30 % methanolu v reakční směsi, C) 60 % methanolu v reakční směsi.

Tabulka č. 3: Průměrné velikosti částic a směrodatné odchylky vypočítané z TEM snímků po vyhodnocení programem Gwyddion pro systém voda-methanol.

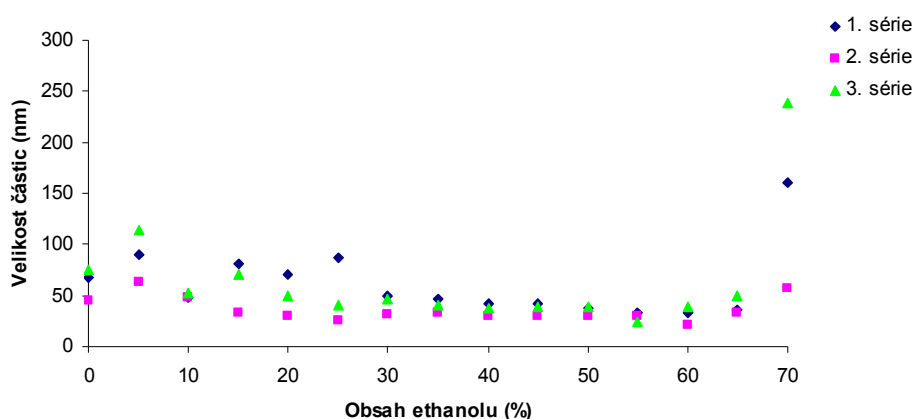
| | průměrná velikost (nm) | směrodatná odchylka (nm) | velikost z DLS metody (nm) |
|---------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| vodná fáze | 14,7 | 6,9 | 44 |
| 30 % methanol | 10,9 | 5,4 | 36,7 |
| 60 % methanol | 9 | 3,8 | 29,5 |

TEM snímky poskytly přesnější velikost vzniklých nanočástic, jak lze vidět na obrázku 14. Velikosti částic zjištěné pomocí snímků TEM nekorespondují s metodou DLS, u které jsou zjištěné velikosti nanočástice stříbra značně větší. Je tedy nutné konstatovat, že DLS metoda je pouze orientační a poskytuje v tomto případě zkreslené výsledky, zřejmě díky tomu, že želatina, použitá jako stabilizační činidlo, ovlivňuje toto měření tvorbou asociátů částic propojených vzájemně dlouhými řetězci molekul želatiny. Přesnější vyhodnocení distribuce velikosti částic tak bylo možné provést z TEM snímků pomocí programu Gwyddion, který vypočítává u rozpoznávaných částic poloměr ekvivalentního kruhu. Na obrázku č. 15 jsou zobrazeny tři distribuční křivky pro různé objemové koncentrace alkoholu v reakční směsi. Pro získání dané distribuce bylo minimální množství 300 měřených částic. Z těchto distribučních křivek je patrné, že se vzrůstajícím obsahem methanolu v reakční směsi přibývá menších částic a větší částice naopak ubývají – získáváme užší distribuci částic. To se projevuje také na průměrných velikostech částic uvedených v tabulce č. 3.

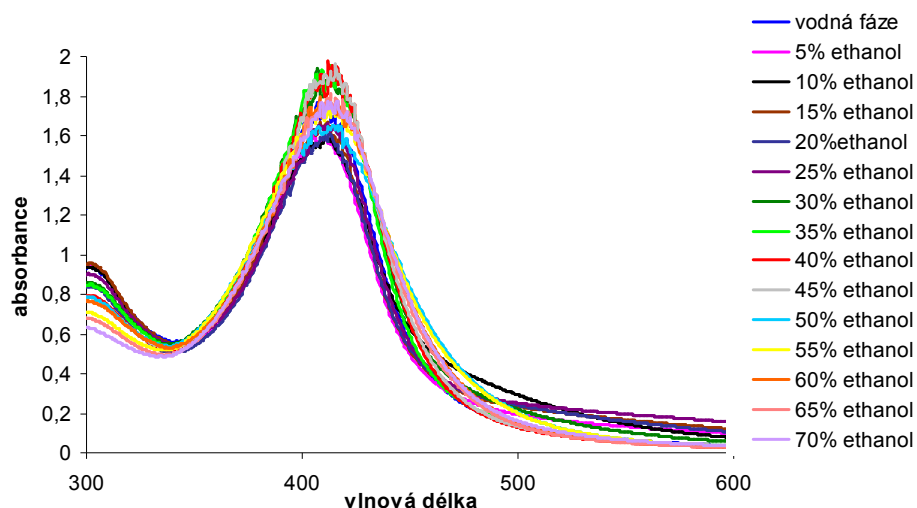
4.2.2 Systém voda-ethanol

Ve smíšeném prostředí voda-ethanol bylo obdobně jako v prostředí voda-methanol možné připravit nanočástice stříbra za stabilizace želatinou pouze do koncentrace ethanolu 70 obj. %. Při vyšší koncentraci ethanolu již poklesla rozpustnost želatiny natolik, že přestala stabilizovat vznikající nanočástice stříbra. Oproti systému s metanolem, však byl již při koncentraci 70 obj. % ethanolu pozorován prudký vzestup velikosti připravených nanočástic stříbra, způsobený shlukováním špatně rozpustné želatiny do větších objektů.

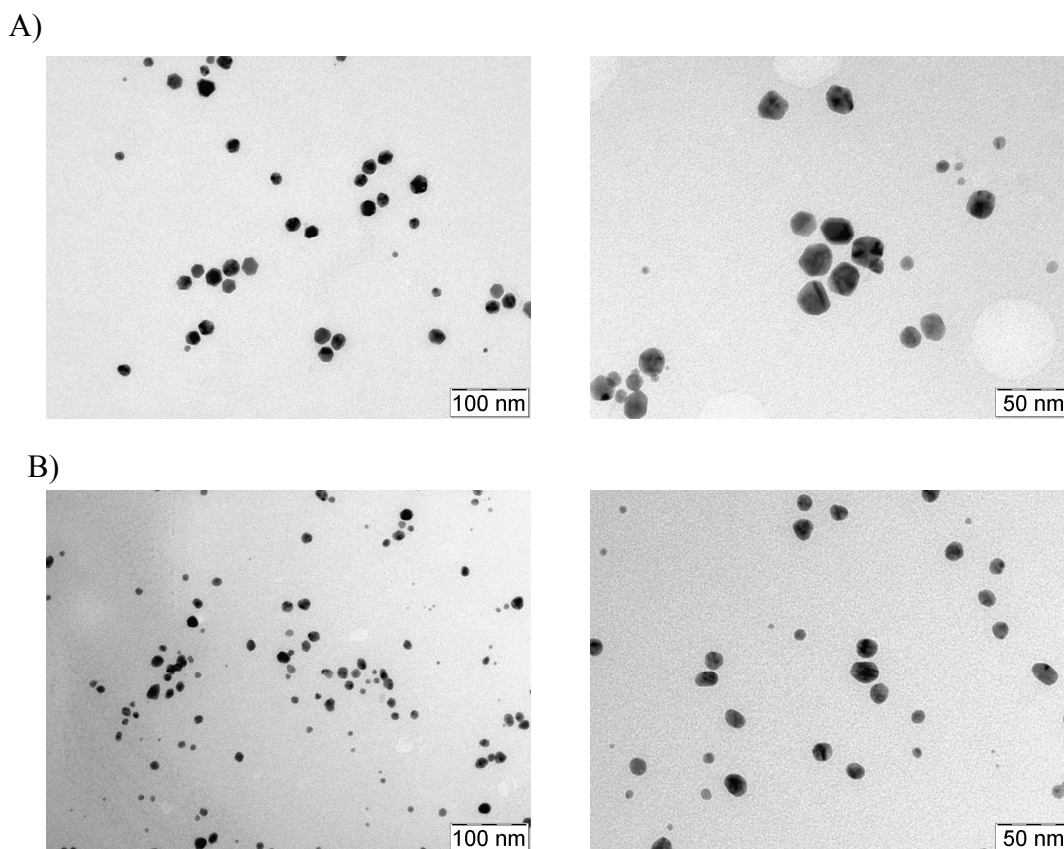
Při studiu vlivu ethanolu na přípravu nanočástic stříbra v reakční směsi a při stabilizaci želatinou byly získány následující výsledky. Při měření velikosti částic pomocí DLS metody se velikost pohybovala od 100 nm, a se zvyšujícím obsahem ethanolu klesala až na hodnotu 20 nm. Hodnoty pro všechny tři připravené série jsou uvedeny na obr. č. 16. Naměřené polydisperzity se pohybují v rozmezí 0,1 až 0,35. U polydisperzit není patrný žádný trend. Na UV/VIS spektrech (obr. č. 17) není patrný pokles absorbance při vyšším obsahu ethanolu v reakční směsi, jak tomu bylo u pokusu s methanolem. Na spektru je patrný pík kolem vlnové délky 310 nm, který je pravděpodobně způsoben velmi malými částicemi.^[33] Snímky z TEM na obrázku č. 18 nám potvrdily předešlé tvrzení, že želatina značně ovlivňuje měření pomocí DLS a zároveň na nich lze pozorovat velmi malé částice, kterým je přisuzován pík na UV/VIS spektru v oblasti vlnových délek okolo 300 nm. U zvyšujícího se objemu ethanolu v reakční směsi se distribuce velikosti částic zužovala a ubývalo větších částic. Patrné je to na obr. č. 19 a také v tabulce č. 4, ve které jsou uvedeny nejen průměrné velikosti připravených nanočástic stříbra, ale také směrodatné odchylky těchto průměrných velikostí.



