

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie

**STUDIUM PŘÍPRAVY NANOČÁSTIC STŘÍBRA  
ZA SNÍŽENÉ TEPLoty**

Bakalářská práce

Autor:	Adéla Bártová
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Aplikovaná chemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2017

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Libora Kvítka, CSc. s použitím odborné literatury a dalších pramenů, které jsou uvedeny v seznamu literatury. Souhlasím s tím, že je práce prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry fyzikální chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne.....

.....

Bártová Adéla

### *Poděkování*

*Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. za cenné rady, ochotu a čas, který mi poskytl během zpracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat doc. RNDr. Aleši Panáčkovi, PhD., za pořízení snímků z transmisního elektronového mikroskopu a Mgr. Renatě Večeřové za provedení testů biologické aktivity. Můj dík patří i ostatním pracovníkům Katedry fyzikální chemie PŘF a v neposlední řadě také mým rodičům, kteří mě podporovali nejen během studia, ale i mimo něj.*

## Bibliografická identifikace

<b>Autor:</b>	Bártová Adéla
<b>Název práce:</b>	Studium přípravy nanočástic stříbra za snížené teploty.
<b>Typ práce:</b>	bakalářská
<b>Pracoviště:</b>	Katedra fyzikální chemie
<b>Vedoucí práce:</b>	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
<b>Rok obhajoby práce:</b>	2017

### Abstrakt:

V této bakalářské práci byl studován vliv nižších teplot na velikost a polydisperzitu nanočástic stříbra vyredukovaných z diaminstříbrného komplexu tetrahydridoboritanem sodným. Příprava byla realizována v ethylenglykolu a ethanolu v přítomnosti stabilizačních látek. Připravené nanočástice byly charakterizovány UV-VIS spektroskopií, metodou DLS a snímky z elektronové mikroskopie (TEM). Lepších výsledků bylo dosaženo v prostředí ethanolu. Nejmenší nanočástice byly připraveny při reakční teplotě  $-5\text{ °C}$  ( $3,4\pm 1,7\text{ nm}$ ). S klesající teplotou (pod  $-10\text{ °C}$ ) došlo k nárůstu průměrné velikosti nanočástic stříbra až na  $7,2\pm 2,9\text{ nm}$  pro teplotu  $-25\text{ °C}$ . U disperzí byla rovněž testována jejich antimikrobiální a katalytická aktivita.

<b>Klíčová slova:</b>	nanočástice stříbra, teplota, ethanol, kyselina polyakrylová
<b>Počet stran:</b>	50
<b>Počet příloh:</b>	0
<b>Jazyk:</b>	český

## Bibliographical identification

**Autor's first name and surname:** Adéla Bártová  
**Title:** The Study of Silver Nanoparticles Preparation at Lower Temperature  
**Type of thesis:** Bachelor  
**Department:** Department of Physical Chemistry  
**Supervisor:** doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.  
**The year of presentation:** 2017

### Abstract:

The influence of lower temperature on size and polydispersity of silver nanoparticles prepared by reduction of the silver complex by sodium borohydride was studied in this thesis. The preparation was carried out in ethylene glycol and ethanol in the presence of stabilizing agents. Silver nanoparticles were characterized by UV-Vis spectroscopy, dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). The best results were achieved in ethanol. The smallest nanoparticles were prepared at the reaction temperature of  $-5\text{ °C}$  ( $3,4\pm 1,7\text{ nm}$ ). With decreasing temperature, the average size of silver nanoparticles increased up to  $7,2\pm 2,9\text{ nm}$  ( $-25\text{ °C}$ ). In the end the biological and catalytic activity were tested.

**Keywords:** silver nanoparticles, temperature, ethyl alcohol, poly (acrylic acid)

**Number of pages:** 50

**Number of appendices:** 0

**Language:** Czech

## Obsah

1. Úvod .....	8
2. Teoretická část .....	10
2.1. Nanočástice.....	10
2.2. Vlastnosti koloidních soustav .....	11
2.2.1. Kinetické vlastnosti koloidů .....	11
2.2.2. Optické vlastnosti koloidů .....	13
2.2.3. Elektrické vlastnosti koloidů .....	14
2.3. Stabilita nanočástic .....	14
2.4. Nanočástice stříbra .....	15
2.4.1. Metody přípravy nanočástic stříbra .....	15
2.4.2. Metody přípravy nanočástic stříbra v nevodných prostředích .....	19
2.4.3. Využití nanočástic stříbra .....	20
2.5. Princip metod analýzy nanočástic .....	22
2.5.1. UV-VIS spektroskopie .....	22
2.5.2. Dynamický rozptyl světla (DLS).....	23
2.5.3. Elektronová mikroskopie .....	24
3. Experimentální část.....	26
3.1. Chemikálie.....	26
3.2. Přístroje a zařízení.....	26
3.3. Příprava nanočástic stříbra za snížené teploty .....	27
3.4. Antimikrobiální aktivita.....	28
3.5. Katalytická aktivita .....	28
4. Výsledky a diskuse.....	29
4.1. Použití látek zabraňujících agregaci systému .....	29
4.2. Úprava koncentrace redukčního činidla .....	30

4.3.	Prostředí 60% (m/m) ethylenglykolu .....	30
4.4.	Prostředí 50% (m/m) ethanolu .....	33
4.4.1.	Antimikrobiální aktivita .....	41
4.4.1.	Katalytická aktivita.....	42
5.	Závěr.....	45
6.	Summary .....	46
7.	Reference .....	47

## 1. Úvod

Několik posledních desetiletí se nese ve znamení nanotechnologií. Nanovědy se ale začaly formovat už mnohem dříve, z vědeckého pohledu to bylo již více než před sto lety v rámci oboru koloidní chemie. Mezi první průkopníky této vědní disciplíny můžeme uvést Michaela Faradaye (1791-1867), Francesca Selmu (1817-1881) či neformálního otce nanotechnologií Richarda Feynmana (1918-1988). Za zakladatele koloidní chemie je ale považován Thomas Graham (1805-1869), který zavedl dodnes používané základní termíny pro tento obor.<sup>1</sup> Koloidní chemie studuje částice o rozměrech  $10^{-9}$  až  $10^{-6}$  m, takže nanovědy, jak už název napovídá, které se zabývají částicemi, jejichž alespoň jeden rozměr je menší než 100 nm, jsou zaměřeny na určitou oblast koloidních částic, u nichž jsou efekty změny chování hmoty se zmenšováním částic nejvýraznější. Tato oblast chemie se dostává do popředí zájmu široké vědecké veřejnosti především díky unikátním vlastnostem, které tyto soustavy vykazují. Jedinečné rysy jsou spjaty především s vysokým poměrem počtu molekul na povrchu částic k počtu molekul v objemu částice.

Stříbro je lidmi využíváno po staletí, využívalo se jako platidlo, vyrábí se z něj šperky nebo slouží jako desinfekční prostředek. Určitě i pro tyto vlastnosti, zejména v oblasti biologické aktivity, se nanočástice stříbra staly jedním z nejvýznamnějších nanomateriálů. Vedle dnes dobře známé antibakteriální aktivity se studují možnosti využití nanočástic stříbra v biosenzorech,<sup>2</sup> katalyzátorech<sup>3</sup> nebo v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii.<sup>4</sup> Nanočástice stříbra se nejčastěji připravují chemickou redukcí stříbrné soli vhodným redukčním činidlem. Už výběr redukčního činidla ovlivní základní vlastnosti připravených nanočástic, jako je jejich velikost a morfologie.<sup>5</sup> Mnoho dosud publikovaných vědeckých studií zabývajících se přípravou nanočástic stříbra zkoumá ale i vliv poměrů reagujících látek,<sup>6</sup> jejich koncentrací,<sup>7</sup> použití stabilizačních<sup>3</sup> nebo jiných látek přidávaných během přípravy na výsledné vlastnosti vznikajících nanočástic.<sup>8,9</sup> Studován je i vliv základních reakčních podmínek, typicky vliv pH.<sup>5</sup>

Ale tak důležitý parametr, jako je teplota, je v těchto studiích mnohdy opomíjena nebo se omezuje pouze na jednoduché situace jako je var rozpouštědla či naopak chlazení ledem.<sup>10</sup> U polyolního procesu se teplota ukázala jako jeden z důležitých parametrů, který umožňuje ovlivnit tvorbu nanočástic určitého tvaru a velikosti.<sup>11</sup> Některé studie zabývající se



vlivem teploty na přípravu nanočástic ukázaly, že zvyšující se teplota vede ke tvorbě větších nanočástic.<sup>12</sup> Pokud vyšší teploty vedou ke tvorbě větších nanočástic, nabízí se otázka, zda nižší teploty (např. pod teplotou tuhnutí vody) povedou ke tvorbě menších nanočástic. Proto se tématem mé bakalářské práce stalo studium přípravy nanočástic stříbra za snížené teploty.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Nanočástice

Nanočástice (NPs) jsou velmi malé částice, jejichž rozměr se pohybuje v řádu nanometrů, zpravidla pod 100 nm. Nanočástice tvoří podskupinu v rámci tzv. koloidních disperzí, které se dělí do 7 skupin podle skupenského stavu dvou základních částí koloidní soustavy – disperzní fáze (např. nanočástice) a disperzního prostředí (např. kapalina, ve které jsou nanočástice rozptýleny). Podle povahy fázového rozhraní mezi částicemi disperzní fáze a okolním disperzním prostředím rozlišujeme lyofilní (makromolekuly) nebo lyofobní (anorganické látky) lyosoly, což jsou disperzní soustavy s pevnou disperzní fází a kapalným disperzním prostředím.

Nanočástice vykazují unikátní vlastnosti, hlavně díky velkému počtu atomů (molekul) na povrchu vzhledem k jejich počtu v objemu částice. Z fyzikálních vlastností lze vyzvednout takové jako je supravodivost a superparamagnetismus, velké pozornosti se dostává optickým vlastnostem, v chemii se nanočástice uplatňují jako katalyzátory a z biologických vlastností je zajímavá nejen jejich antimikrobiální aktivita, ale i jejich toxicita.

Protože jen nepatrné změny některých parametrů nanočástic mohou vést k jejich odlišnému chování, stalo se studium jejich cílené přípravy široce diskutovaným tématem. V přírodě žijí magnetotaktické bakterie, které dokáží vytvořit téměř dokonalé magnetické nanokrystaly, které jim pomáhají se orientovat podle magnetického pole Země v prostředí postrádajícím jiné možnosti orientace. Člověk svou každodenní činností také produkuje nanočástice, např. používáním automobilů nebo průmyslovou výrobou. Nanočástice se rozdělují podle různých kritérií. Například podle dimenzionality je můžeme dělit na polykrystaly (3D), filmy a vrstvy (2D), trubičky a vlákna (1D) nebo kvantové tečky (0D). Podle struktury je lze rozdělit na nanoprášky, povrchově modifikované nanočástice, nanokompozity nebo tzv. „core-shell“ nanočástice, které se dají obecně definovat jako částice obsahující jádro a skořápku.

Protože nanočástice leží mezi pravými roztoky a makroskopickými heterogenními soustavami, mohou vznikat dvojím způsobem, buď dispergací (top-down metody), nebo kondenzací (bottom-up metody). V případě metod top-down se vychází z makroskopické

látky, která je rozrušována na menší částice. Naproti tomu u metod bottom-up se výsledné částice postupně skládají z jednotlivých atomů nebo molekul.

Nanočástice nacházejí široké uplatnění napříč různými vědními obory. V katalýze se uplatňují např. nanočástice oxidů železa a zlata.<sup>13,14</sup> V medicíně se pracuje na vyvinutí magnetických nanočástic, které by sloužily jako nosiče léčiv.<sup>15</sup> Intenzivně se studují antibakteriální vlastnosti nanočástic stříbra (AgNPs).<sup>5</sup> Nanočástice nulamocného železa (nZVI) se využívají k čištění podzemních vod a k sanaci půd.<sup>16</sup>

## 2.2. Vlastnosti koloidních soustav

Vzhledem k zařazení nanočástic mezi koloidní soustavy je jasné, že budou vykazovat i stejné vlastnosti jako koloidní systémy. Mezi kinetické vlastnosti patří Brownův pohyb, difúze, osmóza a sedimentace. Absorpce a rozptyl světla se řadí do optických vlastností, které jsou u nanočástic intenzivně studovány, protože mnohdy vykazují specifické závislosti nepozorovatelné u větších částic (např. kvantové tečky). Mezi důležité vlastnosti patří také elektrické, například vznik elektrické dvojvrstvy, která pomáhá stabilizovat nanočástice v disperzi.

### 2.2.1. Kinetické vlastnosti koloidů

#### *Brownův pohyb*

Brownův pohyb se projevuje u všech dostatečně malých částic rozptýlených v kapalně nebo plynné fázi. Do každé částice disperzní fáze narazí ve velmi krátkém okamžiku ohromný počet molekul disperzního prostředí. Sečtením jednotlivých nárazů ve stejném okamžiku vzniká impulz, díky němuž se částice pohne určitým směrem, kde do ní opět narazí jiné molekuly a opět změní její dráhu. Pohyb je ovlivněn teplotou, hmotností a velikostí částic či jejich tvarem.<sup>1</sup>

#### *Difúze*

Pokud je v roztoku koncentrační gradient, soustava přechází do rovnovážného stavu tzv. difúzí, která je spjata s Brownovým pohybem. Difúzi charakterizuje I. Fickův zákon:<sup>17</sup>

$$\frac{dn}{dt} = -SD \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

kde  $dn/dt$  je změna látkového množství difundující látky v čase,  $S$  je plocha kolmá na směr difúze,  $D$  je difúzní koeficient a  $dc/dx$  je koncentrační gradient. Aby soustava dospěla do rovnováhy, musí každá částice urazit určitou vzdálenost, která se označuje jako *střední posuv částice*  $\bar{\Delta}$ . Rovnici charakterizující tento pohyb odvodili Einstein a Smoluchowski:

$$\bar{\Delta} = \sqrt{\frac{kT\Delta t}{3\pi\eta r}} \quad (2)$$

kde  $k$  je Boltzmanova konstanta,  $T$  je termodynamická teplota,  $t$  je čas,  $\eta$  viskozita disperzního prostředí a  $r$  poloměr sférické částice. Z rovnice je jasné, že se zvyšující se teplotou se zvětšuje střední posuv částice a naopak klesá s viskóznějším prostředím a poloměrem částic.<sup>17</sup>

### *Sedimentace*

Pokud na disperzní systém působí vnější síla, např. gravitační nebo odstředivá, částice začnou vykazovat ustálený pohyb, který je ovlivněn mnoha faktory. Pokud je síla dostatečně velká, může dojít k usazení všech částic. Sedimentaci ovlivňují vlastnosti prostředí, ve kterém k sedimentaci dochází, hustota, tvar a hmotnost sedimentujících částic. Na systém nepůsobí pouze gravitační síla, ale také vztaková a třecí, které zpomalují usazování.<sup>17,18</sup>

### *Osmóza*

S osmózou se setkáváme u různě koncentrovaných roztoků, které jsou odděleny semipermeabilní membránou, která propouští pouze rozpouštědlo (disperzní prostředí). Přes membránu prochází molekuly disperzního prostředí, které se snaží vyrovnat chemické potenciály na obou stranách. Aby se zabránilo průchodu rozpouštědla přes membránu, musí působit přetlak na straně koncentrovanějšího roztoku, který se označuje jako *osmotický tlak*  $\pi$ . V případě pravých roztoků je tento tlak popsán van't Hoffovou rovnicí:

$$\pi = cRT \quad (3)$$

kde  $c$  je koncentrace (v jednotkách  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$ ),  $R$  je univerzální plynová konstanta a  $T$  teplota. Osmotický tlak je silně ovlivněn velikostí částic, jen nepatrné rozdíly ve velikosti se projeví velkými změnami tlaků. Koloidy tak vykazují oproti pravým roztokům nízkomolekulárních látek o několik řádů nižší hodnoty osmotického tlaku.<sup>17</sup>

### 2.2.2. Optické vlastnosti koloidů

Částice koloidních soustav jsou co do velikosti menší nebo srovnatelné s vlnovou délkou světla, proto vykazují zajímavé optické vlastnosti, které závisí na fyzikálních parametrech studované soustavy. Podle typu soustavy a vlnové délky může dojít po průchodu elektromagnetického záření buď k absorpci, která se uplatňuje zejména u analytických disperzí nebo k rozptylu světla, který převažuje u koloidních systémů.<sup>19</sup>

Absorpce je jev, při kterém soustava pohltí kvantum energie, a její valenční elektrony přejdou do vyšších energetických stavů. Absorbance  $A$  je popsána Lambert-Beerovým zákonem:<sup>17</sup>

$$A = \varepsilon cd \quad (4)$$

kde  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient,  $c$  je koncentrace a  $d$  tloušťka vrstvy. U kovových nanočástic, na které působí elektromagnetické záření, dochází vlivem absorpce záření o určité vlnové délce k oscilaci vodivostních elektronů, následkem je vznik tzv. povrchového plasmonu.<sup>20</sup>

