Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta Katedra fyzikální chemie



Materiály s obsahem nanočástic ušlechtilých kovů pro biologické a analytické aplikace

Disertační práce

Martina Kilianová

Školitel: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2018

Poděkování

Děkuji svému školiteli doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady, konzultace a nesmírnou trpělivost, jež se mi naskytlo při řešení a vypracování předložené disertační práce.

Dále bych ráda poděkovala doc. RNDr. Aleši Panáčkovi, PhD., doc. RNDr. Robertu Pruckovi, PhD., doc. Jiřímu Tučkovi, PhD., prof. MUDr. Milanu Kolářovi, PhD., Mgr. Renatě Večeřové, Mgr. Kláře Čépe, PhD., kolektivu Katedry fyzikální chemie, Ústavu mikrobiologie a všem, kteří mi svými radami, formálními připomínkami, podněty a trpělivou pomocí pomohli vypracovat tuto disertační práci.

Děkuji celému týmu Regionálního centra pokročilých technologií a materiálů za umožnění získání zajímavých výsledků a jejich následné zpracování.

Neopomenutelnou součástí jsou díky Dr. habil. Stefanu Vajdovi a celému výzkumnému týmu v Argonne National Laboratory a Katedře organické a fyzikální chemie za umožnění zahraniční pracovně-studijní stáže.

Mé obrovské díky patří samozřejmě i rodině, obzvlášť mé sestře Janě, které tuto práci věnuji a také mým nejbližším a všem kolegům za obětavou podporu a pomoc, kterou mi po celou dobu studia poskytovali.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma příprava a studium materiálů s obsahem nanočástic ušlechtilých kovů pro biologické a analytické aplikace řešila samostatně a že řádně cituji použitou literaturu.

Dále prohlašuji, že mám většinový autorský přínos v publikacích [1–5] které jsou uvedeny v přehledu publikací.

V Olomouci, dne

.....

Mgr. Martina Kilianová

Já, spoluautor a korespondující autor publikací [1–5] prohlašuji, že Mgr. Martina Kilianová má v těchto publikacích výrazný až většinový autorský přínos.

.....

doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora	Martina Kilianová
Název práce	Materiály s obsahem nanočástic ušlechtilých kovů pro biologické a analytické aplikace
Typ práce	Disertační
Pracoviště	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
Rok	2018
Počet stran	92
Počet příloh	5
Jazyk	Český
Klíčová slova	Stříbro, oxidy železa, měď, nanočástice, příprava, aplikace, biologická aktivita, katalýza, sorpce, synergie

Anotace:

Katedra fyzikální chemie v úzké spolupráci s výzkumným centrem Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů (RCPTM) věnují svůj dlouholetý zájem o rozvoj nanotechnologií v rozličných vědních oborech. Dochází k rozšiřování povědomí a následné aplikaci nanomateriálů v oblastech výzkumu v posledních letech výrazně zaměřeného na přípravu a následné aplikace nanočástic stříbra (Ag NPs), oxidů železa (Fe_xO_y NPs), ale také například nanočástic mědi (Cu NPs). Tyto materiály mohou být využity na poli biologického výzkumu, v analytických aplikacích, heterogenní katalýze nebo například v environmentální oblasti výzkumu. Těmto výzkumným směrům je věnována tato disertační práce, která představuje shrnutí vědeckých výsledků dosažených v oblasti přípravy a aplikací nanočástic stříbra, mědi a oxidů železa během mého Ph.D. studia. Hlavním cílem této práce bylo studovat různé metody přípravy výše zmíněných nanočástic, včetně jejich vzájemných kombinací v podobě nanokompozitních látek a následně nalézt a ověřit jejich aplikační potenciál v oblastech biologického a synergického účinku, environmentálního přínosu a v neposlední řadě také v oblasti katalytických vlastností.

Vědeckovýzkumná práce související s tematikou Ph.D. studia byla v prvé řadě věnována nanočásticím stříbra, kde se pozornost zaměřila na jejich syntézu pomocí *in-situ* chemické redukce v přítomnosti dvou rozdílných redukčních činidel – maltózy a tetrahydridoboritanu sodného. Předem připravené Ag NPs byly následně využity při syntéze nanokompozitních materiálů v kombinaci s magnetickými nanočásticemi oxidů železa Ag@Fe₃O₄ a γ -Fe₂O₃@Ag, kde tyto magnetické nanokompozity vykazovaly antibakteriální i antifungální aktivitu, kde na druhou stranu byla akutní cytotoxicita těchto materiálů pozorována až při řádově vyšších

koncentracích. Dále byly nanočástice stříbra využity při přípravě a aplikaci methylcelulózového hydrogelu, kde byla použita vysoce koncentrovaná disperze Ag NPs o výchozí koncentraci 5 g/L Ag. Připravený NanoSilver@methylcellulose hydrogel byl aplikován ke studiu lokálních baktericidních účinků s jasně prokazatelnými antimikrobiálními výsledky. Další část řešené práce se věnovala provedení systematické studie při kvantifikaci synergického účinku antibiotik (ATB) v kombinaci s Ag NPs, a to kvůli aktuálně řešenému problému s rozšiřující se rezistivitou bakteriálních kmenů vůči ATB. Test synergického účinku byl proveden proti bakteriálním kmenům *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*, kde všechna běžně dostupná testovaná antibiotika kombinovaná s Ag NPs prokazovala silné synergické účinky již při velmi nízkých koncentracích obou látek.

Další část práce byla věnována syntéze a využití ultrajemných a téměř monodisperzních superparamagnetických nanočástic γ -Fe₂O₃, jež byly syntetizovány jednostupňovou mokrou chemickou metodou. Připravené nanočástice γ -Fe₂O₃ projevovaly vysokou plochu povrchu, a tudíž výrazné adsorpční schopnosti ověřované při odstraňování arseničnanů z vodného prostředí.

Konečná část předkládané práce byla zaměřena na studium katalytických účinků dvou typů nanokatalyzátorů na bázi čistého oxidu železa a oxidu železa s příspěvkem nanočástic mědi, jež byly připraveny sonikační metodou. Kompozit s příspěvkem Cu NPs byl považován za účinný katalyzátor pro konverzi CO₂ při nízkém parciálním tlaku CO₂ a H₂ s výslednými reakčními produkty jako jsou oxid uhelnatý, methan, methanol a benzen. Výsledky tohoto výzkumu představují perspektivní směr při konverzi oxidu uhličitého.

BIBLIOGRAFIC IDENTIFICATION

Author	Martina Kilianova
Title	Materials with content of nanoparticles of noble metals for biological and analytical applications
Туре	Dissertation
Department	Department of Physical Chemistry
Supervisor	doc. RNDr. Libor Kvitek, CSc.
Published	2018
Pages	92
Annexes	5
Language	Czech
Keywords	Silver, iron oxide, copper, nanoparticles, synthesis, application, biological activity, catalysis, synergy

Anotation:

Department of physical chemistry in cooperation with research centre Regional centre of Advanced Technologies and Materials (RCPTM) devote their long-time interest into development of nanotechnologies in various science branches. There happens raising public awareness and transferring applications of nanomaterials in fields in research in last years significantly devoted to preparation and subsequent applications of silver nanoparticles (Ag NPs), iron oxide (FexOy Nps), but also for example copper nanoparticles (Cu NPs). These materials can be used in field of biological research, in analytical applications, heterogeneous catalysis or for example in environmental field of research. To these fields of research specialization is devoted this thesis, which represents summary of research results achieved in area of preparation and application of nanoparticles of silver, copper and oxides during my Ph.D. study. The main aim of this thesis was to study various methods of preparation of above-mentioned nanoparticles, including their mutual combinations in form nanocomposites substances and subsequently to find and verify their application potential in field of biological and synergic effect, environmental benefit and last but not least in area of catalyst properties.

Scientific research work related to topic of Ph.D. study was mainly devoted to silver nanoparticles, where the attention was concerned to their synthesis using in-situ chemical redution in presence of two various reduction agents – maltose and sodium borotetrahydride. The in advance prepared Ag NPs were subsequently used in synthesis of nanocomposite materials in combination with magnetic iron oxide nanoparticles $Ag@Fe_3O_4$ and γ -Fe_2O_3@Ag, where these

magnetic nanocomposites showed antibacterial and antifungal aktivity, where on the other hand was observed acute cytotoxicity of these materials only with higher concentrations. Furthermore, the silver nanoparticles were used during preparation and application of methylcellulose hydrogel, where there was used highly concentrated dispersion of Ag NPs with initial concentration of 5 g/L Ag. The prepared @methylcellulose hydrogel was applied during the study of local bactericidal effects with clearly provable antimicrobial results. Next part of this thesis deals with execution of systematic study using quantification of antibiotic (ATB) synergic effect in combination with Ag NPs, due to current solved problem with extending resistivity of bacterial strains against antibiotics. The test of synergic effect was performed against bacterial strain Excherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphulococcus aureus, where all common accessible antibiotics combined with Ag NPs showed strong synergic effects already at really low concentrations of both substances.

Next part of this thesis was devoted to synthesis and usage of ultrafine and almost monodisperse superparamagnetic nanoparticles of γ -Fe₂O₃, that were synthesized using one step wet chemical method. Prepared γ -Fe₂O₃ nanoparticles experienced high surface area, and therefore significat adsoption characteristics during removal of arsenates from aquatic environment.

The final part of this thesis deals with the study of catalytic effects of two types of nanocatalyst on basis of clear iron oxide and iron oxide with contribution of copper nanoparticles, that were prepared using sonication method. Composite with contribution of Cu NPs was considered as effective catalyst for conversion of CO_2 using low partial pressure of CO_2 and H_2 with resulting reaction products such as carbon monoxide, methane, alcohol and benzen. The results of this research represent a perspective direction in the area of carbon dioxide conversion.

OBSAH

1.	ÚVOD	• • • • • • • • •		8
2.	NANOM	ATER	LÁLY	9
	2.1. Stabil	izace n	anomateriálů	10
	2.1.1.	Elektr	ostatická stabilizace	10
	2.1.2.	Steric	ká stabilizace	13
	2.2. Povrc	hová n	nodifikace nanomateriálů	13
	2.2.1.	Koval	entní modifikace nanomateriálů	13
	2.2.2.	Nekov	valentní modifikace nanomateriálů	14
	2.2.3.	Modif	ïkace "jádro-slupka"	14
3.	NANOM	ATER	IÁLY NA BÁZI KOVŮ A OXIDŮ KOVŮ	16
	3.1. Nano	částice	stříbra	16
	3.1.1.	Vlastr	osti a aplikace nanočástic stříbra	16
	3.1	.1.1.	Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SI	ERS) 19
	3.1	.1.2.	Analytické aplikace – využití nanočástic	stříbra jako
		nai	nosensorů	
	3.1	.1.3.	Využití nanočástic stříbra v elektronice a	informačních
		tec	hnologiích	23
	3.1	.1.4.	Využití nanočástic stříbra v katalýze	24
	3.1.2.	Přípra	va nanočástic stříbra	
	3.1	.2.1.	Příprava redukcí anorganickými či organickými	sloučeninami
	3.1	.2.2.	Příprava pomocí ultrazvuku	
	3.1	.2.3.	Příprava za využití UV záření	26
	3.1	.2.4.	Příprava za využití laserového záření	
	3.2. Nano	částice	oxidů železa	27
	3.2.1.	Vlastr	osti a aplikace nanočástic oxidů železa	27
	3.2.2.	Vlastr	osti jednotlivých polymorfů Fe ₂ O ₃	29
	3.2	2.2.1.	Hematit (α-Fe ₂ O ₃)	
	3.2	2.2.2.	β-Fe ₂ O ₃	31

	3.2.2.3.	Maghemit (γ-Fe ₂ O ₃)	
	3.2.2.4.	ε-Fe ₂ O ₃	34
	3.2.3. Magn	etit (Fe ₃ O ₄)	35
	3.2.4. Přípra	ava nanočástic oxidů železa	
	3.2.4.1.	Koprecipitace	
	3.2.4.2.	Hydrotermální metody	
	3.2.4.3.	Vysokoteplotní rozklad organických prekurzorů	
	3.2.4.4.	Metody sol-gel	40
	3.3. Nanočástice	mědi	41
	3.3.1. Vlastr	nosti a aplikace nanočástic mědi	41
	3.3.1.1.	Magnetické vlastnosti nanočástic mědi	42
	3.3.1.2.	Antimikrobiální vlastnosti nanočástic mědi	42
	3.3.1.3.	Katalytické účinky nanočástic mědi	43
	3.3.2. Přípra	ava nanočástic mědi	44
	3.3.2.1.	Chemická redukce	44
	3.3.2.2.	Sonochemická redukce	45
4.	EXPERIMENT	ÁLNÍ ČÁST	46
	4.1. Chemikálie		46
	4.2. Biologické r	nateriály	46
	4.2.1. Antin	nikrobiální testy	
	4.2.2. Cytot	oxické testy	48
	4.3. Přístroje a z	zařízení	48
	4.3.1. Exper	rimentální techniky	
	4.4. Příprava na	nomateriálů	50
	4.4.1. Přípra	ava nanočástic stříbra	50
	4.4.2. Přípra	ava nanočástic oxidů železa	50
	4.4.3. Přípra	ava nanokompozitů Ag@Fe ₃ O ₄ , Fe ₂ O ₃ @Ag, Cu@Fe ₂ O)351
	4.4.4. Přípra	ava disperze a hydrogelu s obsahem nanočástic stříbra.	52
5	BIOLOCICE É	Α ΑΝΤΙΜΙΚΌΩΟΙ ΆΙ ΝΊ Α ΟΙ ΗΖΑΩΈ ΝΑΝΩ	ČÁSTIC
э.	DIULUGIUKE ετĎίρη 4	A ANTIMIKKUDIALNI AFLIKAUL NANU	
	SI KIDKA		

	5.1. Antibakteriální a antifungální vlastnosti magnetických nanokompozitů
	oxidů železa a nanočástic stříbra 54
	5.2. Příprava a in vitro baktericidní a fungicidní účinnost Ag
	NPs/methylcelulózového hydrogelu57
	5.3. Synergická antibakteriální účinnost antibiotik kombinovaných
	s nanočásticemi stříbra60
6.	ENVIRONMENTÁLNÍ VYUŽITÍ NANOČÁSTIC OXIDU ŽELEZA64
	6.1. Využití ultrajemných superparamagnetických nanočástic oxidu železa při
	odstraňování arsenu z vodného prostředí64
7.	KATALYTICKÁ ÚČINNOST KOMPOZITU NANOČÁSTIC OXIDŮ
	ŽELEZA A MĚDI68
	7.1. Vysoce účinný nanokatalyzátor oxid železitý s obsahem Cu pro nízkotlakou
	konverzi CO ₂ 68
8.	ZÁVĚR74
9.	SUMMARY
10.	. LITERATURA

PŘÍLOHY

Seznam publikací, na nichž se autor této disertační práce podílel jako hlavní autor nebo spoluautor v období 2010–2018:

- (1) R. Prucek, J. Tucek, M. Kilianova, A. Panacek, L. Kvitek, J. Filip, M. Kolar, K. Tomankova, R. Zboril, The targeted antibacterial and antifungal properties of magnetic nanocomposite of iron oxide and silver nanoparticles, Biomaterials 32 (2011) 4704-4713
- (2) M. Kilianova, R. Prucek, J. Filip, J. Kolarik, L. Kvitek, A. Panacek, J. Tucek, R. Zboril, Remarkable efficiency of ultrafine superparamagnetic iron (III) oxide nanoparticles toward arsenate removal from aqueous environment, Chemosphere 93 (2013) 2690–2697
- (3) A. Panacek, M. Kilianova, R. Prucek, V. Husickova, R. Vecerova, M. Kolar, L. Kvitek, Preparation and *in vitro* bactericidal and fungicidal efficiency of NanoSilver/Methylcellulose hydrogel, World Academy of Science, Engineering and Technology; International Journal of Chemical, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering 8, No 6 (2014) 464-469
- (4) A.Panacek, M. Smekalova, M. Kilianova, R. Prucek, K. Bogdanova, R. Vecerova, M. Kolar, M. Havrdova, G. A. Plaza, J. Chojniak, R. Zboril, L. Kvitek, Strong and nonspecific synergistic antibacterial efficiency of antibiotics combined with silver nanoparticles at very low concentrations showing no cytotoxic effect, Molecules 21 (2016) 26
- (5) A. Halder, M. Kilianova, B. Yang, E. C. Tyo, S. Seifert, R. Prucek, A. Panacek, P. Suchomel, O. Tomanec, D. J. Gosztola, D. Milde, H.-H. Wang, L. Kvitek, R. Zboril, S. Vajda, Highly efficient Cu-decorated iron oxide nanocatalyst for low pressure CO₂ conversion, Applied Catalysis B: Environmental (2018) 128-138

1. ÚVOD

Předkládaná disertační práce se věnuje studiu přípravy nanočásticových a nanokompozitních systémů tzv. mincovních kovů (kovy skupiny I. B), dále studiu jejich vlastností a implementací do aplikací v rozličných odvětvích. Jako hlavní nositele účinnosti studovaných materiálů byly zvoleny nanočástice stříbra (Ag NPs), nanočástice mědi (Cu NPs) v mnoha případech v kombinaci s nanočásticemi oxidů železa (Fe_xO_y NPs), které ve spojení s výše zmíněnými nanočásticemi přinášely do vzniklého kompozitu nové vlastnosti. Vytvořené nanokompozitní systémy skýtají velký potenciál v zachování si aktivních vlastností nanočástic vzácného kovu, ať už například antibakteriálních v případě nanočástic stříbra, katalytických u nanočástic mědi, tak i specifických vlastností nosiče, zejména možnost manipulace s nimi pomocí vnějšího magnetického pole.

Pro lepší objasnění použité terminologie, pod pojmem "nanomateriál" nejčastěji rozumíme objekty, jež mají nejméně jeden ze svých rozměrů pod 100 nm. Od běžných materiálů se nanomateriály odlišují svými vlastnostmi, jež vyplývají z jejich velikosti. U objektů v řádech nanometrů se uplatňují především dva faktory, a to velikost povrchu daného nanomateriálu a uplatnění kvantových efektů jako např. změna vodivosti, plasmonová rezonance apod. Nanomateriály nacházejí různorodé využití např. v elektronice, zdravotnictví, strojírenství, stavebnictví, chemickém, textilním, elektrotechnickém, optickém, automobilovém, kosmickém, vojenském průmyslu, ale i v životním prostředí.

Požadovaných vlastností však často nelze dosáhnout pouhým zmenšením rozměrů původních materiálů, ale mnohdy je důležitý i tvar nanočástic a zcela nové vlastnosti přináší kombinace nanočástic s dalšími materiály v podobě nanokompozitu. Nanočástice, resp. nanomateriály lze připravovat pomocí různých přístupů, které lze rozdělit dle dvou základních principů, a to postup "shora-dolů" (z anglického překladu "top-down") a "zdola-nahoru" (překlad "bottom-up"). Vývoj těchto metod vede k možnostem přípravy nových typů nanomateriálů, což je prvě základem předkládané disertační práce.

2. NANOMATERIÁLY

Přestože se o nanotechnologiích a nanomateriálech hovoří teprve "několik" desetiletí, některé z jevů, které bychom dnes mohli označit za nanotechnologické, jsou známy a využívány již velmi dlouhou dobu. Příkladem mohou být například tvary minerálních krystalů, u kterých jsou podmínky vzniku důsledkem jejich vnitřního uspořádání na atomové a molekulové úrovni. Přírodním úkazem aplikovaného nanotechnologického přístupu může být považováno samouspořádání živých organismů, tak i využití nanostruktur řadou rostlin a živočichů pro jejich potřebu. Pravděpodobně nejznámějším a zároveň nejstarším známým případem technologie, kterou bychom v této době označili za "nanotechnologii" datovanou do 4. století našeho letopočtu, je římský pohár vyrobený ze sodnovápenatého skla s obsahem nanočástic stříbra a zlata, které způsobují jeho specifické a unikátní zbarvení ve spektru od zelené po temně rudou barvu, v závisloti na úhlu pozorování poháru a jeho osvětlení. Dalším důkazem objevení obdobných jevů byl objev Brownova pohybu (perikinetické seskupení částic) Janem Ingenhouszem (1785) při pozorování chování částic prachu na hladině alkoholu a později Robertem Brownem (1824), jež vypozoroval pohyb částic ve vakuolách pylu [1]. První všeobecně rozšířenou technikou založenou na využití nanotechnologií byla fotografie založená na halidech stříbra, které se po expozici rozkládají na nanočástice stříbra [2].

V průběhu 19. a 20. století pak následoval velký rozmach postupů a technik v chemii, fyzice i optice, které bychom v současném náhledu na situaci mohli považovat za nanotechnologické metody. Za zakladatele myšlenky, jenž využívá nanotechnologických možností, je považován americký fyzik a nositel Nobelovy ceny Richard Feynman, který dne 29.12.1959 na výročním zasedání American Physical Society v California Institute of Technology (Caltech) Pasadena, USA, přispěl přednáškou s názvem: "There's Plenty of Room at the Bottom". Příspěvek předpovídal možnost tvorby materiálů a mechanizmů na úrovni atomů a molekul s tím pohledem, že příroda jako taková umí tyto nanostruktury vytvářet a také je využívat. Feynman však tehdy přednesl názor, že skutečné plnění jeho předpovědí nastane až ve chvíli, kdy budou k dispozici dostatečné experimentální techniky, jež by umožňovaly manipulace s "nano" objekty a zároveň pozorování jejich unikátních

vlastností. Řada jeho předpovězených úvah a myšlenek, ve své době považovaných za pouhé utopie, se však přece jenom dočkala skutečného plnění [3].

Od roku 1960 tak docházelo k postupnému rozvoji metod zaměřující se na tvorbu nanočástic a také fotolitografických metod. Nicméně zásadní zlom ve vývoji nanotechnologií přinesl v 80. letech minulého století objev mikroskopových metod Skenovacího (rastrovacího) tunelovacího mikroskopu (STM) a Mikroskopu atomových sil (AFM), které umožňující sledovat a determinovat děje až na úrovni jednotlivých atomů a molekul. Tato doba tudíž začala zaznamenávat enormní nárůst objevů, publikací, patentů, ale i praktického využití nanotechnologií ve všech vědních, ale i oborech lidské činnosti. Hlavní výhodou aplikací nanomateriálů a technologií s nimi spojenými může být považován fakt, že veškeré strukturální změny, nastávající na atomární a molekulární úrovni, přináší zřetelné důsledky do makrosvěta [4].

2.1. Stabilizace nanomateriálů

Celková povrchová energie nanomateriálů (energie atomů na povrchu) závisí na velikosti povrchu. Nanostrukturované materiály mají obrovské povrchy a značnou celkovou povrchovou energii, která je činí termodynamicky nestabilními nebo metastabilními. Vzniklé nanomatriály nebo nanočástice je třeba stabilizovat, aby nedocházelo k jejich agregaci. Rozlišujeme v zásadě tři typy stabilizace nanomateriálů, a to elektrostatickou stabilizaci a sterickou stabilizaci nebo kombinaci obou těchto přístupů [5,6].

2.1.1. Elektrostatická stabilizace

Na povrchu pevných nabitých materiálů v roztocích elektrolytů nebo polárních rozpouštědel je přítomen povrchový náboj, který je zodpovědný za elektrostatické interakce stabilizující nanočásticové systémy [7].

Difúze, Brownův pohyb a vliv entropie zajišťují homogenní distribuci různých iontů a složek v roztocích. V blízkosti nabitých povrchů je rozložení náboje značně nehomogenní a tyto nerovnoměrnosti klesají s rostoucí vzdáleností od povrchu. Tento jev se nazývá "elektrická dvojvrstva" jejíž popis nejlépe vystihuje model dle Sterna (Obr. 1).



Obr.1: Sternův model uspořádání elektrické dvojvrstvy. Převzato z [8].

Elektrokinetický potenciál v koloidních systémech neboli zeta potenciál (ζ potenciál) je elektrický potenciál v mezifázové dvojvrstvě dispergované částice. Jinými slovy řečeno, zeta potenciál je potenciální rozdíl mezi mobilním disperzním médiem a stacionární vrstvou disperzního média připojeného k dispergované částici. Nejdůležitějším faktorem, kterým je tento potenciál ovlivněn, je pH daného média, dále pak iontová síla, koncentrace přísad a teplota.

Význam zeta potenciálu spočívá v tom, že jeho hodnota může souviset s krátkodobou a dlouhodobou stabilitou emulzí. Emulze s vysokým zeta potenciálem (negativní nebo pozitivní) jsou elektricky stabilní, zatímco emulze s nízkým potenciálem mají tendenci koagulovat nebo vločkovat, což může vést ke špatné fyzikální stabilitě. Obecně platí, že pokud je zeta potenciál emulze vysoký, odpuzující síly překračují přitažlivé síly, což vede k relativně stabilnímu systému. Konkrétněji řečeno, jestliže je zeta potenciál méně negativní než -15 mV, tato hodnota představuje začátek aglomerace částic. Pokud se zeta potenciál rovná nule, koloid se vysráží do pevné látky [9].

Částice jsou tímto způsobem chráněné proti aglomeraci pomocí elektrostatické repulze. Vedle toho zde působí přitažlivé van der Waalsovy interakce, přičemž součet van der Waalsových přitažlivých sil a repulzních sil (elektrostatických a sterických) udává výslednou interakci částic v roztoku. Repulzní síly vytvářejí tzv. repulzní bariéru. Jestliže má tato repulzní bariéra dostatečnou velikost, může zabránit kolizi mezi částicemi způsobených Brownovým pohybem, a tudíž tak nebude docházet k aglomeraci samotných částic [10].

Účinky zeta potenciálu na stabilitu emulzí jsou dobře vysvětleny teorií DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek), která uvádí, že stabilita koloidních systémů závisí na rovnováze mezi různými silami působícími na rozhraní. Patří k nim elektrostatické odpudivé síly a přitažlivé van der Waalsovy síly díky povrchovému náboji [11]. Elektrostatické síly dvojvrstvy a van der Waalsovy síly jsou nezávislé, a proto mohou být překryty nebo přidány při každé interakční vzdálenosti dvou částic (viz. Obr. 2).



Obr. 2: Schéma interakční energie proti profilu vzdálenosti interakce DLVO. Přitažlivé van der Waalsovy a odpudivé elektrostatické potenciály tvoří celkovou interakční energii. Převzato z [12].

2.1.2. Sterická stabilizace

Sterickou stabilizací rozumíme situaci, kdy adsorbované molekuly (nejčastěji makromolekuly) na povrchu nanočástic brání jejich těsnému přiblížení a následné agregaci. Tento způsob stabilizace lze považovat za výhodnější ve srovnání s předešlým případem, benefity mohou představovat například termodynamická stabilita, možnost použití pro několikafázové systémy a také schopnost stabilizace koncentrovaných suspenzí.