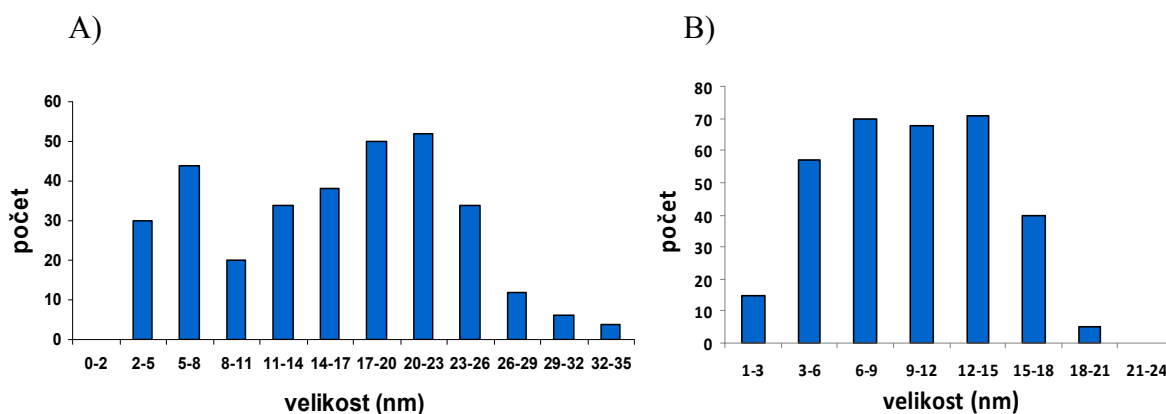
Obr. č. 16: Graf závislosti velikosti nanočástic stříbra na objemovém obsahu ethanolu v reakční směsi při stabilizaci želatinou o hmotnostním zlomku $w = 0,05$ %. Měřeno pomocí DLS metody.



Obr. č. 17: Absorpční spektra nanočástic stříbra připravených v systému voda-ethanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití želatiny jako stabilizátoru o hmotnostním zlomku $w = 0,05\%$. Spektra byla měřena 24 hodin od přípravy.



Obr. č. 18: TEM snímky nanočástic stříbra připravených ve směsném prostředí voda-ethanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití stabilizačního účinku želatiny v hmotnostním zlomku $w = 0,05\%$. A) 30 % ethanolu, B) 60 % ethanolu v reakční směsi.



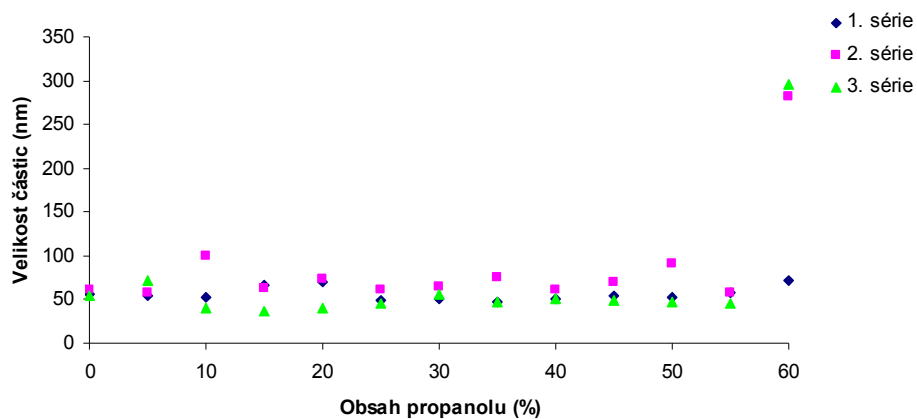
Obr. č. 19: Distribuce velikostí částic získaná z TEM snímků: A) 30 % ethanolu v reakční směsi, B) 60 % ethanolu v reakční směsi. Distribuce vodné fáze uvedena v kapitole 4.2.1

Tabulka č. 4: Průměrné velikosti částic a směrodatné odchylky vypočítané z TEM snímků po vyhodnocení programem Gwyddion pro systém voda-ethanol.

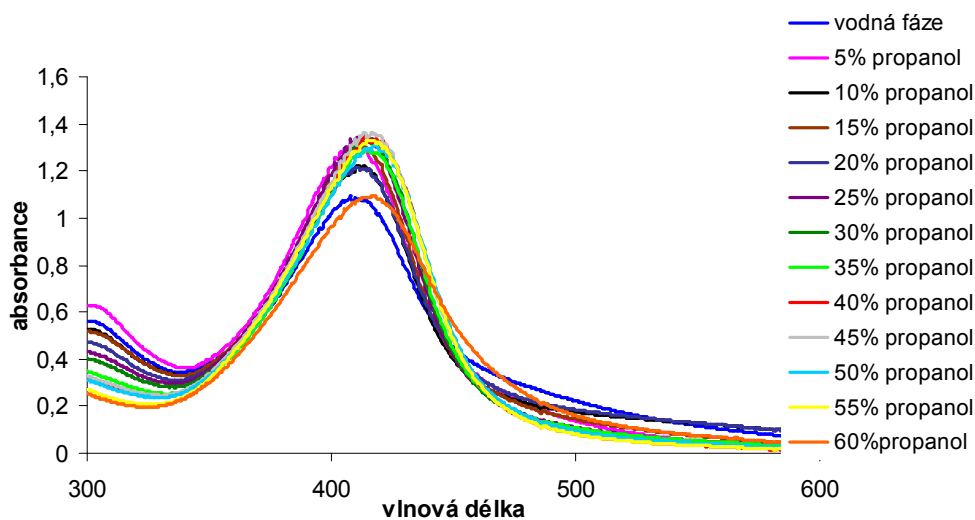
| | průměrná velikost (nm) | směrodatná odchylka (nm) | velikost z DLS metody (nm) |
|--------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| vodná fáze | 14,7 | 6,9 | 44 |
| 30 % ethanol | 14,9 | 7,4 | 42 |
| 60 % ethanol | 9,9 | 4,2 | 31,3 |

4.2.3 Systém voda-propanol

Směsné prostředí voda-propanol se z hlediska přípravy nanočástic stříbra za stabilizace želatinou o koncentraci 0,05 hm. % podobalo velmi systému voda-ethanol, tedy dále se zhoršoval stabilizační účinek želatiny díky poklesu její rozpustnosti a tak prudký vzestup velikosti připravených nanočástic stříbra, způsobený shlukováním špatně rozpustné želatiny do větších objektů byl pozorován již od koncentrace propanolu 60 obj.%.

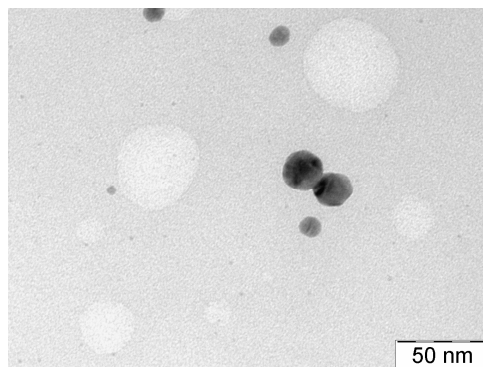
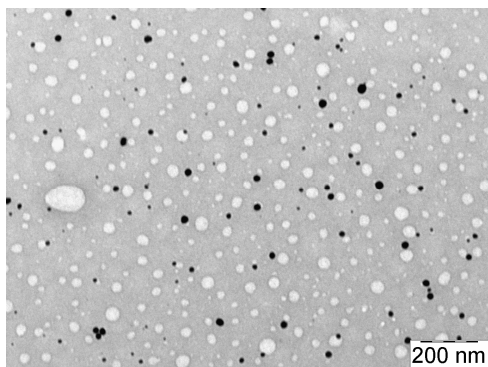


Obr. č. 20: Graf závislosti velikosti nanočástic stříbra na objemovém obsahu propanolu v reakční směsi při stabilizaci želatinou v hmotnostním zlomku $w = 0,05$ %. Měřeno pomocí DLS metody.

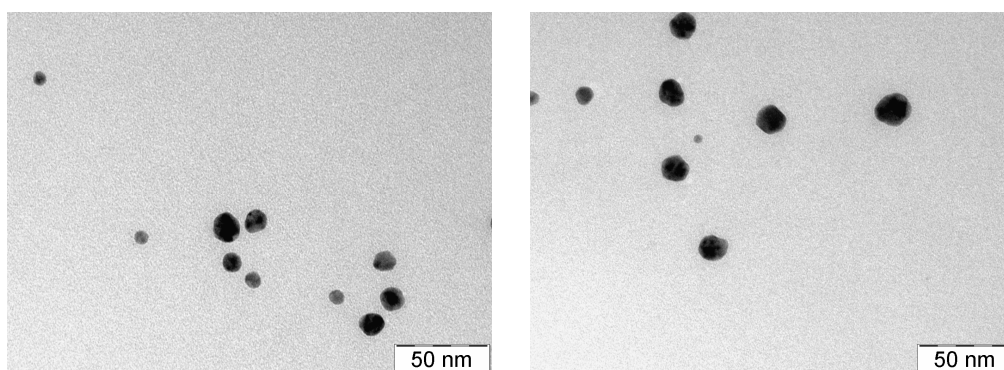


Obr. č. 21: Absorpční spektra nanočástic stříbra připravených v systému voda-propanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití želatiny jako stabilizátoru o hmotnostním zlomku $w = 0,05$ %. Spektra byla měřena 24 hodin od přípravy.

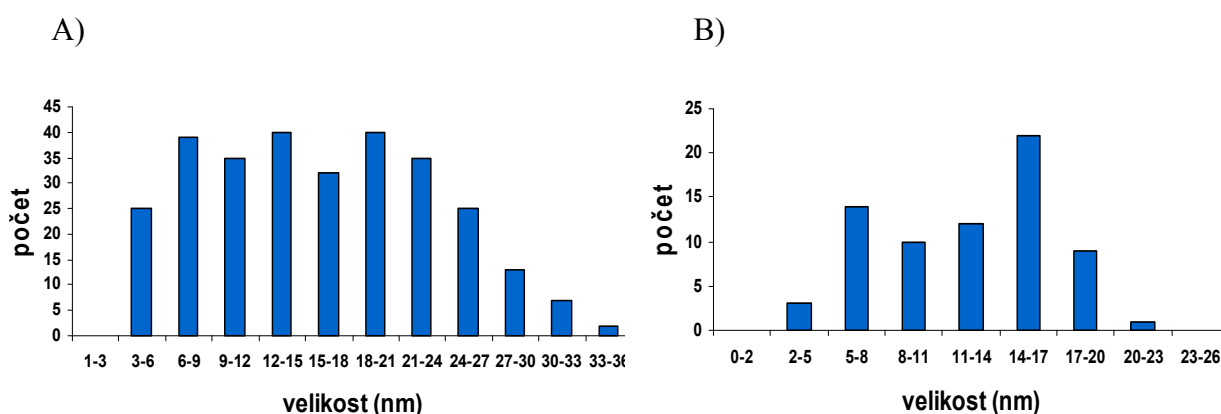
A)



B)



Obr. č. 22: TEM snímky nanočástic stříbra připravených ve směsném prostředí voda-propanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití stabilizačního účinku želatiny v hmotnostním zlomku $w = 0,05\%$. A) 30 % propanolu, B) 60 % propanolu v reakční směsi.