Protože nanočástice jsou svými rozměry menší oproti vlnové délce světla, nastává u nich Rayleighův rozptyl. Ozáření koloidních soustav elektromagnetickým zářením dochází k jejich polarizaci. V částicích se indukují dipólové momenty, které do okolí šíří sekundární elektrické pole. Každá částice se tak stává novým bodovým zdrojem rozptýleného světla.<sup>18</sup>

Pro částice, které jsou ve všech směrech stejně polarizovatelné a velikostí nepřesahují přibližně  $\lambda/20$ , odvodil Rayleigh rovnici:

$$\frac{I(\theta)}{I_0} = \frac{\pi^2 \alpha^2 F(\theta)}{\varepsilon_0^2 \lambda^4 r^2} \quad (5)$$

kde  $I(\theta)$  je intenzita světla rozptýleného částicí pod úhlem  $\theta$ ,  $I_0$  je intenzita primárního záření,  $\alpha$  vyjadřuje polarizovatelnost částice,  $\varepsilon_0$  představuje permitivitu vakua,  $\lambda$  vlnovou délku záření a  $r$  je vzdálenost detektoru od částice rozptylující světlo.<sup>21</sup>

Měření intenzity rozptylu světla se využívá pro stanovení koncentrace disperze, objemu částic a jejich hmotnosti (popř. molární hmotnosti u makromolekul), naměřené hodnoty rozptylu napovídají také mnoho o interakcích mezi částicemi.<sup>1</sup>

### 2.2.3. Elektrické vlastnosti koloidů

Koloidní částice mohou nést na svém povrchu elektrický náboj, který se vytvoří buď ionizací (disociací) povrchových molekul, nebo adsorpcí iontů rozpouštědla nebo jiných iontů z roztoku. Nese-li částice elektrický náboj, soustava se jej snaží vyrovnat, což vede v její blízkosti k větší koncentraci opačně nabitých iontů. Toto seskupení se označuje jako elektrická dvojvrstva.<sup>17</sup> Teorie elektrické dvojvrstvy prošla různými obměnami, aby ji bylo možné aplikovat na všechny systémy. Stern popsal elektrickou dvojvrstvu jako vrstvu skládající se z vnitřní a difúzní vrstvy. Vnitřní vrstva obsahuje naadsorbované ionty a Sternovu vrstvu, která částečně kompenzuje náboj částice. Sternova vrstva se pohybuje s koloidní částicí. Difúzní vrstva je ve větší vzdálenosti a s částicí se nepohybuje. Ionty v této vrstvě přitahují elektrostatické síly související se zbylým nevykompenzovaným nábojem povrchu částice ve Sternově vrstvě. Mezi Sternovou a difúzní vrstvou existuje tzv. pohybové rozhraní s potenciálem, který se nazývá  $\zeta$ -potenciál.<sup>18</sup> Pokud se hodnota  $\zeta$ -potenciálu blíží k 0, částice mají tendenci flokulovat. V případě nulového  $\zeta$ -potenciálu je soustava nejméně stabilní. Důležitou roli v náboji povrchu nanočástic hraje také pH disperze.<sup>22</sup>

### 2.3. Stabilita nanočástic

Nanočástice disponují velkým množstvím atomů (molekul) na povrchu, které zvyšují jejich povrchovou energii a značně tak ovlivňují stabilitu. Částice se vlivem Brownova pohybu přibližují. Při dostatečném přiblížení převládou přitažlivé síly nad odpudivými a dojde ke spojení částic. Neustálým nabalováním dalších a dalších částic vznikne agregát, který sedimentuje.

Agregaci můžeme předcházet buď pomocí odpuzování částic na základě existence elektrické dvojvrstvy, nebo stérickou stabilizací. V případě elektrické dvojvrstvy mají všechny částice v disperzním prostředí stejný náboj a proto, pokud dojde k jejich přiblížení, převládou odpudivé elektrostatické síly a k agregaci nedochází. U stérických stabilizací se uplatňují zejména povrchově aktivní látky nebo makromolekuly, které se naadsorbují na povrch částice.<sup>19</sup> Použitím stabilizátorů se předchází agregaci a zároveň je možné kontrolovat některé vlastnosti nanočástic.<sup>23</sup>

Jak ukázala Soukupová *a kol.*, použití stabilizačních látek ovlivňuje základní vlastnosti NPs. V práci byl studován vliv surfaktantů na AgNPs připravené modifikovanou Tollensovou

metodou. Ze skupiny neionických surfaktantů byl zvolen Tween 80, který vytváří ochrannou vrstvu na povrchu nanočástic, které se formují v počáteční fázi reakce a snižuje tak pravděpodobnost vzniku nových jader v dalších fázích. Výsledkem je téměř monodisperzní systém. Za anionické surfaktanty byl testován dodecylsírán sodný (SDS). Adsorpcí anionické části se téměř 3x navýšil  $\zeta$ -potenciál. Posledním testovaným surfaktantem byl zástupce kationické skupiny, a to cetyltrimethylamonium chlorid (CTAC). V tomto případě dochází k adsorpci  $CTA^+$ , což vede ke snížení rychlosti reakce díky repulsním interakcím mezi  $Ag^+$  a NPs.<sup>23</sup>

## 2.4. Nanočástice stříbra

Stříbro všichni znají jako stříbrolesklý kov, nanočástice stříbra jsou ale úplně jiné, jejich disperze se obvykle vyznačují zlatavou barvou. Nanočástice stříbra se využívají v mnoha praktických aplikacích (antibakteriální nátěry, antibakteriální úpravy textilií, elektronika), v medicíně u chirurgických nástrojů, katetrů nebo protéz, kde zabraňují množení bakterií nebo jako biosenzory.

### 2.4.1. Metody přípravy nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra se připravují různými způsoby za účelem získání požadovaných vlastností. Jako první nejspíš připravili, nevědomky, nanočástice stříbra Římané ve starověku. Důkazem je skleněný Lykurgův pohár. Příprava nanostříbra se většinou dělí na dispergační a kondenzační metody, jiný pohled rozlišuje postupy fyzikální, chemické a biologické. První dva způsoby jsou velmi využívané, ale jejich nevýhodou je používání některých látek, které jsou toxické, proto se rozvíjejí i biologické metody, které jsou šetrné k životnímu prostředí.



**Obr. 1:** Lykurgův pohár ze 4. století, který mění barvu podle toho, jak je osvětlen.<sup>24</sup>

Příprava pomocí fyzikálních postupů vyžaduje vykonání práce. Příkladem je mletí, termální rozklad nebo ionizace. Dále budou zmíněny metody, které pro přípravu NPs využívají záření, jako je laserová ablace, příprava pomocí  $\gamma$  nebo UV záření.

**Laserová ablace** využívá ke tvorbě nanočástic laserového paprsku o vysoké energii, který je orientován v kolmém směru k destičce stříbra. Stříbrný plíšek je umístěn v cele naplněné kapalinou. Výhodou této metody je její rychlost, jednoduchost, univerzálnost a získání čistých nanočástic. Změnou experimentálních podmínek se ovlivňuje výsledný koloid.<sup>25</sup> Amendola *a kol.* studovali přípravu AgNPs v organických rozpouštědlech jako je acetonitril (AN), *N,N*-dimethylformamid (DMF), tetrahydrofuran (THF) a dimethylsulfoxid (DMSO). Použité rozpouštědlo ovlivňuje optické vlastnosti AgNPs. Realizací v AN a DMF byly získány sférické NPs s rozměrem kolem 2 nm. V případě použití THF byly výsledkem AgNPs pokryté amorfní vrstvou uhlíku, u DMSO byly nanočástice zakotveny v matrici. Zahřátím může být uhlík obklopující nanočástice odtraněn.<sup>26</sup>

Pokud je roztok stříbrné soli ozářen  **$\gamma$  zářením**, vznikají vodíkové atomy a hydratované elektrony, které redukují stříbrné ionty. Současně hydroxylové radikály oxidují stříbrné kationty. Oba pochody probíhají téměř stejnou rychlostí, proto se pracuje ve vodíkové atmosféře. Vodík reaguje s hydroxylovými ionty za vzniku vody a atomů vodíku, které slouží k redukci.<sup>27</sup>

**Ultrazvuk** se využívá k přípravě AgNPs jak v dispergačních, tak kondenzačních metodách. U dispergační metody se působí ultrazvukem o vysoké frekvenci, což vede k tvorbě trhlin následovaných vznikem nanočástic. V případě kondenzačních metod ultrazvuk rozkládá vodu, jejíž radikály reagují s organickými látkami. Vzniklé organické radikály následně redukují stříbrné ionty.<sup>28</sup>

Podobně lze AgNPs připravit za pomoci **UV záření**, jako zdroj se používá rtuťová výbojka. V roztoku musí být přítomna organická látka, která působením UV záření poskytne radikály sloužící k redukci stříbrných iontů.<sup>28</sup> Tento způsob přípravy byl studován Hengleinem. Ve jeho práci byl použit  $\text{AgClO}_4$ , 2-propanol, aceton a různé stabilizátory (polyethylenimin - PEI, polyfosfát sodný, polyakrylát sodný, a poly(vinylpyrrolidon) - PVP). Při použití PEI měl systém nejlepší optické vlastnosti a také nejužší velikostní distribuci. Průměrná velikosti nanočástic byla 7 nm.<sup>29</sup>



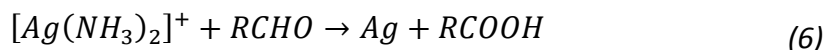
Další možná příprava nanočástic stříbra je pomocí mikroorganismů nebo extraktů z rostlin. Tato možnost syntézy se rozvíjí hlavně díky možnosti vyhnout se použití toxických látek, které brání následnému použití nanočástic v medicíně.

Nejrozšířenější skupinou přípravy AgNPs je chemická redukce, která se široce využívá hlavně díky různým jednoduchým obměnám, které vedou k syntéze částic rozličných velikostí, tvarů a distribucí. Obecně k syntéze nanočástic stříbra je zapotřebí prekurzor, redukční a případně stabilizační činidlo. Jako prekurzor se často využívá dusičnan stříbrný ( $\text{AgNO}_3$ ) nebo kation diaminstříbrný  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ . K redukci se používají jak organické (kyselina askorbová, citrát sodný, cukry), tak anorganické látky (tetrahydridoboritan sodný, vodík). Stabilizátorů je celá řada, jmenovitě např. Tween 80, SDS nebo CTAC. Proces vzniku koloidní disperze je ovlivňován změnou koncentrace reagujících látek, pH nebo teplotou.

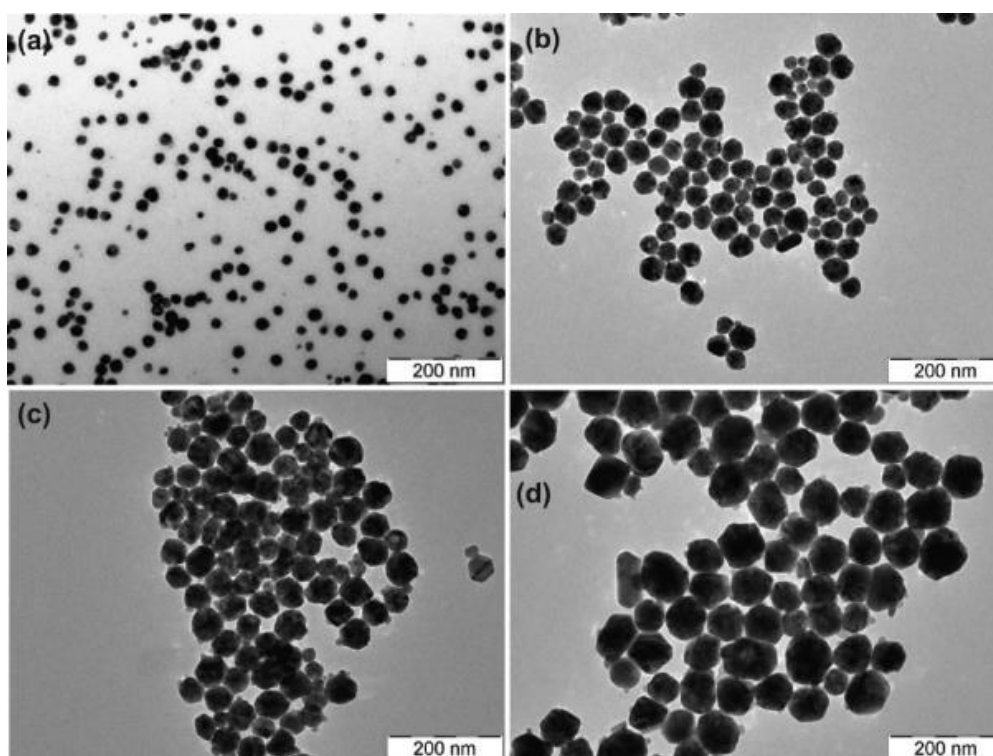
K přípravě nanočástic stříbra se často využívá **tetrahydridoboritan sodný** ( $\text{NaBH}_4$ ), který je velmi silným redukčním činidlem. Creighton, Blatchford a Albrecht připravili kulovité AgNPs o rozměru 5-20 nm přidáním 1 ml  $\text{AgNO}_3$  ke 3 ml chlazeného roztoku  $\text{NaBH}_4$ . Metoda vede k vytvoření malých částic s úzkou velikostní distribucí.<sup>30</sup> Van Hying a Zukoski studovali, jak teplota ovlivňuje přípravu AgNPs. Při zahřátí nad 45 °C došlo k agregaci. Velikost částic připravených při 25 °C byla 14 nm, při 15 °C se zmenšily na 10,8 nm. S dalším snižováním teploty se částice nezmenšovaly, ale naopak rostly. Při teplotě 10 °C měly průměr 12,7 nm a při dalším snížení pod 5 °C došlo k nárůstu až na 66,4 nm.<sup>10</sup>

Redukci **citrátem sodným** popsali jako první Lee a Meisel. Vodný roztok  $\text{AgNO}_3$  byl přiveden k varu, následně byl přidán citrát a po dobu jedné hodiny byl udržován var. Výsledkem byly NPs s širokou velikostní distribucí.<sup>31</sup> Přidáním amoniaku během redukce se vytvoří diaminstříbrný komplex, který brání vzniku nových zárodečných jader a vede tak k menší polydisperzitě. V systému bez amoniaku je průměr NPs 34 nm po 20 minutách reakce. S delším reakčním časem se zvětšuje velikost částic až na 70 nm. Přidáním amoniaku ihned po nukleační fázi se po 28 minutách reakce získají nanočástic o velikosti 2,2 nm s úzkou distribucí. V 17 minutě je velikost nanočástic pouze 1,6 nm. Další výhodou je stabilita systému, která trvá několik měsíců i bez použití jiných stabilizačních látek než je citrát.<sup>8</sup>

Dalším hojně používaným procesem pro přípravu je **Tollensova metoda**. Reakce probíhá v přítomnosti amoniaku za vzniku diaminstříbrného komplexu, který je v alkalickém prostředí redukován aldehydy nebo redukujícími cukry.<sup>12</sup>



Je-li jako redukující činidlo použit formaldehyd a sorbitol, velikost nanočástic se pohybuje od 20 do 50 nm. Takto připravená disperze je stabilní až rok. Se zvyšováním teploty se zkracuje doba reakce a zvětšuje se velikost částic. Při vyšších teplotách roste počet srážek, proto se formují větší nanočástice. Experimenty, které byly provedeny při teplotách 27, 30 a 35 °C, se získaly částice o průměrné velikosti 20, 30 a 40 nm.<sup>12</sup> Použitím disacharidů vznikají menší částice než při redukci monosacharidy. Koncentrace amoniaku silně ovlivňuje velikost nanočástic. Při nižších koncentracích (0,005 – 0,02 mol·dm<sup>-3</sup>) se velikost nanočástic pohybuje v desítkách nanometrů. Od koncentrace 0,035 mol·dm<sup>-3</sup> se velikost razantně zvětšuje na stovky nanometrů. Hodnota pH je také dobrým nástrojem pro ovlivnění velikosti částic.<sup>5</sup> Cíleně lze syntézu řídit také přidáním kyseliny polyakrylové (PAA). Při použití D-maltosy jako redukčního činidla v systému bez PAA byly připraveny částice o velikosti 28 nm. Se zvyšující se koncentrací PAA rostl logaritmicky průměr částic až na hodnotu 77 nm.<sup>3</sup>



**Obr. 2:** TEM snímky nanočástic stříbra připravených (a) bez PAA (28 nm) a v přítomnosti PAA o koncentraci (b)  $5 \cdot 10^{-10}$  (36 nm), (c)  $8 \cdot 10^{-9}$  (53 nm) a (d)  $1,3 \cdot 10^{-7}$  mol·dm<sup>-3</sup> (77 nm).<sup>3</sup>