Tento způsob stabilizace je výhodnější především pro přípravu nanomateriálů s užší velikostní distribucí, kdy vhodný ligand či polymer adsorbovaný na povrchu nanomateriálu poskytuje současně difuzní bariéru, která zabraňuje přístupu dalších molekul a následnému růstu jader.

Fyzikální podstata sterické stabilizace spočívá v omezení objemu, snížení počtu případných interakcí mezi dvěma přibližujícími se částicemi a relativně vysokou koncentrací adsorbovaných molekul. Z této podstaty vyplývají požadavky na stabilizační činidla, což by měly být látky schopné dostatečně silně se adsorbovat na povrch částic a současně by měly mít vhodnou rozpustnost v daném prostředí [13].

Elektrostatická stabilizace může být kombinována se sterickou stabilizací, a proto je také možno ji nazývat elektrosterickou stabilizací. Výsledná stabilizace částic proti jejich aglomeraci je dána elektrostatickou repulzí a sterickým omezením [14].

2.2. Povrchová modifikace nanomateriálů

Vhodně zvolená povrchová úprava nanomateriálů může výrazně ovlivňovat výsledné vlastnosti těchto látek, které následně nacházejí uplatnění v mnoha aplikacích. Doposud byla studována a popsána řada využití nových povrchově modifikovaných nanomateriálů [8, 15-18].

2.2.1. Kovalentní modifikace nanomateriálů

Kovalentně vázané látky na povrchu nanomateriálů mohou být nahrazeny za jiné kovalentně vázané stabilizující látky. Kontrolovaná chemisorpce pomocí kovalentní vazby se vyjímá vyšší stabilitou a reprodukovatelností povrchové modifikace. Vhodně zvolené molekuly, jako např. merkaptoderiváty, mohou kovalentně interagovat s povrchem nanočástic např. zlata či stříbra. V případě merkaptoderivátů lze využít jejich schopnosti samouspořádání na povrchu ušlechtilých kovů, za tvorby filmů na jejich povrchu.

2.2.2. Nekovalentní modifikace nanomateriálů

Nekovalentní modifikace povrchu nanomateriálů je jednoduchou a rozšířenou technikou, která je používána v případě nanočástic stabilizovaných

anionickými ligandy, jako například deriváty karboxylových kyselin, jež umožňují efektivní vazbu pozitivně nabitých molekul k modifikovanému záporně nabitému povrchu nanočástic [19].

2.2.3. Modifikace "jádro-slupka"

Pod anglickým názvem "core-shell" ("core" – jádro; "shell" – slupka) je v literatuře dobře známo vytváření různých anorganických a organických vrstev na povrchu nanomateriálů. V posledních desetiletích byly studovány možnosti přípravy nanomateriálů se systémem "jádro-slupka" a s cílenou strukturou, povrchovými, optickými a jinými vlastnostmi [20,21].

Důvedem pokrytí povrchu nanočástic jinou látkou může být např. změna náboje původních jader (nanočástic), změna reaktivity daného povrchu, funkcionalizace, navýšení dispergovatelnosti a stability původních jader [22,23]. Obalení studovaných nanomateriálů do vrstev z různých látek může také napomáhat v ochraně jádra proti různým chemickým a fyzikálním změnám [24,25], případně může také ovlivňovat jejich biologické vlastnosti [20,26,27] při použití *in vivo* nebo *in vitro*.

Enkapsulace do vrstvy SiO₂ může být považována za rozšířený způsob polymerní stabilizace a ochrany řady materiálů, jako např. organických barviv [28], kvantových teček [29], proteinů [30], nanočástic ušlechtilých kovů [21] či magnetických nanočástic [18,20,31,32].

Vrstvy sulfidu zinečnatého na povrchu jader kvantových teček mohou být považovány za další rozšíření anorganickými vrstvami [33]. Na površích řady anorganických jader lze vytvořit ochranné vrstvy z ušlechtilých kovů (zlato [34], platina [35]). Pro tvorbu všech těchto ochranných vrstev na površích nanomateriálů lze využít různé syntetické polymery, polyvinylpyrolidon [36-38], polyethylenglykol [39-42], polyvinylalkohol [43,44], přírodní polymery, jako je např. chitosan [27,45], či dextran [46], β-glukan [47], lipidy [48].

3. NANOMATERIÁLY NA BÁZI KOVŮ A OXIDŮ KOVŮ

3.1. Nanočástice stříbra

3.1.1. Vlastnosti a aplikace nanočástic stříbra

Částice stříbra (Ag NPs) již po mnoho staletí představují zástupce aktivních materiálů, jež jsou známé svými unikátními vlastnostmi hojně využívanými už za antického Řecka. V současné době jsou biologické účinky nanočástic stříbra znovu objevovány v souvislosti s neustále se zvyšující hrozbou rezistentního chování bakteriálních kmenů vůči používaným a kolikrát i zbytečně nadužívaným antibiotickým přípravkům určeným k léčbě běžně se vyskytujících chorob a onemocnění. V posledních letech se proto výzkumníci zaměřili na syntézu nanočástic stříbra a také jejich směsí, jež mohou obsahovat stříbrné ionty (Ag⁺) [49,50] a metalické stříbro (Ag⁰) [51-55], vykazující vysokou antimikrobiální aktivitu.



Obr.3: (a) ilustrativní modelové znázornění nanočástic stříbra a (b) TEM snímek nanočástic stříbra. Převzato z [56].

Antibakteriální aktivita stříbro-obsahujících materiálů může být využita například v medicínských oborech k redukci výskytu infekce popáleninových úrazů či poranění [57,58], artroplastice [59], neboli při operativních zákrocích nemocných kloubů, stejně jako při předcházení bakteriální kolonizace na protetických materiálech [60], implantátech vyrobených z nerezavějící oceli [61], uměle vytvořené lidské kůži [62,63], katétrech [64,65], cévních štěpech [66]. Materiály s obsahem aktivního stříbra mohou být také využity k eliminaci růstu mikroorganismů na texturách tkanin [67,68] nebo například při čištění vod [69]. Ag NPs také představují potenciální cytoprotektivní aktivní látku vůči HIV infikovaným buňkám [70]. Díky tomuto širokému aplikačnímu rozpětí byla vypracována řada metod k jejich syntéze a studiu biologických vlastností [71-76]. Navzdory baktericidnímu efektu iontového stříbra, antimikrobiální aktivita (koloidních) nanočástic stříbra je ovlivněna dimenzionalitou částic a to tak, že se zmenšujícím se rozměrem částic roste jejich antimikrobiální efekt, jež vykazují [77,78]. Na základě tohoto zjištění je kladen důraz na důslednou kontrolu velikosti syntetizovaných nanočástic stříbra.

V současné době jsou intenzivně studovány antimikrobiální účinky nanočástic stříbra v důsledku právě enormně rostoucí bakteriální rezistence vůči nadměrně a opakovaně používaným klasickým antibiotikům. Den za dnem se tedy léčba bakteriálních infekcí, využívajících klasická antibiotika, stává vážnějším globálním problémem. Jako důkaz bylo poukázáno kupříkladu na objev bakterií nesoucí enzym NDM-1 (New Delhi metalo-beta-laktamáza), proti nimž jsou téměř všechna známá antibiotika neúčinná. Vzhledem k tomu, že většina použitých účinných antibiotik pochází ze 70. a 80. let 20. století, je jistě nezbytné vyvinout nové typy léků pro účinný boj s bakteriemi. Stříbrné nanočástice mohou představovat potenciální slibné pomocníky v tomto boji, protože dokáží účinně eliminovat bakterie již při relativně nízkých koncentracích; koncentracích, které nejsou toxické pro lidské buňky.

Ag NPs neprokazují pouze antibakteriálními účinky, ale jak již bylo zmíněno dříve, jsou specifické také svým chováním v oblasti optického či katalytického využití [79-83]. Kromě antimikrobiální aktivity [84-88], jejich aplikace existuje také v oblasti povrchovem zesílené Ramanovy spektroskopie [89-94] a/nebo fototermální terapie rakovinových onemocnění [95,96]. V těchto oblastech jsou nanočástice stříbra výhodnější než jejich příslušní "protivníci", protože jsou schopné vykazovat velmi intenzivní absorpční pásmo ve viditelné oblasti spektra, jehož poloha závisí na velikosti a tvaru nanočástic stříbra. Na velikosti a tvaru nanočástic závisí ale také zabarvení nanočástic stříbra. U Ag NPs, ale i u nanočástic mědi či zlata, mohou být

pozorovány ve spektru ve viditelné oblasti spektra absorpční pásy. Tyto pásy jsou známé pod pojmem povrchové plazmonové rezonanční (SPR) pásy a pocházejí z interakce volných vodivostních elektronů NPs se zářením o vhodné vlnové délce [97]. Rezonanční efekt může být závislý na velikosti a tvaru nanočástic, ale také na povrchové úpravě či stupni agregace nanočástic [98].

Silné antimikrobiální vlastnosti byly prokázány u iontového stříbra, ale právě i u nanočástic Ag, čímž si našly cestu k širokému uplatnění, například v řadě medicínských a kosmetických přípravků. AgNPs jsou považovány za baktericidní přípravky v oblasti širokého spektra Gram-pozitivních i Gram-negativních bakterií [99-102], jež mohou zahrnovat i druhy bakterií s rezistencí vůči antibiotikům [103]. Nanočástice stříbra nacházejí také uplatnění při boji s různorodou řadou kvasinkových kmenů, jako například jsou *Candida, Pseudomonas* nebo *Saccharomyces* [104,105]. Vliv nanočástic stříbra byl studován také na onemocnění virového charakteru, a to konkrétně na viry HIV. Aktivity proti viru HIV byly potvrzeny jak na počátku virové replikace, tak v průběhu životního cyklu viru po jeho následném vstupu do buňky [106].

Mechanizmus antimikrobiálního účinku nanočástic stříbra nelze s jednoznačnou přesností určit, ačkoliv již byla provedena řada vědeckých studií ovšem s rozličnými výsledky. Možností a přístupů k problematice biologické aktivity nanočástic stříbra je v literatuře mnoho, například mechanismus, jež je založen na postupné rozpustnosti Ag NPs ve vodě za vzniku iontů stříbra Ag⁺ [107], efektivita díky jejich malým rozměrům, a tím i velké ploše povrchu, při níž dochází k fyzickému narušení integrity membrány buněk a penetraci nanočástic stříbra do cytoplazmy postiženého mikroorganizmu [108], interakce s genetickou buněčnou složkou, která může vést k inhibici translace transkriptázy [107,109].

Nanočástice stříbra vykazují vyšší cytotoxické vlastnosti než samotné jejich mikročástice, takže jejich účinnost je připisována především velikosti, tvaru a stupni agregace. Cytotoxické vlastnosti nanočástic mohou být doprovázeny také příspěvkem iontů stříbra, které jsou z nich postupně uvolňovány [107,110] AgNPs při výrazně vyšších koncentracích vykazují toxicitu jak proti mikroorganismům, tak i vůči lidským buňkám, což vyžaduje jejich intenzivní testování v nejrůznějších odvětvích biomedicíny. Z těchto testů vychází, že biologické vlastnosti nanočástic stříbra lze využít k hubení patogenních bakterií či plísní, a to při dosažení relativně nízkých koncentracích, jež nejsou toxické pro lidské buňky [111].

Nanočástice stříbra dále mohou vykazovat například vyjímečné katalytické [112,113], elektrické [114,115], optické [116], a toxické [117-120], vlastnosti a nacházejí uplatnění v řadě různých aplikací jako je fotovoltaika, chemické a biologické senzory, aditiva s výše zmíněnými antimikrobiálními účinky v medicínských pomůckách i v textilních materiálech. Specifickou vlastnost Ag NPs, v podobě závislosti jejich rozpustnosti na povrchové energii částic, je možno uplatit např. v elektricky vodivých lepidlech. Bod tání významně klesá s rostoucí energií povrchu, tedy se snižujícím se rozměrem částic [121]. V tomto ohledu mohou být Ag NPs využity jako vodivostní plniva do elektricky vodivých lepidel, jež jsou tvrzena při nízkých teplotách [122,123].

Další oblast aplikace nanočástic stříbra souvisí s jejich nelineárními optickými vlastnostmi [124, 125] závislými výrazně na jejich velikosti [126]. Toto chování nanočástic je dáno existencí povrchového plasmonu [127,128], jehož výskyt úzce souvisí s např. povrchem zesíleným Ramanovým rozptylem (SERS) [129] či povrchem zesílenou fluorescencí [130].

3.1.1.1. Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)

Jestliže monochromatické záření dopadá na analyzovaný vzorek, jeho jednotlivé složky jsou částečně tímto vzorkem absorbovány, částečně rozptylovány a částečně tímto vzorkem prochází. Záření, jehož fyzikální původ stojí za neelastickými srážkami molekul vzorku s fotony excitujícího monochromatického záření za současné změny vibračně-rotačních stavů molekuly, jež bylo analytickým vzorkem rozptýleno (Obr. 4), může být měřeno a tato analýza skýtá podstatu Ramanovy spektroskopie. Záření interaguje s molekulou a tato interakce je doprovázena absorpcí primárního fotonu a téměř ihned dochází k emisi sekundárního fotonu z momentálně vytvořeného virtuálního stavu (<10⁻¹¹ sekundy) do nižší energetické vibrační hladiny. Mezi fotony monochromatického záření dochází k výměně energie s molekulami vzorku, což má za následek změnu energie sekundárního fotonu, a tím následně jeho vlnové délky.



Obr. 4: Schématické znázornění vzniku Ramanova rozptylu. Převzato z [131].

Změna energie fotonu odpovídá zvýšení nebo snížení energie molekuly daného vzorku, jelikož celková energie zůstává při tomto ději zachována. Rozptylové jevy můžeme rozdělit na více možností díky současně probíhajícím procesům. Pokud se rozptýlené záření skládá ze shodné frekvence s frekvencí budícího záření vycházejícího ze zdroje, můžeme hovořit o Rayleigho rozptylu (Obr. 5), který je brán jako elastický rozptyl. Při tomto elastickém rozptylu je molekula vybuzena ze základní vibrační hladiny na vyšší hladinu a v následujícím kroku se navrací zpět na původní vibrační hladinu. Energie fotonu tudíž zůstává zachována lnová délka vyzářeného fotonu odpovídá vlnové délce budícího záření.



Obr. 5: Schematické znízornění Rayleighova elastického a Ramanova neelastického rozptylu. převzato z [132].

Jestliže však rozptýlené záření vykazuje odlišnou frekvenci od frekvence záření budícího, tento rozptyl se nazývá Ramanův rozptyl a v Ramanově spektru se rozlišuje na Stokesovy a anti-Stokesovy linie (Obr. 5). Při Stokesově rozptylu se molekula po excitaci nevrací zpět na původní energetickou hladinu, ale zůstává na vhodné excitované hladině. Dochází tedy k vyzáření fotonu s nižší energií (vyšší vlnovou délkou) než vykazovalo excitační záření. Na druhou stranu, anti-Stokesovy linie odpovídají přechodu molekuly na virtuální hladinu, z níž se následně vrací až na základní vibrační hladinu. Podmínkou vzniku anti-Stokesových linií je, aby molekula v rámci základního elektronického stavu zaujímala pozici na některé z vyšších vibračních energetických hladin, a to již na počátku celého děje. Vyzářený foton následně disponuje vyšší energií (o nižší vlnové délce) než bylo excitační záření. Populace těchto vyšších vibračních energetických hladin se řídí tzv. Boltzmanovým rozdělením (Rovnice 1) a pravděpodobnost výskytu molekul v této vyšší hladině je nízká:

$$\frac{N_1}{N_0} = exp(-h\vartheta_{\rm vib}|kT),\tag{1}$$

kde N_0 , N_1 jsou populace molekul v základním (vyšším) vibračním energetickém stavu, h je Planckova konstanta, ϑ_{vib} je vibrační frekvence, k je Boltzmanova konstanta a T je teplota.

Základním výběrovým pravidlem pro vznik Ramanovy linie je podmínka, aby v průběhu vibrace docházelo ke změně polarizovatelnosti molekuly (tj. míra schopnosti elektrických nábojů v molekule se posouvat vlivem působení elektrického pole). Tuto schopnost vykazují především nepolární části molekul, zatímco polární jsou zřídka polarizovatelné.

Dva specifické příspěvky – elektromagnetický a chemický, přispívají ke povrchovému zesílení Ramanova signálu při adsorpci molekuly na koloidní částici či nerovném (drsném) povrchu kovu. První ze dvou příspěvků, a to elektromagnetický, je spojován s přítomností povrchového plasmonu [133-135] a bývá přisuzován většině případů povrchového zesílení. Na druhou stranu, druhý mechanismus – chemický, který je spojován s přenosem náboje mezi povrchem kovu a adsorbovanou molekulou, může napomáhat k dodatečnému zesílení a bývá pozorovatelný i v klasické Ramanově spektroskopii jako tzv. rezonanční zesílení. Pokud tedy uplatníme mechanismy obou příspěvků, metodu nazýváme, z anglického jazyka, "Surface Enhanced Resonance Raman spectroscopy" (SERRS) [136,137].

SERS, resp. SERRS metody nabízejí velmi nízké detekční limity, při kterých je analyt možné detekovat při piko až femtomolárních koncentracích. Tohoto faktu lze využít ke studiu adsorpce jednoduchých organických molekul naadsorbovaných na povrchu např. nanočástic stříbra [138-140], lze ji však také použít i při zkoumání složitějších biomolekul, např. proteinů [141] a pro kinetické testy na těchto molekulách [142]. Zajímavou oblastí možného využití SERS představují metody detekce bakterií a plísní [143].

3.1.1.2. Analytické aplikace – využití nanočástic stříbra jako nanosenzorů

V případě optických vlastností koloidních částic ušlechtilých kovů je typický výskyt silného absorpčního pásu, který je znám jako "povrchová plasmonová resonance". Pozice a tvar pásu závisí na velikosti částic a jejich tvaru, vzájemných interakcích částic, ale také na dielektrických vlastnostech okolí částice a dielektrických vlastnostech příslušného kovu [129,144]. Pokud chceme při tvorbě biosensorů spolehlivě využít částic s povrchově plasmonovou resonancí, soubor těchto částic by měl sestávat z částic stejné velikosti a tvaru a stejného složení, aby se pásy plasmonové resonance částic shodovaly. Soubory plasmonově resonantních částic se zřetelně odlišnými pásy plasmonové resonance jsou však nezbytné v případě multifrekvenčních analyzátorů [124]. Jako konkrétní příklad lze uvést využití nanočástic stříbra při sestavování nanobiosenzoru pro stanovení streptavidinu [145] či nanobiosensoru pro stanovení antibiotinu [146] metodou immunoassay. Další možnost vývoje nanobiosensorů nabízí například modifikace nanočástic pomocí barviv, která jsou citlivě detekovatelná metodou SERS [147,148]. Obdobný jev je možné využít analyticky i u fluorescenčně značených molekul, např. proteinů [149], DNA oligomerů [150] či inzulinu [151].

3.1.1.3. Využití částic stříbra v elektronice a informačních technologiích

Jak již bylo řečeno, tvar a poloha pásu plasmonové resonance jsou určeny tvarem částic a dielektrickými vlastnostmi kovu a jeho okolí. Nová metoda optického

ukládání dat může být založena na hromadné resonanční oscilaci vodivostních elektronů v kovových částicích koloidu. Za tímto jevem stojí možnosti kódování spekter prostřednictvím částic s různými resonančními vlnovými délkami. Navýšení paměťové kapacity skýtá velký potenciál, právě kvůli zkoumaným optickým paměťovým systémům, jež využívají více vlnových délek světla. Jestliže částice kovu rozptyluje světlo o určité intenzitě, můžeme z tohoto rozptylu určit rezonanci dané částice při jisté vlnové délce. Poměr velikostí stran částice určuje rezonanční vlnovou délku pro určitý polarizační stav. Pakliže pracujeme s částicí určitého tvaru a orientace, můžeme dosáhnout ideálně spektrálně kódovaného paměťového média. Za tímto účelem byly připravovány a následně zkoumány nanočástice stříbra, jejichž velikost, pohybující se v rozmezí 30–150 nm a rozličný tvar a orientace, umožňovala vhodné uspřádání na ploše o velikosti srovnatelné s rozměrem prohlubně na konvenčním kompaktním disku (~ 500 nm). Různé resonanční vlnové délky částic nestejného tvaru a orientace určují spektrální složení světla, jež bylo rozptýleno touto plochou. Následně vhodně zvolenou spektrální metodou určenou pro analýzu rozptýleného světla, lze přečíst informace, které jsou v tomto rozptýleném světle obsaženy [152].

Jednoduchou metodou inkoustového tisku s nanočásticemi stříbra lze dosáhnout například realizace elektrických obvodů a 3 D mikroelektromechanických systémů [153]. Zkoumané částice stříbra o velikosti menší než 50 nm, připravené redukcí citrátem a stabilizované karboxymetyl celulózou (působící také jako pojivo, zaručující dobrou přilnavost inkoustu k podkladu), mohou být použity jako náplně (pigmenty) do klasických inkoustových tiskáren (viz. obr. 6) [154].



Obr. 6: SEM snímky různých typů fotopapírů s rozdílnou strukturou povrchu: (a)

Epson; (b) Kodak; (c) Fantac; (d) Lucky; a (e) Lucky fotopapír s tištěným Ag vzorem. Převzat z [155].

3.1.1.4. Využití nanočástic stříbra v katalýze

V oblasti katalýzy je možné využít unikátních vlastností nanočástic kovů, a tedy i stříbra, právě díky jejich velké ploše povrchu a vysoké povrchové energii. Rozměrem nanočástic stříbra lze regulovat jejich katalytickou účinnost, neboť na velikosti nanočástic závisí i jejich redox potenciál, jak bylo prokázáno kinetickými studiemi při redukci organických barviv [156, 157]. Nanočástice stříbra mohou být využity v oblasti redoxních reakcí, jako například při oxidaci organických látek (př. oxidace ethylenu na ethylenoxid) [158,159], ale existují také možnosti využití při redukční degradaci fenolů [160].

3.1.2. Příprava nanočástic stříbra

3.1.2.1. Příprava redukcí anorganickými či organickými sloučeninami

Za nejběžněji využívanou syntézu nanočástic stříbra je považována chemická redukce roztoku stříbrné soli redukčním činidlem, jako je například tetrahydridoboritan sodný (NaBH₄), citrát sodný (C₆H₅Na₃O₇), kyselina askorbová (C₆H₈O₆) [161-163]. Použití silného redukčního činidla, jako je NaBH₄, může vést k formaci malých, monodisperzních částic, na druhou stranu se však řízená syntéza větších částic stává obtížnou. Použití citrátu, jako slabšího redukčního činidla, vede sice k pomalejšímu průběhu redukce, ale k široké velikostní distribuci částic. Řízená syntéza stříbrných koloidních částic může být provedena pomocí dvoustupňového redukčního procesu za účelem kontroly velikosti částic. Při tomto způsobu přípravy se nejdříve aplikuje silné redukční činidlo schopné vyprodukovat malé částice stříbra, které následně narůstají v sekundárním kroku za využití slabšího redukčního činidla [164]. Přestože dochází k nárůstu velikosti částic v sekundárním kroku z 20–45 nm až na 120–170 nm, počáteční sol není reprodukovatelný a výsledné částice jsou značně polydisperzní.

Pro eliminaci použití redukčních činidel, spojovaných s environmentální toxicitou či biologickými riziky, se zájem začal obracet k vývoji "zelené syntézy" koloidních nanočástic stříbra. Jako environmentálně příznivou cestu lze brát syntézu

za použití Tollensova procesu k tvorbě stříbrných částic s řízenou velikostí v jednostupňovém procesu [165]. Základní reakce v tomto procesu zahrnuje redukci diamminstříbrného komplexu glukózou. Filmy s koloidními částicemi stříbra o velikosti v rozmezí 50 až 200 nm a hydrosoly s obsahem nanočástic stříbra řádově 20 až 50 nm byly získány tímto modifikovaným Tollensovým postupem. Velikost připravovaných částic může být také kontrolována použitím rozdílu redoxních potenciálů redukčních činidel a redukovaných iontů stříbra [166]. Tento potenciálový rozdíl může být snadno kontrolován změnou koncentrace komplexotvorného činidla, amoniaku a využitím řady redukujících sacharidů (xylóza, glukóza, fruktóza a maltóza). Tento postup poskytuje stříbrné koloidní částice s kontrolovatelným rozsahem velikostí v rozmezí od 45 až do 380 nm [56].

3.1.2.2. Příprava pomocí ultrazvuku

Působením ultrazvuku při kondenzačních metodách přípravy nanočástic dochází k rozkladu vody za vzniku vodíkových a hydroxylových radikálů. Tyto radikály pak náslenou reakcí za přítomnosti organických aditiv poskytují radikály organické, které v systému působí jako redukční činidla. Nanočástice stříbra mohou být připraveny pomocí ozařování ultrazvukem o frekvenci 200 kHz z vodných roztoků AgClO₄ nebo AgNO₃ o koncentracích 10⁻³–10⁻² mol·dm⁻³. Jestliže reakce probíhá v přítomnosti přídavku surfaktantů, rychlost redukce je adekvátní a systém připravených koloidních částic stříbra vykazuje stabilitu proti agregaci po několik měsíců.

3.1.2.3. Příprava za využití UV záření

Fotochemická metoda přípravy koloidních částic za pomoci UV záření poskytuje částice podobných vlastností jako radiolytická metoda. Předností této metody je však jednoduší a levnější experimentální vybavení. Redukce iontů stříbra je v tomto případě způsobena radikály vytvářenými působením UV záření. Reakční směs vyjma obsahu stříbrné soli (např. AgClO₄, Ag₂SO₄, AgNO₃) a případných stabilizátorů, obsahuje také organickou látku, jejíž interakce s UV zářením (rtuťová výbojka; $\lambda = 253,7$ nm) vede ke vzniku požadovaných radikálů [167].

3.1.2.4. Příprava za využití laserového záření

Laserová ablace makroskopického materiálu (např. fólie) je experimentálně jednoduchá a všestranná metoda [168], při jejímž použití vznikají desintegrované kovové nanočástice bez přítomnosti iontů na povrchu, které by mohly významně ovlivňovat další procesy, stabilitu částic a reprodukovatelnost například při SERS měření [169]. Velikost a morfologie připravených částic stříbra může být řízena v závislosti na vlnové délce a intenzitě použitého laserového záření, délce ozařování, použitém rozpouštědle [170,171], přítomnosti dalších příměsí a iontů jako např. chloridů [172] či tenzidů [173] v roztoku [174].