Obr. č. 23: Distribuce velikostí částic získaná z TEM snímků. A) 30 % propanolu v reakční směsi, B) 60 % propanolu v reakční směsi. Distribuce vodné fáze uvedena v kapitole 4.2.1

Tabulka č. 5: Průměrné velikosti částic a směrodatné odchylky vypočítané z TEM snímků po vyhodnocení programem Gwyddion pro systém voda-propanol.

| | průměrná velikost (nm) | směrodatná odchylka (nm) | velikost z DLS metody (nm) |
|---------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| vodná fáze | 14,7 | 6,9 | 44 |
| 30 % propanol | 16 | 7,5 | 57,3 |
| 60 % propanol | 12,4 | 4,3 | 217,2 |

Z DLS měření se velikost připravených nanočástic stříbra pohybovala od 60 nm a se zvyšujícím obsahem propanolu klesala až na hodnotu 40 nm. Hodnoty pro všechny tři připravené série jsou uvedeny na obr. č. 20. Naměřené polydisperzity se pohybují v rozmezí 0,2 až 0,35. U polydisperzit není patrný žádný trend. Na UV/VIS spektrech (obr. č. 21) není patrný pokles absorbance při vyšším obsahu propanolu v reakční směsi, jak tomu bylo u pokusu s methanolem. Na spektru je patrný pík kolem vlnové délky 300 nm, který se objevil také při pokusu s ethanolem. Snímky z TEM na obrázku č. 22 potvrdily vznik velmi malých částic, kterým je přisuzován pík na UV/VIS spektru, kolem vlnové délky 300 nm. Distribuční křivky získané pomocí programu Gwyddion jsou zobrazeny na obr. č. 23. Stejně jako u předchozích alkoholů se zvyšujícím se objemem propanolu v reakční směsi se distribuce velikosti částic zužovala a ubývalo větších částic. V tabulce č. 5 jsou uvedeny průměrné velikosti a směrodatné odchylky získané z TEM snímků.

4.2.4 Shrnutí výsledků při stabilizaci želatinou

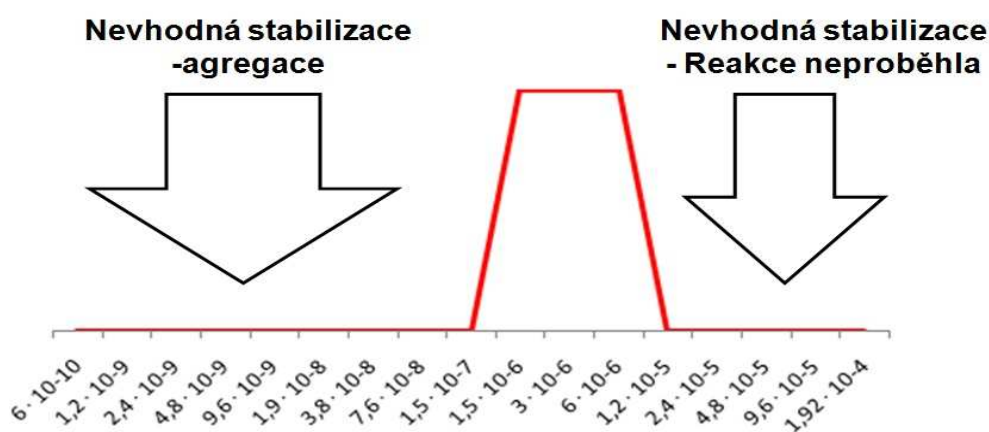
Při měření velikosti částic metodou DLS a následném srovnání s TEM snímky bylo zjištěno, že DLS nám poskytuje pouze zkrácené výsledky ovlivněné želatinou. Pro přesnější zjištění velikosti bylo využito programu Gwyddion, který z TEM snímků zjišťuje skutečnou velikost částic. Na základě těchto výsledků bylo možno sestavit distribuční diagramy velikosti připravených nanočástic stříbra (obr. č. 15, 19 a 23), ze kterých je patrné, že se zvyšujícím se obsahem alkoholu se připravené nanočástice stříbra zmenšují a zužuje se i jejich velikostní distribuce. To je zřejmé z odchylek hodnot v tabulce č. 3, 4 a 5. Na základě tvaru, polohy a maxima absorpčního píku měřených UV/VIS spekter připravených nanočástic stříbra (obr. č. 13, 17 a 21) byla kontrolována opakovatelnost metody. Nejmenší částice (z pohledu jejich průměrné velikosti) byly sice připraveny v prostředí voda-methanol (9,0 nm pro 60 obj. % methanolu), ale v prostředí s etanolem a propanolem se v disperzi objevovaly i velmi malé částice s rozměry pod 2 nm, které ovšem byly z TEM snímků velmi špatně vyhodnotitelné z hlediska jejich příspěvku do velikostní distribuce.

4.3 Vliv směsného prostředí voda-alkohol na přípravu nanočástic stříbra při stabilizaci kyselinou polyakrylovou

Kyselina polyakrylová (PAA) s molární hmotností 100000 g/mol byla v mé práci testována jako další stabilizátor nanočástic stříbra připravovaných Tollensovou metodou ve směsném prostředí voda-alkohol. Postup přípravy i koncentrace výchozích látek při přípravě nanočástic stříbra zůstal zachován jako v předchozím případě při stabilizaci želatinou, pouze nejvhodnější koncentraci stabilizátoru (PAA) bylo nutné nejprve experimentálně zjistit. Postup zjišťování nejvhodnější koncentrace PAA a její výsledky jsou uvedeny v následujících podkapitolách.

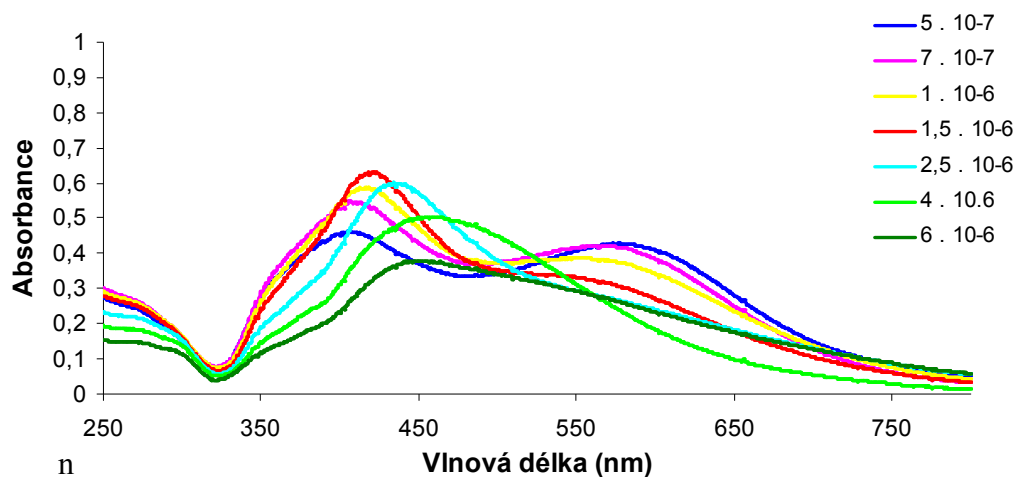
4.3.1 Výběr vhodné koncentrace PAA pro stabilizaci vznikajících AgNPs v prostředí voda-alkohol

Pro výběr vhodné koncentrace PAA byl zvolen reakční systém s 50 objemovými procenty methanolu. Koncentrační rozmezí kyseliny polyakrylové pro testování stabilizačního účinku bylo zvoleno v rozmezí koncentrací od $6 \cdot 10^{-10}$ do $1,92 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³.



Obr. č. 24: Experimentálně vymezená oblast stabilizačního účinku PAA v případě přípravy nanočástic stříbra Tollensovou metodou ve směsi voda-methanol (50 obj.%).

Jak je patrné na obr. č. 24, tak při příliš nízké koncentraci PAA docházelo k agregaci vznikajících nanočástic stříbra, a naopak při vysoké koncentraci stabilizátoru k reakci vůbec nedošlo. Oblast koncentrací $1,5 \cdot 10^{-6}$ - $6 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³ se ukázala jako vhodná pro stabilizaci připravených nanočástic stříbra. Tato oblast byla dále podrobněji studována, přičemž velikosti vzniklých částic změřené pomocí metody DLS a UV/VIS spektra jsou uvedena v tabulce č. 6 a na obr. č. 25.



Obr. č. 25: UV/VIS spektra koncentrací nanočástic stříbra připravených modifikovanou Tollensovou reakcí v 50% methanolu pro různé koncentrace stabilizátoru PAA v reakční směsi.

Tabulka č. 6: Závislost velikosti nanočástic stříbra na koncentraci PAA v reakčním systému s 50 obj. % methanolu.