U **polyolního procesu** se používají dioly jako rozpouštědla, redukční činidla a případně i jako stabilizátory. Popa *a kol.* studovali přípravu nanočástice stříbra v polyethylenglykolu. Po úplném rozpuštění dusičnanu stříbrného byla postupně zvyšována teplota o 1 °C/min. Při 30 °C byly pozorovány sférické částice o velikosti 4±2 nm a pár větších částic s velikostí do 20 nm. Zvýšením teploty na 60 °C se zvětšila populace 20 nm částic. Velikost částic dále rostla s teplotou, ale větší částice už měly tendenci agregovat. Při 90 °C vymizely menší částice, ale přibyla frakce trojúhelníkových částic (20-50 nm). Zahřátím na 120 °C se generovaly navíc i velké pentagonální částice, některé v řádu stovek nanometrů. Použitím PVP jako stabilizátoru se zabrání vzniku jiných než sférických nanočástic.<sup>11</sup> Přidání sulfidových aniontů během procesu, kdy systém obsahuje ethylenglykol, AgNO<sub>3</sub> a PVP, významně zkracuje dobu reakce z 16-26 hodin na 3-8 minut. Monodisperzní nanokrychličky o velikosti 25-45 nm byly vytvořeny při teplotě 150-155 °C a koncentraci sulfidových iontů v rozmezí 28-30 μM.<sup>9</sup>

#### **2.4.2. Metody přípravy nanočástic stříbra v nevodných prostředích**

Nanočástice lze připravit i v jiných rozpouštědlech, než je voda. Obecně ale platí, že stabilita vzniklých koloidů není tak dobrá jako u vodných disperzí. Jak bylo zmíněno výše, polyolní metody se realizují v diolech,<sup>11</sup> jako další rozpouštědla mohou být použity alkoholy,<sup>32</sup> THF,<sup>26</sup> DMF<sup>6</sup> nebo chlorované organické sloučeniny.<sup>33</sup>

Přípravou AgNPs v ethanolu se zabývali Lis-Marzán a Lado Tourino, kteří k redukci použili neionické surfaktanty. Rozsah redukce byl ovlivněn druhem a koncentrací surfaktantu. Rychlost reakce zase ovlivňovala teplota a koncentrace stříbrných iontů. V disperzi převažovaly částice v jednotkách nanometrů, ale objevovaly se i větší okolo 20 nm. Zastoupení větších částic téměř vymizelo po uplynutí jednoho týdnu. Použitím silného redukčního činidla na vytvořenou disperzi lze získat koncentrované disperze, které jsou ale spíše polydisperzní.<sup>32</sup>

Kulovité nanočástice s velikostí 85-97 nm byly připraveny redukcí *p*-toluensulfonátu stříbrného citrátem draselným nebo redukcí methansulfonátu stříbrného kyselinou askorbovou v ethylenglykolu. Nejlepších vlastností bylo dosaženo u koloidu, který byl připraven redukcí methansulfonátu kyselinou askorbovou. Disperze byly stabilní 2 měsíce.<sup>34</sup>

Bez použití anorganických látek bylo připraveno nanostříbro Parkem *a kol.* Stříbrný 2-ethylhexyluhličitanový komplex byl redukován hydrazinem za přítomnosti PVP jako stabilizátoru v 2-propanolu. Změnou koncentrací reagujících látek lze připravit nanočástice v rozmezí 5-100 nm. Tvar částic nejvíce ovlivňuje koncentrace uhličitanového komplexu.<sup>7</sup>

Úspěšná byla také příprava AgNPs v DMF. Pro vytvoření stabilní disperze byla nutná přítomnost stabilizátoru 3-(aminopropyl)trimethoxysilanu (APS). Zvýšení teploty nejen že urychlilo průběh reakce, ale ovlivnilo i velikost částic a zlepšilo monodisperzitu. Při teplotách 20 a 60 °C byly v koloidu dvě velikostní třídy, které už ovšem nebyly pozorovány při teplotách 100 °C a vyšších.<sup>6</sup>

Zeiri a Efrima publikovali přípravu organosolů v organických rozpouštědlech nemísitelných s vodou. Pro přípravu byly zvoleny různé organické látky jako dichlormethan, chloroform, nitrobenzen, 1,2-dichlorethan, dichlorbenzen a 1,2-bromchlorethan, jako redukční činidlo byl použit hydrazin sulfát. Velikost částic se pohybovala okolo 10 nm. Distribuce závisela na konkrétní organické fázi, i když nanočástice byly prvotně formovány ve vodné. Nejlepší stabilitu vykazovala disperze připravená v dichlormethanu, která měla také nejužší distribuci.<sup>33</sup>

### **2.4.3. Využití nanočástic stříbra**

Možnosti použití nanočástic stříbra jsou rozličné, ale limitované jejich vlastnostmi, především velikostí. Mezi nejdiskutovanější oblasti využití patří bezesporu medicína. Antimikrobiální účinky stříbra jsou známy po staletí. Již ve starověku se používaly stříbrné nádoby pro uchování potravin. Dusičnan stříbrný byl používán k léčbě nejrůznějších chorob. Po objevení antibiotik se ale stříbro dostalo do pozadí. Dnes, mimo jiné i díky masovému šíření rezistence bakterií vůči klasickým antibiotikům, se opět zkoumají antimikrobiální účinky nanočástic stříbra.<sup>35</sup> Ty jsou ovlivněny zejména velikostí nanočástic. Čím jsou částice menší, tím je jejich účinnost proti mikrobům větší. Problém nastává v případě, kdy nanočástice v disperzi nemají stejnou morfologii.<sup>36</sup>

Způsoby interakce nanočástic s mikroby nejsou zatím zcela objasněny, tudíž se touto otázkou zabývá mnoho skupin vědců. Jednou z možných interakcí mezi nanočásticemi a buňkou je ukotvení nanočástic na buněčné stěně, kdy dojde ke změně propustnosti a buňka

uhyne.<sup>37</sup> Změny v buněčné stěně způsobují také volné radikály, které generují nanočástice stříbra.<sup>38</sup> Rovněž dýchací procesy jsou ovlivněny přítomností NPs. Pokud NPs proniknou do buňky, způsobí její další poškození interakcí s prvky jako je síra nebo fosfor, což jsou důležité složky nejen DNA. Uvolněné ionty stříbra také přispívají k antimikrobiálním účinkům.<sup>39</sup>

Nanočástice stříbra nachází dále své uplatnění v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii (SERS). Vedle stříbra se u SERS uplatňují také nanočástice zlata nebo mědi, u kterých rovněž dochází ke vzniku povrchového plasmonu. SERS byl objeven v roce 1974 Fleischmannem.<sup>40</sup> Přesný mechanismus zesílení není ještě zcela objasněn, ale uvažují se dva mechanismy a to elektromagnetický a chemický. Faktor zesílení se pohybuje okolo  $10^{10}$ , za ideálních podmínek dosahuje až  $10^{12}$ .<sup>4</sup>

Charakteristické resonance povrchového plasmonu nanočástic stříbra se využívá u biosenzorů. V některých případech se nanočástice pokrývají ochrannou vrstvou (např. oxidu křemičitého), aby nedošlo ke zhoršení jejich unikátních plasmonových resonancí oxidací nebo formováním plasmonicky neaktivních sloučenin.<sup>2</sup>

V neposlední řadě se AgNPs využívají při katalýze, typicky u redukčních reakcí, např. při redukci 4-nitrofenolu nebo methylenové modři. Menší nanočástice vykazují lepší katalytickou aktivitu díky většímu povrchu.<sup>3,41</sup> Nejen velikost, ale i morfologie částic hraje v katalýze důležitou roli. Nanočástice stříbra ve tvaru krychliček vykazují nejvyšší katalytickou aktivitu při oxidaci styrenu v porovnání s téměř sférickými nanočásticemi nebo částicemi tvaru komolého trojúhelníku.<sup>42</sup>

Nanočástice stříbra se stávají součástí každodenního života. Spodní prádlo, ponožky nebo obuv či zubní pasty obsahující nanostříbro, toto vše už je dnes běžně k dostání. Vzhledem k takto velké produkci AgNPs je potřeba zabývat se i jejich dalším osudem nejen z pohledu vlivu na zdraví člověka ale i vlivu na životní prostředí.

## 2.5. Princip metod analýzy nanočástic

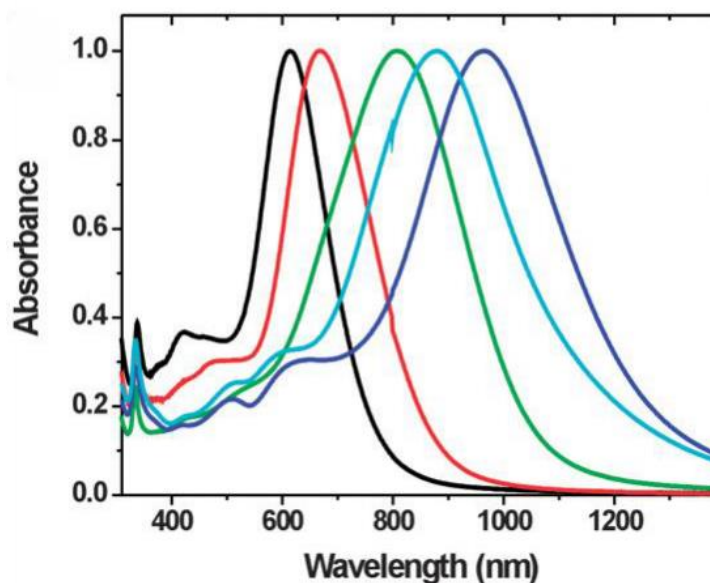
Nanočástice disponují zajímavými vlastnostmi díky svým rozměrům, které se pohybují v oblasti nanometrů. Studium takto malých částic není snadné. Proto bylo třeba vyvinout řadu charakterizačních technik, aby byla možnost nanočástice spatřit a lépe porozumět jejich chování. Dnes existuje mnoho různých principů, s jejichž pomocí se nanočástice charakterizují. Mezi spektrální metody patří Ramanova a UV-VIS spektroskopie. Z mikroskopických technik se používá transmisní (TEM) nebo skenovací (SEM) elektronová mikroskopie, mikroskopie atomárních sil (AFM) či skenovací tunelová mikroskopie (STM). Pro určení velikosti se často používá dynamický rozptyl světla (DLS), případně sedimentační techniky.<sup>20</sup>

### 2.5.1. UV-VIS spektroskopie

Základní části spektrofotometru jsou zdroj světla, monochromátor a detektor. Paprsek prochází vzorkem, který absorbuje část energie (dochází k excitaci elektronů) a na detektor dopadá energie ochuzená o určitou část (absorbované fotony). Podíl intenzity záření, které prošlo vzorkem ( $I$ ), k intenzitě záření vycházejícího ze zdroje ( $I_0$ ) vyjadřuje transmitance ( $T$ ).<sup>20</sup> Spektra jsou nejčastěji vynesena jako závislost vlnové délky na absorbanci ( $A$ ), což je záporný dekadický logaritmus transmitance.

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} \quad (7)$$

U nanočástic stříbra dochází k absorpci světla díky resonanci vodivostních elektronů. Tento jev se označuje jako rezonance povrchového plasmonu.<sup>43</sup> U AgNPs se maximum absorpance pohybuje v rozmezí 400-500 nm.<sup>20</sup> Poloha povrchového plasmonu, mimo jiného, závisí na velikosti (u sférických NPs) případně na poměru délky hrany a tloušťky (nanohranoly). U větších nanočástic dochází k posunu píku k větším vlnovým délkám.<sup>43</sup>



**Obr. 3:** UV-VIS-NIR spektrum nanohranolů stříbra, velikost hrany nanočástic roste zleva doprava.<sup>43</sup>

Zásadní vliv má také morfologie nanočástic. Při nejkratších vlnových délkách absorbují sférické nanočástice (400-500 nm), poté se objevuje pík povrchového plasmonu pro pentagonální (500-560 nm), větší nanotrojúhelníky absorbují až v červené oblasti viditelného spektra (630-680 nm).<sup>44</sup> Nižší hodnoty indexu lomu rozpouštědla způsobují modrý posuv.<sup>43</sup>

### 2.5.2. Dynamický rozptyl světla (DLS)

Metodou **DLS** se studují částice, které podléhají Brownovu pohybu. Vzorek je ozářen koherentním zdrojem světla (laser), po dopadu na částice dojde k rozptylu a interferenci záření, které je zaznamenáno detektorem. Detektor je umístěn v blízkosti vzorku buď kolmo ke zdroji nebo pod úhlem 175°. Vlivem pohybu částic ve studované soustavě se intenzita rozptýleného světla neustále mění, dochází k fluktuaci intenzity rozptýleného světla, která je využívána pro výpočet velikosti. Výpočet vychází ze zjištění tzv. korelační funkce, která odráží fluktuaci intenzity v čase. Čím menší je časový rozdíl, tím je korelace větší, signály si jsou velmi podobné. Korelace rovněž závisí na rychlosti pohybu částic – menší částice se pohybují rychleji, a proto se intenzita světla mění rychleji – korelace rychle klesá. Ze zjištěné korelační funkce je možné vypočítat velikostní distribuci závislou na intenzitě rozptylu na základě Stokesovy-Einsteinovy rovnice pro difuzní koeficient. Software většiny přístrojů dále umožňuje primárně získanou distribuci velikosti částic váženou na základě intenzity rozptylu

světla přepočítat dále na vážený průměr podle objemu či počtu částic. Vzhledem k přibližnosti přepočtů mohou být výsledné hodnoty značně zkresleny.<sup>45</sup>

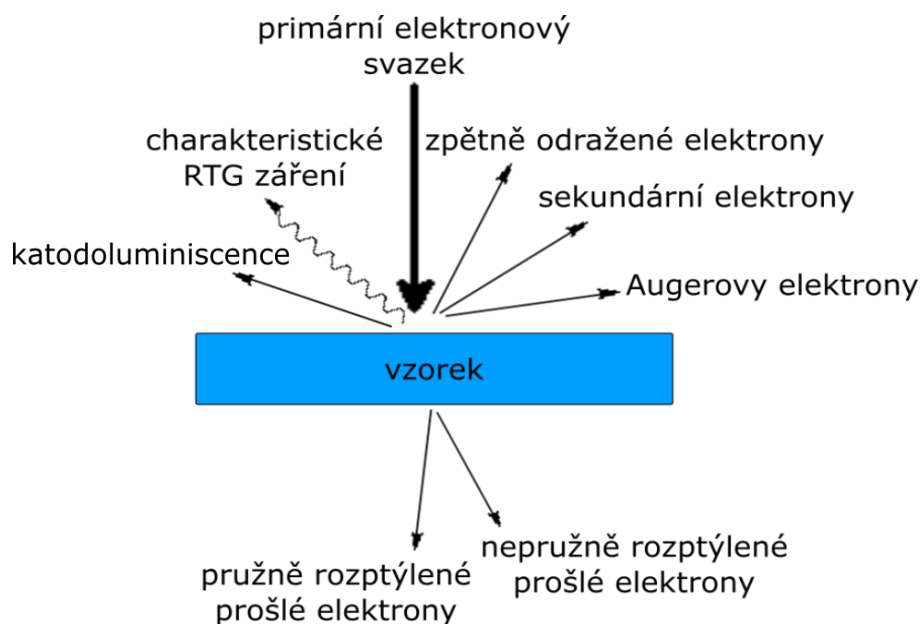
DLS má mnoho výhod, proto se často využívá pro charakterizaci koloidních soustav. K měření stačí malé množství vzorku, analýza je rychlá a nedestruktivní. Pro úspěšné měření je potřeba velmi málo informací, důležitá je především viskozita vzorku. Bohužel metoda má malé rozlišení, aby byl přístroj schopen detekovat více velikostních tříd částic v jednom vzorku, částice se musí lišit o alespoň 50% ve velikosti. Určité množství malých částic nemusí být zaznamenáno, je-li detektor „zaslepen“ rozptylem světla pocházejícím od velkých částic. Technika je vhodná pro určení velikosti pouze pro sférické částice, jejichž velikost lze jednoduše vyjádřit poloměrem.<sup>46</sup>

### 2.5.3. Elektronová mikroskopie

Spatřit velmi malé objekty na vlastní oči nám umožňují mikroskopy. Rozlišovací schopnost každého mikroskopu odpovídá zhruba  $\frac{1}{2}\lambda$  použitého záření. Schopnost zobrazovat objekty v řádech nanometrů je spjata s použitím zdroje záření s mnohem kratší vlnovou délkou, než má viditelné světlo. Tuto podmínku splňuje svazek letících elektronů, kterých využívá elektronová mikroskopie pro poskytnutí obrazu studovaného vzorku.

Konstrukcí se TEM podobá světelnému mikroskopu, viditelné světlo je nahrazeno letícími elektrony a skleněné čočky nahradily magnetické. Nejčastěji se pracuje s urychlovacím napětím v rozmezí 100-400 kV v případě transmisní elektronové mikroskopie a s napětím jen několik desítek kV v případě skenovací elektronové mikroskopie.<sup>47</sup> Elektronové dělo zajišťuje koherentní svazek elektronů, ideálně vycházející z bodového zdroje, kterým je rozžhavené wolframové vlákno, hrot hexaboridu lanthanu (LaB<sub>6</sub>) nebo autoemisní elektronové trysky (FEG).<sup>48</sup> Aby elektronový svazek zůstal koherentní a nedošlo ke kontaminaci vzorku, musí celý systém pracovat ve vakuu. Elektrony jsou následně urychleny na 2-3 magnetické čočky, což jsou cívky, které mají měděné závity a železné pólové nástavce.<sup>47</sup> Cívkami protéká proud, který určuje jejich zvětšení.<sup>49</sup> Urychlené elektrony různě interagují se vzorkem (viz obr.4).