3.2. Nanočástice oxidů železa

3.2.1. Vlastnosti a aplikace nanočástic oxidů železa

Nanočástice magnetických látek patří díky svým vlastnostem k hojně zkoumaným materiálům nanosvěta, a to nejen díky jejich netoxicitě, biokompatibilitě, biodegradabilitě [175,176], ale jak již bylo uvedeno výše, jejich vlastnosti se diametrálně liší, jestliže alespoň jeden z rozměrů se nachází pod 100 nm [177]. Při zachování těchto podmínek se u nich začíná projevovat anomální magnetické chování, k němuž patří například jednodoménovost magnetické struktury a superparamagnetizmus, asymetričnost hysterezních smyček, vysoké hodnoty diferenciální magnetické susceptibility, snížení hodnoty saturační magnetizace, zvýšení koercivity a remanence [178]. Ferimagnetické (resp. superparamagnetické) formy, jako jsou magnetit (Fe₃O₄) a maghemit (γ –Fe₂O₃), dnes patří k nejvíce využívaným zástupcům v bioaplikacích.



Obr. 7: Rozdělení oxidů železa a struktura jednotlivých fází Fe₂O₃. Převzato z [179].

Magnetické nanočástice oxidu železitého či podvojného oxidu železnatoželezitého, jako jsou γ-Fe₂O₃ (maghemit) a Fe₃O₄ (magnetit), často nacházejí využití v mnoha praktických odvětvích lidské aktivity. Jejich dominantní postavení v oblasti technologií a biomedicíny je zaručeno zajímavými magnetickými (např. superparamagnetismus, silná magnetická odezva při nízkých magnetických polích) a biochemickými (např. biologickou rozložitelností, biologickou kompatibilitou) vlastnostmi. Široká škála aplikačního využití magnetických nanočástic Fe₃O₄ a/nebo γ-Fe₂O₃ byla prokázána v nedávných letech, kde tyto magnetické částice mohou působit například jako biologické senzory [180], nosiče léků pro jejich cílené doručování či jako kontrastní látky v nukleární magnetické rezonanci [181], magnetické pigmenty [182], nosiče nanočástic stříbra pro dezinfekci [183], jako adsorbenty pro odstranění nežádoucích kontaminantů (znečišťující látky a/nebo anorganické nečistoty či látky organického původu) [184] či jako katalyzátory při degradaci koncentrovaných fenolických vodných roztoků při nízké teplotě [185] nebo při jimi katalyzované konverzi oxidu uhličitého vedoucí k uhlovodíkům nebo oxidu uhelnatému [186,187]. Heterogenní katalytický systém složený z oxidu železa a přítomnosti mědi bývá pro tyto účely využíván, a to díky vysoké selektivitě a nízké produkci nežádoucích vedlejších produktů reakce [186,188].

Hojně využívané formy oxidů železa, minerály hematit (alfa fáze Fe₂O₃) a magnetit (Fe₃O₄), mohou být považovány za základní suroviny v průmyslové výrobě, a to díky svému častému výskytu a vysokému obsahu železa. Oxidy železa jako takové se nenalézají pouze v horninách a zeminách, v mnoha svých podobách se nacházejí také jako přirozená součást atmosféry, biosféry i hydrosféry. Do relativně početné skupiny oxidů železa, z nichž u větší části složení není dáno jen atomy kyslíku a železa, se řadí také hydratované oxidy, hydroxidy a hydroxid-oxidy železité. K této mnohačlenné skupině sloučenin lze však doplnit i amorfní Fe₂O₃, jenž v možnostech praktického využití nachází také své uplatnění [189].

3.2.2. Vlastnosti jednotlivých polymorfů Fe₂O₃

Alfa a gama fáze oxidu železitého makroskopického a nanočásticového charakteru, jsou považovány za přírodní sloučeniny, které však lze syntetizovat pomocí různých chemických cest. Na druhou stranu beta a epsilon fáze a amorfní Fe₂O₃ jsou vzácné formy oxidu železitého, jež se nevyskytují běžně v přírodě a lze je laboratorně připravit v nanočásticové podobě. Jejich syntéza je však dosti náročná, především v případě nutnosti připravit oxidy v čisté podobě, bez přítomnosti dalších forem oxidů jako příměsí. Navíc tyto teplotně nestabilní fáze Fe₂O₃ se s navýšením teploty velmi snadno transformují na jinou, termodynamicky stabilnější formu oxidu železa [178].

3.2.2.1. Hematit (α-Fe₂O₃)

Označení červenohnědého minerálu – hematit, pochází z řeckého jazyka (haima – krev) a zcela vystihuje jeho zabarvení. Nachází se v horninách i půdách a je schopný vytvořit rozličnou řadu vzhledově odlišných odrůd s častým obsahem různých příměsí (titan, hořčík či hliník). Alfa fáze oxidu železitého má romboedricky centrovanou hexagonální strukturu (obr. 8) s nejtěsnějším šesterečným uspořádáním iontů O²⁻, jejichž vrstvy jsou rovnoběžné s rovinou (001). Železité ionty Fe^{III} jsou pravidelně rozmístěny ve dvou třetinách oktaedrických dutin

(jedna vakantní pozice následuje vždy po dvou obsazených). Grupa symetrie, do níž náleží, nese označení R $\overline{3}$ c, s mřížkovými parametry a = b = 0,5035 nm, c = 1,375nm a $\gamma = 120^{\circ}$.



Obr. 8: Krystalová struktura hematitu (α-Fe₂O₃). Převzato z [178].

Hematit se za normálních podmínek projevuje slabou feromagnetickou odezvou (antiparalelní orientací spinů se vzájemnou odchylkou cca 5°), pokud se ale dostaneme k teplotě přibližně 260 K, pozorujeme jev, který se nazývá Morinův přechod a teplota Morinova, $T_{\rm M}$. Při dosažení této teploty dochází k přeorientování a přesnému antiparalelnímu uspořádání spinů podél osy gradientu elektrického pole a materiál se stává antiferomagnetickým. Je-li ale vzorek hematitu vystaven dostatečně vysoké teplotě (přibližně 950 K), orientace spinů ztrácí díky teplotním fluktuacím svůj řád a zkoumaná látka se stává paramagnetickou. Morinova teplota závisí na velikosti částic, mřížkových defektech, pnutí, odchylkách od stechiometrie, substituci kationtů, morfolofii a povrchových jevech. Pokud se teplota přiblíží k hodnotě vyšší, než je Morinova, k tzv. Néelově teplotě ($T_{\rm N}$), hematit ztrácí své magnetické uspořádání a přechází ze slabě feromagnetického do paramagnetického stavu.

Důsledkem zmenšování rozměru částic hematitu pod 10 nm se výrazně krátí relaxační čas, přičemž může být pozorován jev zvaný superparamagnetismus [190,191]. K opětovnému návratu, tudíž vymizení superparamagnetického chování, může dojít až po snížení teploty pod tzv. blokovací teplotu (T_B), kdy teplotní fluktuace již nejsou dostačujícím faktorem k překonání energetické bariéry, za kterou jsou vektory magnetického momentu fixovány v jednom směru.

Alfa fáze Fe₂O₃ nachází široký aplikační potenciál při uplatnění v mnoha oblastech a odvětvích, jako například při katalytických reakcích, v mineralogii či biologii. Aktivity a selektivity této fáze oxidu železitého se využívá také ve Fischer-Tropschově katalytické syntéze uhlovodíků z prekurzorů reakce CO a H₂. Tenkých nanometrových filmů s α-Fe₂O₃ se využívá jako elektrod v tzv. Grätzelových celách, jež napomáhají generaci elektrické energie při štěpení vody za použití solární energie [192].

3.2.2.2. β-Fe₂O₃

Existence β -fáze Fe₂O₃ byla prvně reportována Bonnevie-Svedsenem v roce 1958. Reakce s vodní parou vedla k hydrolytickému rozkladu chloridu železitého a vzniku nové fáze oxidu železitého s difraktogramem podobným s β -Mn₂O₃. Tato shoda vedla objevitele k návrhu pojmenování β -Fe₂O₃ pro tento nový typ oxidu.

Jeho článku si však nevšimli Braun a Gallagher a v roce 1972 odpublikovali metodu syntézy nové fáze oxidu železitého dehydroxylací β -FeOOH, akaganéitu, při 165-170 °C za vysokého vakua. Porézní tubulární akaganeitové krystaly byly připraveny hydrolýzou zředěného roztoku chloridu železitého a obsahovaly velké kanály, jež umožňovaly rozložení oxid-hydroxidu na oxid, a to tak, že voda unikala z pevné látky s nepatrným narušením mřížky. Autoři následně uvedli, že difraktogram nové struktury byl pozoruhodně podobný difraktogramu β -FeOOH, což bylo důvodem, proč také nová sloučenina získala název β -Fe₂O₃.

Beta fáze oxid železitého ve vysokém vakuu vykazovala stabilitu až do 200 °C, po dosažení této teploty bylo však možné pozorovat úbytek kyslíku vedoucí k syntéze Fe₃O₄. Po zahřátí v atmosféře vzduchu či kyslíku nedocházelo k odnětí kyslíku a struktura oxidu zůstávala stabilní až do 400 °C [193]. Carraro a kol. [194] studoval syntézu vrstev β -Fe₂O₃ a ϵ -Fe₂O₃ nanesených na různých substrátech metodou chemického vylučování parou. Tvorba požadované fáze závisí na podmínkách přípravy. Stříbrné pyramidové krystaly β -fáze byly vytvořeny při 773 K v atmosféře kyslíku, krystaly s ε -fází oxidu měly tvar nanotyčinek. Vzhledem k tomu, že nárůst teploty o 100 °C vedl k fázové transformaci na hematit pouze v systémech ε , autoři za těchto podmínek prokázali vyšší stabilitu β -fáze ve srovnání s ε -Fe₂O₃ [194]. Ikeda a kol. [195] uvádějí přípravu čisté β -fáze ze směsi Fe₂(SO₄)₃ a NaCl zahřáté na 500 °C. Významný příspěvek k tomuto tématu přinesl Danno a kol. [196], kteří odpublikovali přípravu malých částic β -Fe₂O₃ ze směsi NaFe(SO₄)₂ s NaCl v různých molárních poměrech zahřívaných na 350 a 500 °C po dobu jedné hodiny. Rozklad byl studován za použití diferenciální termogravimetrické analýzy.

β-fáze Fe₂O₃ krystalizuje v kubické prostorově centrované soustavě s mřížkovými parametry a = b = c = 9.393 Å a $\alpha = \beta = \gamma = 90^{\circ}$ popsatelné v rámci prostorové grupy Ia3 [178,179]. Z magnetického hlediska se beta fáze oxidu železitého nachází při pokojové teplotě v paramagnetickém stavu, ale pod *Néelovou* teplotou $\approx 100-120$ K přechází do stavu antiferomagnetického. Beta fáze oxidu železitého je metastabilní a při teplotě nad 500 °C (930 °F) přechází do alfa fáze Fe₂O₃ a je velmi obtížné ji syntetizovat v čisté formě bez příměsi jiných polymorfů Fe₂O₃ [197].

3.2.2.3. Maghemit $(\gamma - Fe_2O_3)$

 γ – fáze, obvykle známá jako maghemit, je červenohnědý minerál s krychlovou strukturou. V přírodě jej nacházíme jako produkt při zvětrávání magnetitu, jeho struktura isostrukturní s magnetitem, rozdílem však je, že všechny nebo většina atomů železa přítomny v oxidačním stavu (III) a náboj je kompenzován volnými kationty. Maghemit může existovat ve třech různých strukturách, a to v závislosti na uspořádání volných míst. Pokud jsou vakance v krystalu náhodně rozloženy, za prostorovou skupinu je považována Fd3m, typické pro spinel; jednotková buňka je krychlová, s parametrem mřížky mřížkovými parametry: a = b = c = 8,3515 Å a $\alpha = \beta = \gamma = 90^{\circ}$) [198] a nachází se zde 32 atomů kyslíku, 21 1/3 iontů železa (III) a 2 1/3 vakancí v jednotkové buňce. Osm kationtů zaujímá čtvercové lokality, zbývající kationty jsou náhodně rozmístěny po oktahedrálních pozicích. Jestliže je maghemit připraven v podobě malých částic, distribuce volných míst je obvykle náhodná a struktura se nachází v prostorové grupě Fd3m. Uspořádání vakancí vede ke kubické prostorové grupě P4₃32. Struktura je někdy popisována jako tetragonální s prostorovou grupou P4₁2₁2, kde se tetragonální jednotka ztrojnásobí podél osy c [178].



Obr. 9: Pohled na strukturu γ – fáze oxidu železa ze směru osy *c*. Převzato z [199].



Obr. 10: Struktura maghemitu pozorována ze směru osy *c* (na levo) a ze směru osy *a* (na pravo). Převzato z [198].

 γ -Fe₂O₃ při pokojové teplotě vykazuje ferrimagnetické chování. Pozice železa ve dvou různých místech kationu ve struktuře – tetraedrální a oktaedrální – vedou k vytvoření dvou antiparalelních magnetických podkladů. Curieho teplota prozatím nebyla odhadnuta kvůli přeměně na hematit při teplotách nad 500 °C [178].

Budeme-li zmenšovat rozměr materiálu γ -Fe₂O₃ až pod \approx 166 nm, chování nanočástic γ -Fe₂O₃ počne být dominantně řízeno kvantovými jevy projevujícími se jednodoménovostí nanočástic a výskytem superparamagnetismu. Navíc, klesne-li rozměr nanočástic γ -Fe₂O₃ pod \approx 15 nm, začínají se objevovat povrchové jevy způsobující výskyt parazitního jevu spinového sklánění, který degraduje aplikačně příhodné vlastnosti nanočástic γ-Fe₂O₃.

Ze všech polymorfů Fe₂O₃ skýtá maghemit největší aplikační potenciál především v důsledku významných magnetických vlastností (silná magnetická odezva ve vnějších magnetických polích a superparamagnetismus při relativně velké velikosti nanočástic).

3.2.2.4. ε-Fe₂O₃

Tato fáze byla poprvé popsána v roce 1934 Forestier & Guillot-Guillainem. Její struktura byla nejprve považována za monoklinickou, později byla popsána orthorhombická struktura s prostorovou grupou Pna2₁, isostrukturální s AlFeO₃ a κ -Al₂O₃ (mřížkové parametry: a = 5.0950 Å, b = 8.7890 Å, c = 9.4370 Å a $\alpha = \beta = \gamma$ $= 90^{\circ}$) [178]. Atomy železa zaujímají čtyři různé pozice, tři s oktaedrální a jednu s tetraedrální symetrií, přičemž jednotková buňka je bez vakancí. Všechny kationty polyédru jsou zdeformovány, což je důvodem pro zajímavé magnetické vlastnosti [200].

Na obr. 11 lze pozorovat čtyři tetraedrální ionty Fe³⁺. Ostatní kationty zaujímají oktaedrální pozice. Na jednu jednotku buňky existuje 8 vzorových jednotek [201].



Obrázek 11: Struktura ɛ-fáze při pohledu ve směru osy a. Převzato z [201].

Magnetické chování stále není plně pochopeno. Při pokojové teplotě se fáze ε chová buď jako kolineární ferrimagnet, nebo jako nakloněný antiferromagnet [200]. Ferrimagnetická struktura má koercitivní pole 2 T a Curieho teplotu 495 K. Tato
vysoká hodnota koercitivity při pokojové teplotě je strategickým prvkem pro záznamová média a pro použití v laditelných elektrických/magnetických polích nebo více-úrovňových paměťových zařízeních [194]. Při přibližně 110 K fáze dochází k magnetickému přechodu, což vede k úplné ztrátě koercivity. Při teplotách pod 80 K se koercivita zvyšuje na přibližně 0,4 T. U 9 K se chová jako nekolineární ferrimagnet [202].

3.2.3. Magnetit (Fe₃O₄)

Černě zbarvený magnetit, je obvyklý, volně se v přírodním prostředí vyskytující minerál, jež se vyznačuje silným magnetickým chováním a značeným šestým stupněm na stupnici tvrdosti [178].

Fe₃O₄ se při pokojové teplotě vyznačuje inverzní kubickou spinelovou strukturou (obr. 12) [203]. Zatímco všechny materiály typu spinel mají uspořádání $X^{2+}Z^{3+}{}_{2}O^{2-}{}_{4}$, inverzní spinel má polovinu druhů Z obsazující tetrahedrální lokality, zatímco druhá polovina sdílí oktahedrální lokality s druhy X. Fe₃O₄ může být napsán jako (Fe³⁺)_A (Fe³⁺Fe²⁺)_BO²⁻₄ [204], kde podle konvence jsou místa A tetraedrická a B jsou místa oktahedrická. Atomy železa v místech A budou obklopeny 4 atomy kyslíku, zatímco atomy Fe²⁺ a Fe³⁺ v místech B budou obklopeny 6 atomy kyslíku [205,206].



Obr. 12: Krystalová struktura magnetitu. Převzato z [207].

Verweyho přechod

U objemného magnetitu (Fe₃O₄) dochází k přechodu (mezi 119 K-122 K) při zvyšujícím se měrné odporu oxidu železa a se snižující se teplotou [208]. Verwey sám věřil, že je to způsobeno poklesem "přeskakování elektronů" [209] při přiblížení se k nižším teplotám. Jak již bylo uvedeno výše, Fe_3O_4 má Fe^{2+} i Fe^{3+} na stejném krystalografickém místě; Verweyho návrh byl, že na B-místě je přeskakující elektron mezi dvěma ionty Fe^{3+} . Tepelná energie z okolního prostředí při vyšších teplotách poskytuje energii k překonání "skákací" bariéry. Při nižších teplotách, jelikož je zde méně tepelné energie, se bariéra stává zakázanou vůči přeskoku elektronů, což zvyšuje odpor magnetitu. Vzhledem k těmto přeskokům může být považován preferovanější zápis strukturního vzorce Fe_3O_4 jako $(Fe^{3+})_A(2Fe^{2.5})_BO^{2-4}$ namísto $(Fe^{3+})_A(Fe^{3+}Fe^{2+})_BO^{2-4}$ [209].

Pokud nahlédneme do magnetických vlastností magnetitu, tento materiál je popsán jako ferrimagnetický (Obr. 13) s Currierovou teplotou $Tc \approx 858$ K a magnetickým momentem 4 μ B je dán Fe²⁺ ionty v 8 oktaedrických pozicích [178]. Magnetit se prokazuje vysokou hodnotu saturační magnetizace, která dosahuje hodnoty \approx 90 Am2/kg. Se zmenšujícím se rozměrem magnetitu, počet domén klesá, až rozměr dosáhne své kritické hodnoty velikosti a částice Fe₃O₄ se začne chovat jako jednodoménová. U částic magnetitu může být kritická hranice nalezena přibližně okolo 128 nm. Doprovodným jevem jednodoménovosti se u takto malých částic projevuje ještě další důležitý kvantový jev, a to superparamagnetismus.



Obr. 13: Magnetické momenty znázorněné uvnitř ferrimagnetického materiálu. Převzato z [211].

Superparamagneticky chovající se materiál je materiál, který prokazuje paramagnetické chování pod Curieho teplotou. Superparamagnetismus může existovat ve velmi malých ferro/ferrimagnetických částech, které mají magnetické momenty, jež se kontinuálně převrací o 180° [212]. Průměrná doba mezi překlopením se nazývá Néelův relaxační čas [213]. Tyto dva antiparalelní směry mají

stabilní orientaci magnetických momentů a také definují jejich snadnou osu magnetizace. Néelova relaxace nastává díky nízké energetické bariéře ve srovnání s kT (Rovnice 3), což vede k nižší energetické bariéře [214]. Tato energetická bariéra může být dána:

$$E = KV \tag{2}$$

kde V je objem částic. Zjednodušeně lze vidět, že čím menší jsou částice, tím menší je energie potřebná k překonání energetické bariéry. V důsledku toho mohou některé superparamagnetické částice převracet právě vlivem okolní pokojové teploty. V návaznosti na Néelovu teorii superparamagnetismu [215], relaxační čas částic τ_N , o objemu *V*, magnetickou anizotropií *K*, *k* Boltzmannovou konstantou a teplotou *T*, mohou být popsány Néelovým vztahem:

$$\tau_N = \tau_0 exp(kV|kT) \tag{3}$$

 τ_0 je charakteristický relaxační čas, který je specifický pro každý materiál a trvá 10^{-11} - 10^{-9} sekund. Z této rovnice lze snadno vidět, že u částice s velmi malým objemem se relaxační čas τ_N snižuje.

3.2.4. Příprava nanočástic oxidů železa

Způsob přípravy má významný vliv na velikost, tvar, velikostní distribuci a povrchovou chemii magnetických nanočástic a také na jejich aplikační potenciál. 3 Syntetizace magnetických nanočástic s řízenou velikostí a tvarem byla vždy výzvou.

3.2.4.1. Koprecipitace

Způsob koprecipitace je nejslibnější metodou díky své jednoduchosti a produktivitě [216], široce používán v biomedicínských aplikacích kvůli snadné implementaci a potřebě méně nebezpečných materiálů a postupů [217]. V této metodě se částice oxidu železa vyrábějí stárnutím stechiometrické směsi železných a železitých solí ve vodných médiích [218]. Velikost, tvar a složení částic závisí na použitých solích, poměru Fe³⁺ a Fe²⁺, pH roztoku, teplotě a iontové síle media [219]. Chemická reakce tvorby Fe₃O₄ může být napsána jako:

$$Fe^{2+} + 2OH^{-} \rightarrow Fe(OH)_2$$

 $Fe^{3+} + 3OH^{-} \rightarrow Fe(OH)_3$

$$Fe(OH)_2 + 2 Fe(OH)_3 \rightarrow Fe_3O_4 + 4H_2O_3$$

Podle termodynamiky této reakce je třeba očekávat úplné vysrážení Fe₃O₄ mezi pH 9 a 14, přičemž molární poměr Fe³⁺:Fe²⁺ je 2:1 v neoxidujícím bezkyslíkovém prostředí [220]. Fe₃O₄ není příliš stabilní a může být oxidována na γ -Fe₂O₃ za přítomnosti kyslíku. Reakce může být napsána jako:

$$Fe_{3}O_{4} + 0.25O_{2} + 4.5H_{2}O \rightarrow 3Fe(OH)_{3}$$
$$2Fe(OH)_{3} \rightarrow \gamma - Fe_{2}O_{3} + 3H_{2}O$$

Aby se zabránilo této oxidaci na vzduchu, je potřeba zajistit prostředí bez přístupu kyslíku. Takové podmínky mohou být zajištěny průchodem dusíku přes daný roztok. Dusíkový roztok může nejen zabránit oxidaci, ale může také snižovat velikost částic [221].

Proces koprecipitace je řízen dvěma kroky, kde se nejdříve v médiu začínají vytvářet malá zárodečná jádra (koncentrace částic dosáhne kritické hodnoty přesycení), následující růstem krystalu. V pozdějším kroku, rozpouštěné látky difundují na povrch krystalu a tato část procesu je řízena přenosem hmoty. Pro syntézu nanočástic musí být oba tyto kroky odděleny, jelikož by se například nukleace neměla vyskytovat v průběhu kroku růstu krystalů [222].

3.2.4.2. Hydrotermální metody

Metody hydrotermální syntézy jsou reakce, jež se provádějí ve vodných médiích v reaktorech či autoklávech a reakční teplota musí přesáhnout 200 ° C a hodnota tlaku vyšší než 138 bar [223,224]. Existují dvě hlavní cesty pro tvorbu feritů prostřednictvím hydrotermálních podmínek: hydrolýza a oxidace nebo neutralizace směsných hydroxidů kovů. Obě reakce si jsou velmi podobné, vyjma toho, že v první metodě se používá jako prekurzoru železné soli [225]. Průběh této reakce je ovlivněn typem rozpouštědla, teplotou a časem [226]. Velikost vznikajících částic se zvyšuje, jestliže navýšíme dobu reakce a množství vody v systému. Tvorba částic nastává ve dvou krocích: nukleace a růst krystalů. Při vyšších teplotách je proces nukleace rychlejší než růst krystalů, takže velikost částic klesá. Při delším reakčním čase dominuje růst krystalů, takže se tvoří větší částice.

3.2.4.3. Vysokoteplotní rozklad organických prekurzorů

Rozklad prekurzorů železa v přítomnosti horkých organických povrchově aktivních látek je schopen produkovat nanočástice oxidů železa s dobře kontrolovatelnou velikostí, úzkou velikostní distribucí, optimální krystalinitou a vhodným rozptylem částic [227]. Mezi prekurzory železa patří například pentakarbonyl železa, Fe(CO)⁵ či acetylacetonát železitý, Fe(acac)³. Rozklad karbonylu železa v přítomnosti oktyléteru a kyseliny olejové při 100 °C může například produkovat oleát železitý. Po ochlazení na laboratorní teplotu a přídavku (CH₃)₃NO se roztok zahřívá k varu pod zpětným chladičem [227]. Rozklad pentakarbonylu železa za přítomnosti kyseliny olejové a stárnutí při teplotě 300 °C může způsobit tvorbu nanočástic magnetitu s velmi dobrou krystalinitou a velikostí částic v rozmezí od 4 do 16 nm [227]. Při tomto způsobu syntézy je velikost a tvar částic určena reakčním časem, teplotou, použitými prekurzory, koncentracemi, poměry reakčních složek a rozpouštědlem. Povrchově aktivní látka na povrchu částic se používá k stabilizaci koloidního roztoku.

3.2.4.4. Metody sol-gel

Proces sol-gel je mokro-chemická technika a je založen na hydrolýze a kondenzování prekurzorů v koloidním roztoku (sol). Systém kovového oxidu (gel) je vytvořen odstraněním rozpouštědla nebo chemickou reakcí. Koloidní gel se vytváří katalýzou v zásaditém prostředí; polymerní forma gelu je produkována kyselou katalýzou [228]. Rychlost hydrolýzy a kondenzace jsou velmi důležitými parametry ovlivňujícími vlastnosti vyrobených částic. Nižší a kontrolovaná rychlost hydrolýzy může produkovat menší částice. Velikost částic také souvisí s rozpouštědlem, koncentrací, pH a teplotou [229].

Po tepelném zpracování gelu při 400 °C se vytvoří částice γ -Fe₂O₃ o velikosti od 6 do 15 nm [230]. Metoda umožňuje předurčení struktury částic podle experimentálních podmínek. Pomocí této metody mohou být nanočástice γ -Fe₂O₃ potaženy v inertní, anorganické, transparentní a teplotně odolné matrici křemíku [231].

3.3. Nanočástice mědi

3.3.1. Vlastnosti a aplikace nanočástice mědi

Částice mědi lze díky jejich vlastnostem a relativně nízké ceně mědi využívat v optických, či elektronických zařízeních a elektrických obvodech [232,233]. Nanočástice mědi jsou také studovány vzhledem k jejich velkému potenciálnímu využití jakožto katalyzátory či maziva [234,235].