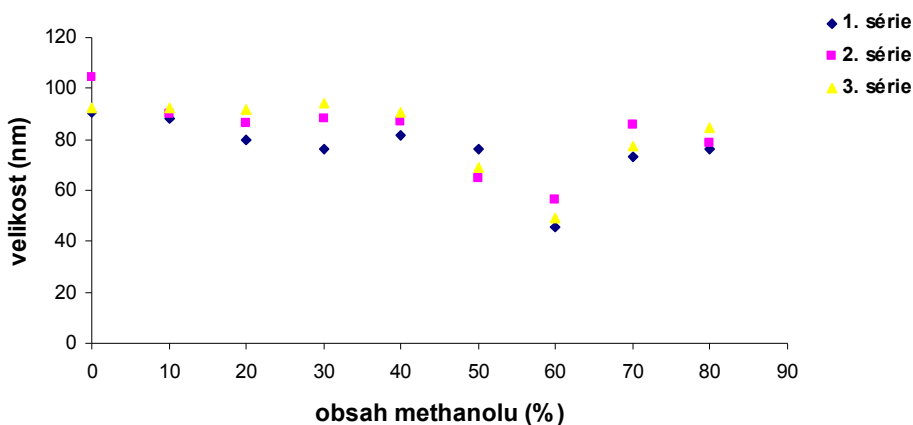
| c (PAA) (mol/dm ³) | velikost (nm) |
|-----------------------------------|------------------|
| $6 \cdot 10^{-6}$ | 80,0 |
| $4 \cdot 10^{-6}$ | 74,9 |
| $2,5 \cdot 10^{-6}$ | 52,4 |
| $1,5 \cdot 10^{-6}$ | 52,4 |
| $1 \cdot 10^{-6}$ | 63,0 |
| $7 \cdot 10^{-7}$ | 71,7 |
| $5 \cdot 10^{-7}$ | 92,4 |

Při studiu vybraných koncentrací PAA při stabilizaci nanočástic stříbra v reakční směsi s 50 objemovými procenty methanolu byla sledována UV/VIS spektra a také velikosti získané z měření DLS metodou (tabulka č. 6). Velikosti částic jsou zprůměrované ze tří sérií měření a hodnota je pouze orientační, protože metoda DLS není vhodná pro měření velikostí nanočástic stabilizovaných polymerními látkami a udává zkreslené výsledky.

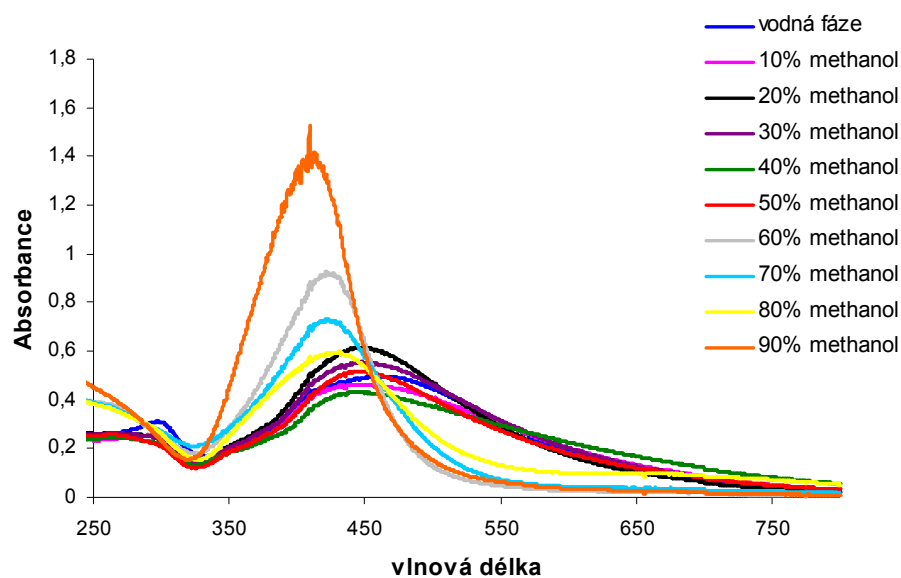
Pro další pokračování studia byla vybrána koncentrace polyakrylové kyseliny $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Výběr byl proveden na základě UV/VIS spektra, v němž bylo maximum absorbance při vlnové délce 400 – 450 nm nejvyšší a velikost částic byla pouze doplňková informace.

4.3.2 Systém voda-methanol

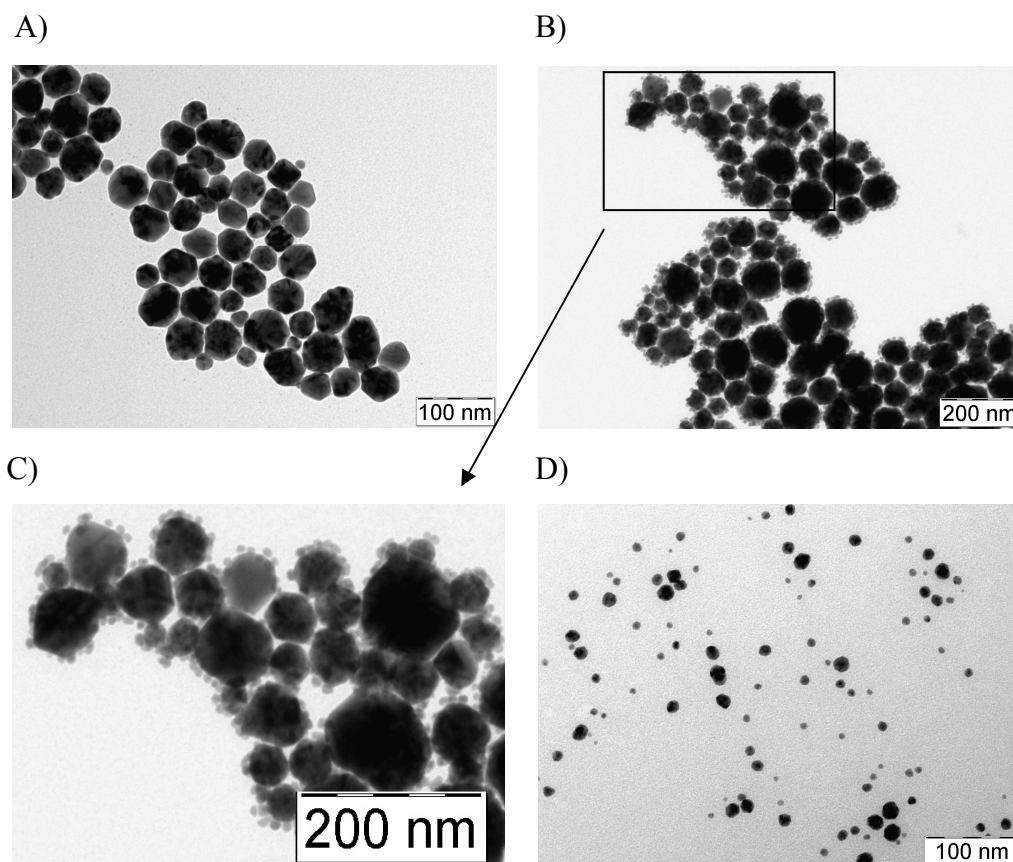
Ve směsném prostředí voda-methanol za využití stabilizačního účinku PAA bylo možné připravit nanočástice stříbra až do koncentrace 90 obj. % methanolu. Při vyšší koncentraci methanolu značně poklesla rozpustnost redukujícího cukru maltózy v reakční směsi.



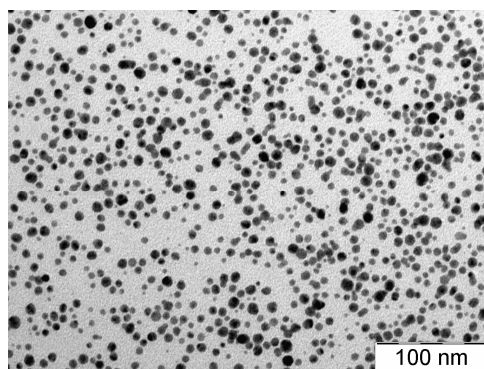
Obr. č. 26: Graf závislosti velikosti nanočástic stříbra na objemovém obsahu methanolu v reakční směsi při stabilizaci kyselinou polyakrylovou o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Měřeno pomocí DLS metody.



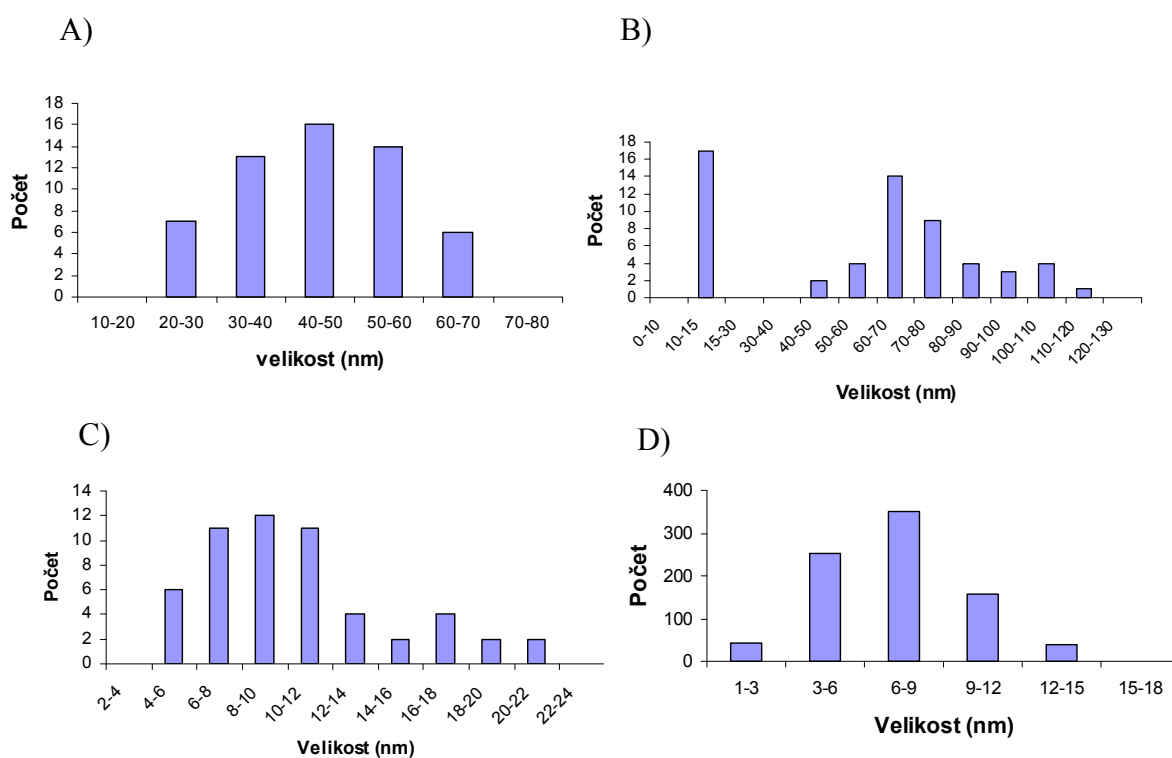
Obr. č. 27: Absorpční spektra nanočástic stříbra připravených v systému voda-methanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití kyseliny polyakrylové jako stabilizátoru o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Spektra byla měřena 24 hodin od přípravy.