**Obr. 4:** signály vznikající po interakci elektronového svazku se vzorkem.

Vznikající signály se využívají při pozorování vzorku v procházejícím proudu elektronů (TEM), v případě sekundárních elektronů ke sledování povrchu vzorku a na základě analýzy dalších signálů je možné i určení chemického složení.<sup>47</sup> Fluorescenční stínítko pokryté ZnS převádí intenzitu elektronů na intenzitu světla. Obraz je zaznamenán CCD kamerou, digitálními deskami nebo na speciální fotografické filmy.<sup>47</sup>

Správná příprava vzorku je nedílnou součástí analýzy. Vzorek je nanesen na sítku, která je často měděná s průměrem 3 mm a překrytá uhlíkovou nebo polymerní fólií. Vzorek musí mít vhodnou tloušťku pro průchod elektronů.<sup>49</sup> Podle povahy objektu, který bude pozorován, se liší příprava vzorku. Krystalické materiály musí být řezány, ztenčovány a leštěny. Biologické preparáty je nutno fixovat, odvodnit a zalít do pryskyřice, a nakonec nakrájet na ultratenké řezy. U disperzí nanočástic stačí připravený koloid nakápnout na sítku a nechat usušit.<sup>47</sup>

### 3. Experimentální část

#### 3.1. Chemikálie

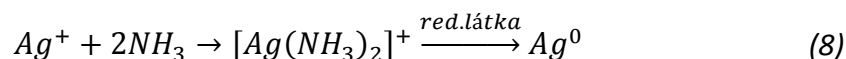
Na přípravu koloidní disperze stříbra byl použit dusičnan stříbrný  $\text{AgNO}_3$  (p.a., Fagron), amoniak  $\text{NH}_3$  (p.a., 28-30% vodný roztok, Sigma-Aldrich), ethanol (95%, denaturovaný methanolem, Tereos TTD, a. s.), ethylenglykol (p.a., Lach:NER). Jako redukční činidlo byl v této práci používán tetrahydridoboritan sodný  $\text{Na[BH}_4\text{]}$  ( $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich). Jako stabilizační činidla byly zvoleny Tween 80 (p.a., Sigma-Aldrich) a kyselina polyakrylová (PAA) o molekulové hmotnosti 1200 (p.a., 45% vodný roztok, Sigma-Aldrich). Pro povrchovou úpravu sítěk pro TEM byl použit roztok poly(diallyldimethylammonium) chloridu (PDDA) o molekulové hmotnosti 200 000-350 000 (p.a., 20% vodný roztok, Sigma-Aldrich). Pro studium katalytické aktivity byla použita methylenová modř (p.a., Lach:NER). Ve všech experimentech byla použita demineralizovaná voda z přístroje AQUAL 29 firmy MERCI o čistotě  $0,05 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

#### 3.2. Přístroje a zařízení

UV-VIS spektra uváděná dále v této práci byla zaznamenána na UV-VIS spektrofotometru Specord S 600 (Analytik Jena AG, Německo). UV-VIS spektrofotometr byl také využit ke sledování stability nanočástic stříbra a pro kinetická měření. Velikost a polydisperzita studovaných nanočástic byla měřena na přístroji Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK), který pracuje na principu dynamického rozptylu světla. Snímky nanočástic stříbra byly pořízeny transmisním elektronovým mikroskopem JEM 2010 (Jeol, Japonsko). Všechny snímky pořídil doc. RNDr. Aleš Panáček, PhD. Prvotní screeningová příprava nanočástic stříbra byla provedena v kryotermostatu Julabo, další experimenty byly provedeny v oběhovém termostatu MaXircu CL-8 (Witeg, Německo). Přidávání redukčního činidla bylo zajištěno infuzní pumpou Multi-Syringe Pumps (Labicom, USA).

### 3.3. Příprava nanočástic stříbra za snížené teploty

Koloidní disperze nanočástic stříbra byla připravena za stálého míchání redukcí diamminstříbrného komplexu podle rovnice 8. Jako redukující látka byl v této práci použit tetrahydridoboritan sodný.



Aby bylo možné připravovat koloidní disperzi za teplot nižších než 0 °C, bylo reakční prostředí tvořeno 50% (m/m) ethanolem nebo 60% (m/m) ethylenglykolem (ethan-1,2-diol). Příprava nanočástic stříbra byla provedena, za stálého míchání skleněným míchadlem, smícháním zásobních roztoků podle tabulky 1, které byly napipetovány do kádinky umístěné v kryostatu. Chemikálie byly přidávány v pořadí, ve kterém jsou uvedeny v tabulce.

**Tabulka 1:** objemy látek použitých pro přípravu nanočástic stříbra v 60% ethylenglykolu a v 50% ethanolu.

60% ethylenglykol	50% ethanol
• 5 ml AgNO <sub>3</sub> (5·10 <sup>-3</sup> mol·dm <sup>-3</sup> )	• 5 ml AgNO <sub>3</sub> (5·10 <sup>-3</sup> mol·dm <sup>-3</sup> )
• 5 ml NH <sub>3</sub> v ethylenglykolu (25·10 <sup>-3</sup> mol·dm <sup>-3</sup> )	• 5 ml NH <sub>3</sub> v ethanolu (25·10 <sup>-3</sup> mol·dm <sup>-3</sup> )
• 5 ml destilované vody	• 5,5 ml destilované vody
• 9,9 ml ethylenglykolu	• 9,6 ml ethanolu (95%)
• 1 ml NaBH <sub>4</sub> (5·10 <sup>-3</sup> mol·dm <sup>-3</sup> )	• 1 ml NaBH <sub>4</sub> (5·10 <sup>-3</sup> mol·dm <sup>-3</sup> )

Pro lepší stabilitu systému byly do roztoku před přidáním redukčního činidla přidány ještě polymerní nebo povrchově aktivní látky o různých koncentracích. Konkrétně byla přidávána kyselina polyakrylová (PAA) o molekulové hmotnosti 1200 o výsledné koncentraci 1% nebo 0,1% (m/m). Druhou povrchově aktivní látkou, která byla ke stabilizaci použita, byl Tween 80 o stejných koncentracích v systému jako v případě PAA. Koloidní disperze byly připravovány při různých teplotách v rozmezí od 5 °C do -30 °C. Po vytemperování roztoku na požadovanou teplotou byla přidána redukující látka. Bezbarvá disperze se rychle zbarvila na žluto-hnědou, s klesající teplotou se reakce zpomalovala. Vzniklý koloid byl míchán dalších 10 minut.

Po přípravě každé koloidní disperze bylo zaznamenáno UV-VIS spektrum, které bylo měřeno v plastové kyvetě, v rozsahu vlnových délek 300-800 nm. Vzorky připravené v ethylenglykolu byly před samotným měřením spekter 15krát naředěny destilovanou vodou. Disperze připravené v ethanolu byly ředěny 3krát až 5krát. V případě nanostříbra připraveném v ethanolu byly podložní sítky pro TEM ponořeny na minimálně 2 hodiny do 0,1% (m/m) roztoku PDDA. Následující den po této modifikaci TEM sítěk byl koloid nakápnut na sítku a vysušen.

### 3.4. Antimikrobiální aktivita

Testy antimikrobiální aktivity připravených koloidů byly provedeny na Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci paní Mgr. Renatou Večeřovou. Biologická aktivita byla posuzována standardní diluční metodou v Mueller-Hintonově bujónu. Po 24 hodinové kultivaci při 37 °C byla odečtena minimální inhibiční koncentrace (MIC). Testování antimikrobiální aktivity bylo sledováno na těchto kmenech bakterií: *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Escherichia coli* CCM 3954, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, *Pseudomonas aeruginosa* (532), *Staphylococcus epidermidis* 1 (879), *Staphylococcus epidermidis* 2 (901), *Staphylococcus aureus* (MRSA) (4591), *Enterococcus faecium* (VRE) (1324), *Klebsiella pneumoniae* (ESBL) (2486) a *Candida albicans*.

### 3.5. Katalytická aktivita

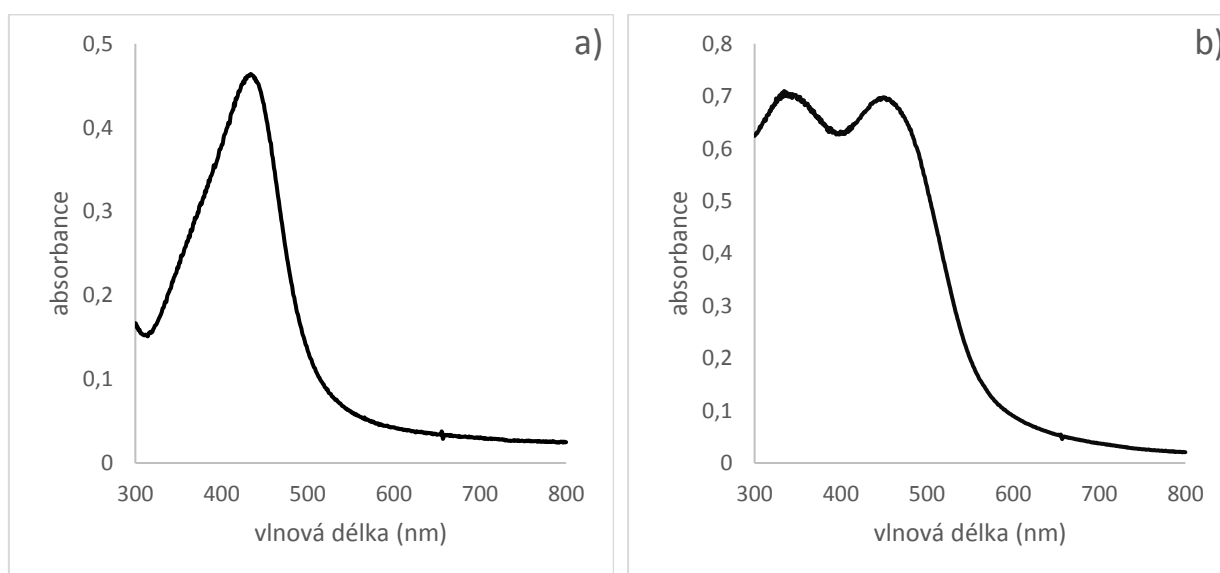
U některých připravených koloidů byla také testována jejich katalytická aktivita, která byla studována na modelové reakci založené na redukci methylenové modři tetrahydridoboritanem sodným. Měření byla provedena při laboratorní teplotě v plastové kyvetě. Do kyvety bylo postupně napipetováno 1 ml methylenové modři v amoniakálním pufru o pH=10 a koncentraci  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , 10  $\mu\text{l}$  koloidu o koncentraci  $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a 1 ml destilované vody. Měření bylo zahájeno s přidavkem 1 ml tetrahydridoboritanu sodného o koncentraci  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Rovněž byl proveden kontrolní experiment bez přítomnosti katalyzátoru.

## 4. Výsledky a diskuse

Hlavním studovaným tématem této bakalářské práce byl vliv nižších teplot na přípravu nanočástic stříbra v prostředích 60% ethylenglykolu a 50% ethanolu. Nanočástice byly připraveny redukcí tetrahydridoboritanem sodným. Práce směřovala ke zvolení nejlepšího systému, u kterého byla dále testována biologická a katalytická aktivita. Připravené koloidní systémy byly charakterizovány UV-VIS spektroskopií, metodou dynamického rozptylu světla (DLS) a potvrzeny snímky z transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

### 4.1. Použití látek zabraňujících agregaci systému

Nejprve byly připraveny disperzní systémy chlazené ledem bez použití stabilizačních látek, kdy bylo přidáno 5 ml  $1 \cdot 10^{-3}$  mol $\cdot$ dm $^{-3}$  NaBH $_4$ . V systému okamžitě došlo ke tvorbě velkých částic a jejich rychlé sedimentaci. Proto bylo nutné přidat vhodnou stabilizační látku, která by zabránila agregaci disperzní soustavy. Další experimenty byly proto realizovány s přidavkem kyseliny polyakrylové (o koncentraci 0,1% nebo 1%) nebo s neionickým surfaktantem TWEEN 80 (o koncentraci 0,1% nebo 1%), které byly již chlazeny v kryostat. Na základě spekter a lepší stability systémů bylo rozhodnuto, že se dále bude studovat systém 60% ethylenglykolu stabilizovaného 1% TWEEN 80 a systém 50% ethanolu s kyselinou polyakrylovou o výsledné koncentraci 0,1% v reakčním systému.



**Obr. 5:** UV-VIS spektrum koloidního systému chlazeného ledem a) připraveném v 60% ethylenglykolu a stabilizovaném 1% TWEEN 80 a b) připraveném v 50% ethanolu s 0,1% kyselinou polyakrylovou.

## 4.2. Úprava koncentrace redukčního činidla

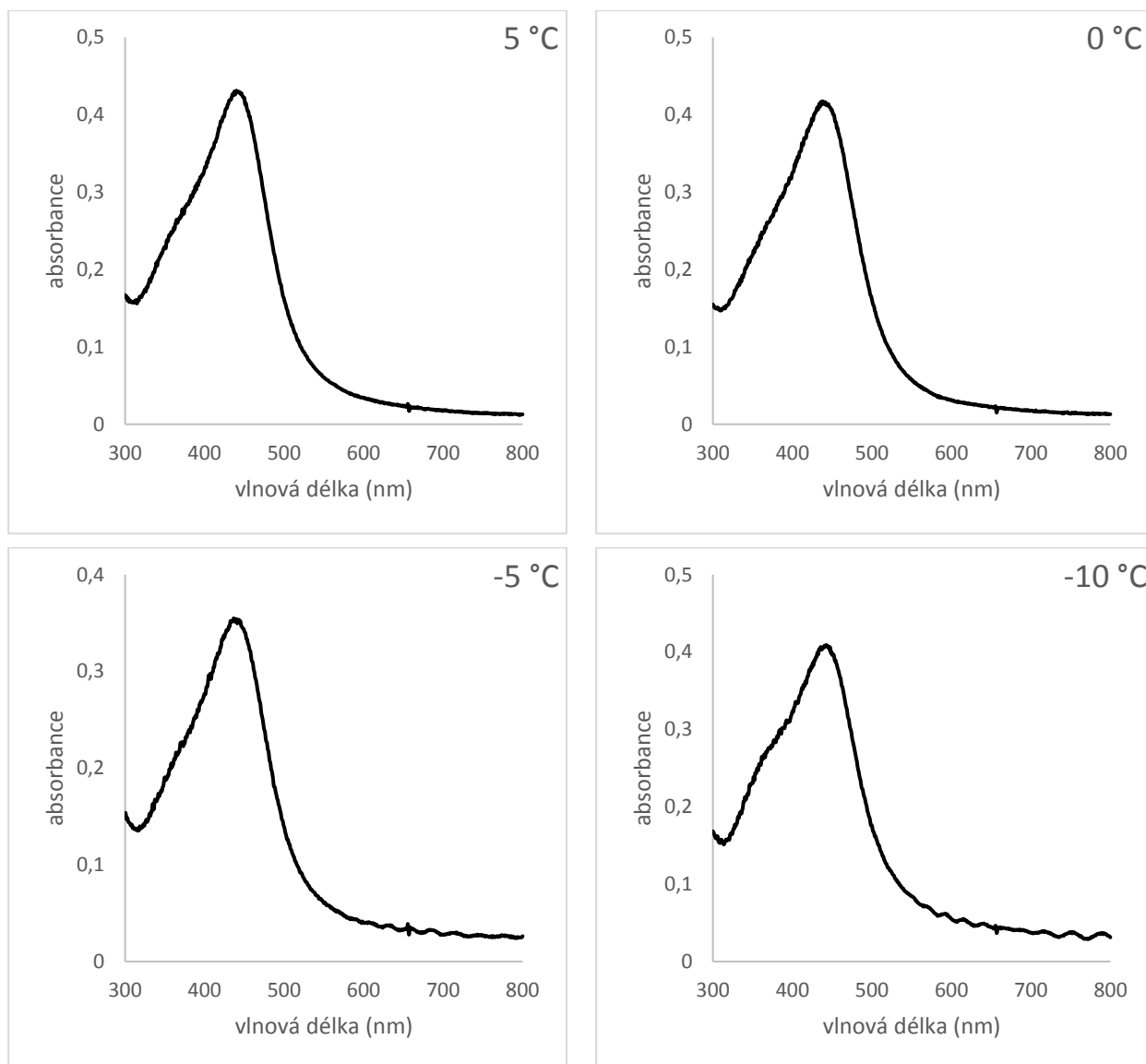
Rychlý přídavek 5 ml redukčního činidla do vytemperovaného roztoku nebyl příliš vhodný pro udržení požadované teploty, hlavně u nižších teplot. Proto došlo k navýšení koncentrace tetrahydridoboritanu sodného z  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  na  $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a zároveň snížení přidávaného objemu z 5 ml na pouze 1 ml. Touto změnou se navýšilo množství přidávané vody o 4 ml na 5 ml, respektive 5,5 ml pro systém 50% ethanolu. Rychlé přidání redukčního činidla vedlo v případě 60% ethylenglykolu ke tvorbě nanočástic s různou morfologií a vysokou polydisperzitou. Proto byl v dalších experimentech přidáván tetrahydridoboritan sodný po kapkách, konkrétně po dobu 5 minut rychlostí 0,2 ml/min.