Možnost produkovat kovové nanočástice s řízenou velikostí a tvarem je důležitou schopností pro studium jejich fyzikálních vlastností. Při přípravě nanočástic v laboratorním prostředí působí na strukturu, tvar a velikost částice okolní vlivy, jako například teplota, pH, tlak, vlhkost i použité chemikálie. Nanočástice mědi jsou velmi nestabilní i při přípravě ve vodném prostředí, a proto je nutné použití stabilizátorů. Mezi různými kovovými nanočásticemi se dostalo nanočásticím mědi velké pozornosti, protože měď je mnohem levnější než stříbro nebo zlato [236]. Vlastnosti nanočástic mědi nalezly uplatnění v katalýze, [232] jako chladící média pro elektronické systémy [233] či jako vodivé inkousty [237]. Navíc můžeme říct, částice mědi v nanometrickém měřítku vykazují ve viditelné oblasti významnou rezonanci lokalizovaného povrchového plazmatu stejně jako nanočástice stříbra či zlata [238]. Nicméně hlavní nevýhodou omezující rozšířenému použití Cu NPs je jejich tendence se okysličovat, a tudíž například literatura o syntéze nanočástic mědi s kontrolovanou velikostí a tvarem je méně vyvinutá než literatura zaměřená na Ag nebo Au NPs.



Obr. 14: (a) ilustrativní modelové znázornění nanočástic mědi a (b) TEM snímek nanočástic. Převzato z [239].

3.3.1.1. Magnetické vlastnosti nanočástic mědi

Nanočástice mědi vykazují při pokojové teplotě trvalé magnetické vlastnosti a vysoké magnetické momenty. Rozdíl mezi magnetickými momenty nanočástic zlata a stříbra od nanočástic mědi je vysvětlován možnou oxidací nanočástic mědi, kde k tomuto jevu dochází při vyšší stabilitě oxidu oproti částicím mědi [240].

Kolektiv vědců J. S. Garitaonandia se zabýval studiem magnetických vlastností ultramalých nanočástic ušlechtilých kovů – mědi, zlata [241] a stříbra. Předmětem jejich zájmu byly nanočástice mědi o průměrné velikosti pod 4 nm, kdy právě Cu NPs vykazovaly při pokojové teplotě trvalý magnetismus. Výsledný magnetický moment byl pak ovlivňován diamagnetickým Cu₂O a antiferomagnetickým CuO.

Jestliže se zaměříme na thiolem modifikované Cu NPs, tyto nanočástice vykazují vysokou místní anisotropii a magnetismus takovýchto částic se nemění ani při teplotách nad 300 K. Orbitální pohyb elektronů kolem povrchu a mezičásticový přenos náboje mezi částicí a atomy síry z thiolové skupiny (přenos zodpovědný za vznik kovalentní vazby) může být považován za zdroj vysokého anisotropního orbitálního momentu [242].

3.3.1.2. Antibakteriální účinky nanočástic mědi

Antibakteriální schopnosti nanočástic přináší benefit při jejich působení proti vzniku, případně dalšímu rozmnožování, bakterií. Použití nanočástic oproti běžným, dnes používaným antibiotikům, skýtají velkou výhodu, jež zvyšuje pravděpodobnost zabránění bakteriím vytvořit si rezistenci vůči jejich působení [243]. Vzniklá rezistence, tedy postupně nabitá odolnost bakterií vůči dávce antibiotik, je považována za čistě nežádoucí projev působení, za čímž se může skrývat nebezpečí v podobě postupně se zvyšujího a častého dávkování léku, což může mít za následek vedlejší závažné zdravotní komplikace.

Antibakteriální vlastnosti kovových nanočástic jsou přičítány především jejich velkému specifickému povrchu a velikosti, díky níž mohou procházet póry v membráně (kolem 3-4 nm) a navázat se na životně důležité enzymy bakterie. Funkčnost enzymů je následně omezena a dochází k buněčné smrti [244].

Tato fakta jsou předpokladem k interakci s mikrobiální membránou [245]. Antibakteriální vlastnosti Cu NPs jsou také podporovány přilnavostí nanočástic k bakteriím díky jejich opačně nabitým elektrickým nábojům, což vede ke snížení počtu reakcí na buněčné stěně bakterií [246]. Těchto specifických vlastností lze využít například v lékařství, kde nanočásticemi mohou být potaženy povrchy nástrojů, při čistění odpadních vod či na zařízení pro zpracování potravin [245]. Jestliže nanočástice mědi zakomponujeme do anorganické matrice, nanokompozity mohou být pak použity jako baktericidní činidla v nátěrech nemocničních zařízení, či na veřejných místech se zvýšeným rizikem bakteriálního růstu apod. [247].

3.3.1.3. Katalytické účinky nanočástic mědi

Nanočástice mědi jsou zkoumány také v rámci studia jejich katalytických vlastností při různých chemických transformacích. Reakce katalyzované nanočásticemi mědi jsou výhodnější ve srovnání s konvenčně katalyzovanými reakcemi, a to díky několika benefitům jako jsou např. potřeba nižšího užitého množství, vysoká hospodárnost, lepší výtěžky, nižší náklady, kratší reakční časy a recyklovatelnost katalyzátoru. Z mechanistického hlediska bylo prokázáno, že většina transformací probíhá prostřednictvím tvorby organokovových meziproduktů (C-Cu-X) během interakcí s nanočásticemi kovu [248].

Katalytická účinnost nanočástic mědi byla například diskutována v případě redukce 4-nitrofenolu přebytkem NaBH₄ jako modelového katalytického systému. Tato modelová reakce [249,250] se často používá k vyhodnocení katalytické aktivity různých kovových nanočástic včetně stříbra [251,252], zlata [253], palladia [254] a platiny [255]. Pro tento typ katalyzované reakce byly nanočástice mědi připraveny redukcí měď natých iontů tetrahydridoboritanem sodným v přítomnosti sodné soli kyseliny polyakrylové o molekulové hmotnosti 1200 (NaPA 1200). Průměrná velikost připravených Cu NPs se pohybovala v rozmezí 2,5-3 nm. V závislosti na vstupní koncentraci mědi a koncentraci dodatečně přidaného polyakrylátu sodného k disperzi částic Cu, primárně vytvořené nanočástic o průměrné velikosti 20 až 100 nm. Množství dodatečně přidaného polyakrylátu či šiřičitanu sodného [256] ovlivňuje stabilitu částic mědi proti oxidaci vzduchem [257].

3.3.2. Příprava nanočástic mědi

V případě syntézy nanočástic mědi, mezi popsané způsoby přípravy Cu NPs patří například tepelný rozklad prekurzorů [258], redukce mikroemulze a reverzních

micel [259], polyolový proces [260], chemická redukce [261], sonochemická redukce, redukce za využití UV záření [262], γ záření [263], mikrovlnného záření [264], laserovou ablací [265] či termickým rozkladem [266] (podrobnější popis principu některých zmíněných příkladů přípravy nanočástic již byly zmíněny v kapitole 3.1.2. Příprava nanočástic stříbra). Nicméně většina stávajících metod syntézy Cu NPs je schopná produkovat částice o velké polydisperzitě (\geq 20 %) nebo velikosti nanočástic větší než několik desítek nm. Mnoho výzkumných skupin pracuje na stabilizaci nanočástic mědi proti oxidaci někdy na úkor kontroly velikosti a tvaru [267]. Úzká velikostní distribuce je však klíčovým parametrem při získávání reprodukovatelných a kontrolovatelných chemických a fyzikálních vlastností nanoobjektů [268]. Navíc se nanočástice s úzkou distribucí velikosti samoorganizují v 2D a 3D supermřížkách v dlouhém rozsahu [269].

3.3.2.1. Chemická redukce

Chemická redukce měďnatých iontů se často využívá jako vhodná příprava nanočástic mědi. Výhodou tohoto procesu je schopnost jeho řízení především volbou redukčního činidla, čímž můžeme docílit požadované morfologie a velikosti. Při redukci měďnatých iontů se hojně využívají anorganická činidla, jako jsou hydrazin[270] či tetrahydridoboritan sodný[271], ale i organická činidla jako například citrát sodný či kyselina askorbová [272] a formaldehyd.

Redukce Cu²⁺ iontů pomocí silného anorganického redukčního činidla NaBH₄ může být provedena jak ve vodném, tak organickém prostředí. V případě syntézy v organickém rozpouštědle, ionty mědi jsou převedeny do n-heptanu, k čemuž slouží bis(ethylhexyl)hydrogen fosfát (HDEHP), který se absorbuje na povrchu nanočástic a působí jako jejich stabilizátor proti vzdušnému kyslíku. Organického redukčního činidla se využívá např. kyseliny askorbové, jež zastává roli také antioxidačního činidla, abychom eliminovali vnos dalších látek do systému [272].

3.3.2.2. Sonochemická redukce

Pro redukci měďnatých iontů lze využít také ultrazvukové lázně, kde působením ultrazvuku ve vodném prostředí vznikají hydroxylové a vodíkové radikály, jež stojí za samotnou redukcí iontů mědi za vzniku nanočástic mědi. Sonochemická redukce může probíhat ve vodném prostředí na hydrazin karboxylátu měďném v atmosféře argonu. Tímto způsobem získáváme nejen nanočástice mědi, ale také oxidu měďného, za jehož vznikem stojí částečná oxidace Cu NPs peroxidem vodíku, který vzniká sekundárně během sonochemického procesu rozkladu vodného prostředí [273].

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Chemikálie

Pro účely této disertační práce byla využity následující chemikálie: Dusičnan stříbrný (99.9%, Tamda), sodná sůl kyseliny polyakrylové (MW 8000, 45% vodný roztok, Sigma-Aldrich), amoniak (p.a., 28% vodný roztok, Sigma-Aldrich), hydroxid sodný (p.a., Sigma-Aldrich), D(+)-maltóza monohydrát (p.a., Riedel-de Haën), chlorid železnatý tetrahydrát (99%, Sigma-Aldrich), chlorid železitý bezvodý (99%, Sigma-Aldrich), Fe_xO_y nanočástice (RCPTM), HAsNa₂O₄·7H₂O (p.a., Sigma-Aldrich), HCl (35%, p.a., Penta), methylceluloza (MW 40000, prášek, viskozita 400 cP, Sigma-Aldrich), Tween 80 (Sigma-Aldrich), síran měďnatý pentahydrát (≥99%, Penta), hydrazin hydrát (p.a., 24-26%, Sigma-Aldrich), sada standardů mědi (Cu folie, oxid měďný, oxid měďnatý, chlorid měďný, chlorid měďnatý, hydroxid měďnatý, sulfid měďnatý, uhličitan měďnatý, síran měďnatý, vše ≥90%, Sigma-Aldrich), sada standardů železa (Fe folie, chlorid železnatý, chlorid železitý, oxid železnatý, oxid železitý, podvojný oxid železitý (Magnetit), sulfid železnatý, síran železnatý, šťavelan železnatý, octan železnatý, karbonyl železa, karbid železa, vše \geq 90%, Sigma-Aldrich), oxid uhličitý (g) (10% v He, Airgas), vodík (g) (3,5% v He, Airgas), methanol (g) (1% v He, Airgas), oxid uhelnatý (g) (10% v He, Airgas), voda (g) (500 ppm v He, Airgas), benzen (g) (400 ppm v He, Airgas), methan (g) (3% v He, Airgas).

4.2. Biologické materiály

Pro antimikrobiální testy byly využity následující sbírkové bakteriální kmeny obdržené z České sbírky mikroorganismů, Česká republika, (Masarykova univerzita, Brno, ČR): *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Escherichia coli* CCM 3954 a *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955. Pro testovací účely byly také izolovány kmeny z klinických materiálů Fakultní nemocnice Olomouc, ČR: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* 879, *Staphylococcus epidermidis* 901, methicillineresistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) a ESBL-positivní *Klebsiella pneumoniae* 2486. Antimykotická aktivita byla testována s využitím *Candida albicans* (I a II),

Candida tropicalis a Candida parapsilosis kvasinkových kmenů izolovaných z krve pacientů Fakultní nemocnice Olomouc, ČR, u nichž byla potvrzena sepse kvasinkového původu. Kvasinky byly identifikovány použitím konvenční mykologické procedury: (1) vznik na CHROMagar Candida (CHROMagar Microbiology); (2) mikromorfologie na rýžovém agaru; a (3) asimilačních a fermentačních testů včetně ID 32C soupravy (bioMérieux). Využité mikroorganismy byly kultivovány v Mueller-Hintonově bujonu (Becton, Dickinson and Company) a agarovém kultivačním mediu (Difco, Francie). Zkoušky synergického účinku byly testovány na sbírce antibiotik Ampicillin (AMP), Gentamicin (GEN), Oxolinic acid (OXO), Colistin (COL), Ampicillin/sulbactam (AMS), Tetracyclin (TET), Ofloxacin (OFL), Piperacillin (PIP), Amikacin (AMI), Ciprofloxacin (CIP), Piperacillin/tazobactam (PPT), Chloramphenicol (CMP), Co-trimoxazole (COT), Penicillin (PEN), Erythromycin (ERY), Oxacillin (OXA), Clindamycin (CLI), Cefazolin (CZL), Cefuroxime (CRX), Cefoxitin (CXT), Cefepime (CPM), Cefoperazone (CPR), Ceftazidime (CTZ), Meropenem (MER), Teicoplanin (TEI), Vancomycin (VAN), Aztreonam (AZT). Dulbecco's Modified Eagle Médium (DMEM), fyziologický roztok pufrovaný fosfátem (PBS), 3-(4,5-dimethyl-2thiazolyl)-2,5-difenyl-2H-tetrazolium (MTT, bromid Sigma Aldrich), dimethylsulfoxid (DMSO, Sigma Aldrich).

4.2.1. Antimikrobiální testy

Antibakteriální a antifungální aktivity nanomateriálů obsahujících nanočástice stříbra byly testovány za použití standardní mikrodiluční metody, která umožňuje stanovit minimální inhibiční koncentraci (MIC) antibakteriální látky. Hodnota MIC vyjadřující minimální koncentraci testované látky, která inhibuje růst testovaných bakterií a kvasinek, byla stanovena po 24 hodinách inkubace při 37 °C. Testování bylo prováděno na mikrotitračních destičkách, kdy nanomateriály byly testovány po zředění v geometrické řadě 2 až 128krát přídavkem 100 µL Mueller-Hintonova kultivačního média inokulovaného testovanými bakteriemi a kmenem kvasinek o koncentraci 105-106 CFU·ml⁻¹.

Antibakteriální a antimykotické účinky připraveného hydrogelu byly testovány na agarovém živném mediu. Připravený agar byl přesunut do Petriho misky v laminárním flow boxu. Bakteriální nebo kvasinkové kultury byly aplikovány na předem vytvrdnutý povrch živného média. Do tímto způsobem naočkovaných Petriho misek bylo vyřezáno šest jamek, do nichž bylo aplikováno 100 µL hydrogelu o dané koncentraci stříbrných nanočástic. Po 24 hodinách kultivace při 37 °C byly změřeny kruhové inhibiční zóny vytvořené kolem jamek s aplikovaných hydrogelem indikující antimikrobiální účinnost.

4.2.2. Cytotoxické testy

Cytotoxický účinek nanokompozitů stříbra byl stanoven na buňkách NIH3T3 pomocí testu MTT. Během testu byly buňky inkubovány při 37 °C a pod 5 % CO₂ po dobu 6 hodin. Před zahájením MTT experimentů byl DMEM nahrazen PBS obsahujícím 5 mM glukózu, následně bylo přidáno 20 ml 20mM MTT (rozpuštěno v PBS) a buňky byly inkubovány 3 hodiny při 37 °C pod 5 % CO₂. MTT roztok byl opatrně odstraněn a bylo přidáno 100 µL DMSO, aby se solubilizovaly krystaly formazanové violeti. Absorbance výsledného roztoku byla měřena ve čtecí jednotce Synergy HT při 570 nm a 690 nm. Životnost buněk byla stanovena jako procento životaschopnosti kontrolních buněk (100násobek průměru testovací skupiny/průměr kontrolní skupiny).

4.3. Přístroje a zařízení

Podstatná část instrumentálních technik byla k dispozici na pracovišti Katedry fyzikální chemie PřF UP Olomouc a ve výzkumném centru RCPTM téže fakulty - transmisní elektronová mikroskopie za využití mikroskopu JEM2010 m, vysoko rozlišovací transmisní elektronová mikroskopie (HRTEM TITAN 60-300), EDS elementální mapování (NORAN System 7 X-ray Microanalysis system, Thermo Scientific), prášková rtg-difrakce (PANalytical X'Pert PRO, Holandsko), Mössbauerova spektrometrie v magnetickém poli v konstantním akceleračním módu, supravodivé kvantově interferenční zařízení (SQUID, MPMS XL-7, Quantum Design);, atomová absorpční spektrometrie s plamenovou ionizací (Perkin Elmer 3300, USA), Zeta Potential Analyzer Zeta Plus (Brookhaven Instruments Corporation) pracující na dynamickém rozptylu světla (DLS – Dynamic Light Scattering), absorpční spektrofotometr FA-AAS ContrAA 300 (Analytic Jena AG, Německo), sonikační lázeň Qsonica (Q700 with Ti horn part 4418), Ramanův mikroskop (inVia Reflex, Renishaw, Inc.), hmotnostní spektrometr s ionizací

indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) a laserovou ablací, měření plochy povrchu, Temperature-Programmed Reaction (TPR), multi-detekční mikrotitrační čtečka Synergy HT (BioTek, USA), centrifuga (Biotech, Česká republika). Další zařízení pak byla využita během výzkumné stáže na Argonne Institute, Chicago, USA: X-ray absorption near edge spectroscopy (XANES), Grazing incidence smal angle X-ray scattering (GISAXS),

4.3.1. Experimentální techniky

Snímky z transmisního elektronového mikroskopu (TEM) byly získány pomocí mikroskopu JEM2010 pracující při 200 kV. Kapka velmi zředěné disperze byla aplikována na měřící mřížku potaženou uhlíkem a následně vysušena odpařením při pokojové teplotě.

Rentgenová prášková difrakce (XRD) všech pevných vzorků byla zaznamenána na přístroji PANalytical X'Pert PRO (Nizozemsko) s Bragg-Brentano geometrií s Fe-filtrovaným CoK α zářením (40 kV, 30 mA). Vzorky byly umístěny do nulového pozadí na otáčející se monokrystalovou křemíkovou mřížku, jemně stlačené, aby byla získána tloušťka vzorku asi 0,5 mm a skenovány v 2 θ rozmezí 10-90° v jednotlivých krocích po 0,017°. XRD spektra byla vyhodnocena pomocí X'Pert HighScore Plus software (PANalytical), PDF-4+ a databáze ICSD.

Mössbauerova spektra v nulovém poli byla zaznamenána při 5 a 300 K při konstantním zrychlení se zdrojem 50 mCi ⁵⁷Co (Rh). Vzorky byly umístěny v kryomagnetickém systému (Oxford Instruments) a hodnoty izomerního posunu byly zaznamenány s ohledem na α-Fe při laboratorní teplotě.

Supravodivé kvantově-interferenční zařízení (SQUID, MPMS XL-7, Quantum Design) bylo použito pro magnetická měření. Hysterezní smyčky byly sbírány při teplotě 5 a 300 K ve vnějších magnetických polích od –7 T po +7 T. Křivky magnetizace "zero-field-cooled" (ZFC) a "field-cooled" (FC) byly zaznamenány při vzrůstající teplotě v teplotním rozmezí od 5 do 300 K a vnějším magnetickém poli 0,1 T a při ochlazování v nulovém magnetickém poli a poli 0,1 T, respektive.

Obsah kovů přítomných v nanomateriálech byl stanoven pomocí atomové absorpční spektroskopie s plamenovou ionizací (Perkin Elmer 3300, USA), popřípadě pomocí FA-AAS na přístroji ContrAA 300 (AnalytikJena AG, Německo) s kontinuálním zdrojem světla (xenonová lampa) a dvojitým Echelle monochromátorem s rozlišením 2 pm.

4.4. Příprava nanomateriálů

Všechny níže uvedené nanomateriály byly připraveny v běžných laboratorních podmínkách (25 °C a atmosférický tlak) a dále využívány v určených aplikacích.

4.4.1. Příprava nanočástic stříbra

Koloidní nanočástice stříbra (Ag NPs) s finální koncentrací 108 mg/L Ag byly syntetizovány redukcí $[Ag(NH_3)_2]^+$ komplexního kationtu maltózou. Koncentrace zásobních roztoků činily: AgNO₃ (5·10⁻³ mol/L), NH₃ (0,1 mol/L), maltóza (5·10⁻² mol/L), NaOH (0,24 mol/L). Pro přípravu 25 ml disperze nanočástic stříbra se za stálého míchaní přidávají roztoky v tomto pořadí: 5 ml 5.10⁻³ mol/L AgNO₃, 1,25 ml 0,1 mol/L NH₃, 12,75 ml destilované vody, 1 ml 0,24 mol/L NaOH. Do této reakční směsi se nakonec vpraví 5 ml 0,05 mol/L roztoku maltózy. Redukce reakční směsi probíhá přibližně 3 až 5 minut se zjevnou změnou zabarvení z čirého na medově žlutou barvu disperze.

Disperze Ag NPs s počáteční koncentrací 5 g/L byla připravena redukcí dusičnanu stříbrného pomocí tetrahydridoboritanu sodného v přítomnosti sodné soli kyseliny polyakrylové s molekulovou hmotností 1200 g/mol (NaPA 1200). Navážka 7,87 g dusičnanu stříbrného byla rozpuštěna v 865 ml destilované vody následované přídavkem 10 ml 28 % vodného roztoku amoniaku a 25 ml 45 % roztoku NaPA 1200. Kontinuálně byl připraven čerstvý roztok NaBH₄ a to rozpuštěním 333,3 mg NaBH₄ v 100 ml destilované vody. Celkový objem roztoku redukčního činidla byl vpraven do reakční směsi za intenzivního míchání. Okamžitě po přídavku NaBH₄ se zbarvení disperse změnilo z čiré na tmavě hnědou.

4.4.2. Příprava nanočástic oxidů železa

Nanočástice oxidu železa γ-Fe₂O₃ byly připraveny hydrolýzou směsi solí železa, 172 mg FeCl₂·4H₂O a 280 mg FeCl₃ bezvodého rozpuštěného do 190 ml destilované vody. Množství příslušných solí železa bylo předem kalkulováno na výslednou koncentraci oxidu železa 1 g/L γ-Fe₂O₃. Za intenzivního míchání bylo do směsi solí přidáno 10 ml 10 mol/L NaOH. Zabarvení roztoku se okamžitě po přídavku NaOH změnilo ze žluté do hnědo-černé s viditelnou tvorbou mikrometrových shluků částic. Tato reakční směs byla míchána po dobu jedné hodiny při laboratorní teplotě a následně po dobu jedné hodiny v temperované lázni při 90°C. Po uplynutí požadované doby byla disperze magnetických nanočástic oxidu železa odseparována pomocí vnějšího magnetického pole, několikrát promyta destilovanou vodou a dále zpracovávána dle požadavků na charakterizaci či experimentu.

Nanočástice podvojného oxidu železa Fe_3O_4 – magnetitu, byly připraveny termicky indukovanou transformací α -FeOOH – goethitu, jako prekurzoru, a to v pevné fázi [178,274]. Reakce může být provedena názorně:

 $\alpha - FeOOH \xrightarrow{300 \ ^{\circ}C, vzduch} \alpha - Fe_2O_3 \xrightarrow{400 \ ^{\circ}C, H_2, 1 \ h} Fe_3O_4$

4.4.3. Příprava nanokompozitů Ag@Fe₃O₄, Fe₂O₃@Ag, Cu@Fe₂O₃

Pro přípravu kompozitů Ag@Fe₃O₄ a Fe₂O₃@Ag bylo 20 mg každého vzorku nanočástic oxidu železa, tj. γ-Fe₂O₃ nebo Fe₃O₄, rozdispergováno v 160 ml destilované vody společně s 220 mg 45 % vodného roztoku sodné soli kyseliny polyakrylové o relativní molekulové hmotnosti 8000. Kvůli nutnosti zajištění odpovídající dispergace systému byla směs umístěna do ultrazvukové lázně po dobu 1 minuty. Následně, 20 ml roztoku AgNO₃ o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/L a 0,2 ml 0,1 mol/L vodného roztoku amoniaku byly za konstantního míchání přidány do reakční směsi. Hodnota pH reakčního systému byla následně upravena na hodnotu 11,5 pomocí 0,1 mol/L roztoku NaOH. Nakonec bylo do reakční směsi přidáno 20 ml roztoku redukčního činidla maltózy a směs byla následně míchána po dobu 20 minut. Finální objem směsi činil 200 ml a konečné koncentrace oxidu železa, NaPA 8000, Ag, NH₃ a maltózy byly 100 mg/L, 500 mg/L, 10^{-4} mol/L, 10^{-4} mol/L and $5 \cdot 10^{-3}$ mol/L v takto uvedeném pořadí. Nakonec byl připravený nanokompozit odseparován pomocí vnějšího magnetického pole a několikrát promyt destilovanou vodou.

V případě přípravy kompozitu Cu@Fe₂O₃ byla opět využita chemická redukce podpořená sonikací systému jako efektivní technika pro syntézu kompozitů. 200 mg předem připraveného práškového vzorku nanočástic oxidu železa bylo rozdispergováno v 188 ml destilované vody. Dále byly do systému vpraveny 2 ml předem připraveného 15,7 mmol/L roztoku CuSO₄·5H₂O (výsledná hmotnostní koncentrace v kompozitu je 1 % Cu.) Redukce měďnatých iontů s následnou formací nanokompozitu Cu@Fe₂O₃ byla realizována použitím 10 ml středně silného redukčního činidla, hydrazin hydrátu o koncentraci 4,95 mmol/L a dokončeno sonikací v sonikační lázni po dobu 10 minut při intenzitě odpovídající 25,37 kJ. Touto cestou připravený nanokompozit byl dále promyt vodou, odseparován a vysušen v inertní atmosféře dusíku ve flowboxu. Referenční vzorek byl připraven shodnou metodou, pouze bez přídavku roztoku síranu měďnatého.

4.4.4. Příprava disperze a hydrogelu s obsahem nanočástic stříbra

Pro přípravu disperze a hydrogelu s obsahem nanočástic stříbra pro *in vitro* a také *in vivo* testování byla využita předem připravená disperze o výchozí koncentraci 5 g/L Ag NPs, jejíž příprava byla zmíněna výše v bodě 4.4.1.

Disperze nanočástic stříbra o finální koncentraci 3 g/L byla připravena zředěním požadovaného množství výchozí nanoAg disperze o koncentraci 5 g/L destilovanou vodou. K disperzi 3 g/L Ag byl následně přidán neionický surfaktant Tween 80 na výslednou objemovou koncentraci 1 % pro zajištění efektivnější smáčivosti zkoumaného povrchu.