E)



Obr. č. 28: TEM snímky nanočástic stříbra připravených ve směsném prostředí voda-methanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití kyseliny polyakrylové jako stabilizátoru o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$. A) vodná fáze, B) 30 % methanolu, C) detail 30 % methanolu, D) 60 % methanolu, E) 90 % methanolu v reakční směsi.



Obr. č. 29: Distribuce velikostí částic získaná z TEM snímků: A) Vodná fáze, B) 30 % methanolu v reakční směsi, C) 60 % methanolu v reakční směsi, D) 90 % methanolu v reakční směsi.

Tabulka č. 7: Průměrné velikosti částic a směrodatné odchylky vypočítané z distribuce částic pro systém voda-propanol.

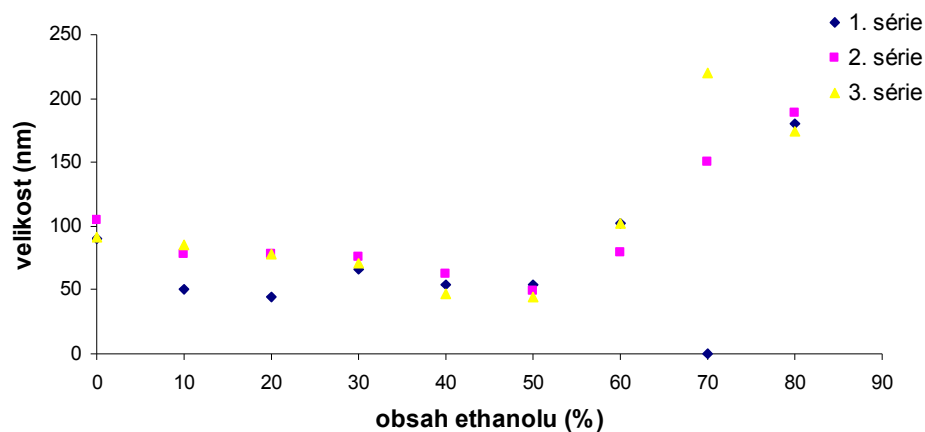
| | průměrná velikost (nm) | směrodatná odchylka (nm) | velikost z DLS metody (nm) |
|---------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| vodná fáze | 45,9 | 12,3 | 96 |
| 30 % methanol | 55,3 | 32,9 | 86,2 |
| 60 % methanol | 11 | 4,9 | 50,3 |
| 90 % methanol | 7,3 | 2,8 | 180 |

Při studiu vlivu stabilizačního účinku kyseliny polyakrylové pro systém voda-methanol byly zjištěny tyto výsledky. Velikost částic naměřená pomocí metody DLS se pohybovala v rozmezí 50 – 100 nm a neodpovídala velikosti zjištěné z TEM snímků. Pro příklad lze uvést vodnou fázi, u které byla naměřena velikost 90 – 100 nm pomocí DLS a naopak na TEM snímku č. 28 lze pozorovat velikost 20 – 50 nm. Při 30-ti procentech methanolu v reakční směsi se na povrchu větších částic objevily naadsorbované velmi malé částice stříbra (10 – 15 nm). Tento jev je patrných na detailu obrázku č. 28 C). Pro vyšší obsah methanolu již k tomuto jevu nedocházelo a vznikaly podstatně menší částice. Na obr. č. 29 jsou uvedeny distribuční diagramy velikosti částic, ze kterých je patrné, že se zvyšujícím se obsahem methanolu v reakční směsi docházelo ke vzniku menších částic a užší velikostní distribuci. Průměrné velikosti částic a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce č. 7.

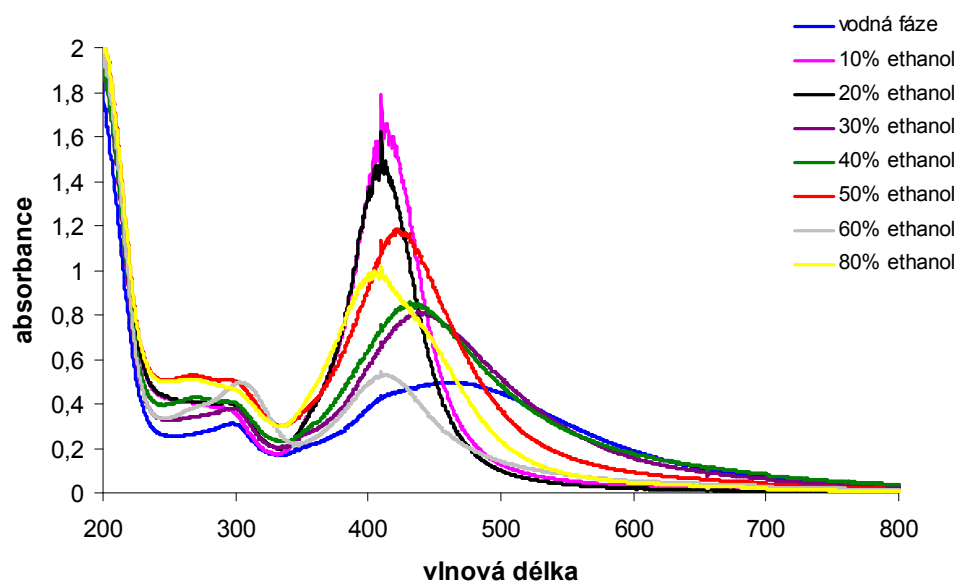
Jak si lze povšimnout na UV/VIS spektru, tak pro 90 procent methanolu v reakční směsi náhle vzrostla absorbance. DLS metoda nedávala v tomto případě rozumné výsledky.

4.3.3 Systém voda-ethanol

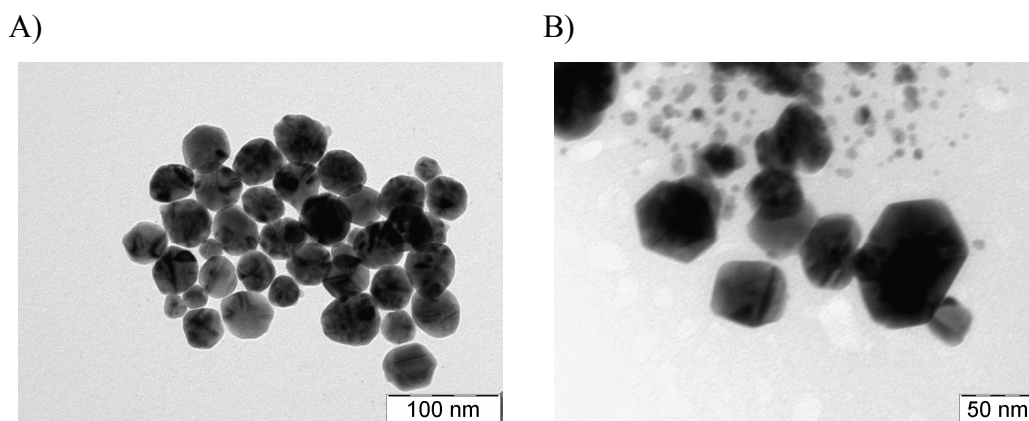
Ve smíšeném prostředí voda-ethanol bylo možné připravit nanočástice stříbra za stabilizace PAA pouze do 80 obj. % ethanolu v reakční směsi, na rozdíl od systému s metanolem, ve kterém byla tato hranice 90 obj. % methanolu v reakční směsi. Nad tuto hranici docházelo k agregaci částic stříbra.



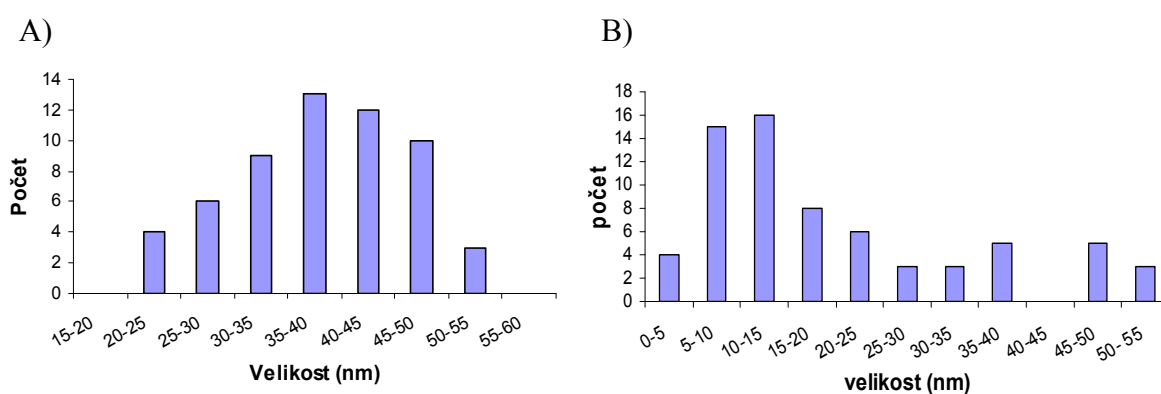
Obr. č. 30: Graf závislosti velikosti nanočástic stříbra na objemovém obsahu ethanolu v reakční směsi při stabilizaci kyselinou polyakrylovou o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Měřeno pomocí DLS metody.



Obr. č. 31: Absorpční spektra nanočástic stříbra připravených v systému voda-ethanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití kyseliny polyakrylové jako stabilizátoru o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Spektra byla měřena 24 hodin od přípravy.