## 4.3. Prostředí 60% (m/m) ethylenglykolu

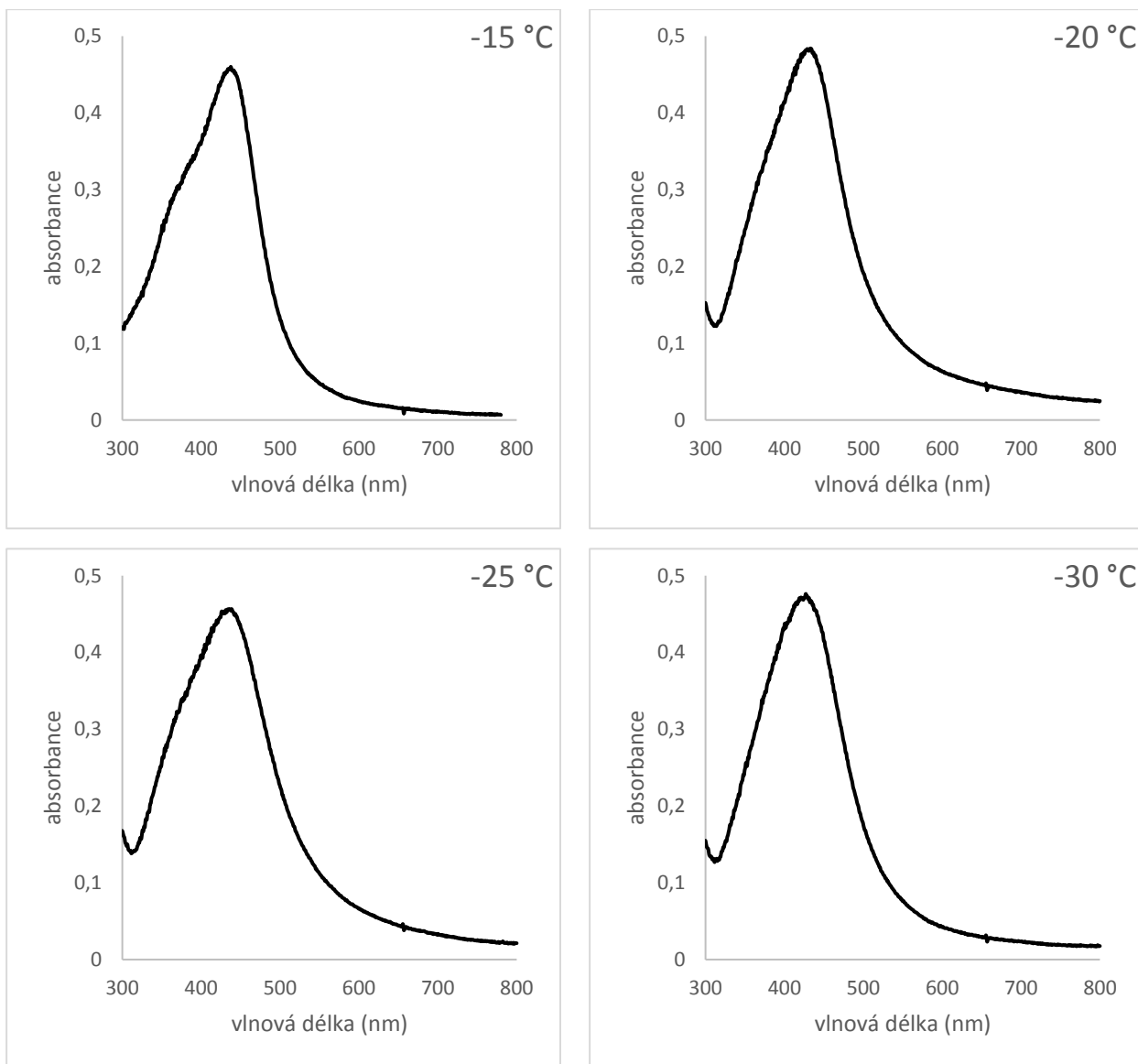
Nanočástice stříbra byly připraveny redukcí diaminstříbrného komplexu v prostředí 60% ethylenglykolu tetrahydridoboritanem sodným. U každého koloidu bylo zaznamenáno UV-VIS spektrum (obr. 6 a 7), které potvrdilo nanočásticový charakter disperze. Poloha absorpčního maxima se pohybovala v závislosti na způsobu přípravy od 427 do 443 nm. V rozmezí těchto vlnových délek dosahují maximální absorpce nanočástice stříbra, jejichž velikost se pohybuje v řádech několika desítek nanometrů. UV-VIS spektra naznačovala existenci více velikostních tříd (nejlépe patrné to je u koloidu připraveném při  $-10 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Podle výsledků z DLS byly v disperzi přítomny částice o velikosti do 10 nm, s výjimkou koloidu redukováném při  $-25 \text{ }^\circ\text{C}$  (viz tab. 2). Teprve snímky z elektronové mikroskopie (obr. 8) ukázaly pravou povahu částic, která se shodovala se zaznamenanými spektry. V systému se vyskytovaly jak menší částice s rozměrem okolo 15 nm, tak větší dosahující velikosti až 70 nm.

**Tabulka 2:** vliv teploty na velikost nanočástic stříbra a jejich polydisperzitu v systému 60% ethylenglykolu získaných metodou DLS a vlnové délky absorpčních maxim.

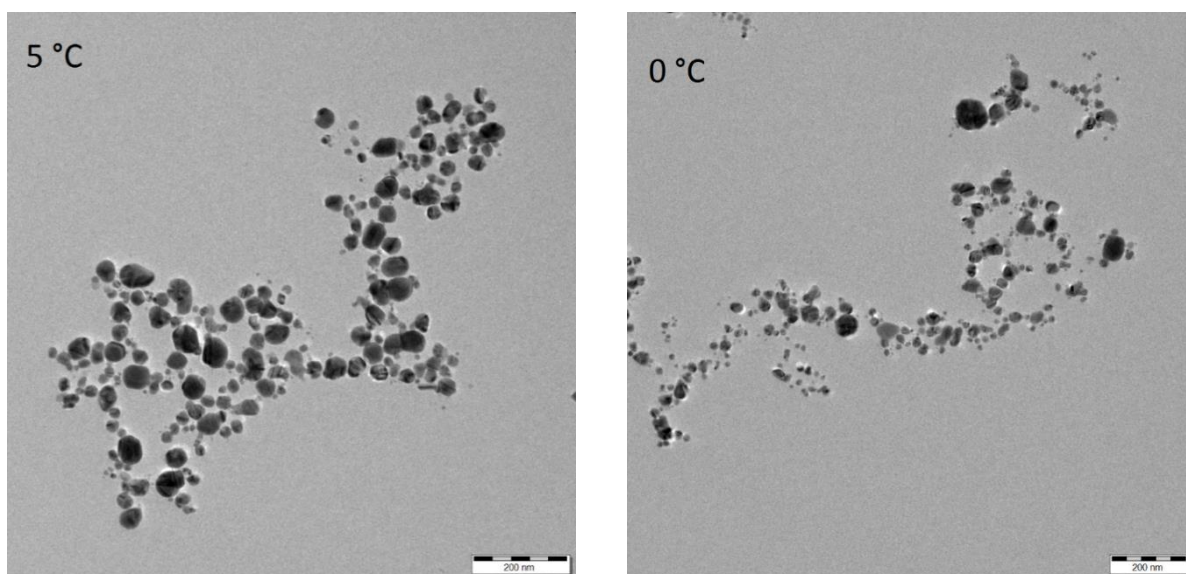
Teplota (°C)	DLS		UV-VIS
	Velikost částic (nm)	Polydisperzita	$\lambda_{\max}$ (nm)
5	7,16	0,661	440
0	10,26	0,903	438
-5	9,014	0,855	436,5
-10	6,166	0,906	443
-15	6,748	0,452	437,5
-20	4,963	0,765	433
-25	17,44	0,276	438,5
-30	5,932	0,605	427



**Obr. 6:** UV-VIS spektra AgNPs redukováných NaBH<sub>4</sub> v prostředí 60% ethylenglykolu při různých teplotách.



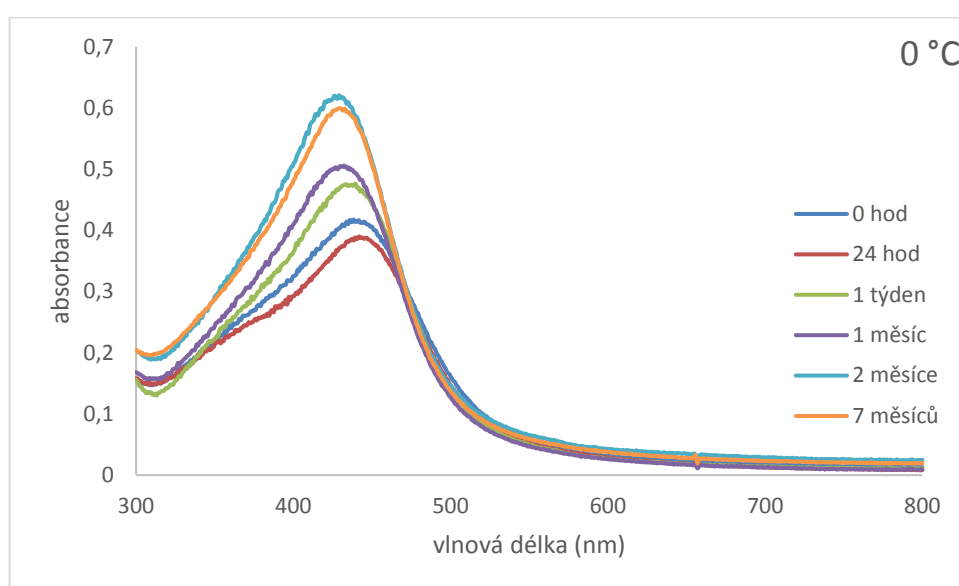
**Obř. 7:** UV-VIS spektra AgNPs redukováných NaBH<sub>4</sub> v 60% ethylglykolu při různých teplotách.



**Obř. 8:** TEM snimky nanočástic stříbra připravených v prostředí 60% ethylglykolu při různých teplotách (měřítka 200 nm).



Stabilita koloidních disperzí byla sledována zaznamenáváním UV-VIS spekter a měřením velikostí částic metodou DLS. Velikosti částic získané metodou DLS v čase se nijak výrazně neměnily. Změny byly pouze v jednotkách nanometrů. K výrazným změnám docházelo u UV-VIS spekter (obr. 9). Takto připravené disperze nejevily známky sedimentace ani po 7 měsících od přípravy. Barva koloidu se ale měnila z oranžovohnědé na jasně zlatou. Zajímavé je, že hodnoty absorbancí začaly narůstat a posouvaly se ke kratším vlnovým délkám, zároveň se absorpční pík stával symetričtější. Tento vývoj spekter v čase svědčí o rekrystalizaci disperze s výslednou užší velikostní distribucí. Pozitivní je fakt, že po rekrystalizaci se koloid dále nemění a je stálý minimálně po dobu dalších 5 měsíců.

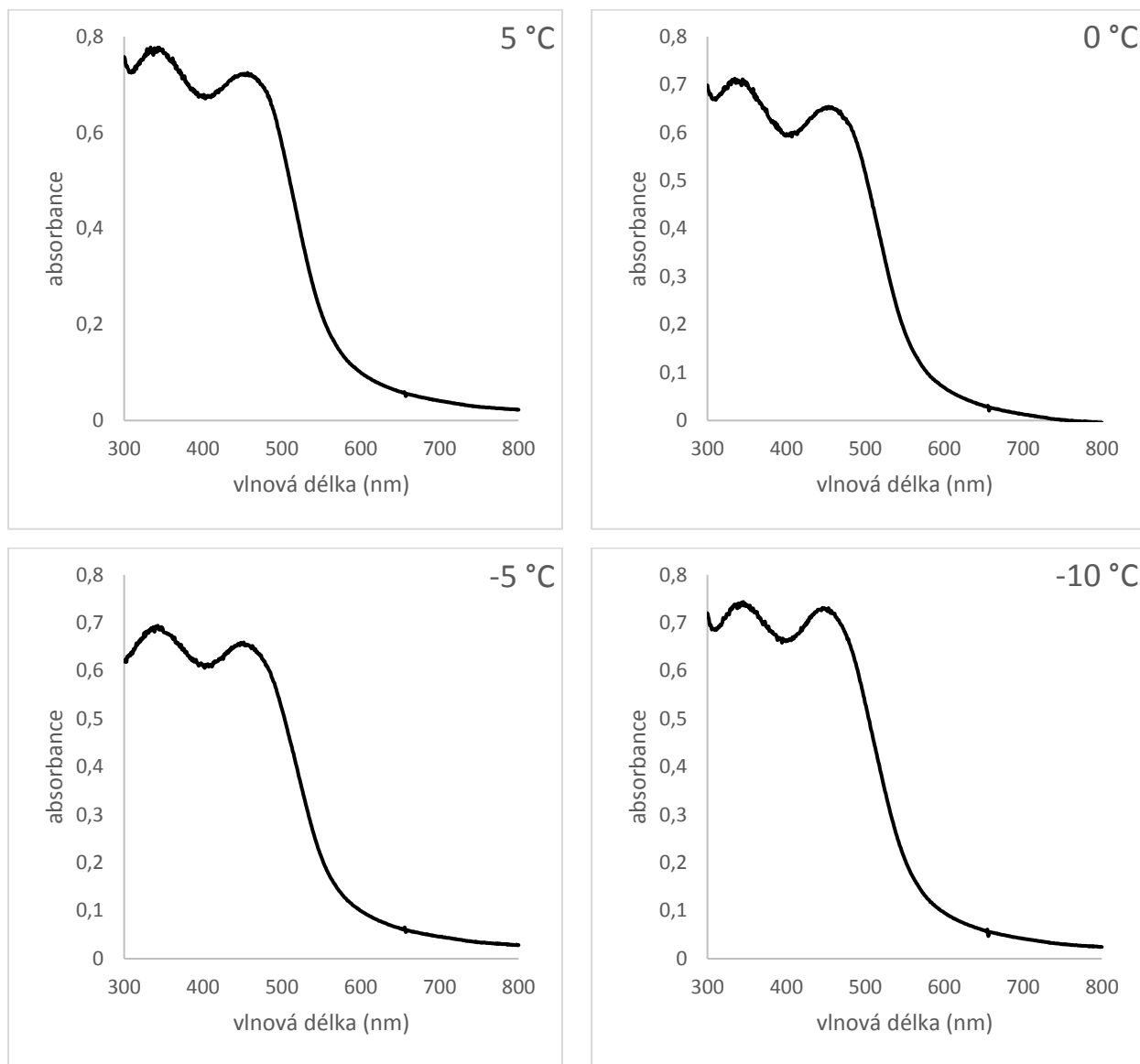


**Obr. 9:** UV-VIS spektra nanočástic stříbra v čase (redukováno tetrahydridboritanem sodným v 60% ethylenglykolu při teplotě 0 °C).