Další aktivní prostředek určený pro testování antimikrobiální aktivity byl připraven jako methylcelulózový hydrogel s obsahem Ag 25, 50, 100, 200 a 400 mg/kg. Hydrogelový základ byl připraven v laboratorních podmínkách dispergací 4 g methylcelulózy v 60 ml destilované vody o teplotě přibližně 80 °C za intenzivního míchání. Následně byla disperze v horké vodě doplněna destilovanou vodou o teplotě nižší a ochlazena až na teplotu 50 °C. Tento krok vedl k vytvoření kompaktní hydrogelové fáze. Požadované množství výchozí Ag disperze (5 g/L) bylo po částech přidáváno do vytvořeného methylcelulózového hydrogelu až k dosažení finálních koncentrací Ag. Směs hydrogelu a Ag disperze byla míchána při teplotě 50 °C dalších 30 minut k zajištění homogenity systému, poté byla směs ochlazena na laboratorní teplotu a uchována pro následné *in vitro* antimikrobiální testy.

5. BIOLOGICKÉ A ANTIMIKROBIÁLNÍ APLIKACE NANOČÁSTIC STŘÍBRA

5.1. Cílené antibakteriální a antifungální vlastnosti magnetických nanokompozitů oxidů železa a nanočástic stříbra

Magnetické nanokompozity představují jeden z aplikačně nejzajímavějších příspěvků současných nanotechnologických přístupů z hlediska manipulace s nanomateriály. Při vystavení vnějšímu magnetickému poli mohou být tyto nanokompozity cíleně transportovány na určité místo (např. v lidském těle) a mohou tak působit jako účinné nosiče léků. Takovéto nanokompozity mohou být složeny například z nanočástic oxidů železa (Fe₃O₄ a/nebo y-Fe₂O₃) sloužících jako magnetická jádra, která jsou pokryta vrstvou porézních oxidů křemíku, v jejichž pórech jsou uloženy molekuly konkrétního léku [275]. Magnetické nanočástice oxidů železa (Fe₃O₄ a/nebo γ-Fe₂O₃) představují rodinu nejvhodnějších kandidátů na přípravu magnetických nanokompozitů, a to z důvodu jejich vhodných magnetických (např. superparamagnetismus) a biochemických (např. netoxicita, biokompatibilita) vlastností a také nízké ceny. Nanočástice oxidů železa se v současnosti používají jako kontrastní látky při vyšetřování magnetickou rezonancí (MRI) [276]. Další možná aplikace magnetických nanočástic oxidů železa se rýsuje v oblasti léčby rakoviny metodou hypertermie, kde intenzivní zahřívání magnetických nanočástic, generované během jejich cyklické remagnetizace za použití střídavých magnetických polí, je využito k ničení rakovinných buněk a tkání [277].

Nicméně agregační nestabilita magnetických nanočástic způsobená magnetickými a elektrostatickými interakcemi je považována za jeden z vážných problémů při jejich syntéze a zejména při jejich aplikaci v praxi. Aby se zabránilo jejich koalescenci, lze je umístit do vhodné polymerní matrice, která může být

složena například z polysacharidů [278], karboxymethylcelulózy [279,280], sulfonovaných polyanilinů [281], polyethyleniminů nebo případně karboxylových polyethyleniminů [282] (styren-blok-isopren) [283], kyseliny polymetakrylové [275]. V některých případech však polymerní matrice, do kterých jsou magnetické částice včleněny, mohou vyvolat určité omezení aplikačního potenciálu syntetizovaných nanokompozitů, které spočívají zejména v omezení jejich možného transportu v důsledku podstatné velikosti kompaktní polymerní matrice. V literatuře jsou zřídka popsány metody syntézy binárních nanokompozitů oxidu železitéhobez využití polymerní matrice. Ying a kol. [284] uvádí způsob přípravy heterodimerických nanočástic Ag-Fe₃O₄, které byly syntetizovány redukcí Ag v přítomnosti nanočástic zárodků magnetitu. Li a Liu [285] představili metodu pro výrobu kompozitních částic Ag/ γ -Fe₂O₃ o průměru v rozmezí 200-300 nm, zatímco Cho [286] uvádí syntézu magnetických nanostruktur SiO₂/Fe₃O₄/Ag o velikosti přibližně 200 nm.

V rámci této práce se podařilo syntetizovat dva typy magnetických binárních nanokompozitů, Ag@Fe₃O₄ a γ-Fe₂O₃@Ag, které byly charakterizovány a následně testovány pro jejich antibakteriální aktivitu. Jako magnetická složka nanokompozitu byly použity nanočástice podvojného oxidu železnato-železitého Fe₃O₄ (magnetitu) o průměrné velikosti asi 70 nm a nanočástic monodispersního oxidu železitéh y-Fe₂O₃ (maghemit) s průměrnou velikostí 5 nm. Nanokompozity byly připraveny insitu chemickou redukcí iontů stříbra redukčním činidlem maltózou za přítomnosti dané magnetické fáze a molekul polyakrylátu sloužících jako spojovací činitel mezi oxidy železa a nanočásticemi stříbra. V případě nanokompozitu Ag@Fe₃O₄ byly nanočástice stříbra o velikosti přibližně 5 nm ukotvené na povrchu nanokrystalů Fe₃O₄. Naopak u nanokompozitů γ-Fe₂O₃@Ag, nanočástice stříbra o velikosti v rozmezí 20-40 nm, byly obklopeny ultrajemnými nanočásticemi γ-Fe₂O₃. V případě nanokompozitu γ -Fe₂O₃@Ag, molekuly polyakrylátu výrazně potlačují působení mezičásticových magnetických interakcí, jak dokládají magnetizační měření. Oba testované nanokompozity představují velmi výraznou antibakteriální a antifungální aktivitu proti deseti testovaným bakteriálním kmenům (minimální inhibiční koncentrace (MIC) od 15.6 mg/L do 125 mg/L) a čtyřem druhům kvasinek (MIC od 1.9 mg/L do 31.3 mg/L). Akutní cytotoxicita proti myším embryonálním fibroblastům (24hod LC50) u testovaných nanokompozitů byla pozorována při koncentracích vyšších než 430 mg/L (Ag@Fe₃O₄) a 292 mg/L (γ-Fe₂O₃@Ag).

Srovnáním hodnot MIC a hodnot 24hod LC50 syntetizovaných nanokompozitů lze usuzovat, že oba nanokompozity jsou schopné účinně ničit mikroorganismy při koncentracích řádově nižších, než vykazují hodnoty LC50, tj. koncentracích, které nejsou toxické pro savčí (eukaryotické) buňky. S ohledem na necytotoxickou povahu polyakrylátového linkeru, oba druhy stříbrných nanokompozitů jsou dobře použitelné pro cílené magnetické dodávání nanočástic stříbra v lékařských a dezinfekčních aplikacích.



Obr. 15: schématické znázornění jednotlivých reakčních kroků vedoucích k přípravě a) γ-Fe₂O₃@Ag a b) Ag@Fe₃O₄ nanokompozitu. Převzato z [287].

5.2. Příprava a *in vitro* baktericidní a fungicidní účinnost Ag NPs/methylcelulózového hydrogelu

Methylcelulózový hydrogel s obsahem nanočástic stříbra (bude využíváno sdruženého názvu NanoSilver@methylcellulose hydrogel převzatého z anglického jazyka) byl využíván ke studiu lokálních baktericidních aplikací. Vysoce koncentrovaná disperse nanočástic stříbra o koncentraci Ag NPs 5 g/L a o průměrné velikosti nanočástic 10 nm, byla připravena redukcí stříbrné soli AgNO3 pomocí silného redukčního činidla tetrahydridoboritanu sodného. Ag NPs o takto vysoké koncentraci byly následně stabilizovány proti jejich agregaci přídavkem sodné soli kyseliny polyakrylové. Připravené nanočástice stříbra byly následně inkorporovány do metylcelulózové suspense za lehce zvýšené teploty, což vedlo k formaci NanoSilver@methylcellulose hydrogelu při zpětném ochlazení na laboratorní teplotu. In vitro test antibakteriální aktivity prokázal vysokou baktericidní a fungicidní účinnost jak v případě původní disperse nanočástic stříbra, tak i z nich vytvořeného hydrogelu proti širokému spektru bakterií a kvasinek, včetně multirezistentních kmenů, jako například methicillin-resistentní Staphylococcus aureus. Již velice nízká koncentrace Ag NPs dosahující hodnoty 0,84 mg/L Ag v takto připravené disperzi je schopna prokazovat antibakteriální účinnost. V případě kombinace disperze nanočástic stříbra v NanoSilver@methylcellulose hydrogelu, nejnižší antibakteriální účinnost byla prokázána při koncentraci dosahující 25 mg/L Ag.

Popáleninová poranění ovlivňují přirozenou kožní bariéru a některé systémové obranné mechanismy hostitele, které vedou k mikrobiální kolonizaci v popálenině a eventuálně k rozvoji sepse rány. Nejdůležitějším přístupem při péči o rány tohoto popáleninového typu je topická antimikrobiální léčba pro kontrolu kolonizace a proliferace mikrobiálních patogenů. Nadužívání a iracionální aplikace antibiotik přispěly k rozvoji bakteriální rezistence, která vedla k vysoké nemocnosti a úmrtnosti pacientů s popáleninami. Z tohoto hlediska se ukázalo, že antimikrobiální činidla na bázi stříbra (např. dusičnan stříbrný a sulfadiazin stříbra) jsou účinné v péči o popáleninové rány a významně snižují morbiditu a mortalitu pacientů. Stříbrný sulfadiazin (SSD) se proto stal jedním z vedoucích topických antimikrobiálních činidel používaných k léčbě infekcí ran během posledních čtyř desetiletí [288].

Ošetření popáleninových ran pomocí sloučenin na bázi stříbra má mnoho výhod, jako je například víceúrovňový antibakteriální účinek, což významně snižuje schopnost bakterií vyvinout bakteriální rezistenci. Kromě toho je stříbro účinné proti vysoce rezistentním bakteriím, jako jsou *Staphylococci sp., Enterococci sp.* atd. Nicméně působení antimikrobiálních činidel na bázi iontového stříbra (Ag⁺) (dusičnan stříbrný, stříbrný sulfadiazin), použitých pro topické aplikace, může být omezeno některými nepříznivými účinky, jako je vazba iontového stříbra s halogenovými anionty nebo bílkovinami v tělních tekutinách nebo vznikem zašednutí barvy kůže (argyrie) při dlouhodobém užívání (dermální toxicita) [289,290]. Naopak, tato omezení a nepříznivé účinky mohou být překonány, jestliže se používají nanočástice stříbra namísto iontového stříbra. Stříbrné NPs jsou stejně účinné proti bakteriím jako iontové stříbro, a navíc nanočástice stříbra vykazují mnohem méně toxické účinky pro lidské buňky než iontové stříbro. Kombinace hydrogelového systému se stříbrnými NPs by proto byla výhodnou volbou pro topickou léčbu ran. [291,292].

V posledních letech se hydrogely, jakož i polymerní materiály napuštěné vodou, vyvinuly kvůli jejich vynikajícím vlastnostem, které zahrnují trojrozměrnou strukturu, hydrofilnost a vysokou kapacitu absorpce vody. Vzhledem k jedinečným vlastnostem hydrogelů se tyto používají při léčbě povrchových poranění, umožňují dobrou hydrataci, která je důležitá pro rychlé zhojení a reepitelizaci rány. Nicméně, výraznou nevýhodou komerčně dostupných hydrogelových materiálů je fakt, že neposkytují ochranou bariéru proti potenciální infekci rány. Začlenění NPs stříbra do hydrogelů může tuto nevýhodu překonat a poskytnout účinnou antibakteriální bariéru, jež chrání bakteriální penetraci a kolonizaci postižených míst, což konečně vede k lepšímu a rychlejšímu hojení zranění bez komplikací spojených s mikrobiálními infekcemi. disperze stříbrných NPs, Jak tak hydrogelu NanoSilver@methylcellulose, se ukázala být účinná proti širokému spektru bakterií a kvasinek včetně vysoce odolných kmenů, jako je MRSA. Takto připravený NanoSilver@methylcelulózový hydrogel představuje slibnou topickou antimikrobiální formu léčiva pro léčbu popálenin a ran.



Obr. 16: Antibakteriální aktivita testovaného NanoSilver/methylcellulose hydrogelu při různých koncentracích nanočástic stříbra na agarové živné půdě proti (a) *Escherichia coli* 3954, (b) *Staphylococcus aureus* 3953, (c) *Staphylococcus epidermidis* 879, (d) *Staphylococcus aureus* 4591 (MRSA), (e) *Klebsiella pneumoniae* 2486 (ESBL), (f) *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, (g) *Pseudomonas aeruginosa* 532, (h) *Staphylococcus epidermidis* 901, (i) *Candida albicans* I, (j) *Candida albicans* II, (k) *Candida tropicalis* and (l) *Candida parapsilosis*. Převzato z [293].

5.3. Synergická antibakteriální účinnost antibiotik kombinovaných s nanočásticemi stříbra

Nanočástice stříbra představují velký aplikační potenciál v medicíně právě díky jejich vysoké antimikrobiální aktivitě. Klasická antibiotická terapie se stává limitovanou autovývojem bakterií a rozšířující se bakteriální rezistencí vedoucí k vyšší morbiditě a úmrtnosti u pacientů nakažených infekcemi způsobenými multirezistentními bakteriemi [294,295]. Ag NPs reprezentují efektivní antimikrobiální činitele schopné zabít bakterie při tak nízké koncentraci jako jsou jednotky miligramů na litr [296,297] a které nepředstavují cytotoxický efekt pro savčí buňky [298,299]. Nicméně, doposud žádná relevantní data v odborné literatuře neuvádějí zmínku o vývoji bakteriální rezistence vůči nanočásticím stříbra. Odůvodnění, proč bakterie nemohou rozvinout svoji rezistenci i oproti Ag NPs je pravděpodobně multimodálního charakteru na několika úrovních bakteriální struktury ve srovnání se specifickým a cíleným mechanismem působení klasických antibiotik.

Stříbrné NPs ovlivňují současně mnoho bakteriálních struktur a metabolických procesů. Bylo prokázáno, že nanočástice stříbra inaktivují bakteriální enzymy [300], [301], narušují bakteriální metabolické procesy [302] a bakteriální buněčnou stěnu, akumulují se v cytoplazmatické membráně a zvyšují její propustnost [296,297], interagují s DNA [300] a vytvářejí reaktivní formy kyslíku [303].

Stříbrné nanočástice vykazující multimodální antibakteriální účinek jsou vhodnými kandidáty pro použití v kombinaci s tradičními antibiotiky, což by napomohlo zlepšení jejich antibakteriálního působení. V rámci této práce provedená systematická studie byla zaměřena na kvantifikaci synergického účinku antibiotik s různými způsoby působení a různých chemických struktur, v kombinaci s Ag NPs proti *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Všechna testovaná antibiotika kombinovaná s Ag NPs prokazovala silné synergické účinky již při velmi nízkých koncentracích obou látek, antibiotika i nanočástic stříbra. Nebyly pozorovány žádné trendy pro synergické účinky těchto antibiotik v kombinaci s agonisty, což naznačuje nespecifické synergické účinky. Pro dosažení účinného antibakteriálního působení antibiotik postačí již velmi nízké množství stříbra, což představuje důležitý zdroj potenciálních lékařských aplikací v důsledku

zanedbatelného cytotoxického účinku Ag NPs na lidské buňky při těchto koncentračních úrovních.

Na základě vyhodnocení získaných hodnot minimálních inhibičních koncentrací (MIC) byly prokázány silné synergické účinky antibiotik s AgNPs proti Escherichia coli pro koncentrace stříbra 5 a 2,5 mg/L. Při těchto koncentracích Ag byly MIC antibiotik většinou o dva až tři řády nižší než u nekombinovaných (čistých) antibiotik. Při nižších koncentracích stříbra byl synergický účinek pozorován u antibiotik Gentamicin (GEN), Colistin (COL) a Ofloxacin (OFL), s MIC více než dvakrát tak nízkou jako MIC samotných antibiotik. Antibiotika GEN, COL a OFL vykazovala synergickou aktivitu při nejnižší koncentraci stříbra zřejmě kvůli vysoké citlivosti E. coli na tato antibiotika. MIC čistých GEN, COL a OFL antibiotik proti E. coli byla velmi nízká, a to pod 1 mg/L. Na druhou stranu, minimální inhibiční koncentrace Oxolinic acid a Aztreonam proti Escherichia coli dosahovaly hodnot také pod 1 mg/L. Synergické účinky těchto antibiotik však nebyly pozorovány pro nejnižší koncentraci stříbra. Velmi překvapivé a nečekané zjištění byl v tomto případě synergický účinek Ampicillinu (AMP) kombinovaného s Ag NPs. Samotný AMP nevykazoval žádnou antibakteriální aktivitu proti E. coli, a to i při nejvyšší testované koncentraci rovnající se 32 mg/L, vzhledem k rezistenci Escherichia coli vůči tomuto antibiotiku. Ze získaných výsledků je zřejmé, že kombinace AMP s Ag NPs obnovuje jeho antibakteriální aktivitu. Nízká koncentrace stříbra je dostatečná k obnovení citlivosti Escherichia coli k AMP. Synergická účinnost antibiotik s Ag NPs proti *Pseudomonas aeruginosa* byla podobná jako proti *E. coli*. MIC antibiotik v kombinaci s Ag NPs byly o dva až tři řády nižší pro nejvyšší koncentrace stříbra (5 mg/L a 2,5 mg/L). V případě nižší koncentrace stříbra, synergický účinek byl pozorován u antibiotik Meropenem (MER), Gentamicin (GEN) a Coloistin (COL). Vysvětlení je podobné jako v případě Escherichia coli; MER, GEN a COL jsou také antibiotika s vysokou antibakteriální aktivitou, která vykazuje nízké MIC proti Pseudomonas aeruginosa [304].



Obr. 17: (a) Lognormální velikostní distribuce získaná z DLS měření; (b) TEM snímek a (c) UV-Vis absorpční spektrum nanočástic stříbra o průměrné velikosti 26 nm a s úzkou velikostní distribucí. Převzato z [304].

Tabulka 1: MIC antibiotik (mg/L) v kombinaci s Ag NPs při různých koncentracích stříbra pod MIC samotných Ag NPs (7,5 mg/L) oproti *Escherichia coli* (vysvětlení jednotlivých zkratek názvů antibiotik, viz. 4.2.)

	AMP	AMS	CZL	CRX	СХТ	GEN	СОТ	COL	oxo	OFL	TET	AZT
ATB + 0 mg/L Ag												
NPs	-	8	2	1	1	0,5	4	0,5	0,5	0,03	4	0,03
ATB + 0,6 mg/L Ag												
NPs	-	8	2	1	1	0,03	2	0,125	0,5	0,015	4	0,03
ATB + 1,25 mg/L												
Ag NPs	-	8	2	1	1	0,06	2	0,125	0,5	0,015	2	0,03
ATB + 2,5 mg/L Ag												
NPs	0,03	0,03	0,0019	0,00097	0,00097	0,00048	2	0,00097	0,5	0,00024	1	0,0078
ATB + 5 mg/L Ag												
NPs	0,00097	0,00097	0,00097	0,00097	0,00097	0,00048	0,0019	0,00048	0,00097	0,00024	0,00048	0,0019

Tabulka 2: MIC antibiotik (mg/L) v kombinaci s Ag NPs při různých koncentracích stříbra pod MIC samotných Ag NPs (7,5 mg/L) oproti *Pseudomonas aeruginosa*

	PIP	РРТ	AZT	MER	CTZ	CPR	СРМ	GEN	AMI	COL	OFL	CIP
ATB + 0 mg/L Ag												
NPs	4	4	4	1	1	4	2	0,25	1	0,5	1	0,125
AIB + 0,0 mg/L Ag	4	4	4	1	1	4	1	0.03	0.25	0.125	1	0.03
ATB + 1.25 mg/L Ag	+	4	4	1	1	4	1	0,05	0,25	0,125	1	0,03
NPs	2	4	4	0,5	1	4	1	0,015	0,25	0,06	1	0,03
ATB + 2,5 mg/L Ag												
NPs	0,015	0,0039	0,00097	0,0019	0,00024	0,00048	0,00024	0,00048	0,00048	0,00048	0,00024	0,00024
ATB + 5 mg/L Ag												
NPs	0,0078	0,0039	0,00097	0,0019	0,00024	0,00048	0,00024	0,00048	0,00048	0,00048	0,00024	0,00024

	PEN	OXA	AMS	СМР	TET	СОТ	ERY	CLI	CIP	GEN	TEI	VAN
ATB + 0 mg/L Ag												
NPs	0,125	0,25	0,5	4	0,25	1	0,125	0,125	0,25	0,25	0,25	1
ATB + 0,6 mg/L Ag												
NPs	0,025	0,25	0,125	4	0,015	0,03	0,06	0,015	0,03	0,25	0,03	0,03
ATB + 1,25 mg/L												
Ag NPs	0,015	0,03	0,06	2	0,015	0,0078	0,06	0,015	0,015	0,06	0,015	0,00097
ATB + 2,5 mg/L Ag												
NPs	0,0006	0,00048	0,00048	0,00048	0,00012	0,0019	0,00012	0,00012	0,00012	0,00048	0,00097	0,00097

Tabulka 3: MIC antibiotik (mg/L) v kombinaci s Ag NPs při různých koncentracích stříbra pod MIC samotných Ag NPs (5 mg/L) oproti *Staphylococcus aureus*

Bakteriální kmen Staphylococcus aureus s MIC AgNPs 5 mg/L prokazoval vyšší citlivost vůči AgNPs než ostatní bakterie. Vyšší náchylnost Staphylococcus aureus na AgNPs se projevuje silnějšími synergickými účinky. Nejvyšší koncentrace stříbra (2,5 mg/L stříbra) vedou k nejvyššímu poklesu MIC antibiotik, a to o dva až tři řády. Při koncentraci stříbra 1,25 mg/L byly synergické účinky pozorovány téměř u všech testovaných antibiotik, přičemž jejich MIC se snížily přibližně o jeden řád. Na rozdíl od bakteriálních kmenů Escherichia coli a Pseudomonas aeruginosa byl synergický účinek pozorován častěji při nejnižší použité koncentraci stříbra (0,6 mg/L) u bakterie Staphylococcus aureus. Zatímco u Escherichia coli a Pseudomonas aeruginosa byly pozorovány synergické účinky při nejnižší použité koncentraci stříbra pouze u tří antibiotik (GEN, COL a OFL a MER, GEN a COL), v případě Staphylococcus aureus došlo k synergickým účinkům u devíti antibiotik (Penicillin, Ampicillin/sulbactam, Tetracyklin, Co-trimoxazole, Erythromycin, Clindamycin, Ciprofloxacin, Teicoplanin a Vancomycin), jejichž MIC byly více než dvojnásobně nižší než MIC samotných antibiotik. Příčinou synergického efektu pro většinu testovaných antibiotik při nejnižších koncentracích stříbra byla nízká hodnota MIC těchto antibiotik proti testovanému kmenu Staphylococcus aureus.

6. ENVIRONMENTÁLNÍ VYUŽITÍ NANOČÁSTIC OXIDŮ ŽELEZA

6.1. Využití ultrajemných superparamagnetických nanočástic oxidu železa při odstraňování arsenu z vodného prostředí

Arzeničnany představovat mohou riziko pro lidské zdraví. jestliže se nacházejí ve zdrojích vody. Pro jejich odstraňování byly vyvinuty rozličné



Obr. 18: Reakční schéma experimentu. Převzato z [184].

technologie, z nichž je velmi často využívána sorpční metoda za použití širokého spektra vhodných sorbentů. Nanočástice oxidů železa jsou často užívány kvůli jejich vysoké ploše povrchu a schopností manipulace s nimi pomocí externího magnetického pole. Adsorpční kapacita oxidů železa může být posílena mezoporézní povahou uspořádání nanočástic v systému, a to díky silným vzájemným magnetickým interakcím, jež se existují mezi samotnými nanočásticemi.

Ultrajemné a téměř monodisperzní superparamagnetické nanočástic γ -Fe₂O₃ o velikosti 4 nm byly syntetizovány jednostupňovou mokrou chemickou metodou. Touto cestou připravené nanočástice γ -Fe₂O₃ vzájemně magneticky interagují, což vytváří druh mezoporézní struktury, která díky vysoké ploše povrchu nanočástic významně zvyšuje adsorpční schopnost sorbentu. Díky jejich slibným magnetickým vlastnostem lze pohyb připravených nanočástic a jejich kumulaci na určitém místě snadno ovládat malými vnějšími magnetickými poli.

Magnetické vlastnosti syntetizovaného systému nanočástic γ -Fe₂O₃ byly sledovány měřením hysterezních smyček při teplotě 5 a 300 K a magnetických křivek ZFC/FC pod vnějším magnetickým polem 0,1 T. Při 5 K izotermická magnetizační křivka systému γ -Fe₂O₃ vykazovala významnou hysterezi, což znamená, že magnetické momenty nanočástic γ -Fe₂O₃ jsou zablokovány v časovém horizontu měření magnetizace (pro měření SQUID, charakteristická doba měření je 10 s). Kromě toho, nízkoteplotní hysterezní smyčka vykazovala asymetrii, což naznačuje výskyt fenoménu výměnných interakcí typického pro magnetické nanočástice s rovnoměrně magnetizovaným jádrem a magneticky neuspořádanými povrchovými vrstvami (Nogues and Schuller, 1999). Je známo, že pod určitou velikostí částic začínají ovlivňovat povrchové a konečné účinky magnetického chování velmi jemných částic (Dormann et al., 1997).



Obr. 19: Hysterezní křivky při ř a 300 K v okolí nulového magnetického pole a znázorněná separace ZFC/FC magnetizačních křivek. Převzato z [184].

Úplné odstranění arseničnanů z vodného prostředí za použití těchto magnetických nanočástic oxidu železitého bylo dosaženo při poměru Fe/As odpovídající poměru 20/1 a při pH směsi v rozmezí od 5 do 7,6 (za těchto podmínek mohou být arseničnany zcela odstraněny již během několika minut). Na základě experimentálních výsledků byla jako nejefektivnější koncentrace pro odstraňování arzeničnanových iontů, zvolena hodnota 2,15 g/L a pH pohybující se v kyselé oblasti (na základě Zeta potenciálu sorbentu v závislosti na pH). Mezi nanosystémy na bázi oxidu železa, které byly doposud syntetizovány a použity v oblasti sanace arzeničnanů, toto uspořádání nanočástic oxidu železa (III) vykazovalo nejvyšší

Freundlichův adsorpční koeficient a rovnovážnou sorpční kapacitu za zvolených podmínek.