Obr. č. 32: TEM snímky nanočástic stříbra připravených ve směsném prostředí voda-ethanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití kyseliny polyakrylové jako stabilizátoru o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. A) 30 % ethanolu, B) 60 % ethanolu v reakční směsi.



Obr. č. 33: Distribuce velikostí částic získaná z TEM snímků: A) 30 % ethanolu v reakční směsi, B) 60 % ethanolu v reakční směsi.

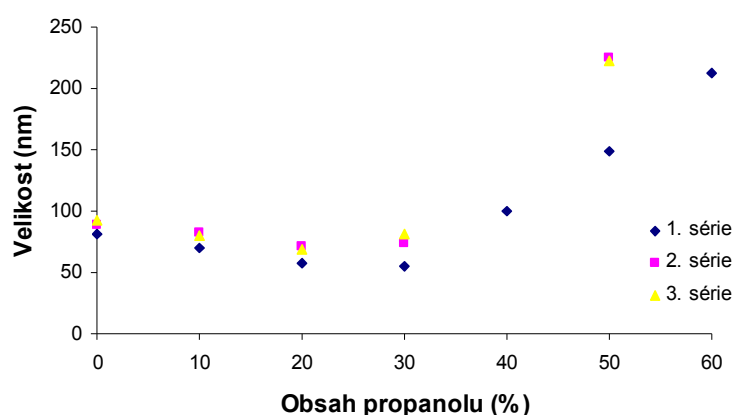
Tabulka č. 8: Průměrné velikosti částic a směrodatné odchytky vypočítané z distribuce částic pro systém voda-ethanol. Distribuce vodné fáze uvedena v kapitole 4.3.2

| | průměrná velikost (nm) | směrodatná odchytká (nm) | velikost z DLS metody (nm) |
|--------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| vodná fáze | 45,9 | 12,3 | 96 |
| 30 % ethanol | 38,4 | 8,1 | 71 |
| 60 % ethanol | 19,1 | 13,8 | 94,6 |

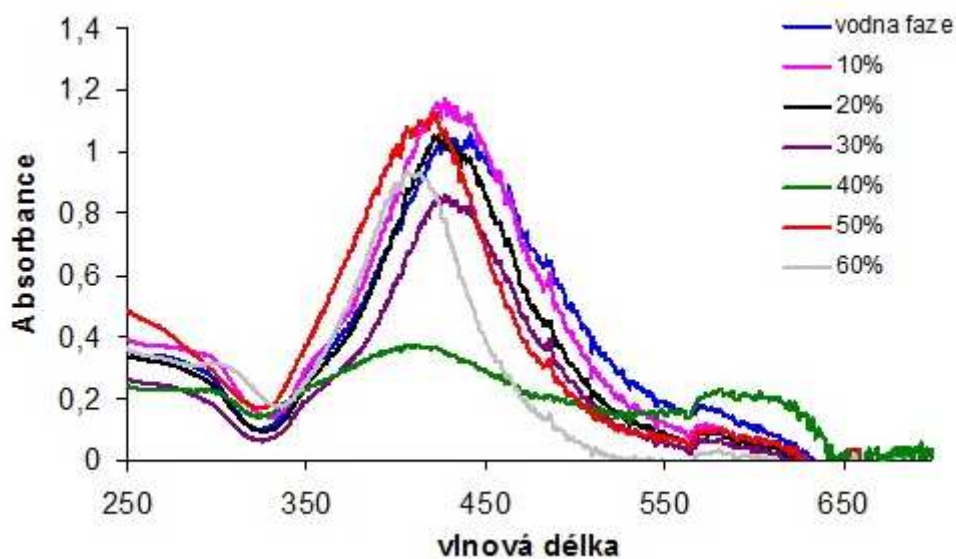
Při studiu vlivu stabilizačního účinku kyseliny polyakrylové pro systém voda-ethanol byly zjištěny následující výsledky. Velikost částic zjištěná pomocí metody DLS se pohybovala v rozmezí 50 – 200 nm a neodpovídala velikosti zjištěné z TEM snímků. Na obrázku č. 32 jsou patrné velikosti v rozmezí 25 – 55 nm pro 30 procent ethanolu. Pro 60 procent ethanolu vznikaly větší částice (30 – 60 nm), různorodých tvarů, obklopené náhodně velmi malými částicemi o velikostech 5 – 25 nm. Tyto výsledky jsou patrné také na distribučním diagramu velikostí částic (obr. č. 33). 60 procent ethanolu v reakční směsi se projevuje velkou polydisperzitou. V tabulce č. 8 jsou uvedeny průměrné velikosti a směrodatné odchylky vypočtené z distribuce. Z těchto faktů lze usoudit, že se zvyšujícím se obsahem ethanolu v reakční směsi docházelo k agregaci menších částic za vzniku větších. Jak je patrné z UV/VIS spektra, pro určitý obsah alkoholu v reakční směsi došlo k rozšíření absorpčního píku a k poklesu absorbance. Tento jev by mohl být způsoben již zmíněnou agregací částic v disperzi.

4.3.4 Systém voda-propanol

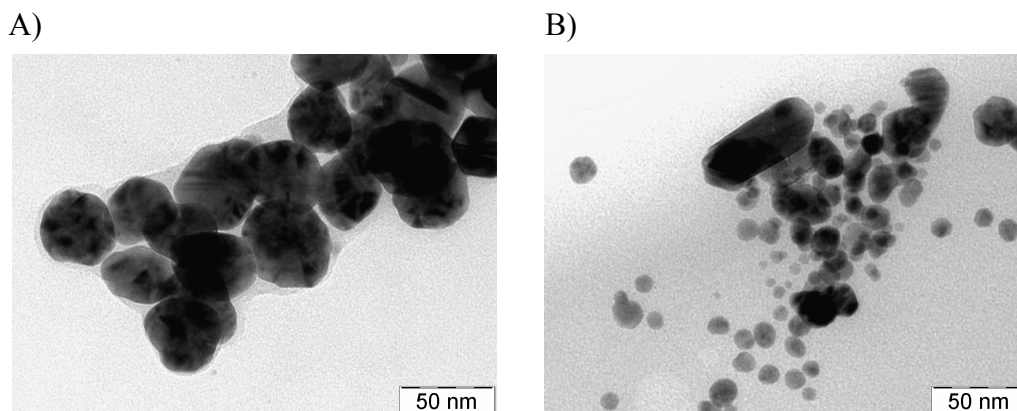
Stejně, jak tomu bylo v předcházejícím případě ve směsi voda-ethanol, tak obsah alkoholu v reakční směsi při přípravě stabilních nanočástic stříbra za využití stabilizace PAA pro směsné prostředí voda-propanol poklesl, a to až na hodnotu 60 obj %. U vyšších koncentrací vzrostla také velikost měřená DLS metodou. Pravděpodobně se jedná o tvorbu asociátů.



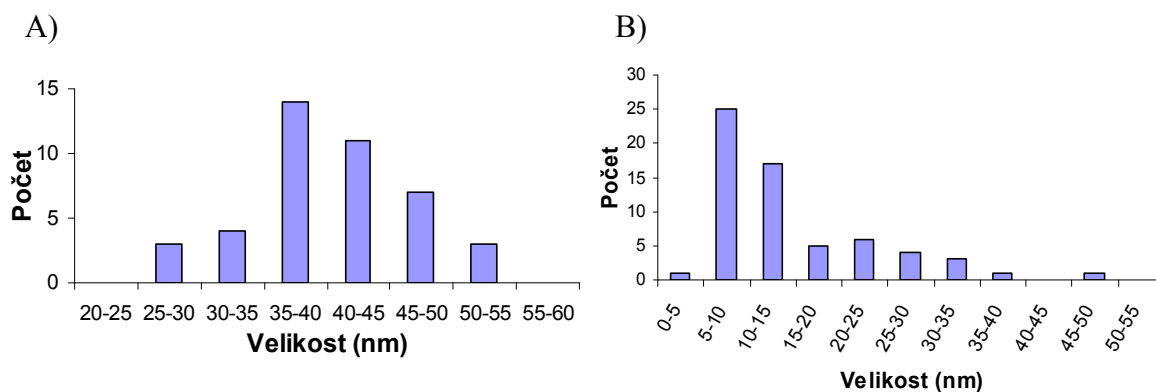
Obr. č. 34: Graf závislosti velikosti nanočástic stříbra na objemovém obsahu propanolu v reakční směsi při stabilizaci kyselinou polyakrylovou o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Měřeno pomocí DLS metody.



Obr. č. 35: Absorpční spektra nanočástic stříbra připravených v systému voda-propanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití kyseliny polyakrylové jako stabilizátoru o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$. Spektra byla měřena 24 hodin od přípravy.



Obr. č. 36: TEM snímky nanočástic stříbra připravených ve směsném prostředí voda-propanol podle modifikovaného Tollensova postupu při použití kyseliny polyakrylové jako stabilizátoru o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$. A) 30 % propanolu, B) 60 % propanolu v reakční směsi.



Obr. č. 37: Distribuce velikostí částic získaná z TEM snímků: A) 30 % propanolu v reakční směsi, B) 60 % propanolu v reakční směsi.

Tabulka č. 9: Průměrné velikosti částic a směrodatné odchytky vypočítané z distribuce částic pro systém voda-propanol. Distribuce vodné fáze uvedena v kapitole 4.3.2

| | průměrná velikost (nm) | směrodatná odchytká (nm) | velikost z DLS metody (nm) |
|---------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| vodná fáze | 45,9 | 12,3 | 96 |
| 30 % propanol | 40,2 | 6,2 | 69,9 |
| 60 % propanol | 14,1 | 9,8 | 212 |

Při studiu vlivu stabilizačního účinku kyseliny polyakrylové pro systém voda-propanol byly zjištěny následující výsledky. Velikosti částic naměřené pomocí metody DLS se pohybovaly v rozmezí 50 – 250 nm a stejně jako v předchozích případech neodpovídaly velikosti zjištěné z TEM snímků. Na TEM snímku (obr. č. 36) pro 30 procent propanolu v reakční směsi je pozorovatelné ohraničení částic – pravděpodobně se jedná o PAA, která obaluje a shlukuje částice o velikostech 25 – 50 nm. Pro 60 procent propanolu je situace obdobná 60 procentům ethanolu, široká distribuce a různá morfologie částic ve velikostech od 10 – 50 nm (obr. č. 37). V tabulce č. 9 jsou uvedeny průměrné velikosti a také směrodatné odchytky vypočtené z velikostní distribuce. Se zvyšujícím se obsahem propanolu se snižuje průměrná velikost částic, ale také dochází k agregaci menších částic na větší, pozorovatelné na distribučním diagramu velikostí (obr. č. 37) a také na TEM snímcích. Na UV/VIS spektru absorbance pro 40 procent propanolu náhle klesla a pod 0,4 a vzorek nebyl dlouho stabilní a došlo k agregaci.