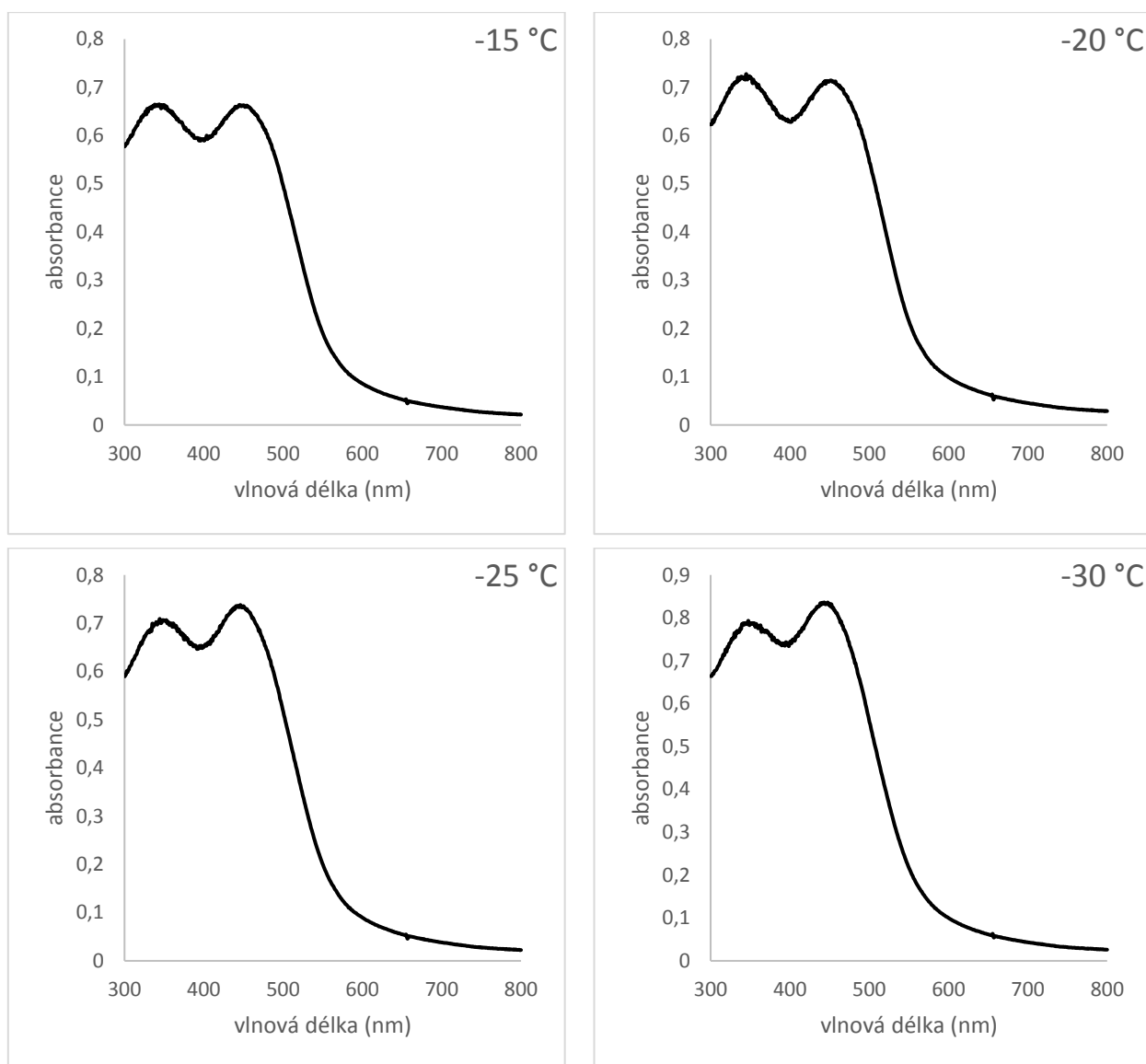
#### 4.4. Prostředí 50% (m/m) ethanolu

Nanočástice stříbra byly připraveny redukcí diaminstříbrného komplexu tetrahydridboritanem sodným v prostředí 50% ethanolu a stabilizovány 0,1% (m/m) kyselinou polyakrylovou o molekulové hmotnosti 1200. Byly zaznamenány UV-VIS spektra, která nevykazovala charakteristické absorpční maximum povrchového plasmonu nanočástic stříbra, ale dva málo rozlišené píky, jejichž absorpční maximum se pohybovalo u prvního píku kolem 340 nm a druhé maximum bylo okolo 450 nm (viz obr. 10 a 11). Zajímavý tvar spekter by mohl napovídat přítomnosti nejen sférických nanočástic s širokou velikostní distribucí. Tuto myšlenku vyvrátily snímky z elektronové mikroskopie. Bohužel ani na jejich základě

nebyl vysvětlen netypický tvar spekter. V připravených systémech byla studována velikost částic a jejich polydisperzita jak metodou DLS, tak na základě snímků z TEM (viz tab. 3, obr. 12 a 13).



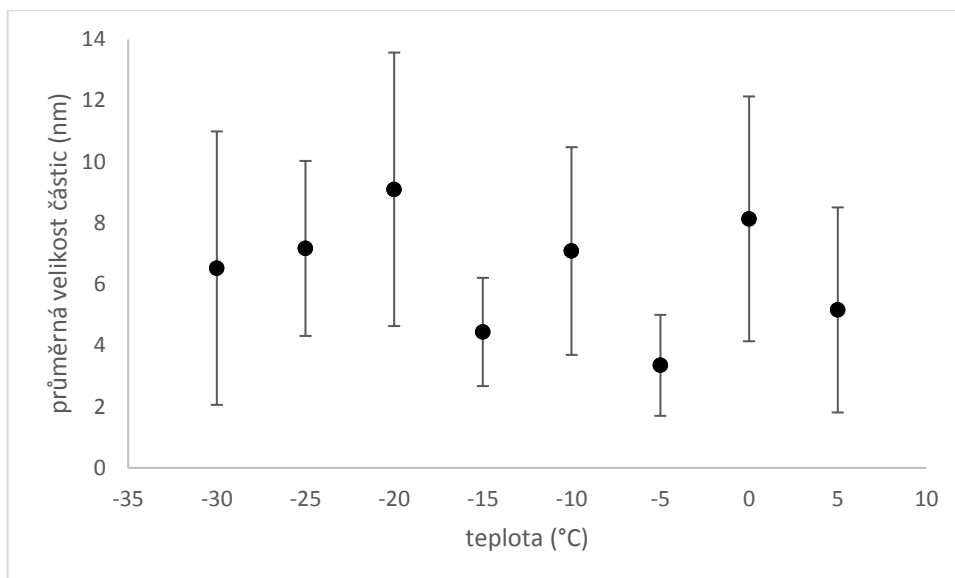
**Obr. 10:** UV-VIS spektra nanočástic stříbra připravených v 50% ethanolu při různých teplotách.



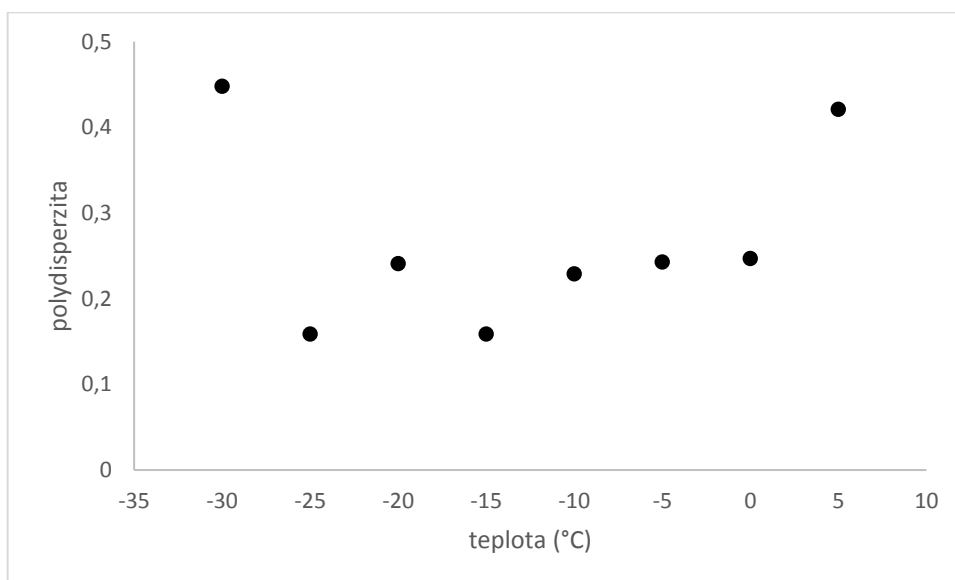
**Obr. 11:** UV-VIS spektra AgNPs připravených v 50 % lihu při různých teplotách.

**Tabulka 3:** velikosti nanočástic stříbra získaných z TEM a metodou DLS v závislosti na teplotě, absorpční maxima píků zaznamenaných UV-VIS spektroskopii.

Teplota (°C)	TEM		DLS		UV-VIS	
	Velikost částic (nm)	Polydisperzita	Velikost částic (nm)	Polydisperzita	$\lambda_{\max}$ (nm)	
5	5,2±3,4	0,428	80,86	0,252	333,5	456,5
0	8,1±4,0	0,244	58,20	0,145	334,5	453,5
-5	3,4±1,7	0,250	114,6	0,189	342,5	451,5
-10	7,1±3,4	0,229	69,54	0,038	345,5	446
-15	4,4±1,8	0,167	58,65	0,083	344	445
-20	9,1±4,5	0,245	72,10	0,266	345	452
-25	7,2±2,9	0,162	50,43	0,022	344,5	446
-30	6,5±4,5	0,479	62,09	0,047	347,5	443



**Obr. 12:** závislost velikosti nanočástic stříbra připravených v 50% ethanolu na teplotě.

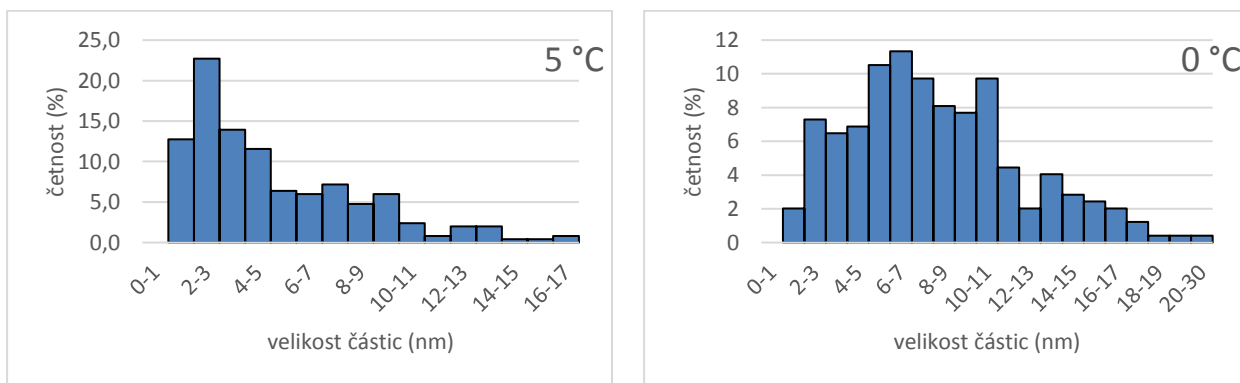


**Obr. 13:** závislost polydisperzity AgNPs redukováných v prostředí 50% ethanolu na teplotě.

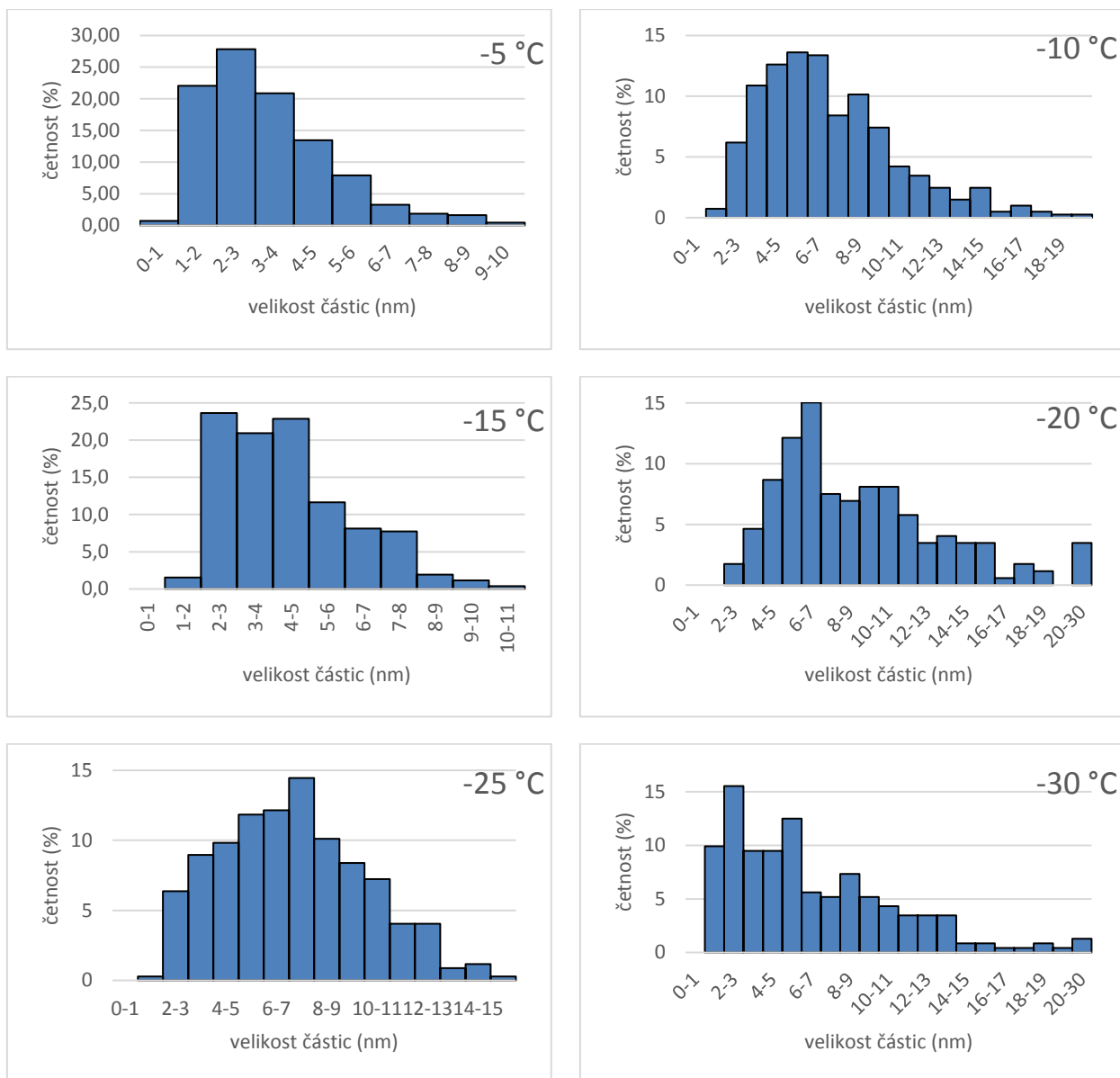
Velikost částic získaných metodou DLS se pohybovala v desítkách nanometrů, v polovině případů s nízkou hodnotou polydisperzity (teploty -10, -15, -25 a -30 °C). Tyto výsledky vyvrátily snímky z transmisní elektronové mikroskopie, které ukázaly velmi malé částice s průměrnou velikostí do 10 nm (viz tabulka 3). Polydisperzita koloidů byla vypočtena podle rovnice 9, kde  $\sigma$  představuje směrodatnou odchylku daného souboru a  $\bar{d}$  je aritmetický průměr velikosti částic. Zpracováním snímků z TEM (obr. 16, 17) byly získány velikostní distribuce částic, které jsou na obr. 14, 15.