Obr. 20: (a) Zeta-potenciál jako funkce pH, (b) vliv pH na As(V) odstranění (koncentrace γ -Fe₂O₃ NPs odpovídá 2,15 g/L) a (c) vliv koncentrace γ -Fe₂O₃ na odstranění As (V). Převzato z [184].



Obr. 21: (a) Adsorpční kinetická křivka, (b) závislost q_e na reakčím čase (koncentrace γ -Fe₂O₃ NPs odpovídá 2,15 g/L). Převzato z [184].

7. KATALYTICKÁ ÚČINNOST KOMPOZITU NANOČÁSTIC OXIDU ŽELEZITÉHO A MĚDI

7.1. Vysoce účinný nanokatalyzátor oxid železitý s obsahem Cu pro nízkotlakou konverzi CO₂

Dva typy nanokatalyzátorů na bázi oxidu železa, čistý oxid železitý (FeNC) a oxid železitý s příměsí nanočástic mědi (Cu-FeNC), byly připraveny metodou sonikace. Aby byla získána vysoce disperzní nanoCu, byla pro Cu-FeNC použita nová syntézní cesta, kde ve druhém kroku syntézy byla měď dodána k předem připravenému oxidu železa v podobě soli a v přítomnosti středně silného redukčního činidla a intenzivní sonikace vznikaly nanočástice mědi. Katalyzátor na bázi nanočásticového oxidu železitého s obsahem mědi byl zkoumán a použit pro redukci CO₂ vodíkem s vysokou katalytickou účinností při nízkých tlacích.

Rostoucí požadavky na energie a obavy o životní prostředí vedly k významnému výzkumnému zájmu na konverzi CO₂. Hydrogenace CO₂ pomocí H₂ z udržitelných zdrojů se považuje za slibnou metodu, jež může pomoci snížit emise CO₂, a to jeho katalytickou konverzí na prospěšné chemické látky, jako jsou alkoholy (např. metanol), uhlovodíky (např. metan, benzen atd.) nebo CO s následnou možností jejich dalšího zpracování. Přestože již mnoho investic bylo vynaloženo na rozvoj efektivních procesů konverze CO₂, významné zlepšení lze dosáhnout navržením vysoce efektivních katalyzátorů. Získávání dalších informací o hydrogenaci CO₂ může navíc napomoci rozvoji vysoce účinného katalyzátoru a integrované procesní technologie pro zmírnění dopadu produkce skleníkových plynů [305,306].

V podstatě se metanol průmyslově vyrábí ze syntézního plynu, který využívá převážně katalyzátor zkombinovaný z CuO/ZnO/Al₂O₃ [307]. Nicméně, mnoho

studií naznačuje, že methanol může být tvořen přímo z oxidu uhličitého [308,309]. Metanizace CO₂ nebo jeho přeměna na CO, zejména na levně produkovaných katalyzátorech pracujících za podmínek příznivých pro životní prostředí, jsou další významné způsoby přeměny CO₂ [310].

Konverze CO₂ může probíhat různými způsoby, jako například hydrogenací CO₂ na metan a další uhlovodíky nebo na methanol. Při vyšších reakčních teplotách může být přechod CO₂ na oxid uhelnatý dominantní v důsledku tzv. "Reverse water gas shift reakce (RWGS)" [311,312]. Katalyzovaná konverze CO₂ byla zkoumána například na katalyzátorech na bázi železa jako potenciálních cenově příznivých kandidátech vedoucí k uhlovodíkům nebo oxidu uhelnatému [313,314]. Bylo také prokázáno, že katalyzátory na bázi železa v přítomnosti draslíku či bez něj, mají nastavitelnou selektivitu a aktivitu při hydrogenaci CO₂ směrem k uhlovodíkům za vysokých tlaků a tvorbě CO za atmosférického tlaku [315] a nanočástice železa na nosiči z uhlíkových nanotrubiček byly vysoce aktivní při přeměně CO₂ na produkty C₁₋₅ a CO [316]. Při pokusu o kontrolu selektivity byly připraveny a zkoumány také katalyzátory na bázi železa obohacené částicemi zlata nebo na nosičích, jako je oxid hlinitý, titan, oxid zirkoničitý a zeolity [317,318].

V literatuře existuje mnoho studií realizovaných na různých heterogenních katalytických systémech pro účinnou syntézu methanolu z CO₂. V těchto studiích převládají katalyzátory na bázi mědi kvůli jejich vysoké selektivitě a nízké produkci nežádoucích vedlejších produktů [319]. Pro tento účel bylo testováno velké množství podpůrných materiálů, jako jsou ZnO, ZrO₂, Al₂O₃, TiO₂, Fe₂O₃, ZnFe₂O₄ a SiO₂. Navíc byly studovány i multimetalické materiály s Cu jako hlavní složkou [320]. Koprecipitace solí kovů s následnou kalcinací byla nejrozšířenějším postupem pro přípravu katalyzátorů na bázi mědi [321,322].

Oxid železitý je běžně používán pro metanaci CO₂ nebo CO ale i Fischer-Tropsch syntézu a může být využit i pro přeměnu CO₂ na CO. Měď je vysoce účinný katalyzátor pro konverzi CO₂ na CH₄ a CH₃OH [323]. Využití sonochemické metody při syntéze nanokatalytického systému může významně zlepšit jeho disperzitu a tím i katalytickou aktivitu [324].

Katalyzátor pro tuto studii byl připraven jako nanostrukturovaný oxid železitý s přítomností nanočástic mědi. Syntéza katalyzátorů byla provedena za použití nové metody redukce podpořené sonifikací. Změna chemického a fyzikálního stavu připravených katalyzátorů byla sledována za reakčních podmínek za použití kombinace *in situ* rentgenového rozptylu a rentgenových absorpčních technik a jejich katalytická účinnost za použití reakce s teplotním programem. Další charakterizace katalyzátoru před a po reakci byla prováděna pomocí Ramanovy spektroskopie, XRD, skenovací transmisní elektronové mikroskopie (STEM) a transmisní elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením (HRTEM) včetně skenovací transmisní elektronové mikroskopie (STEM) a energetické disperzní spektrometrie (EDS).

Restrukturalizace daného katalyzátoru v nanometrovém měřítku byla odhalena pomocí *In situ* X-ray rozptylu. *In situ* XANES (X-ray absorption near edge structure) prokázal vývoj ve složení katalyzátoru a oxidačním stavu složek železa a mědi za reakčních podmínek spolu s podpůrným účinkem přítomné mědi při chemické transformaci složky železa.



Obrázek 22: Složení vzorku FeNC získané dle LCF (Linear combination fitting) Fe K-edge XANES (a) a průměrný oxidační stav železa pro vzorek FeNC (b). Složení vzorku Cu-FeNC dle LCF Fe K-edge XANES (c) a průměrný oxidační stav železa

pro Cu-FeNC vzorek (d). Složení vzorku Cu-FeNC dle LCF Cu K-edge XANES (e) a průměrný oxidační stav Cu pro Cu-FeNC vzorek (f). Převzato z [325].

Rentgenová difrakce (XRD), XANES a Ramanova spektroskopie ukázaly, že počáteční nanokatalyzátor je složen z oxidů železa, které se liší chemickou povahou (α -Fe₂O₃, Fe₃O₄, FeO(OH)) a dimenzionalitou, zatímco katalyzátor po konverzi CO₂ byl identifikován jako směs α -Fe, Fe₃C a stopového množství Fe₅C₂. Významný nárůst rychlosti redukce CO₂ je přisuzován přítomnosti nanočástic mědi, což naznačuje, že nanočástice Cu aktivují vodík, který se přelévá na sousední pozice železa a usnadňuje účinnější konverzi oxidu uhličitého.



Obr. 23: Teplotní závislost TOR na celkovém počtu atomů Fe během druhé teplotní rampy pro CO₂ (m/z = 44) pro (a) FeNC, a (b) Cu-FeNC. Na obrázku (c) a (d) TOR pro CO (m/z = 28), metan (m/z = 15), metanol (m/z = 31), a benzen (m/z = 78) jsou uvedeny pro FeNC a Cu-FeNC. Převzato z [325].

8. ZÁVĚR

Cílem předkládané disertační práce byla příprava nanočásticových a nanokompozitních systémů, dále studium jejich vlastností a následně implementace do různorodých biologických i analytických aplikací. Účinnost vytvořených materiálů byla studována u nanočástic stříbra (Ag NPs), nanočástic mědi (Cu NPs), a to buď jako samostatných činitelů, tak ve formě nanokompozitů v kombinaci s nanočásticemi oxidů železa (Fe_xO_y NPs), jež samy o sobě vykazují zajímavé vlastnosti. Vytvořené nanokompozitní systémy skýtají velký potenciál v zachování si aktivních vlastností nanočástic vzácného kovu, ať už například antibakteriálních v případě nanočástic stříbra, katalytických u nanočástic mědi, tak i specifických vlastností nosiče, zejména díky možnosti manipulace vnějším magnetickým polem.

Magnetické binární nanokompozity, aplikačně zajímavé látky díky jejich vzájemné kombinaci, mohou být složeny z nanočástic oxidů železa (Fe₃O₄ a/nebo γ-Fe₂O₃) jako donorů magneticky využitelných vlastností a nanočástic ušlechtilého kovu, jako nosiče specifického aplikačního potenciálu v oblasti biologie a katalýzy.

V rámci této práce byly syntetizovány dva typy mg. nanokompozitů s obsahem nanočástic stříbra, Ag@Fe₃O₄ a γ-Fe₂O₃@Ag, u nichž byla studována jejich antibakteriální aktivita. Magnetické nanočástice podvojného oxidu železnatoželezitého Fe₃O₄ vykazovaly průměrnou velikost přibližně 70 nm a nanočástic monodispersního oxidu železitého, γ-Fe₂O₃, byly syntetizovány s průměrnou velikostí 5 nm. Samotná kombinace nanočástic oxidů železa s Ag NPs byla připravena pomocí in-situ chemické redukce stříbrných iontů v přítomnosti redukčního činidla – maltózy a molekul spojovacího činitele – polyakrylátu. Nanočástice stříbra o velikosti přibližně 5 nm byly ukotvené na povrchu nanokrystalů Fe₃O₄ v případě nanokompozitu Ag@Fe₃O₄ a na druhou stranu, nanokompozit y-Fe₂O₃@Ag, projevoval smysl "core-shell" struktury, kde nanočástice stříbra o velikosti od 20 do 40 nm, byly obklopeny ultrajemnými nanočásticemi γ-Fe₂O₃. Oba připravené a zkoušené nanokompozity představovaly významnou antibakteriální a antifungální aktivitu proti testovaným bakteriálním kmenům s minimální inhibiční koncentrací od 15.6 mg/L do 125 mg/L a v případě testovaných druhů kvasinek MIC od 1.9 mg/L do 31.3 mg/L. Akutní cytotoxicita proti myším embryonálním fibroblastům (24hod LC50) u testovaných nanokompozitů byla pozorována při koncentracích vyšších než 430 mg/L (Ag@Fe₃O₄) a 292 mg/L (γ -Fe₂O₃@Ag).

Další část této disertační práce se věnovala tvorbě a využití methylcelulózového hydrogelu s obsahem nanočástic stříbra NanoSilver@methylcellulose hydrogel, a to ke studiu lokálních baktericidních aplikací. K přípravě hydrogelu byla využívána vysoce koncentrovaná disperse nanočástic stříbra o koncentraci Ag NPs 5 g/L a o průměrné velikosti nanočástic 10 nm. Ag disperze byla syntetizována redukcí stříbrné soli AgNO3 silným redukčním činidlem, tetrahydridoboritanem sodným a následně stabilizována přídavkem sodné soli kyseliny polyakrylové. Touto cestou připravené Ag NPs byly inkorporovány do metylcelulózové suspense za lehce zvýšené teploty a při zpětném ochlazení na laboratorní teplotu došlo k formaci NanoSilver@methylcellulose hydrogelu. In vitro antibakteriální test prokázal vysokou baktericidní a fungicidní aktivitu v Ag disperzi, tak i v případě vytvořeného hydrogelu. Antimikrobiální účinnost byla prokázána již při velice nízké koncentraci Ag NPs dosahující hodnoty 0,84 mg/L Ag v připravené disperzi a v případě NanoSilver@methylcellulose hydrogelu se nejnižší antibakteriální aktivita projevovala při koncentraci dosahující 25 mg/L Ag.

V poslední části řešené disertační práce, zaměřené na antibakteriální aktivitu, byla systematická studie provedena při kvantifikaci synergického účinku antibiotik v kombinaci s Ag NPs proti bakteriálním kmenům Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa a Staphylococcus aureus. Všechna testovaná antibiotika kombinovaná s Ag NPs prokazovala silné synergické účinky již při velmi nízkých koncentracích obou látek. Pro dosažení účinného synergického antibakteriálního působení antibiotik postačilo již nízké množství Ag NPs a při těchto koncentračních úrovních se zanedbatelným cytotoxickým účinkem Ag NPs na lidské buňky. Na základě vyhodnocení získaných hodnot minimálních inhibičních koncentrací (MIC) byly prokázány silné synergické účinky antibiotik s AgNPs proti Escherichia coli pro koncentrace stříbra 5 a 2,5 mg/L. Následně, synergická účinnost antibiotik s Ag NPs proti Pseudomonas aeruginosa byla podobná jako proti E. coli. MIC antibiotik v kombinaci s Ag NPs byly o dva až tři řády nižší pro nejvyšší koncentrace stříbra (5 mg/L a 2,5 mg/L). Poslední testovaný bakteriální kmen Staphylococcus aureus s MIC AgNPs 5 mg/L prokazoval vyšší citlivost vůči AgNPs než ostatní bakterie. Vyšší náchylnost Staphylococcus aureus na AgNPs se projevoval silnějšími synergickými účinky. Nejvyšší koncentrace stříbra (2,5 mg/L stříbra) vedly k
nejvyššímu poklesu MIC antibiotik, a to o dva až tři řády. Při koncentraci stříbra 1,25 mg/L byly synergické účinky pozorovány téměř u všech testovaných antibiotik, přičemž jejich MIC se snížily přibližně o jeden řád.

Předposlední kapitola experimentální části disertační práce se zabývá syntézou a využitím ultrajemných a téměř monodisperzních superparamagnetických nanočástic γ-Fe₂O₃ o velikosti 4 nm, jež byly syntetizovány jednostupňovou mokrou chemickou metodou. Takto připravené nanočástice γ-Fe₂O₃ vykazovaly mezoporézní strukturu, a tudíž projev vysoké plochy povrchu nanočástic, což může mít za následek významné adsorpční schopnosti sorbentu. Těchto vlastností bylo využíváno pro úplné odstranění arseničnanů z vodného prostředí a dosaženo při poměru Fe/As odpovídající poměru 20/1 a při pH směsi v rozmezí od 5 do 7,6. Na základě experimentálních výsledků byla jako nejefektivnější koncentrace zvolena hodnota 2,15 g/L γ-Fe₂O₃ a pH směsi pohybující se v kyselé oblasti. Mezi nanosystémy na bázi oxidu železa, které byly doposud syntetizovány a použity v oblasti sanace arzeničnanů, toto uspořádání nanočástic oxidu železa (III) vykazovalo nejvyšší Freundlichův adsorpční koeficient a rovnovážnou sorpční kapacitu za zvolených podmínek

Poslední pasáž předkládané práce se věnuje syntéze a následné aplikaci dvou typů nanokatalyzátorů na bázi oxidu železa. Slepý oxid železitý (FeNC) a oxid železitý s příspěvkem nanočástic mědi (Cu-FeNC) byly připraveny sonikační metodou. Pro získání Cu-FeNC, s přítomností vysoce disperzní mědi, byla zvolena nová syntézní cesta, kde ve druhém kroku syntézy byl donor mědi přidáván k předem připravenému oxidu železa za přítomnosti mírného redukčního činidla. Restrukturalizace daného katalyzátoru v nanometrovém měřítku byla odhalena pomocí *In situ* X-ray rozptylu. *In situ* XANES prokázal vývoj ve složení katalyzátoru a oxidačním stavu složek železa a mědi za reakčních podmínek spolu s podpůrným účinkem přítomné mědi při chemické transformaci složky železa. Cu-FeNC byl považován za účinný katalyzátor pro konverzi CO₂ při nízkém parciálním tlaku CO₂ a H₂ (0,0125 atm a 0,0375 atm). "Turnover rates", přepočítané na celkový počet atomů železa, bylo získáno až $3 \cdot 10^{-3}$; $1,5 \cdot 10^{-3}$; $5,4 \cdot 10^{-4}$ a $4 \cdot 10^{-6}$ molekul·atom⁻¹·s⁻¹ pro reakční produkty oxid uhelnatý, methan, methanol a benzen, byly získány při nízké aktivační energii.

9. SUMMARY

The aim of this thesis was preparation of nanoparticle and nanocomposite systems, furthermore exploration of their attributes and subsequently implementation into various biological and analytic applications. The efficiency of created materials was studied at silver nanoparticles (Ag NPs), copper nanoparticles (Cu NPs), either as single agents or in the form of nanocomposites in combination with iron oxide nanoparticles (FexOy NPs), these by themselves exhibit interesting properties.

Created nanocomposite systems exhibits huge potential in maintaining active characteristics of nanoparticles of rare metal, either for example antibacterial properties in case of silver nanoparticles, catalytic characteristic of copper nanoparticles, or also specific magnetic behavior of carrier, mostly thanks to the possibility of manipulation by external magnetic field.

Magnetic binary nanocomposites, that are interesting substances in applications due to their mutual combination, can be composed of iron oxide nanoparticles (Fe₃O₄ and/or γ -Fe₂O₃) as donors with magnetic exploitable characteristic and nanoparticles of rare metal, as carriers of specific applicable potential in field of biology and catalysis.

Within this thesis there were synthesized two types of magnetic nanocomposites with the amount of silver nanoparticles, Ag@Fe₃O₄ and γ -Fe₂O₃@Ag, at which there was studied their antibacterial activity. Magnetic nanoparticles of binary magnetic iron oxide, Fe₃O₄, showed average magnitude of approximately 70 nm and nanoparticles of monodisperse iron oxide, γ -Fe₂O₃, which were synthesized with average magnitude of 5 nm. The combination of iron oxide nanoparticles with Ag NPs itself was prepared with usage of in-situ chemical reduction of silver ions in presence of mild reduction agent - maltose and binding agent molecules - polyacrylate acid. Silver nanoparticles with magnitude of approximately 5 nm were anchored at the surface of nanocrystals Fe₃O₄ in case of nanocomposite Ag@Fe₃O₄ and on the other hand, nanocomposite γ -Fe₂O₃@Ag showed a "core-shell" structure, where silver nanoparticles of magnitude from 20 to 40 nm were surrounded by ultrafine nanoparticles of γ -Fe₂O₃. Both prepared nanocomposites showed significant antibacterial and antifungal activity against tested bacterial strains with minimum inhibitory concentration from 15.6 mg/L to 125 mg/L, and in case of testing yeast species MIC from 1.9 mg/L to 31.3 mg/L.

Acute cytotoxicity against mouse embryonic fibroblasts (24h LC50) in the tested nanocomposites was observed at concentrations higher than 430 mg/L (Ag@Fe₃O₄) and 292 mg/L (γ -Fe₂O₃@Ag).

Latter part of this thesis deals with the creation and usage of methylcellulose hydrogel with silver nanoparticles - NanoSilver@methylcellulose hydrogel, for the study of local bactericidal applications. For the preparation of hydrogel there was used a highly concentrated dispersion of silver nanoparticles with concentration of Ag NPs 5 g/L and average size of nanoparticles of 10 nm. Ag dispersion was synthesized using reduction of silver salt AgNO₃ by reduction agent, sodium borohydride and subsequently stabilized by the addition of the sodium salt of polyacrylic acid. The Ag NPs were incorporated into the methylcellulose suspension at slightly elevated temperatures, and NanoSilver@methylcellulose hydrogel was formed upon re-cooling up to room temperature. The *in vitro* antibacterial test demonstrated high bactericidal and fungicidal activity in Ag dispersion as well as in case of created hydrogel. Antimicrobial efficiency was ascertained at a very low Ag NPs concentration of 0.84 mg/L Ag in the prepared dispersion, and the lowest antibacterial activity of NanoSilver@methylcellulose hydrogel was presented at a concentration of 25 mg/L Ag.

Next part of this thesis is focused on systematic study using quantification of synergistic effect of antibiotics in combination with Ag NPs against bacterial strains Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. All tested antibiotics combined with Ag NPs showed strong synergistic effect at very low concentrations of both substances and negligible cytotoxic effect of Ag NPs on human cells. The strong synergistic effects of antibiotics with Ag NPs against Escherichia coli for silver concentrations of 5 and 2.5 mg/L have been demonstrated based on the evaluation of the obtained minimal inhibitory concentrations values (MIC). Subsequently, the synergistic efficiency of Ag NPs against Pseudomonas aeruginosa was similar to that of E. coli. MIC antibiotics in combination with Ag NPs were two to three orders lower for the highest silver concentration (5 mg/L and 2.5 mg/L). The results of last test on bacterial strain, Staphylococcus aureus, demonstrated higher sensitivity to Ag NPs at MIC 5 mg/L than other bacteria. The higher susceptibility of Staphylococcus aureus to Ag NPs was manifested by stronger synergistic effects. Silver concentration of 2.5 mg/L of Ag led to the highest decrease in MIC of antibiotics by two to three orders. At a silver concentration of 1.25 mg/L,

synergistic effect was observed for almost all tested antibiotics with decreasing of MIC by about one order.

Last but one chapter of experimental part of this thesis deals with synthesis and utilization of ultrafine monodisperse superparamagnetic nanoparticles of γ -Fe₂O₃ that were synthesized by one-step wet chemical method. The γ -Fe₂O₃ nanoparticles showed a mesoporous structure, and hence manifestation of high surface area of nanoparticles, which can lead to significant absorption efficiency. Nanoparticles of iron oxide were used for removing of arsenates from aquatic environment and were successful at a Fe/As ratio of 20/1 and value of pH of the mixture ranging from 5 to 7.6. Concentration at 2.15 g/L of γ -Fe₂O₃ was chosen like the most effective value on the basis of experimental results. Among iron oxide nanosystems that were so far synthesized and used in the area of arsenates remediation, this arrangement of iron oxide (III) nanoparticles showed the highest Freundlich adsorption coefficient and equilibrium sorption capacity under the chosen conditions.

The last part of this thesis pursues a synthesis and subsequent application of two types of nanocatalyst on the basis of iron oxide. Rare iron oxide (FeNC) and iron oxide with the contribution of copper nanoparticles (Cu-FeNC) were prepared using the sonication method. New synthesis way was chosen due to obtaining of Cu-FeNC with the presence of highly dispersed copper nanoparticles. Copper donor was added into the already-prepared iron oxide NPs in the presence of mild reducing agent during the second synthesis step. Restructuring of the given catalyst in nanometer scale was revealed by In situ X-ray range. The evolution of the catalyst composition and oxidation state of the iron and copper components with the supporting effect of the copper presented in the chemical transformation of the iron component was observed by In situ XANES. Cu-FeNC was considered as an efficient catalyst for the conversion of CO₂ at low partial pressure of CO₂ and H₂ (0.0125 atm and 0.0375 atm). Turnover rates recalculated to the total number of iron atoms in low activation energy were acquired to be $3 \cdot 10 - 3$; $1, 5 \cdot 10 - 3$; $5, 4 \cdot 10 - 4$ and $4 \cdot 10 - 6$ molecules atom⁻¹·s⁻¹ ¹ based on reaction products carbon monoxide, methane, methanol and benzene. These results of this presented part of the dissertation thesis represent a perspective direction for the production of an efficient catalyst for low-pressure carbon dioxide conversion.

10. LITERATURA

- Feynman, R. (1964). "The Brownian Movement". The Feynman Lectures of Physics, Volume I. pp. 41-, 1
- Myers, Dr. Drew. "Chemistry of photography". Cheresources.com. GlobalSpec. Retrieved January 25, 2009
- 3. "There's plenty of room at the bottom", Feynman, Engineering and Science, 1960
- 4. Hošek, Úvod do annotechnologie, 2010
- 5. Turkevich J., Stevenson P.C., Hiller J.: Discuss. Faraday Soc. 1951, 55.
- 6. Lee P.C., Meisel D.: J. Phys. Chem.-Us. 1982, 86, 3391.
- Cao G., Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications. Imperial College Press, 2004.
- 8. Kvítek L., Panáček A.: Základy koloidní chemie, UP Olomouc, Olomouc 2007.
- Guang W. L., Ping G., in Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems, 2010
- Bantz Ch., Koshkina O., Lang T., Galla H.-J., Kirkpatrick J. C, Stauber R. H., Maskos M., J Nanotechnol. 2014, 5, 1774.
- Sharma S., Mishra P. R., in Colloid and Interface Science in Pharmaceutical Research and Development, 2014
- Adair J.H., Sindel J., in *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, 2001
- Cao G.Z., Wang Y., Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications (2nd Edition). Word Scientific Publishing Company, Incorporated, 2011.
- 14. Napper D.H., J. Colloid Interf. Sci. 1977, 58, 390.
- Phenrat T., Saleh N., Sirk K., Kim H.-J., Tilton R., Lowry G.: *J. Nanopart. Res.* 2008, *10*, 795.
- Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Vander Elst L., Muller R. N.: *Chem. Rev.* 2008, 108, 2064.
- 17. Jain K. K.: Bmc. Med. 2010, 8, 83.
- 18. Bucak S., Yavuztürk B., Sezer A.D., Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Surface Modification and Application in Drug Delivery. 2012.
- 19. Sperling R.A., Parak W.J.: Phil. Trans. R. Soc. A 2010, 368, 1333.