4.3.5 Shrnutí výsledků při stabilizaci PAA

Při stabilizaci kyselinou polyakrylovou v systému voda-alkohol docházelo při zvyšování obsahu alkoholu v reakční směsi k růstu polydisperzity a vzniku částic různé morfologie. Velikosti částic naměřené DLS metodou jsou zkreslené a neodpovídají TEM snímkům. Podrobnější distribuci částic pomocí programu Gwyddion nebylo možné provést kvůli výraznému ovlivnění propojování částic vlivem PAA, proto byly distribuce měřené z TEM snímků získány manuálně minimálně z 50 částic. Distribuční diagramy velikosti připravených částic jsou uvedeny na obr. č. 29, 33 a 37. Průměrné velikosti a také směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce č. 7, 8 a 9. Z uvedených výsledků lze usoudit, že se zvyšujícím se obsahem alkoholu v reakční směsi docházelo ke snižování průměrné velikosti částic, až do určité hranice obsahu alkoholu. Při překročení této hranice došlo k sedimentaci částic a následné agregaci. Pro methanol bylo možné připravit stabilní disperzi nanočástic stříbra i při koncentraci 90 obj. % alkoholu v reakční směsi a se vzrůstajícím počtem uhlíků v alkoholu maximální koncentrace klesala až na 60 obj. % pro propanol. Se složitějšími alkoholy také docházelo k menší reprodukovatelnosti a složitým závislostem velikosti připravených částic na koncentraci alkoholu. Tyto skutečnosti budou způsobeny velmi pravděpodobně ovlivněním disociace PAA ve směsném prostředí voda-alkohol, protože právě náboj funkčních skupin hraje ve vodném prostředí při přípravě nanočástic stříbra zásadní roli.^[46] S rostoucí délkou uhlovodíkového řetězce použitých alkoholů klesá jejich polarita a tudíž klesá i distribuce karboxylových skupin PAA. To evidentně ovlivňuje jak tvar a velikost vznikajících nanočástic stříbra, tak i jejich stabilitu ve směsném prostředí voda-alkohol, jak ukázaly provedené experimenty.

4.4 Antibakteriální aktivita nanočástic stříbra

Biologická aktivita připravených nanočástic stříbra byla testována pomocí standardní mikrodiluční metody. Iontová forma stříbra (Ag^+) byla použita jako standard pro studium této biologické aktivity. Testování bylo pro srovnání uděláno také pro nanočástice stříbra ve vodné fázi bez použití stabilizátoru a také pro čistou směs voda-alkohol. Před samotným testováním nebyly připravené disperze nanočástic stříbra dále nijak upravovány. Testy se směsí voda-ethanol prokázaly, že ethanol při ředěních odpovídajících MIC připravených nanočástic stříbra již nevykazuje antibakteriální aktivitu, takže hodnoty těchto MIC vypovídají výhradně o antibakteriální resp. antifungální aktivitě přímo nanočástic stříbra.

| Testovaný kmen | MIC ($\text{mg}/\text{dm}^3 \text{Ag}$) | | | | | |
|---|---|---------------|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | Ag^+ | Ag^0 | $\text{Ag}^0 +$ žel | Ag^0 v 20% ET + žel | Ag^0 v 40% ET + žel | Ag^0 v 60% ET + žel |
| <i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224 | 6,75 | 6,75 | 6,75 | 6,75 | 6,75 | 6,75 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953 | 3,38 | 1,69 | 1,69 | 1,69 | $\geq 0,84$ | 1,69 |
| <i>Escherichia coli</i> CCM 3954 | 1,69 | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955 | 0,84 | 3,38 | 3,38 | 6,75 | 6,75 | 1,69 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1,69 | 3,38 | 3,38 | 1,69 | 1,69 | 1,69 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 1 | 3,38 | 1,69 | 1,69 | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2 | 1,69 | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) | 6,75 | 1,69 | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 1,69 |
| <i>Enterococcus faecium</i> (VRE) | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 1,69 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL) | 1,69 | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ | $\geq 0,84$ |
| Antifungální efekt | | | | | | |
| <i>Candida albicans</i> I | 13,5 | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 3,38 |
| <i>Candida albicans</i> II | 3,38 | 6,75 | 0,42 | 1,69 | 1,69 | 1,69 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 6,75 | 3,38 | 3,38 |
| <i>Candida parapsilosis</i> | 13,5 | 13,5 | 6,75 | 6,75 | 6,75 | 6,75 |

Tabulka č. 10: Minimální inhibiční koncentrace nanočástic stříbra připravených modifikovanou Tollensovou metodou v prostředí voda-ethanol při využití stabilizačního

účinku želatiny o hmotnostním zlomku $w = 0,05$ %. Uvedeny jsou také srovnávací standardy Ag^+ a Ag^0 .

| Testovaný kmen | MIC (mg/dm ³ Ag) | | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Ag ⁺ | Ag ⁰ | Ag ⁰ + PAA | Ag ⁰ v 20% ET + PAA | Ag ⁰ v 40% ET + PAA | Ag ⁰ v 60% ET + PAA |
| <i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224 | 6,75 | 6,75 | - | 27 | 27 | 27 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953 | 3,38 | 1,69 | 3,38 | - | 1,69 | 6,75 |
| <i>Escherichia coli</i> CCM 3954 | 1,69 | ≥ 0,84 | 13,5 | 6,75 | 6,75 | 6,75 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955 | 0,84 | 3,38 | 6,75 | 3,38 | 6,75 | 6,75 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1,69 | 3,38 | 6,75 | 6,75 | 3,38 | 6,75 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> I | 3,38 | 1,69 | 6,75 | 6,75 | 3,38 | 3,38 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2 | 1,69 | ≥ 0,84 | 1,69 | ≥ 0,84 | ≥ 0,84 | ≥ 0,84 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) | 6,75 | 1,69 | 27 | 13,5 | 13,5 | 27 |
| <i>Enterococcus faecium</i> (VRE) | 3,38 | 3,38 | 27 | 13,5 | 13,5 | 13,5 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL) | 1,69 | ≥ 0,84 | 6,75 | 6,75 | 6,75 | 27 |
| Antifungální efekt | | | | | | |
| <i>Candida albicans</i> I | 13,5 | 3,38 | 6,75 | 6,75 | 6,75 | 6,75 |
| <i>Candida albicans</i> II | 3,38 | 6,75 | 1,69 | 1,69 | 1,69 | 3,38 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 3,38 | 3,38 | 3,38 | 6,75 | 6,75 | 13,5 |
| <i>Candida parapsilosis</i> | 13,5 | 13,5 | 3,38 | 6,75 | 6,75 | 6,75 |

Tabulka č. 11: Minimální inhibiční koncentrace nanočástic stříbra připravených modifikovanou Tollensovou metodou v prostředí voda-ethanol při využití stabilizačního účinku kyseliny polyakrylové o koncentraci $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Uvedeny jsou také srovnávací standardy Ag^+ a Ag^0 .

Výsledky antibakteriální aktivity nanočástic stříbra připravených v prostředí voda-ethanol jsou shrnuty v tabulce č. 10 a 11. Při stabilizaci želatinou dochází se zvyšujícím se obsahem ethanolu ke zvýšení antibakteriální aktivity, která je u 60 % ethanolu v reakční směsi u všech kmenů (krom jednoho) vyšší než pro iontové stříbro, což může být způsobeno přítomností velmi malých částic stříbra, které se v těchto systémech objevují

na TEM snímcích. Naopak při stabilizaci kyselinou polyakrylovou nedochází s vyšším obsahem ethanolu ke zvýšení antibakteriální aktivity. Při porovnání antibakteriální aktivity nanočástic stříbra stabilizovaných želatinou a PAA je patrné, že nanočástice stříbra stabilizované želatinou mají ve většině případů mnohem vyšší antibakteriální aktivitu. Jedním z hlavních důvodů je velikost nanočástic, která je při stabilizaci želatinou menší.

5. Závěr

Hlavním cílem této práce bylo studium vlivu směsného prostředí voda-alkohol na výsledné vlastnosti nanočástic stříbra připravených modifikovanou Tollensovou metodou založenou na redukci komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ maltózou. Jako testované alkoholy byly vybrány první tři jednoduché alkoholy, které jsou neomezeně mísitelné s vodou – methanol, ethanol a propanol. Nanočástice stříbra byly připravovány za využití stabilizačního účinku želatiny a kyseliny polyakrylové, protože při vyšších koncentracích alkoholu v reakční směsi jsou nanočástice stříbra agregátně nestabilní. Připravené nanočástice stříbra byly charakterizovány pomocí UV/VIS spektrometrie, měření velikosti částic pomocí DLS a také TEM mikroskopie. U připravených disperzí nanočástic stříbra ve směsi voda-ethanol byla testována také jejich antibakteriální aktivita.

Bylo zjištěno, že při stabilizaci želatinou i PAA není vhodné měření velikostí částic pomocí DLS metody. Ta poskytuje pouze zkreslené výsledky. Přesnou velikost nám poskytly TEM snímky.