$$PDI = \left(\frac{\sigma}{\bar{d}}\right)^2 \quad (9)$$

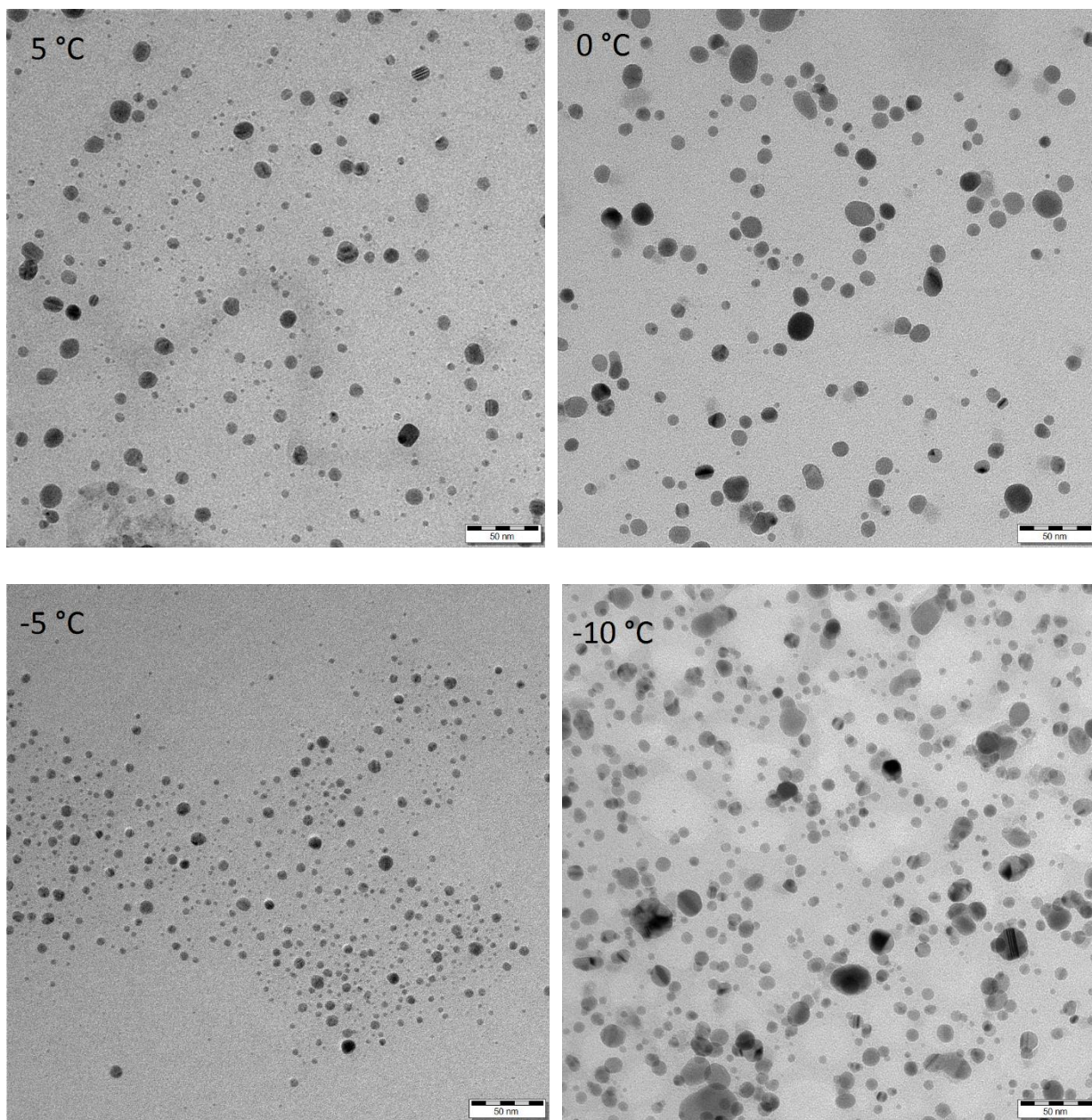
Při žádné teplotě se v disperzi neobjevily částice větší než 30 nm. Průměrná velikost se pohybovala v rozmezí 3,4–9,1 nm. Při teplotě 5 °C převažovaly v disperzi částice do 5 nm, menší podíl tvořily nanočástice s velikostí do 10 nm. Tento systém vykazoval druhou nejvyšší hodnotu polydisperzity. Při teplotě 0 °C vzrostlo v disperzi zastoupení větších částic do 10 nanometrů, čímž vzrostla i průměrná velikost na 8,1 nm. Polydisperzita systému se snížila téměř dvakrát. Další snížení teploty na -5 °C vedlo k vytvoření disperze s nejmenšími částicemi, jejichž průměrná velikost se pohybovala okolo 3,4±1,7 nm. Razantně se snížil podíl částic větších než 6 nm, který nedosahoval ani 8%. Při teplotě -10 °C klesla četnost nejmenších částic (do 3 nm) a opět narostl podíl větších částic (do 10 nm). Polydisperzity kolísaly mezi 0,2–0,25. Při teplotě -15 °C v disperzi existovaly převážně částice od 2 do 5 nm. Oproti teplotě -5 °C bylo výraznější zastoupení částic od 5 do 8 nm, což posunulo průměrnou velikost na 4,4±1,8 nm. Dalším snížením teploty na -20 °C bylo v systému zastoupeno největší množství částic v rozmezí 20–30 nm. Při této teplotě byly připraveny největší částice s průměrnou velikostí 9,1±4,5 nm. Teplota -25 °C vyústila k vyredukování částic od 2 do 10 nm s podobným zastoupením všech velikostních tříd. Oproti předchozí teplotě došlo ke snížení průměrné velikosti o 1,9 nm na 7,2±2,9 nm. Při této teplotě bylo dosaženo nejnižší hodnoty polydisperzity. Poslední studovanou teplotou bylo -30 °C. Velikostní distribuce by se dala v tomto případě rozdělit na tři velikostní frakce s podobným zastoupením jednotlivých nanometrových tříd. Nejvíce zastoupenou frakcí byla ta s částicemi od 1 do 6 nm. Zhruba 2,5krát méně byly zastoupeny částice v rozmezí 6–14 nm. Poslední frakci tvořily částice větší než 14 nm, jejichž zastoupení jednotlivých nanometrových tříd nepřesahovalo 1%.



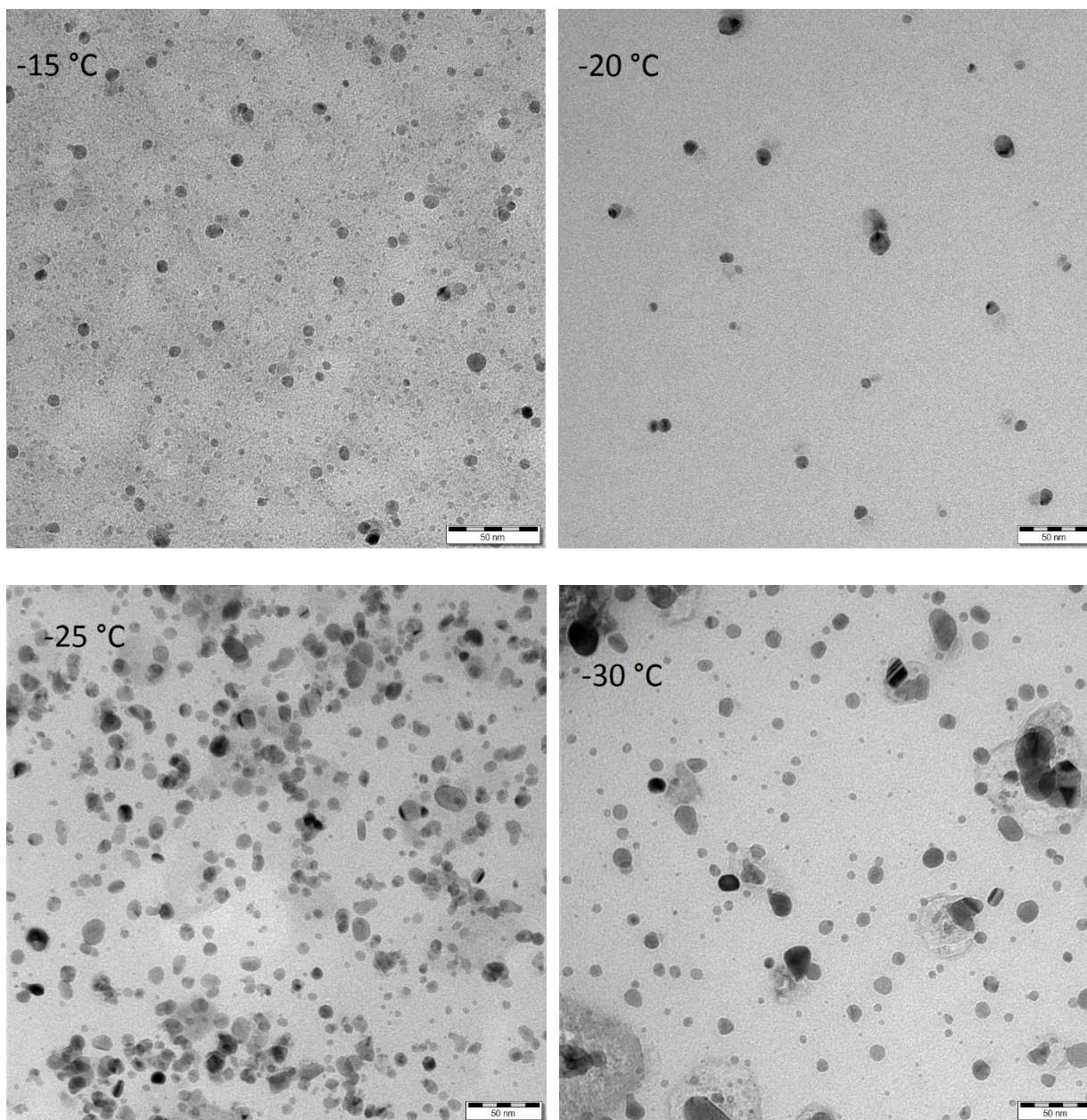
**Obr. 14:** velikostní distribuce AgNPs v 50% ethanolu při jednotlivých teplotách.



**Obr. 15:** velikostní distribuce AgNPs v 50% ethanolu při jednotlivých teplotách.



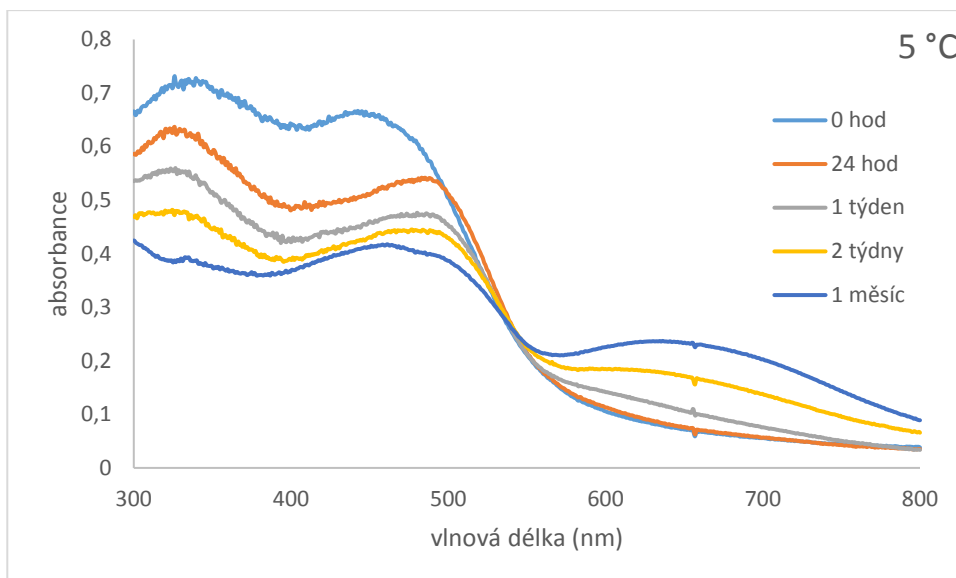
**Obr. 16:** TEM snímky AgNPs připravených v 50% ethanolu při různých teplotách (měřítko 50nm).



**Obr. 17:** TEM snímky AgNPs připravených v 50% ethanolu při různých teplotách (měřítko 50nm).

V další části výzkumu byla zaznamenávána UV-VIS spektra pro posouzení stability připravených koloidů. V tomto systému s ethanolem nebyla stabilita disperzí tak dobrá jako v případě 60% ethylenglykolu, což se částečně dalo očekávat i z důvodu nižší viskozity ethanolu. Ani přítomnost 0,1% PAA nepomohla disperzi stabilizovat na delší období. S časem disperze měnily barvu od zlatavé (v řádu dní) přes zelenohnědou (týdny) až na šedou (do 2 měsíců), kdy už byl na dně kádinky pozorován sediment. Ze spekter se časem ztrácel pík s maximy okolo 340 nm a pozvolna narůstala absorbance okolo 645 nm (viz obr. 18). Velikosti částic získaných metodou DLS v čase se výrazně snižovaly, v některých případech klesla velikost až o 50 nm a disperze se stávaly polydisperznější.





**Obr. 18:** UV-VIS spektra nanočástic stříbra v čase (redukováno tetrahydridoboritanem sodným v 50% ethanolu při teplotě 5 °C).

#### 4.4.1. Antimikrobiální aktivita

U všech disperzí připravených v ethanolu byla testována jejich antimikrobiální aktivita. Vzhledem k tomu, že byly disperze připravovány v ethanolu, musela být otestována také minimální inhibiční koncentrace pro 50% ethanol. U většiny kmenů bakterií ethanol neprokázal inhibici růstu. Ta se projevila jen u 4 kmenů, a to *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, *Pseudomonas aeruginosa* (532), *Klebsiella pneumoniae* (ESBL) (2486) a *Candida albicans*. V těchto případech vykazoval inhibici růstu ještě 25% ethanol. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) byla vypočtena podle rovnice 10. Hodnoty MIC vyjadřují minimální koncentraci nanostříbra, která při 24 hodinové kultivaci zabrání růstu bakterií. Ve většině případů vykazují disperze připravené při různých teplotách stejnou antimikrobiální aktivitu. Nejméně sjednoceny byly výsledky MIC pro bakterii *Escherichia coli* CCM 3954, kdy koloid připravený při -20 °C vykazoval nejnižší aktivitu. Z výsledků je patrné, že nanometrové rozdíly ve velikostech nanočástic přítomných v disperzi neovlivnily jejich antimikrobiální účinky.

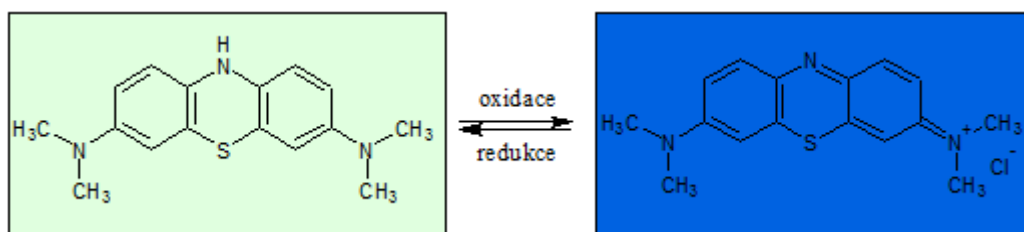
$$MIC = \frac{c_{Ag}}{\text{ředění}} \quad (10)$$

**Tabulka 4:** minimální inhibiční koncentrace AgNPs připravovaných v 50% ethanolu při různých teplotách.

	MIC (mg/l)							
	5 °C	0 °C	-5 °C	-10 °C	-15 °C	-20 °C	-25 °C	-30 °C
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224	33,7	33,7	33,7	33,7	67,4	33,7	33,7	33,7
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 3953	33,7	16,9	33,7	16,9	16,9	16,9	33,7	16,9
<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	4,2	8,4	4,2	4,2	8,4	16,9	4,2	8,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (532)	8,4	8,4	8,4	8,4	16,9	8,4	8,4	8,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1 (879)	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 2 (901)	16,9	16,9	16,9	8,4	16,9	16,9	16,9	16,9
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (4591)	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE) (1324)	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	33,7	16,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL) (2486)	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9
<i>Candida albicans</i>	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7	33,7

#### 4.4.1. Katalytická aktivita

Jako poslední byla studována katalytická aktivita připravených nanočástic stříbra. V tomto případě nebyly experimenty provedeny pro všechny připravené nanočástice, ale pouze pro koloidy připravené při -5 °C, -15 °C a -25 °C. Byly vybrány právě tyto disperze, protože u těchto teplot je viditelná závislost, kdy se snižující se teplotou roste velikost částic. Katalytická aktivita byla sledována na redukci thiazinového barviva methylenové modři tetrahydridoboritanem sodným, kdy modrá oxidovaná forma byla redukována na bezbarvou (obr. 19). Absorpční maximum methylenové modři bylo sledováno při 664 nm.



**Obr. 19:** redukovaná a oxidovaná forma methylenové modři.

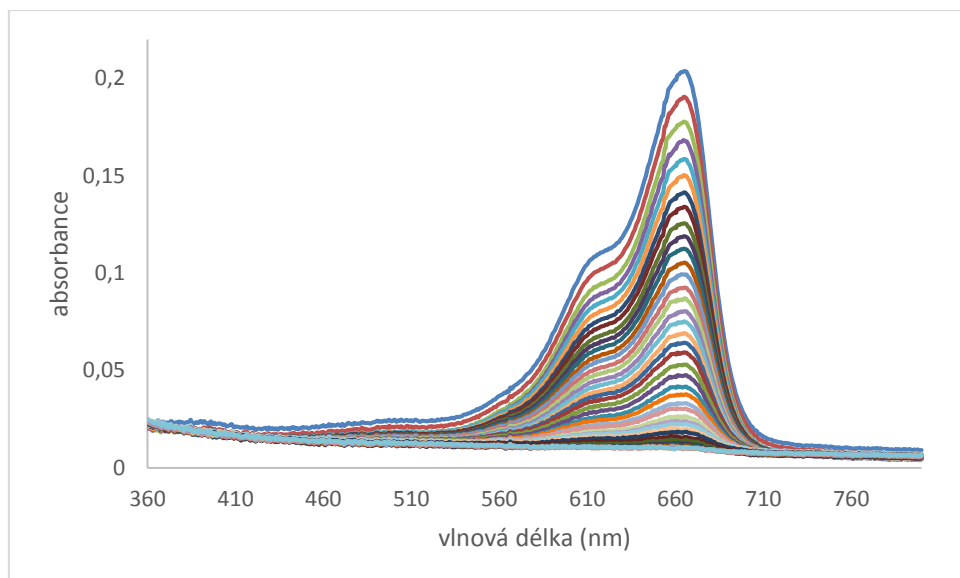
Za přítomnosti katalyzátoru došlo k velmi rychlé redukci (viz obr. 20), kdy absorbance v řádu několika sekund klesla k nulovým hodnotám. Z klesajících hodnot absorbancí získaných ve studovaném čase byla vypočtena aktuální koncentrace methylenové modři podle Lambert-Beerova zákona. Vynesením závislosti logaritmu koncentrace na čase byla získána kinetická křivka, která byla vyhodnocena podle kinetiky prvního řádu. Z rovnice lineární regrese (11) byla odečtena rychlostní konstanta reakce, která je rovna směrnici přímky. V systému neobsahujícím nanočástice stříbra rovněž došlo k redukci, ale zdaleka ne v tak rychlém čase. Ve sledovaném časovém intervalu téměř nedocházelo ke změně absorbance v experimentech provedených bez přítomnosti katalyzátoru.

$$\ln c_A = \ln c_0 - kt \quad (11)$$

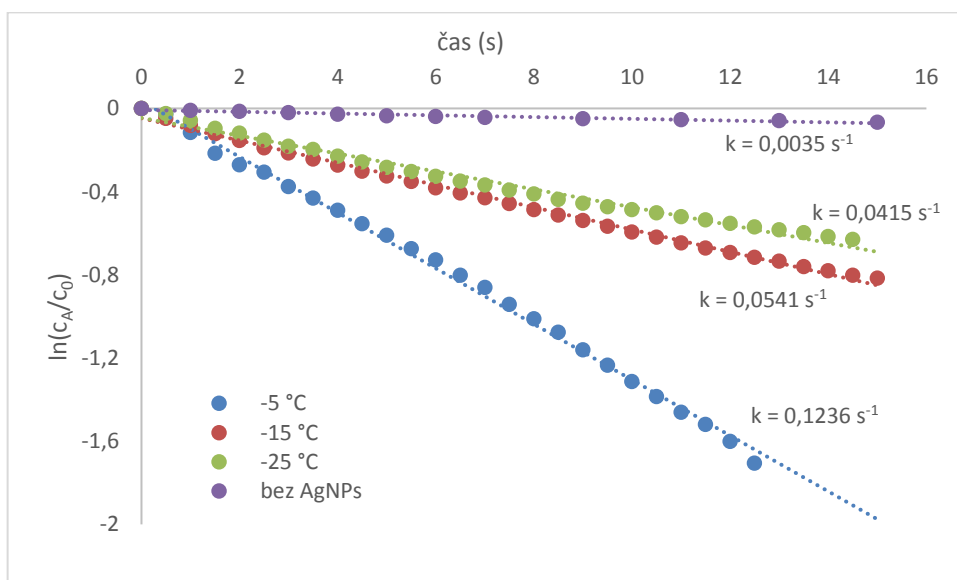
Dosažené výsledky jsou shrnuty v tabulce 5. Hodnoty rychlostních konstant uvedené v tabulce jsou průměrem ze tří měření. Rychlostní konstanta odráží katalytickou aktivitu studovaných nanočástic, je úměrná rychlosti reakce, vyšší hodnoty znamenají lepší katalytickou aktivitu studovaných nanočástic. Z tabulky vyplývá, že jasně nejlepšími katalyzátory jsou nanočástice stříbra připravené při teplotě  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  s rychlostní konstantou  $0,124\text{ s}^{-1}$ . Jak rostl průměr nanočástic se snižující se teplotou, klesala také rychlostní konstanta (obr. 21). Disperzní systém připravený při  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  obsahoval nejmenší nanočástice s největší plochou povrchu. Proto mají určitý potenciál stát se velmi dobrými katalyzátory.