- Pollert E., Kaman O., Veverka P., Veverka M., Marysko M., Zaveta K., Kacenka M., Lukes I., Jendelova P., Kaspar P., Burian M., Herynek V.: *Phil. Trans. R. Soc. A* 2010, *368*, 4389.
- 21. Caruso F.: Adv. Mater. 2001, 13, 11.
- Davies R., Schurr G.A., Meenan P., Nelson R.D., Bergna H.E., Brevett C.A.S., Goldbaum R.H.: *Adv. Mater.* 1998, *10*, 1264.
- 23. Liz-Marzán L.M., Giersig M., Mulvaney P.: Langmuir 1996, 12, 4329.
- 24. Ohmori M., Matijević E.: J. Colloid Interf. Sci. 1993, 160, 288.
- 25. Partch R., Brown S.: Int. J. Adhes. Adhes. 1998, 67, 259.
- 26. Storm G., Belliot S.O., Daemen T., Lasic D.D.: *Adv. Drug. Deliver. Rev.* **1995**, *17*, 31.
- 27. Arias J.L., Reddy L.H., Couvreur P.: J. Mater. Chem. 2012, 22, 7622.
- Ow H., Larson D.R., Srivastava M., Baird B.A., Webb W.W., Wiesner U.: *Nano Lett.* 2004, 5, 113.
- 29. Kobayashi Y., Nozawa T., Nakagawa T., Gonda K., Takeda M., Ohuchi N., Kasuya A.: J. Sol-Gel Sci. Techn. 2010, 55, 79.
- Cai Z., Ye Z., Yang X., Chang Y., Wang H., Liu Y., Cao A.: *Nanoscale* 2011, 3, 1974.
- Kaman O., Pollert E. Veverka P., Veverka M., Hadova E., Knizek K., Marysko M., Kaspar P., Klementova M., Grunwaldova V., Vasseur S., Epherre R., Mornet S., Goglio G., Duguet E.: *Nanotechnology* 2009, 20.
- Kaman O., Veverka P., Jirak Z., Marysko M., Knizek K., Veverka M., Kaspar P., Burian M., Sepelak V., Pollert E.: J. Nanopart. Res. 2011, 13, 1237.
- Dabbousi B.O., Rodriguez-Viejo J., Mikulec F.V., Heine J.R., Mattousi H., Ober R., Jensen K.F., Bawendi M.G.: J. Phys. Chem B 1997, 101, 9463.
- Lyon J.L., Fleming D.A., Stone M.B., Schiffer P., Williams M.E.: *Nano Lett.* 2004, *4*, 719.
- Wang J.X., Inada H., Wu L., Zhu Y., Choi Y., Liu P., Zhou W.-P., Adzic R.R.: J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 17298.
- Guo L., Yang S., Yang C., Yu P., Wang J., Ge W., Wong G.K.L.: *Chem. Mater.* 2000, *12*, 2268.
- 37. Carotenuto G.: Appl. Organomet. Chem. 2001, 15, 344.
- 38. Seoudi R., Fouda A.A., Elmenshawy D.A.: Physica B 2010, 405, 906.
- 39. Zhang Y., Kohler N., Zhang M.: Biomaterials 2002, 23, 1553.

- 40. Oh E., Susumu K., Goswami R., Mattousi H.: Langmuir 2010, 26, 7604.
- 41. Susumu K., Mei B.C., Mattousi H.: Nat. Protocols 2009, 4, 424.
- 42. Tracy J.B., Kalyuzhny G., Crowe M.C., Balasubramanian R., Choi J.-P., Murray R.W.: J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 6706.
- 43. Pucci A., Bernabo M., Elvati P., Meza L.I., Galembeck F., de Paula Leite C.A., Tirelli N., Ruggeri G.: *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 1058.
- 44. Florindo H.F., Pandit S., Goncalves L.M., Alpar H.O., Almeida A.J.: Int. J. Pharm. 2010, 390, 25.
- 45. Ge Y., Zhang Y., He S., Nie F., Teng G., Gu H.: *Nanoscale Res. Lett.* **2009**, *4*, 287.
- Berry C.C., Wells S., Charles S., Aitchison G., Curtis A.S.G.: *Biomaterials* 2004, 25, 5405.
- Phuong Thu H., Mai Huong L., Thi My Nhung H., Thi Thu Huong L., Tuan Quang D., Thi Hong Ha T., Dai Lam T., Xuan Phuc N.: *Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol.* 2012, *3*, 035002.
- 48. Feng X., Tang Y., Duan X., Liu L., Wang S.: J. Mater. Chem. 2010, 20, 1312.
- Butkus, M. A.; Edling, L.; Labare, M. P. J. Water Supply Res. Technol-Aqua 2003, 52, 407.
- 50. Chen, S. P.; Wu, G. Z.; Zeng, H. Y. Carbohydr. Polym. 2005, 60, 33-38.
- Zhang, L. Z.; Yu, J. C.; Yip, H. Y.; Li, Q.; Kwong, K. W.; Xu A.W.; Wong, P. K. *Langmuir* 2003, *19*, 10372.
- 52. Park, S. J.; Jang, Y. S. J. Colloid Interface Sci. 2003, 261, 238.
- 53. Lee, D.; Cohen, R. E.; Rubner, M. F. Langmuir 2005, 21, 9651.
- 54. Taylor, P. L.; Ussher A. L.; Burrell, R. E. Biomaterials 2005, 26, 7221.
- 55. Shanmugam, S.; Viswanathan, B.; Varadarajan, T. K. Mater. Chem. Phys. 2006, 95, 51.
- Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizurova N., Sharma V.K., Nevecna T., Zboril R., J. Phys. Chem B 2006, 110, 16248
- 57. Ulkur, E.; Oncul, O.; Karagoz, H.; Yeniz, E.; Celikoz, B. Burns 2005, 31, 874.
- Parikh, D. V.; Fink, T.; Rajasekharan, K.; Sachinvala, N. D.; Sawhney A. P. S.; Calamari, T. A.; Parikh, A. D. *Text. Res. J.* 2005, 75, 134.
- Alt, V.; Bechert, T.; Steinru[°]cke, P.; Wagener, M.; Seidel, P.; Dingeldein, E.; Domann, U.; Schnettler, R. *Biomaterials* 2004, 25, 4383.

- Gosheger, G.; Hardes, J.; Ahrens, H.; Streitburger, A.; Buerger, H.; Erren, M.; Gunsel, A.; Kemper, F. H.; Winkelmann, W.; Eiff, Ch. *Biomaterials* 2004, 25, 5547.
- 61. Bosetti. M.; Masse`, A.; Tobin, E.; Cannas, M. Biomaterials 2002, 23, 887.
- Gauger, A.; Mempel, M.; Schekatz, A.; Schafer, T.; Ring, J.; Abeck, D. Dermatology 2003, 207, 15.
- 63. Lee, H. J.; Jeong, S. H. Text. Res. J. 2005, 75, 551.
- 64. Rupp, M. E.; Fitzgerald, T.; Marion, N.; Helget, V.; Puumala, S.; Anderson, J. R.; Fey, P. D. Am. J. Infect. Control 2004, 32, 445.
- 65. Samuel, U.; Guggenbichler, J. P. Int. J. Antimicrob. Agents 2004, 23S1, S75.
- 66. Strathmann, M.; Wingender, J. Int. J. Antimicrob. Agents 2004, 24, 36.
- Yuranova, T.; Rincon, A. G.; Bozzi, A.; Parra, S.; Pulgarin, C.; Albers, P.; Kiwi, J. J. Photochem. Photobiol. A 2003, 161, 27.
- 68. Jeong, S. H.; Yeo, S. Y.; Yi, S. C. J. Mater. Sci. 2005, 40, 5407.
- 69. Chou, W. L.; Yu, D. G.; Yang, M. C. Polym. AdV. Technol. 2005, 16, 600.
- Sun, R. W. Y.; Chen, R.; Chung, N. P. Y.; Ho, C. M.; Lin, C. L. S.; Che, C. M. Chem. Commun. 2005, 40, 5059.
- 71. Matijevic, E. Chem. Mater. 1993, 5, 412.
- 72. Nickel, U.; Castell, A. Z.; Poppl, K.; Schneider, S. Langmuir 2000, 16, 9087.
- 73. Leopold, N.; Lendl, B. J. Phys. Chem. B 2003, 107, 5723.
- 74. Khanna, P. K.; Subbarao, V. V. V. S. Mater. Lett. 2003, 57, 2242.
- 75. Sondi, I.; Goia, D. V.; Matijevic, E. J. J. Colloid Interface Sci. 2003, 260, 75.
- 76. Gutie'rrez, M.; Henglein, A. J. Phys. Chem. 1993, 97, 11368
- 77. Morones, J. R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J.B.; Ramirez J. T.; Yacaman, M. J. *Nanotechnology* 2005, *16*, 2346.
- 78. Baker, C.; Pradhan, A.; Pakstis, L.; Pochan, D. J.; Shah, S. I. J. Nanosci. Nanotechnol. 2005, 5, 244.
- Fujiwara Y., Kobayashi Y., Kita K., Kakehashi R., Noro M., Katayama J., et al. J. Electrochem. Soc. 2008, 155, 377.
- Kohler J.M., Abahmane L., Wagner J., Albert J., Mayer G., *Chem. Eng. Sci.* 2008, 63, 5048.
- 81. Lin Y.C., Lin C.H., Environ. Prog. 2008, 27, 496.
- 82. Mohan Y.M., Lee K., Premkumar T., Geckeler K.E., Polymer 2007, 48, 158.
- 83. Wang A.Q., Liu J.H., Lin S.D., Lin T.S., Mou C.Y., J. Catal. 2005, 233, 186.

- 84. Lee D., Cohen R.E., Rubner M.F., Langmuir 2005, 21, 9651.
- 85. Lee H.J., Yeo S.Y., Jeong S.H., J. Mater. Sci. 2003, 38, 2199.
- 86. Pal S., Tak Y.K., Song J.M., Appl. Environ. Microbiol. 2007, 73, 1712.
- 87. Sondi I., Salopek-Sondi B., J. Colloid. Interface Sci. 2004, 275, 177.
- Lok C.N., Ho C.M., Chen R., He Q.Y., Yu W.Y., Sun H.Z., et al. *J Proteome Res* 2006, 5, 916.
- 89. Cao Y.W.C., Jin R.C., Mirkin C.A., Science 2002, 297, 1536.
- 90. Freeman R.G., Grabar K.C., Allison K.J., Bright R.M., Davis J.A., Guthrie A.P., et al., *Science* **1995**, *267*, 1629.
- Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L.T., Itzkan I., Dasari R., et al., *Phys. Rev. Lett.* **1997**, 78, 1667.
- Prucek R., Panacek A., Fargasova A., Ranc V., Masek V., Kvitek L., et al., *Cryst. Eng. Comm.* 2011 doi:10.1039/c1030ce00776e.
- 93. Nie S.M., Emory S.R., Science 1997, 275, 1102.
- 94. Garrell R.L., Anal. Chem. 1989, 61, A401.
- Jain P.K., Huang X.H., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A., Acc. Chem. Res. 2008, 41, 1578.
- Hu K.W., Huang C.C., Hwu J.R., Su W.C., Shieh D.B., Yeh C.S., *Chem. Eur. J.* 2008, 14, 2956.
- 97. Ledwith, M.D., Aherne, D., Kelly, J.M. In *Nanotechnologies for the Life Sciences* **2010**; pp. 99–147.
- 98. Ju-Nam, Y., Lead, J.R. Sci. Total Environ. 2008, 400, 396.
- 99. Mohanty, S., Mishra, S., Jena, P., Jacob, B., Sarkar, B., Sonawane, A.: Nanomed. Nanotech. Biol. Med. 2012, 8, 916.
- 100.Guzman, M., Dille, J., Godet, S.: Nanomed. Nanotech. Biol. Med. 2012, 8, 37.
- 101.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.: Nanomed. Nanobiotech. Biol. Med. 2007, 3, 95.
- 102.Panacek A., Kvítek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizúrova N., Sharma V.K., Nevecna T., Zboril R.: J. Phys. Chem. B 2006, 110, 16248.
- 103.Percival S.L., Bowler P.G., Dolman J.: *International wound journal* **2007**, *4*, 186.
- 104.Panacek A., Kolar M., Vecerova R., Prucek R., Soukupova J., Krystof V., Hamal P., Zboril R., Kvitek L.: *Biomaterials* **2009**, *30*, 6333.

- 105. Rai M.K., Deshmukh S.D., Ingle P., Gade K.: J. Appl. Microbiol. 2012, 112, 841.
- 106. Lara H.H., Garza-Treviño E.N., Ixtepan-Turrent L., Singh D.K.: J. Nanobiotechnol. 2011, 9, 1.
- 107. You C., Han C., Wang X., Zheng Y., Li Q., Hu X., Sun H.: Mol. Biol. Rep. 2012, 39, 9193.
- 108. Su H.-L., Chou C.-C., Hung D.-J., Lin S.-H., Pao I.-C., Lin J.-H., Huang F.-L., Dong R.-X., Lin J.-J.: *Biomaterials* **2009**, *30*, 5979.
- 109. Gordon O., Vig Slenters T., Brunetto P.S., Villaruz A.E., Sturdevant D.E., Otto M., Landmann R., Fromm K.M.: Antimicrob. Agents Chemother. 2010, 54, 4208.
- 110. Ahamed M., Alsalhi M.S. Siddiqui M.K.: J. Clin. Chim. Acta 2010, 411, 1841.
- 111. Prucek R., Tucek, J., Kilianova M., Panacek A., Kvitek L., Filip J., Kolar M., Tomankova K., Zboril R.: *Biomaterials* 2011, 32, 4704.
- 112. Solanki J.N., Murthy Z.V.P.: Ind. Eng. Chem. Res. 2011, 50, 12311.
- 113. Roucoux A., Schulz J., Patin H.: Chem. Rev. 2002, 102, 3757.
- 114. Kuila B.K., Garai A., Nandi A.K.: Chem. M 2007, 19, 5443.
- 115. Haw M.: Nature 2003, 422, 556.
- 116. Jin R.C., Cao Y.C., Hao E.C., Metraux G.S., Schatz G.C., Mirkin C.A.: *Nature* 2003, 425, 487.
- 117.Stefan M., Marius S., Hritcu L., Lucian H., Mihasan M., Marius M., Pricop D., Daniela P., Gostin I., Irina G., Olariu R.-I., Romeo-Iulian O., Dunca S., Simona D., Melnig V., Viorel M.: J. Mater. Sci.: Mater. Med. 2011, 22, 789.
- Banerjee M., Mallick S., Paul A., Chattopadhyay A., Ghosh S.S.: *Langmuir* 2010, 26, 5901–5908.
- 119. Dallas P., Zboril R., Bourlinos A.B., Jancik D., Niarchos D., Panacek A., Petridis D.: *Macromol. Mater. Eng.* **2010**, *295*, 108.
- 120. Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizurova N., Sharma V.K., Nevecna T., Zboril R.: J. Phys. Chem. B 2006, 110, 16248.
- 121.Castro T., Reifenberger R.: Phys. Rew. B 1990, 42, 8548.
- 122.Chen D., Qiao X., Qiu X., Chen J.: J. Mater. Sci. 2009, 44, 1076.
- 123.Pothukuchi S., Li, Y., Wong C.P.: J. Appl. Polym. Sci. 2004, 93, 1531.
- 124.Kelly K.L., Coronado E., Zhao L. L., Schatz G.C., *J. Phys. Chem. B* **2003**, **107**, 668.

- 125.Unnikrishnan K.P., Nampoori V.P.N., Ramakrishan V., Umadevi M., Vallabhan C.P.G., J. Physics D Applied Physics 2003, 36, 1242.
- 126.Sukhov N.L., et al, Russian Chemical Bulletin 1997, 46, 197.
- 127.Liau Y.-H., et al, J. Phys. Chem B, 2001, 105, 2135.
- 128. Voisin C., et al, J. Phys. Chem B, 2001, 105, 2264.
- 129. Garell R.L., Analytical Chemistry 1989, 61, A401.
- 130.Parfenov A., Gryczynski I., Malicka J., Geddes C.D., Lakowicz J.R., J. Phys. Chem. B 2003, 107, 8829.
- 131.Cervo S., Mansutti E., Mistro G. D., Spizzo R., Colombatti A., Steffan A., et al. Anal Bioanal Chem 2015, 407, 7503.
- 132.Li S., Zhang Y., Xu J., Li L., Zeng Q., Lin L., et al. Appl Phys Lett 2014, 105.
- 133.R. Rojas V and e. al., Journal of Chemical Physics 98 (1993) 998.
- 134.O. Sestak, P. Matejka, and B. Vlckova, *Journal of Molecular Structure* 348 (**1995**) 297.
- 135.H.-P. Chiang and e. al., Journal of Chemical Physics 108 (1998) 2659.
- 136.S. Lecomte, P. Matejka, and M. H. Baron, Langmuir 14 (1998) 4373.
- 137.I. Srnova-Sloufova, B. Vlckova, T. L. Snoeck, D. J. Stufkens, and P. Matejka, *Inorganic Chemistry* 39 (2000) 3551.
- 138.M. Muniz-Miranda, Journal of Physical Chemistry A 104 (2000) 7803.
- 139.B. O. Skadtchenko and R. Aroca, Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy 57 (2001) 1009.
- 140.I. Pavel, D. Moigno, S. Cinta, and W. Kiefer, *Journal of Physical Chemistry A* 106 (2002) 3337.
- 141.C. D. Keating, K. M. Kovaleski, and M. J. Natan, *Journal of Physical Chemistry B* 102 (**1998**) 9404.
- 142.P. Etchegoin, H. Liem, R. C. Maher, L. F. Cohen, R. J. C. Brown, M. J. T. Milton, and J. C. Gallop, *Chemical Physics Letters* 367 (2003) 223
- 143.R. M. Jarvis and R. Goodacre, Analytical Chemistry 76 (2004) 40.
- 144.Jensen T.R., Duval M.L., Kelly K.L., Lazarides A.A., Schatz G.C., Van Duyne R.P., J Phys Chem B 1999, 103, 9846.
- 145.A. J. Maes and e. al., J. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 10596.
- 146.J. C. Riboh, A. J. Haes, A. D. McFarland, C. R. Yonzon, and R. P. Van Duyne, *Journal of Physical Chemistry B* 107 (2003) 1772.

- 147.W. E. Doering and S. M. Nie, Analytical Chemistry 75 (2003) 6171.
- 148.F. T. Docherty, M. Clark, G. McNay, D. Graham, and W. E. Smith, *Faraday Discussions* 126 (**2004**) 281.
- 149.B. P. Maliwal, J. Malicka, I. Gryczynski, Z. Gryczynski, and J. R. Lakowicz, *Biopolymers* 70 (2003) 585.
- 150.J. Malicka, I. Gryczynski, and J. R. Lakowicz, *Analytical Chemistry* 75 (2003) 4408
- 151.N. Lochner, C. Lobmaier, M. Wirth, A. Leitner, F. Pittner, and F. Gabor, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (**2003**) 469.
- 152.Ditlbacher H., Krenn J.R., Lamprecht B., Leitner A., Aussenegg F.R., *Opt Lett* 2000, 25, 563.
- 153.S. B. Fuller, E. J. Wilhelm, and J. A. Jacobson, *Journal of Microelectromechanical Systems* 11 (2002) 54.
- 154.S. Magdassi, A. Bassa, Y. Vinetsky, and A. Kamyshny, *Chemistry of Materials* 15 (2003) 2208.
- 155.L. Cao, X. Bai, Z. Lin, P. Zhang, S. Deng, X.H. Du, W. Li, Journal List, Materials (Basel), 10 (2017) 9
- 156.N. R. Jana and T. Pal, Current Science 75 (1998) 145.
- 157.N. R. Jana, T. K. Sau, and T. Pal, *Journal of Physical Chemistry B* 103 (**1999**) 115
- 158.Y. Shiraishi and N. Toshima, *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* 141 (1999) 187.
- 159.Y. Shiraishi and N. Toshima, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 169 (**2000**) 59.
- 160.H. Chateau, M. Duranté, and B. Hervier, 27 (1956) 81
- 161.Nickel, U., Castell, A. Z., Poppl, K., Schneider, S. Langmuir 2000, 16, 9087.
- 162.Leopold, N., Lendl, B. J. Phys. Chem. B 2003, 107, 5723.
- 163.Khanna, P. K., Subbarao, V. V. V. S. Mater. Lett. 2003, 57,
- 164. Shirtcliffe, N., Nickel, U., Schneider, S. J. Colloid Interface Sci. 1999, 211, 122.
- 165.Saito, Y., Wang, J. J., Batchelder, D. N., Smith, D. A. Langmuir 2003, 19, 6857.
- 166.Kvitek, L., Prucek, R., Panacek, A., Novotny, R., Hrbac, J., Zboril, R. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 1099.
- 167. Henglein A., Chem. Mater., 1998, 10 (1), pp 444

- 168.I. Lee, S. W. Han, and K. Kim, Journal of Raman Spectroscopy 32 (2001) 947.
- 169.P. Smejkal, B. Vlckova, M. Prochazka, P. Mojzes, and J. Pfleger, *Journal of Molecular Structure* 483 (1999) 225.
- 170.Y. H. Chen and C. S. Yeh, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and* Engineering Aspects 197 (2002) 133.
- 171.R. Brause, H. Moltgen, and K. Kleinermanns, *Applied Physics B-Lasers and Optics* 75 (**2002**) 711.
- 172.M. Prochazka, P. Mojzes, J. Stepanek, B. Vlckova, and P. Y. Turpin, *Analytical Chemistry* 69 (1997) 5103
- 173.J. S. Jeon and C. S. Yeh, *Journal of the Chinese Chemical Society* 45 (**1998**) 721.
- 174.P. Smejkal, K. Siskova, B. Vlckova, J. Pfleger, I. Sloufova, M. Slouf, and P. Mojzes, *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 59 (2003) 2321.
- 175. Hao R., Xing R., Xu Z., Hou Y., Gao S., Sun S., Adv. Mater. 2010, 22, 2729
- 176.Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Elst L.V., Muller R.N., *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064
- 177.Ju-Nam Y., Lead J.R., Sci. Total Environ., 2008, 400, 396
- 178.Cornell R.M., Schwertmann U., The iron oxides structure properties reactions accurence and uses, **2003**, VCH Verlag, Weinheim.
- 179. Zboril R., Mashlan M., Petridis D. Chemistry of Materials, 2002, 14, 969.
- 180.Colomb, J., Louie, K., Massia, S.P., Bennett, K.M. Magn. Reson. Med. 2010 64, 1792
- 181.Gupta, A.K., Gupta, M., Biomaterials 2005 26, 3995.
- 182.Yang, H.H., Zhang, S.Q., Chen, X.L., Zhuang, Z.X., Xu, J.G., Wang, X.R., *Anal. Chem.* **2004** 76, 1316.
- 183.Prucek, R., Tucek, J., Kilianova, M., Panacek, A., Kvitek, L., Filip, J., Kolar, M., Tomankova, K., Zboril, R. Biomaterials 2011 32, 4704.
- 184.Kilianova M. R. Prucek, J.Filip, J. Kolarík, L. Kvitek, A. Panacek, J. Tucek, R.Zboril, *Chemosphere* 93 (2013) 2690
- 185.Prucek, R., Hermanek, M., Zboril, R. Appl. Catal. A Gen. 2009 366, 325.
- 186.W. Wei, G. Jinlong Front. Chem. Sci. Eng. 5 (2011) 2.
- 187.J. Kirchner, J.K. Anolleck, H. Lösch, S. Kureti, Appl. Catal. B Environ. (2017).

- 188.L.K. Obid Tursunov, A. Kustov, A. Travyanov, *Proceedings of 48th IASTEM International Conference*, New York, USA, **2017**, 1.
- 189.R. M. Cornell, U. Schwertmann, The Iron Oxides, VCH: Weinheim 1996
- 190.D. G. Rancourt, S. R. Julian, J. M. Daniels, J. Magn. Magn. Mater. 1985, 49, 305
- 191.J. Jing, F. Zhao, X. Yang, U. Gonser, Hyperfine Interact. 1990, 54, 571
- 192.Sivula, K., Zboril, R., Le Formal, F., Robert, R., Weidenkaff, A., Tucek, J., Frydrych, J., Grätzel, M. Journal of American Chemical Society, 2010, 132, 7436-7444
- 193.Braun, H., Gallagher, K.J. Nature physical science 1972 24
- 194. Carraro G., Barreca D., Maccato Ch., Bontempi E., Depero L.E., Fernández C.J., Caneschi A. Cryst Eng Comm 2013, 15, 1039
- 195.Ikeda, Y., Takano, M., Bando, Y. Bull. *Inst. Chem. Res.*, Kyoto Univ., 64, 249, 1986
- 196.Danno T., Asaoka H., Nakanishi M., Fujii T., Ikeda Y., Kusano Y., Takada J. Journal of Physics: Conference Series 200 (2010) 082003
- 197.Jonathan D. Emery, Christian M. Schlepütz, Peijun Guo, Shannon C. Riha, Robert P. H. Chang, and Alex B. F. Martinson, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2014, 6 (24), 21894
- 198.Pecharroman C., Gonzalez-Carreno T., Iglesias J. E. *Physics and Chemistry of Minerals*, **1995** 22, 21
- 199.Ben-Dor, L., Fischbein, E., Felner, I., Kalman, Z. J. Electrochem. Soc. 1977, 124, 451.
- 200. Machala, L., Tuček, J., Zboril, R. Chem. Mater. 2011, 23 (14), 3255
- 201.Sakurai, S., Jin Jian, Hashimoto, K., Ohkoshi, S. J. Phys. Soc. Jpn. **2005**,74 (7) 1946.
- 202.Gich, M., Frontera, C., Roig, A., Taboada, E., Molins, E., Rechenberg, H.R., Ardisson, J. D., Macedo, W. A. A., Ritter, C., Hardy, V., Sort, J., Skumryev, V. and Nogués, J. Chem. Mater. 18 (2006) 3889
- 203.B.J. Evans, Journal of Applied Physics, 40 (1969) 1411.
- 204.J.M. Zuo, J.C.H. Spence, *Physical Review B*, 42 (1990) 8451-8464.
- 205. Dézsi I., C. Fetzer, Journal of Applied Physics, 103 (2008) 104312.

- 206.A.P.C. Teixeira, J.C. Tristão, M.H. Araujo, L.C.A. Oliveira, F.C.C. Moura, J.D. Ardisson, C.C. Amorimd, R.M. Lago, J. *Braz. Chem. Soc.*, 23 (**2012**) 1579.
- 207. Ab initio study of the half-metal to metal transition in strained magnetite, *New Journal of Physics* 9(1), January **2007**
- 208.J. García, G. Subías, The, Journal of Physics: Condensed Matter, 16 (2004) R145-R178.
- 209.G.A. Sawatzky, Journal of Applied Physics, 40 (1969) 1402.
- 210.M. Jackson, B. Moskowitz, J. Bowles, The IRM Quarterly, 20 (2011).
- 211. Hah, Hien-Yoong, Master's Thesis, University of Tennessee, 2016.
- 212.D.J. Dunlop, Journal of Geophysical Research, 78 (1973) 1780.
- 213.S. Morup, Appl. Phys, (1976) 63-66
- 214.D.J. Dunlop, On Geophysical Research Letters, 10 (1983) 79.
- 215.S.H. Kilcoyne, Journal of Magnetism and Magnetic Materials 140-144 (1995) 1466.
- 216.Zhao, Y., Qiu, Z., Huang, J. Chinese Journal of Chemical Engineering 2008, 16, 451–455.
- 217.5. Indira, T. K., Lakshmi, P. K. M. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology **2010**, 3, 1035–1042.
- 218.6. Massart, R., Cabuil, V. Journal of Chemical Physics 1987, 84, 967.
- 219.7. Sjogren, C. E., Briley-Saebo, K., Hanson, M., Johansson, C. Magnetic Resonance in Medicine 1994, 31, 268–272
- 220.8. Gupta, A. K., Gupta, M. Biomaterials 2005, 26, 3995.
- 221.10. Kim, D. K., Zhang, Y., Voit, W., Rao, K. V., Muhammed, M. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2001**, 225, 30.
- 222.11. Tartaj, P., Morales, M. P., Veintemillas-Verdague, S., Gonzalez-Carreno, T., Serna, C. J. *Handbook of Magnetic Materials*. North-Holland: Elsevier, 2006, 403.
- 223.Mao, B., Kang, Z., Wang, E., Lian, S., Gao, L., Tian, C., Wang, C. *Materials Research Bulletin* **2006**, 41, 2226.
- 224.23. Zhu, H., Yang, D., Zhu, L. Surface and Coatings Technology 2007, 201, 5870.
- 225.24. Willard, M. A., Kurihara, L. K., Carpenter, E. E., Calvin, S., Harris, V. G. Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology. Stevenson Ranch: American Scientific Publishers, 2004, 815.