Při přípravě nanočástic stříbra stabilizovaných želatinou ve směsném prostředí voda-alkohol bylo zjištěno, že se zvyšujícím se obsahem alkoholu se připravené nanočástice stříbra zmenšují a zužuje se i jejich velikostní distribuce. Z důvodu nerozpustnosti želatiny v alkoholech byl maximální možný obsah alkoholu v reakční směsi 70 objemových % pro methanol a ethanol a 60 objemových % pro propanol. Průměrné velikosti částic se pohybovaly od 9 do 16 nm v závislosti na objemových procentech použitého alkoholu. U částic připravených v koncentrovanějším ethanolu byla nalezena vysoká antibakteriální aktivita, která převyšovala i aktivitu iontového stříbra, což je pravděpodobně způsobeno přítomností velmi malých (< 2 nm) nanočástic stříbra. Reprodukovatelnost přípravy nanočástic stříbra při stabilizaci želatinou byla velmi vysoká.

Při modifikaci systému kyselinou polyakrylovou vznikaly částice větších velikostí než v případě želatiny. Průměrná velikost částic byla u vodné fáze 46 nm a s postupným zvyšováním obsahu alkoholů v reakční směsi klesala. Nejmenší částice o průměrné velikosti 7,3 nm byly připraveny při použití 90 % methanolu v reakční směsi. Ve směsi s ethanolem a propanolem docházelo při vyšších koncentracích alkoholu k agregaci částic. Stabilní byly systémy do 60 objemových % alkoholu v reakční směsi. Testovaná antibakteriální aktivita nebyla nijak ovlivněna přítomností PAA a nebyl pozorován ani vliv alkoholu.

6. Summary

The aim of this work was to study the influence of mixed media water-alcohol on the resulting properties of silver nanoparticles, which were prepared by the reduction of the complex cation $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ by maltose. The first three alcohols, which are freely miscible with water were selected for the preparation of mixed media – methanol, ethanol and propanol. Silver nanoparticles were prepared using a stabilizing effect of gelatin and polyacrylic acid, because at high concentrations of alcohol in the reaction mixture the silver nanoparticles are unstable and aggregate. The prepared silver nanoparticles were characterized by UV/VIS spectrometry, particles size measurements by using DLS method and TEM microscopy. The prepared silver nanoparticles were tested for antibacterial activity in mixed media water-alcohol.

It was found that the particles size measurement using DLS method is not suitable while stabilizing the particles with gelatin and PAA. The accurate size of silver particles was provided by TEM images.

It was found that the silver nanoparticles prepared in mixed media water-alcohol, stabilized with gelatin, have smaller size and narrower size distribution with the increasing volume concentration of alcohol. It was possible to prepare a reaction mixture with 70 vol. % of alcohol for methanol and ethanol and just 60 vol. % for propanol. The main reason was the insolubility of gelatin in reaction mixture. The average particles size ranged from 9 to 16 nm depending on the volume concentration of alcohol. The particles prepared in concentrated ethanol have high antibacterial activity that exceeded the activity of ionic silver. This is probably caused by the presence of very small silver particles (< 2 nm). The reproducibility of the preparation of silver nanoparticles was very high because of using the stabilizing effect of gelatin.

Silver particles, which were formed within the modification by polyacrylic acid, were larger in size than in the case of the gelatin. The average particles size was 46 nm for an aqueous phase and the size was decreasing with the gradually increasing volume concentration of alcohol in the reaction mixture. The smallest particles with the average size 7,3 nm were prepared using 90 vol. % of methanol in the reaction mixture. In a mixture with ethanol and propanol at high concentrations of alcohol the aggregation of particles occurred. Systems were stable up to 60 vol. % of alcohol in the reaction mixture. The tested antibacterial activity was not affected by the presence of PAA and neither was by the presence of alcohol.

7. Literatura

- (1) Chen X., Schluesener H.J.: *Toxicology Letters*, 176, 1-12, **2008**
- (2) Fichtner J., Guresir E., Seifert V., Raabe A.: *Journal of neurosurgery*, 112, 840-846, **2010**
- (3) Stelzig S.H., Menneking C., Hoffmann M.S., Eisele K., Barcikowski S., Klapper M., Mullen K.: *European polymer journal*, 47, 662-667, **2011**
- (4) Mariam J., Dongre P.M., Kothari D.C.: *Journal of fluorescence*, 21, 2193-2199, **2011**
- (5) Xu Z.H., Hao J.M., Braida W., Strickland D., Li F.S., Meng X.G.: *Langmuir*, 27, 13773-13779, **2011**
- (6) Rout C.S., Kumar A., Fisher T.S.: *Nanotechnology*, 22, 395704, **2011**
- (7) Dadvar S., Oroumei A., Haghi A.K.: *Journal of the Balkan Tribological Association*, 17, 95-121, **2011**
- (8) Bartovská L., Šišková M.: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*, Praha, VŠCHT Praha, 2005
- (9) Kvítek L., Panáček A.: *Základy koloidní chemie*, Olomouc, **2007**
- (10) Shaw D.J.: *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, Butterworth-Heinemann, Oxford, **2003**
- (11) Pouchlý J.: *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*, Praha, VŠCHT Praha, **2008**
- (12) http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/modely_elektricke_dvojvrstvy.html (staženo dne 22. 3. 2010)
- (13) Vojuckij S. S.: *Kurs koloidní chemie*, SNTL, Praha **1984**
- (14) Darroudi M., Ahmad M., Zamiri R., Abdullah A. H., Ibrahim A., Shamel K., Husin M. S.: *Journal of Alloys and Compounds*, 509, 1301 – 1304, **2010**

- (15) Wani I. A., Ganguly A., Ahmed J., Ahmad T.: *Materials Letters*, 65, 520 – 522, **2010**
- (16) Jia H., Zeng J., Song W., An J., Zhao B.: *Thin Solid Films*, 496, 281 – 287, **2006**
- (17) Lee C. H., Karim M. R., Vasudevan T., Kim H. J., Raushan K., Jung M. J., Kim D. Y., Lee M. S.: *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 31, 1993 – 1996, **2010**
- (18) Huang N. M., Radiman S., Lim H. N., Khiew P. S., Chiu W. S., Lee K. H. Syahida A., Hashim R., Chia C. H.: *Chemical Engineering Journal*, 155, 499 – 507, **2009**
- (19) Yoksan R., Chirachanchai S.: *Materials Chemistry and Physics*, 115, 296 – 302, **2009**
- (20) Seo D., Yoon W., Park S., Kim Ji., Kim Jo.: *Colloids and Surfaces A*, 313 – 314, 158 – 161, **2008**
- (21) Ichikawa Y., Ogata S., Torimoto T., Kawachi G., Kikuta K., Ohtsuki Ch.: *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 177, 294 – 298, **2009**
- (22) Kvítek L., Pucek R.: *Journal of Materials Science*, 15, 0022, **2005**
- (23) Panáček A., Kvítek L., Pucek R., Kolář M., Večeřová R., Pizúrová N., Sharma V. K., Nevěčná T., Zbořil R.: *Journal of Physical Chemistry B*, 110, 16248 – 16253, **2006**
- (24) Chou K-S., Ren C-Y.: *Materials Chemistry and Physics*, 64, 241 – 246, **2000**
- (25) Huang L., Zhai Y., Dong S., Wang J.: *Journal of Colloid and Interface Science*, 331, 384 – 388, **2009**
- (26) Pastoriza-Santos I., Liz-Marzán L. M.: *Nano Letters*, 2, 903 – 905, **2002**
- (27) Ullah M. H., Il K., Ha C-S., *Materials Letters*, 60, 1496 – 1501, **2006**
- (28) Patel K., Kapoor S., Dave D. P., Mukherjee T.: *Journal of Chemical Science*, 117, 53 – 60, **2005**
- (29) Miyoshi H., Ohno H., Sakai K., Okamura N., Kourai H.: *Journal of Colloid and Interface Science*, 345, 433 – 441, **2010**

- (30) Kometani N., Kohara Y., Yonezawa Y.: *Colloids and Surfaces A*, 313 – 314, 43 – 46, **2008**
- (31) Liz-Marzán L. M., Lado-Tourino I.: *Langmuir*, 12, 3585 – 3589, **1996**
- (32) Kim J., Kim D., Veriansyah B., Kang J. W., Kim J-D.: *Materials Letters*, 63, 1880 – 1882, **2009**
- (33) Shao K., Yao J-N., *Materials Letters*, 60, 3826 – 3829, **2006**
- (34) Setua P., Chakraborty A., Seth D., Bhatta M. U., Satyam P. V., Sarkar N.: *Journal of Physical Chemistry C*, 111, 3901 – 3907, **2007**
- (35) Soukupová J., Kvítek L., Panáček A., Nevěčná T., Zbořil R.: *Materials Chemistry and Physics*, 111, 77 – 81, **2008**
- (36) Raveendran P., Goyal A., Blatchford M. A., Wallen S. L.: *Materials Letters*, 60, 897 – 900, **2006**
- (37) Lee K. H., Rah S. C., Kim S-G.: *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 45, 187 – 193, **2008**
- (38) Patakfalvi R., Papp S., Dékány I.: *Journal of Nanoparticle Research*, 9, 353 – 364, **2007**
- (39) Tsuji T., Thang D. H., Okazaki Y., Nakanishi M., Tsuboi Y., Tsuji M.: *Applied Surface Science*, 254, 5224 – 5230, **2008**
- (40) Chaloupka K., Malam Y., Seifalian A. M.: *Trends in Biotechnology*, 28, 580 – 588, **2010**
- (41) Saxena A., Tripathi R. M. Zafar F., Singh P.: *Materials Letters*, 67, 91 – 94, **2012**
- (42) <http://www.bic.com/90Plus.html> (staženo dne 22. 3. 2010)
- (43) Svobodník T.: *Příprava a stabilizace nanočástic stříbra v systému voda-alkohol*, Bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, **2010**
- (44) <http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/pages/viskozimetry.html> (staženo dne 15. 2. 2012)

- (45) <http://www.pragolab.cz/produkt/157/viskozimetr-haake-hoppleruv-viskozimetr>
(staženo dne 15. 2. 2012)
- (46) Novotná K.: *Řízená příprava nanočástic stříbra v přítomnosti polyakrylátů s různou molekulovou hmotností*, Diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, **2010**