**Tabulka 5:** rychlostní konstanty studovaných koloidů.

Teplota	Průměr NPs (nm)	k (s <sup>-1</sup> )
-5 °C	3,35	0,1236
-15 °C	4,44	0,0541
-25 °C	7,15	0,0415
bez AgNPs	-	0,0035



**Obr. 20:** graf časové závislosti absorbance na vlnové délce pro redukci methylenové modři katalyzované AgNPs připravenými při -5 °C.



**Obr. 21:** kinetické křivky redukce methylenové modři katalyzované nanočásticemi stříbra připravených při různých teplotách.

## 5. Závěr

V této bakalářské práci byl studován vliv teplot nižších než 0 °C na velikost a polydisperzitu nanočástic stříbra, které byly připravovány redukcí diaminstříbrného komplexu tetrahydridoboritanem sodným. Příprava nanočástic byla provedena v prostředí 60% (m/m) ethylenglykolu a v 50% (m/m) ethanolu. U obou použitých rozpouštědel musely být přidány stabilizační látky, aby nedocházelo k agregaci vznikajících nanočástic stříbra. Základní vlastnosti připravených nanočástic byly určovány na základě UV-VIS spektroskopie, metodou dynamického rozptylu světla (DLS) a pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

Výsledky ukázaly, že v prostředí 60% ethylenglykolu se v disperzích formovaly dvě velikostní třídy nanočástic, kdy první obsahovala částice o rozměrech v jednotkách nanometrů a ve druhé třídě se vyskytovaly částice o rozměrech několika desítek nanometrů. Kladně lze hodnotit stabilitu disperzí. Po přípravě byl systém stabilní bez významné změny UV-VIS spekter indikující agregaci nanočástic minimálně dalších 7 měsíců.

Lepších výsledků z hlediska částicových charakteristik připravených nanočástic stříbra bylo dosaženo v případě použití 50% ethanolu. U všech studovaných teplot nepřesahovala velikost částic 30 nm. Nejmenší částice byly připraveny při teplotě -5 °C. Průměrná velikost byla  $3,4 \pm 1,7$  nm. Naopak největší částice byly připraveny při -20 °C s průměrnou velikostí  $9,1 \pm 4,5$  nm. Zajímavý trend růstu velikostí nanočástic s klesající teplotou byl pozorován pro teploty -5, -15 a -25 °C. Koloidy připravené v prostředí 50% ethanolu bohužel neoplývaly velkou stabilitou. Disperze v čase rychle agregovaly, již následující den došlo k výraznému poklesu absorbance, která v čase dále klesala.

U koloidů připravených v ethanolu byla dále testována jejich antimikrobiální aktivita. Katalytická aktivita byla studována pouze pro nanočástice připravené při třech teplotách, kdy s klesající teplotou rostla jednoznačně velikost částic. Nanočástice stříbra připravené při teplotě -5 °C (3,4 nm) měly téměř 3x vyšší katalytickou aktivitu než nanočástice připravené při -25 °C (9,1 nm), což jednoznačně souvisí s větším povrchem menších nanočástic při stejném obsahu stříbra v katalytickém systému.

## 6. Summary

In this bachelor thesis, the influence of temperature (lower than 0 °C) on size and polydispersity of silver nanoparticles was studied. Silver nanoparticles were prepared by reduction of diammine silver complex by sodium borohydride. The preparation was carried out in 60% (w/w) ethylene glycol or 50% (w/w) ethanol. Stabilisation agents must be added to both solvents to prevent aggregation. The basic properties of silver nanoparticles were determined by UV-Vis absorption spectrophotometry, dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM).

The results showed that two size classes of nanoparticles were forming in 60% ethylene glycol, particles in nanometer size were in the first class and particles in tens of nanometers in the second. The stability of the dispersions could be positively evaluated. The dispersions were stable for at least seven months without significant changes in UV-Vis spectra.

Better results in terms of particle characteristics of the prepared silver nanoparticles were achieved when 50% ethanol was used. At all temperatures studied, the size of the particles did not exceed 30 nm. The smallest nanoparticles were prepared at -5 °C with average particle size  $3,4 \pm 1,7$  nm. On the other hand, the biggest particles were prepared at -20 °C with the average particle size  $9,1 \pm 4,5$  nm. An interesting growth trend of particle size with decreasing temperature was observed for temperatures -5, -15 and -25 °C. The colloids prepared in 50% solution of ethanol did not reach a good stability. The dispersions quickly aggregated.

The biological and catalytic activity were tested. Catalytic activity was studied for nanoparticles prepared only at three temperatures when with decreasing temperature the average particles size increased. Silver nanoparticles prepared at -5 °C (3,4 nm) had almost three times higher rate constant than those prepared at -25 °C (9,1 nm). This is unambiguously related to the larger surface of smaller nanoparticles in the same silver content in the catalytic system.

## 7. Reference

1. Bartovská, L.; Šišková, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*; Vyd. 5., přeprac.; Vysoká škola chemicko-technologická: Praha, 2005.
2. Sotiriou, G. A.; Pratsinis, S. E. Engineering Nanosilver as an Antibacterial, Biosensor and Bioimaging Material. *Current Opinion in Chemical Engineering* **2011**, *1*, 3-10.
3. Panáček, A.; Pucek, R.; Hrbáč, J.; Nevečná, T.; Šteffková, J.; Zbořil, R.; Kvítek, L. Polyacrylate-Assisted Size Control of Silver Nanoparticles and Their Catalytic Activity. *Chemistry of Materials* **2014**, *26*, 1332-1339.
4. Le Ru, E. C.; Blackie, E.; Meyer, M.; Etchegoin, P. G. Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A Comprehensive Study. *Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111*, 13794-13803.
5. Panáček, A.; Kvítek, L.; Pucek, R.; Kolář, M.; Večeřová, R.; Pizúrová, N.; Sharma, V. K.; Nevečná, T.; Zbořil, R. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 16248-16253.
6. Pastoriza-Santos, I.; Liz-Marzán, L. M. Formation and Stabilization of Silver Nanoparticles Through Reduction by *N,N*-Dimethylformamide. *Langmuir* **1999**, *15*, 948-951.
7. Park, H. -S.; Park, H. -S.; Gong, M. -S. Preparation of Silver Nanocolloids Using Silver Alkylcarbamate Complex in Organic Medium with PVP Stabilizer. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2010**, *31*, 2575-2580.
8. Gorup, L. F.; Longo, E.; Leite, E. R.; Camargo, E. R. Moderating Effect of Ammonia on Particle Growth and Stability of Quasi-Monodisperse Silver Nanoparticles Synthesized by the Turkevich Method. *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, *360*, 355-358.
9. Siekkinen, A. R.; McLellan, J. M.; Chen, J.; Xia, Y. Rapid Synthesis of Small Silver Nanocubes by Mediating Polyol Reduction with a Trace Amount of Sodium Sulfide or Sodium Hydrosulfide. *Chemical Physics Letters* **2006**, *432*, 491-496.
10. Van Hyning, D. L.; Zukoski, C. F. Formation Mechanisms and Aggregation Behavior of Borohydride Reduced Silver Particles. *Langmuir* **1998**, *14*, 7034-7046.
11. Popa, M.; Pradell, T.; Crespo, D.; Calderón-Moreno, J. M. Stable Silver Colloidal Dispersions Using Short Chain Polyethylene Glycol. *Colloids and Surfaces A*:

- Physicochemical and Engineering Aspects* **2007**, *303*, 184-190.
12. Yin, Y.; Li, Z. -Y.; Zhong, Z.; Gates, B.; Xia, Y.; Venkateswaran, S. Synthesis and Characterization of Stable Aqueous Dispersions of Silver Nanoparticles Through the Tollens Process. *Journal of Materials Chemistry* **2002**, *12*, 522-527.
  13. Tartaj, P.; Morales, M. P.; Gonzalez-Carreño, T.; Veintemillas-Verdaguer, S.; Serna, C. J. The Iron Oxides Strike Back: from Biomedical Applications to Energy Storage Devices and Photoelectrochemical Water Splitting. *Advanced Materials* **2011**, *23*, 5243-5249.
  14. Sardar, R.; Funston, A. M.; Mulvaney, P.; Murray, R. W. Gold Nanoparticles: Past, Present, and Future. *Langmuir* **2009**, *25*, 13840-13851.
  15. Jurgons, R.; Seliger, C.; Hilpert, A.; Trahms, L.; Odenbach, S.; Alexiou, C. Drug Loaded Magnetic Nanoparticles for Cancer Therapy. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2006**, *18*, S2893-S2902.
  16. Gonçalves, J. R. The Soil and Groundwater Remediation with Zero Valent Iron Nanoparticles. *Procedia Engineering* **2016**, *143*, 1268-1275.
  17. Kvítek, L.; Panáček, A. *Základy koloidní chemie*; Univerzita Palackého: Olomouc, 2007.
  18. Ščukin, E. D.; Percov, A. V.; Amelinová, E. A. *Koloidní chemie*; Academia: Praha, 1990.
  19. Novák, J. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*; Vydavatelství VŠCHT: Praha, 2008.
  20. Joshi, M.; Bhattacharyya, A.; Ali, W. Characterization Techniques for Nanotechnology Applications in Textiles. *Indian Journal of Fibre & Textile Research* **2008**, *33*, 304-317.
  21. Pouchlý, J. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*; Vyd. 3.; Vydavatelství VŠCHT: Praha, 2008.
  22. Zeta potenciál <http://www.xray.cz/kfkl-osa/eng/zetasizer/zeta.htm> (accessed Jan.23, 2017).
  23. Soukupová, J.; Kvítek, L.; Panáček, A.; Nevěčná, T.; Zbořil, R. Comprehensive Study on Surfactant Role on Silver Nanoparticles (NPs) Prepared via Modified Tollens Process. *Materials Chemistry and Physics* **2008**, *111*, 77-81.
  24. ProcProto.cz <http://procproto.cz/historie/1600-let-stary-lykurguv-pohar-dokazuje-ze-stari-rimane-umeli-pouzivat-nanotechnologie/> (accessed Apr.24, 2017).
  25. Nedderson, J.; Chumanov, G.; Cotton, T. M. Laser Ablation of Metals: a New Method for Preparing SERS Active Colloids. *Applied Spectroscopy* **1993**, *47*, 1959-1964.
  26. Amendola, V.; Polizzi, S.; Meneghetti, M. Free Silver Nanoparticles Synthesized by



- Laser Ablation in Organic Solvents and Their Easy Functionalization. *Langmuir* **2007**, *23*, 6766–6770.
27. Gutierrez, M.; Henglein, A. Formation of Colloidal Silver by "Push-Pull" Reduction of Ag<sup>+</sup>. *The Journal of Physical Chemistry* **1993**, *97*, 11368-11370.
  28. Prucek, R.; Kvítek, L.; Hrbáč, J. Silver Colloids - Methods of Preparation and Utilization. *Acta UPOL Chemica* **2004**, *43*, 59-67.
  29. Henglein, A. Colloidal Silver Nanoparticles: Photochemical Preparation and Interaction with O<sub>2</sub>, CCl<sub>4</sub>, and Some Metal Ions. *Chemistry of Materials* **1998**, *10*, 444–450.
  30. Creighton, J. A.; Blatchford, C. G.; Albrecht, M. G. Plasma Resonance Enhancement of Raman Scattering by Pyridine Adsorbed on Silver or Gold Sol Particles of Size Comparable to the Excitation Wavelength. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2* **1979**, *75*, 790-798.
  31. Lee, P. C.; Meisel, D. Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols. *The Journal of Physical Chemistry* **1982**, *86*, 3391-3395.
  32. Liz-Marzán, L. M.; Lado-Touriño, I. Reduction and Stabilization of Silver Nanoparticles in Ethanol by Nonionic Surfactants. *Langmuir* **1996**, *12*, 3585-3589.
  33. Zeiri, L.; Efrima, S. Studies of Silver Organosols: Preparation, Characterization, and Cyanide-Induced Aggregation. *The Journal of Physical Chemistry* **1992**, *96*, 5908-5917.
  34. Glushko, V.; Blokhina, L.; Sadovskaya, N.; Kozhukhov, V. Nonaqueous Preparation of Stable Silver Nanoparticles Dispersions from Organic Sulfonic Acids. *Oriental Journal of Chemistry* **2016**, *32*, 789-797.
  35. Rai, M.; Yadav, A.; Gade, A. Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials. *Biotechnology Advances* **2009**, *27*, 76-83.
  36. Guzman, M.; Dille, J.; Godet, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* **2012**, *8*, 37-45.
  37. Sondi, I.; Salopek-Sondi, B. Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agent: a Case Study on E. Coli as a Model for Gram-Negative Bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, *275*, 177-182.
  38. Kim, J. S.; Kuk, E.; Yu, K. N.; Kim, J. -H.; Park, S. J.; Lee, H. J.; Kim, S. H.; Park, Y. K.; Park, Y. H.; Hwang, C. -Y.; Kim, Y.-K.; Lee, Y.-S.; Jeong, D. H.; Cho, M.-H. Antimicrobial Effects

- of Silver Nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* **2007**, *3*, 95-101.
39. Morones, J. R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J. B.; Ramírez, J. T.; Yacaman, M. J. The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles. *Nanotechnology* **2005**, *16*, 2346-2353.
  40. Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J. Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode. *Chemical Physics Letters* **1974**, *26*, 163-166.
  41. Suchomel, P.; Panáček, A.; Pruček, R.; Zbořil, R.; Kvítek, L. *Synthesis of Small Silver Nanoparticles and Their Catalytic Activity in 4-Nitrophenol Reduction*; Nanocon: Brno, 2013.
  42. Xu, R.; Wang, D.; Zhang, J.; Li, Y. Shape-Dependent Catalytic Activity of Silver Nanoparticles for the Oxidation of Styrene. *Chemistry – An Asian Journal* **2006**, *1*, 888-893.
  43. Pastoriza-Santos, I.; Liz-Marzán, L. M. Colloidal Silver Nanoplates. State of the Art and Future Challenges. *Journal of Materials Chemistry* **2008**, *18*, 1724-1737.
  44. Mock, J. J.; Barbic, M.; Smith, D. R.; Schultz, D. A.; Schultz, S. Shape Effects in Plasmon Resonance of Individual Colloidal Silver Nanoparticles. *The Journal of Chemical Physics* **2002**, *116*, 6755-6759.
  45. Size theory <https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/DLS%20measurement%20principles.pdf> (accessed Feb.18, 2017).
  46. Comparison of Particle Sizing Methods <http://www.cpsinstruments.eu/pdf/Compare%20Sizing%20Methods.pdf> (accessed Feb.18, 2017).
  47. Karlík, M. *Úvod do transmisní elektronové mikroskopie*; České vysoké učení technické: Praha, 2011.
  48. Karlík, M. Transmisní Elektronová Mikroskopie: Pohled do Nitra Materiálů. *Československý časopis pro fyziku* **2005**, *55*, 457-464.
  49. Transmisní elektronová mikroskopie <http://atmilab.upol.cz/texty/TEM-teorie.pdf> (accessed Feb.18, 2017).