- 226.25. Chen, D., Xu, R. Materials Research Bulletin 1998, 33, 1015.
- 227. Hyeon, T., Lee, S. S., Park, J., Chung, Y., Na, H. B. Journal of the American Chemical Society 2001, 123, 12798
- 228.Lam, U. T., Mammucari, R., Suzuki, K., Foste, N. R. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 2008, 47, 599.
- 229.36. Tavakoli, A., Sohrabi, M., Kargari, A. Chemical papers 2007, 61, 151.
- 230.37. Monte, F. D., Morales, M. P., Levy, D., Fernandez, A., Ocana, M., Roig, A., Molins, E., O'Grady, K., Serna, C. J. *Langmuir* **1997**, 13, 3627.
- 231.38. Niznansky, D., Rehspringer, J. L., Drillon, M. *IEEE Transactions on Magnetics* **1994**, 30, 821.
- 232.N. N. Hoover, B. J. Auten and B. D. Chandler, J. Phys. Chem. B, 2006, 110, 8606–8612.
- 233.3 H. Kim, S. R. Dhage, D. Shim and H. T. Hahn, Appl. Phys. A, 2009, 97, 791.
- 234.Zhou J.F., Wu Z.S., Zhang Z.J., Tribol. Lett. 2000, 8, 213
- 235. Tarasíc S., Kolubaev A., Belyaev S., Lerner M., Temper F., Wear 2002, 252, 63
- 236. P. Dixit, J. M. Mia and R. Presser, Electrochem. Solid-State Lett., 2006, 9, 16.
- 237.Y. Lee, J. Choi, K. J. Lee, N. E. Stott and D. Kim, *Nanotechnology*, **2008**, *19*, 415604.
- 238.E. J. Zeman and G. C. Schatz, J. Phys. Chem., 1987, 91, 634
- 239.M.A.B. Aissa, B. Tremblay, A. Andrieux-Ledier, E. Maisonhaute, N. Raouafia,A. Courty, *Nanoscale*, 2015, 7, 3189
- 240.Prucek, R., Kilianova M., Cvičení ze základů nanomateriálové chemie. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, **2013**.
- 241. Crespo P., Litrán R., Rojas T.C., Multigner M., Phys. Rev. Lett. 2004, 03
- 242.Garitaonandia J.S., Insausti M., Goikolea E., Suzuki E., Nano Lett. 2008, 8, 661
- 243.Michels H.T., Wilks S.A., Noyce J.O., Materials Science and Technology Conference, Copper for 21st Century Symposium, Pittsburg, 2005.
- 244.CHEN, Zhen, et al. Toxicology letters, 2006, 163.2: 109.
- 245. Ruparelia J.P., Chatteriee A.K., Duttagupta S.P., Acta Biomat. 2010, 4, 707
- 246.Raffi M., Mehrwan S., Bhatti T.M., Ann. Of Microbial. 2010, 60, 75
- 247. Esteban-Cubillo A., Pecharroman C., Aguilar E., J. Mater. Sci., 2006, 14, 5208
- 248. Grigory V., Zyryanov A., Thmajee V., Charushin O., *Coordination chemistry* reviews **2017** 353, 15
- 249.N.Pradhan, A. Pal, T. Pal, Colloid Surf. A 2002 196, 247.

250.N.Pradhan, A. Pal, T. Pal, Langmuir, 17. 1800, 2001.

- 251.Y. Lu, Y. Mei, M. Ballauff, M. Drechsler, J. Phys. Chem. B, 2006 110, 3930.
- 252.Y. Lu, Y. Mei, M. Schrinner, M. Ballauff, M.W. Moller, J. Phys. Chem. C 2007 111 7676
- 253.M.Schrinner, F. Polzer, Y. Mei, Y. Lu, B. Haupt, M. Ballauff, A. Goldel, M. Drechsler, J. Preussner, U. Glatzel, *Macromol. Chem. Phys.*,2007 208, 1542.
- 254.S. Harish, J. Mathiyarasu, K. Phani, V. Yegnaraman, Catal.Lett. 2009 128 197.
- 255.Y. Mei, G. Sharma, Y. Lu, F. Polzer, M. Ballauff, M. Drechsler, T. Irrgang, R. Kempe, *Langmuir*, vol. 21, 12229 **2005**.
- 256. Robert P., L. Kvitek, A. Panacek, L. Vancurová, J. Soukupová, D. Jancik, R. Zboril[,] *Journal of Material chemistry*, Issue *44*, **2009**.
- 257.R. Prucek, A.Panáček, J. Filip, L. Kvítek, R. Zbořil, World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering Vol:8, No:6, **2014**.
- 258.Y. Wei, S. Chen, B. Kowalczyk, S. Huda, T. P. Gray and B. A. Grzybowski, J. *Phys. Chem. C*, **2010**, *114*, 15612.
- 259.I. Lisiecki and M. P. Pileni, J. Am. Chem. Soc., 1993, 115, 3887.
- 260.B. K. Park, S. Jeong, D. Kim, J. Moon, S. Lim and J. S. Kim, *J. Colloid Interface Sci.*, **2007**, *311*, 417
- 261.A. Sarkar, T. Mukherjee and S. Kapoor, J. Phys. Chem. C, 2008, 112, 3334.
- 262.Mie G., Ann. Phys. 1908, 25, 377
- 263.Zhou R.M., Wu X.F., Hao X.F., Nucl. Instrum. Meth. B 2008, 266, 599
- 264.Zhu H.T., Zhang C.Y., Yin Y.S., J.Cryst. Growth, 2004, 270, 722
- 265. Tilaki R.M., Zad A.I., Mahdavi S.M., Appl. Phys. A-Mater. 2007, 88, 415
- 266. Salavati-Niasari M., Davar F., Mir N., Polyhedron 2008, 27, 3514
- 267.P. Kanninen, C. Johans, J. Merta and K. Kontturi, *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, *318*, 88.
- 268.A. Courty, J. Phys. Chem. C, 2010, 114, 3719.
- 269.17 D. V. Talapin, ACS Nano, 2008, 2, 1097-1100
- 270.Huang H.H., Yan F.Q., Kek T.F., Langmiur, 1997, 13, 965
- 271. Prucek R., Kvitek L., Panacek A., J. Mater. Chem. 2009, 19, 8463
- 272. Wu C.W., Mosher B.O., Zeng T.F., J. Nanopart. Res. 2006, 8, 965
- 273.Dhas N.A., Raj C.P., Gedanken A., Chem. Mater., 1998, 10, 1446

- 274.Maeda Y. *The Electronics and Telecommunications Laboratories*, NNT, vol. 179. E.C.L. Techn, **1978**. p. 1e7.
- 275.Chen DY, Jiang MJ, Li NJ, Gu HW, Xu QF, Ge JF, et al. *J Mater Chem* **2010**, 20, 6422
- 276.Kluchova K, Zboril R, Tucek J, Pecova M, Zajoncova L, Safarik I, et al. *Biomaterials* **2009**,30:2855.
- 277.Corr SA, Rakovich YP, Gun'ko YK. Nanoscale Res Lett 2008,3: 87
- 278.Travan A, Pelillo C, Donati I, Marsich E, Benincasa M, Scarpa T, et al. *Biomacromolecules* **2009**,10:1429.
- 279.Nadagouda MN, Varma RS. Biomacromolecules 2007,8:2762.
- 280.Pinto RJB, Marques P, Neto CP, Trindade T, Daina S, Sadocco P. *Acta Biomater* **2009**,5:2279.
- 281.Reddy KR, Lee KP, Gopalan AY, Kang HD. React Funct Polym 2007,67:943.
- 282.Masotti A, Pitta A, Ortaggi G, Corti M, Innocenti C, Lascialfari A, et al. *Magn Reson Mater Phys Biol Med* **2009**,22: 77.
- 283.Park MJ, Park J, Hyeon T, Char K. J Polym Sci Polym Phys 2006,44:3571.
- 284.Bao J, Chen W, Liu TT, Zhu YL, Jin PY, Wang LY, et al. ACS Nano 2007,1:293.
- 285.Liu XM, Li YS. Mater Sci Eng C Biomimetic Supramol Syst 2009,29:1128.
- 286.Chen M, Kim YN, Lee HM, Li C, Cho SO. J Phys Chem C 2008,112: 8870.
- 287.R. Prucek, J. Tucek, M. Kilianova, A. Panacek, L. Kvitek, J. Filip, M. Kolar, K. Tománkova, R.Zboril, *Biomaterials*, **2011**, 32, 4704
- 288.C. L. Fox, and S. M. Modak, S. M., Antimicrob. Agents Chemother., vol. 5, no. 6, 582, 1974.
- 289.X. Chen, and H. J. Schluesener, Toxicol. Lett., 176, no. 1, 1, Jan. 2008.
- 290.http://www.silvermedicine.org/medical-products-silver.html.
- 291.Y. M. Mohan, T. Premkumar, K. Lee, and K. E. Geckeler *Macromol. Rapid Commun.*, 27, no. 16, 1346, **2006**.
- 292.V. Thomas, M. Namdeo, Y. M. Mohan, S. K. Bajpai, M. Bajpai, J. *Macromol. Sci. A*, 45, no. 1, 107, 2008.
- 293.A. Panacek, M. Kilianova, R. Prucek, V. Husickova, R. Vecerova, M. Kolar, L. Kvitek, R. Zboril, World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Chemical, Nuclear, Metallurgical and Materials Engineering, Vol 8, No 6, 2014

- 294.C. M. Luna, P. Vujacich, M. S. Niederman, C. Vay, C. Gherardi, J. Matera, and E. C. Jolly, *Chest*, 111, no. 3, 676, **1997**.
- 295.J. Rello, A. Torres, M. Ricart, J. Valles, J. Gonzalez, A. Artigas, and R. Rodrigueroisin, *Am. J. Resp. Crit. Care.*, 150, 6, 1545, **1994**.
- 296.J. R. Morones, J. L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J. B. Kouri, J. T. Ramirez, and M. J. Yacaman, *Nanotechnology*, *16*, 10, 2346, **2005**.
- 297.I. Sondi, and B. Salopek-Sondi, J. Colloid Interf. Sci., 275, 177, 2004.
- 298.A. Panacek, M. Kolar, R. Vecerova, R. Prucek, J. Soukupova, V. Krystof, P. Hamal, R. Zboril, and L. Kvitek, *Biomaterials*, *30*, 31, 6333, **2009**.
- 299.S. Krajewski, R. Prucek, A. Panacek, M. Avci-Adali, A. Nolte, A. Straub, R. Zboril, H. P. Wendel, and L. Kvitek, *Acta Biomaterialia*, *9*, 7, 7460, **2013**.
- 300.W. R. Li, X. B. Xie, Q. S. Shi, S. S. Duan, Y. S. Ouyang, and Y. B. Chen, *Biometals*, 24, 1, 135, 2011.
- 301.W. R. Li, X. B. Xie, Q. S. Shi, H. Y. Zeng, Y. S. Ou-Yang, and Y. B. Chen, *Appl. Microbiol. Biot.*, 85, 4, 1115, **2010.**
- 302.H. H. Lara, N. V. Ayala-Nunez, L. D. I. Turrent, and C. R. Padilla World J. Microb. Biot., 26, 4, 615, 2010
- 303.O. Choi, and Z. Q. Hu, Environ. Sci. Technol., 42, 12, 4583, 2008.
- 304.A. Panacek, M. Smekalova, M. Kilianova, R.t Prucek, K. Bogdanova, R. Vecerova, M. Kolar, M. Havrdova, G. Anna Płaza, J. Chojniak, R. Zboril, L, Kvitek, *Molecules* 2016, 21, 26
- 305.R. Satthawong, N. Koizumi, C.S. Song, P. Prasassarakich, Catal. 57 (2014) 588.
- 306.X.M. Liu, G.Q. Lu, Z.F. Yan, J. Beltramini, *Ind. Eng. Chem.* Res. 42 (2003) 6518–6530
- 307.G. Bozzano, F. Manenti, Prog. Energy Combust. 56 (2016) 71-105.
- 308.H. Ahouari, A. Soualah, A. Le Valant, L. Pinard, P. Magnoux, Y. Pouilloux, CO₂ , *React. Kinet. Mech. Catal.* 110 (2013) 131.
- 309.A. Baiker, Appl.Organomet. Chem. 14 (2000) 751.
- 310.J. Kirchner, J.K. Anolleck, H. Lösch, S. Kureti, Appl. Catal. B Environ. (2017).
- 311.S.H. Kang, J.W. Bae, P.S.S. Prasad, J.H. Oh, K.W. Jun, S.L. Song, K.S. Min, J. Ind. Eng. Chem. 15 (2009) 665.
- 312.M. Muhler, E. Tornqvist, L.P. Nielsen, B.S. Clausen, H. Topsoe, *Catal. Lett.* 25 (1994) 1.

- 313.M.D. Lee, J.F. Lee, C.S. Chang, T.Y. Dong, , Appl.Catal. 72 (1991) 267.
- 314.L.K. O. Tursunov, A. Kustov, A. Travyanov, Proceedings of 48th IASTEM International Conference, New York, USA, **2017**, pp. 1.
- 315.P.H. Choi, K.W. Jun, S.J. Lee, M.J. Choi, K.W. Lee, *Catal. Lett.* 40 (**1996**) 115–118.
- 316.L.M. Chew, H. Ruland, H.J. Schulte, W. Xia, M. Muhler, J. *Chem. Sci.* 126 (2014) 481–486.
- 317.K.S. Lin, A.K. Adhikari, K. Dehvari, J.H. Yang, C.W. Shu, *Chinese J. Phys.* 50 (**2012**) 271.
- 318.S.S. Nam, H. Kim, G. Kishan, M.J. Choi, K.W. Lee, *Appl. Catal. a-Gen.* 179 (**1999**) 155–163.
- 319.G. Ertl, H. Knözinger, J. Weitkamp, *Handbook of Heterogeneous Catalysis*, VCH, Weinheim, **1997**.
- 320.P. Courty, H. Ajot, C. Marcilly, B. Delmon, Powder Technol. 7 (1973) 21-38.
- 321.G.G. Wang, Y.Z. Zuo, M.H. Han, J.F. Wang, *React. Kinet. Mech. Catal.* 101 (2010) 443.
- 322.D.J. Wang, F.R. Tao, H.H. Zhao, H.L. Song, L.J. Chou, *Chinese J. Catal.*32 (2011) 1452.
- 323.H. Mistry, F. Behafarid, R. Reske, A.S. Varela, P. Strasser, B. Roldan Cuenya, , *ACS Catal.* 6 (**2016**) 1075.
- 324.R.V. Kumar, Y. Mastai, Y. Diamant, A. Gedanken, J. Mater. Chem. 11 (2001) 1209
- 325.A. Halder, M. Kilianova, B. Yang, E. C. Tyo, S. Seifert, R. Prucek, A. Panacek,
 P. Suchomel, O. Tomanec, D. J. Gosztola, D. Milde, H.-H. Wang, L. Kvitek, R.
 Zboril, S. Vajda, *Applied Catalysis B: Environmental* (2018) 128.

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta Katedra fyzikální chemie



Materiály s obsahem nanočástic ušlechtilých kovů pro biologické a analytické aplikace

Autoreferát disertační práce

Martina Kilianová

Školitel: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2018

Disertační práce byla vypracována v rámci Ph.D. studia fyzikální chemie na Katedře fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Ph.D. student:	Mgr. Martina Kilianová
	Univerzita Palackého v Olomouci
	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
	Univerzita Palackého v Olomouci

Oponenti:

Autoreferát rozeslán

Obhajoba disertační práce se bude konat na Katedře fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Disertační práce je k dispozici v knihovně Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

OBSAH

1.	ÚVOD4
2.	NANOMATERIÁLY NA BÁZI KOVŮ A OXIDŮ KOVŮ6
2.1.	NANOČÁSTICE STŘÍBRA6
2.1.1	Vlastnosti a aplikace nanočástic stříbra6
2.2.	NANOČÁSTICE OXIDŮ ŽELEZA9
2.2.1	Vlastnosti a aplikace nanočástic oxidů železa9
2.3.	NANOČÁSTICE MĚDI10
2.3.1	Vlastnosti a aplikace nanočástic mědi10
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST13
3.1.	BIOLOGICKÉ A ANTIMIKROBIÁLNÍ APLIKACE NANOČÁSTIC STŘÍBRA
3.1.1	. Antibakteriální a antifungální vlastnosti magnetických nanokompozitů oxidů
želez	a a nanočástic stříbra13
3.1.2	Příprava a in vitro baktericidní a fungicidní účinnost Ag NPs/methylcelulózového
hydro	
3.1.3	Synergická antibakteriální účinnost antibiotik kombinovaných s nanočásticemi
stříbr	a18
3.2.	ENVIRONMENTÁLNÍ VYUŽITÍ NANOČÁSTIC OXIDU ŽELEZA22
3.2.1	Využití ultrajemných superparamagnetických nanočástic oxidu železa při
odstra	aňování arsenu z vodného prostředí22
3.3.	KATALYTICKÁ ÚČINNOST KOMPOZITU NANOČÁSTIC OXIDŮ ŽELEZA
A MÌ	ĚDI25
3.3.1	Vysoce účinný nanokatalyzátor oxid železitý s obsahem Cu pro nízkotlakou
konv	erzi CO ₂ 25
4.	ZÁVĚR
5.	SUMMARY
6.	LITERATURA

1. ÚVOD

Předkládaná disertační práce se věnuje studiu přípravy nanočásticových a nanokompozitních systémů tzv. mincovních kovů (kovy skupiny I. B), dále studiu jejich vlastností a implementací do aplikací v rozličných odvětvích. Jako hlavní nositelé účinnosti studovaných materiálů byly zvoleny nanočástice stříbra (Ag NPs), nanočástice mědi (Cu NPs), v mnoha případech v kombinaci s nanočásticemi oxidů železa (Fe_xO_y NPs), které ve spojení s výše zmíněnými nanočásticemi přinášely do vzniklého kompozitu nové vlastnosti. Vytvořené nanokompozitní systémy skýtají velký potenciál v zachování si aktivních vlastností nanočástic vzácného kovu, ať už například antibakteriálních v případě nanočástic stříbra, katalytických u nanočástic mědi, tak i specifických vlastností nosiče, zejména možnost manipulace s nimi pomocí vnějšího magnetického pole.

Přestože se o nanotechnologiích a nanomateriálech hovoří teprve "několik" desetiletí, některé z jevů, které bychom dnes mohli označit za nanotechnologické, jsou známy a využívány již velmi dlouhou dobu. Příkladem mohou být například tvary minerálních krystalů, u kterých jsou podmínky vzniku důsledkem jejich vnitřního uspořádání na atomové a molekulové úrovni. Přírodním úkazem aplikovaného nanotechnologického přístupu může být považováno samouspořádání živých organismů, tak i využití nanostruktur řadou rostlin a živočichů pro jejich potřebu. Pravděpodobně nejznámějším a zároveň nejstarším známým případem technologie, kterou bychom v této době označili za "nanotechnologii" datovanou do 4. století našeho letopočtu, je římský pohár vyrobený ze sodnovápenatého skla s obsahem nanočástic stříbra a zlata, které způsobují jeho specifické a unikátní zbarvení ve spektru od zelené po temně rudou barvu, v závisloti na úhlu pozorování poháru a jeho osvětlení. Dalším důkazem objevení obdobných jevů byl objev Brownova pohybu (perikinetické seskupení částic) Janem Ingenhouszem (1785) při pozorování chování částic prachu na hladině alkoholu a později Robertem Brownem (1824), jež vypozoroval pohyb částic ve vakuolách pylu [1]. První všeobecně rozšířenou technikou založenou na využití nanotechnologií byla fotografie založená na halidech stříbra, které se po expozici rozkládají na nanočástice stříbra. [2]

V průběhu 19. a 20. století pak následoval velký rozmach postupů a technik v chemii, fyzice i optice, které bychom v současném náhledu na situaci mohli

považovat za nanotechnologické metody. Za zakladatele myšlenky, jenž využívá nanotechnologických možností, je považován americký fyzik a nositel Nobelovy ceny Richard Feynman, který dne 29.12.1959 na výročním zasedání American Physical Society v California Institute of Technology (Caltech) Pasadena, USA, přispěl přednáškou s názvem: "There's Plenty of Room at the Bottom". Příspěvek předpovídal možnost tvorby materiálů a mechanizmů na úrovni atomů a molekul s tím pohledem, že příroda jako taková umí tyto nanostruktury vytvářet a také je využívat. Feynman však tehdy přednesl názor, že skutečné plnění jeho předpovědí nastane až ve chvíli, kdy budou k dispozici dostatečné experimentální techniky, jež by umožňovaly manipulace s "nano" objekty a zároveň pozorování jejich unikátních vlastností. Řada jeho předpovězených úvah a myšlenek, ve své době považovaných za pouhé utopie, se však přece jenom dočkala skutečného plnění [3].

Od roku 1960 tak docházelo k postupnému rozvoji metod zaměřující se na tvorbu nanočástic a také fotolitografických metod. Nicméně zásadní zlom ve vývoji nanotechnologií přinesl v 80. letech minulého století objev mikroskopových metod Skenovacího (rastrovacího) tunelovacího mikroskopu (STM) a Mikroskopu atomových sil (AFM), které umožňující sledovat a determinovat děje až na úrovni jednotlivých atomů a molekul. Tato doba tudíž začala zaznamenávat enormní nárůst objevů, publikací, patentů, ale i praktického využití nanotechnologií ve všech vědních, ale i oborech lidské činnosti. Hlavní výhodou aplikací nanomateriálů a technologií s nimi spojenými může být považován fakt, že veškeré strukturální změny, nastávající na atomární a molekulární úrovni, přináší zřetelné důsledky do makrosvěta [4].

2. NANOMATERIÁLY NA BÁZI KOVŮ A OXIDŮ KOVŮ

2.1. Nanočástice stříbra

2.1.1. Vlastnosti a aplikace nanočástic stříbra

Částice stříbra (Ag NPs) již po mnoho staletí představují zástupce aktivních materiálů, jež jsou známé svými unikátními vlastnostmi hojně využívanými už za antického Řecka. V současné době jsou biologické účinky nanočástic stříbra znovu objevovány v souvislosti s neustále se zvyšující hrozbou rezistentního chování bakteriálních kmenů vůči používaným a kolikrát i zbytečně nadužívaným antibiotickým přípravkům určeným k léčbě běžně se vyskytujících chorob a onemocnění. V posledních letech se proto výzkumníci zaměřili na syntézu nanočástic stříbra a také jejich směsí, jež mohou obsahovat stříbrné ionty (Ag⁺) [5,6] a metalické stříbro (Ag⁰) [7-11], vykazující vysokou antimikrobiální aktivitu.



Obr.1: (a) ilustrativní modelové znázornění nanočástic stříbra a (b) TEM snímek nanočástic stříbra. Převzato z [12].

Antibakteriální aktivita stříbro-obsahujících materiálů může být využita například v medicínských oborech k redukci výskytu infekce popáleninových úrazů či poranění [13,14], artroplastice [15], neboli při operativních zákrocích nemocných kloubů, stejně jako při předcházení bakteriální kolonizace na protetických materiálech [16], implantátech vyrobených z nerezavějící oceli [17], uměle

vytvořené lidské kůži [18,19], katétrech [20,21], cévních štěpech [22]. Materiály s obsahem aktivního stříbra mohou být také využity k eliminaci růstu mikroorganismů na texturách tkanin [23,24] nebo například při čištění vod [25]. Ag NPs také představují potenciální cytoprotektivní aktivní látku vůči HIV infikovaným buňkám [26]. Díky tomuto širokému aplikačnímu rozpětí byla vypracována řada metod k jejich syntéze a studiu biologických vlastností [27-32]. Navzdory baktericidnímu efektu iontového stříbra, antimikrobiální aktivita (koloidních) nanočástic stříbra je ovlivněna dimenzionalitou částic a to tak, že se zmenšujícím se rozměrem částic roste jejich antimikrobiální efekt, jež vykazují [33,34]. Na základě tohoto zjištění je kladen důraz na důslednou kontrolu velikosti syntetizovaných nanočástic stříbra.

V současné době jsou intenzivně studovány antimikrobiální účinky nanočástic stříbra v důsledku právě enormně rostoucí bakteriální rezistence vůči nadměrně a opakovaně používaným klasickým antibiotikům. Den za dnem se tedy léčba bakteriálních infekcí, využívajících klasická antibiotika, stává vážnějším globálním problémem. Jako důkaz bylo poukázáno kupříkladu na objev bakterií nesoucí enzym NDM-1 (New Delhi metalo-beta-laktamáza), proti nimž jsou téměř všechna známá antibiotika neúčinná. Vzhledem k tomu, že většina použitých účinných antibiotik pochází ze 70. a 80. let 20. století, je jistě nezbytné vyvinout nové typy léků pro účinný boj s bakteriemi. Stříbrné nanočástice mohou představovat potenciální slibné pomocníky v tomto boji, protože dokáží účinně eliminovat bakterie již při relativně nízkých koncentracích; koncentracích, které nejsou toxické pro lidské buňky.

Ag NPs neprokazují pouze antibakteriálními účinky, ale jak již bylo zmíněno dříve, jsou specifické také svým chováním v oblasti optického či katalytického využití [35-39]. Kromě antimikrobiální aktivity [40-44], jejich aplikace existuje také v oblasti povrchovem zesílené Ramanovy spektroskopie [45-50] a/nebo fototermální terapie rakovinových onemocnění [51,52]. V těchto oblastech jsou nanočástice stříbra výhodnější než jejich příslušní "protivníci", protože jsou schopné vykazovat velmi intenzivní absorpční pásmo ve viditelné oblasti spektra, jehož poloha závisí na velikosti a tvaru nanočástic stříbra. Na velikosti a tvaru nanočástic závisí ale také zabarvení nanočástic stříbra. U Ag NPs, ale i u nanočástic mědi či zlata, mohou být pozorovány ve spektru ve viditelné oblasti spektra absorpční pásy. Tyto pásy jsou známé pod pojmem povrchové plazmonové rezonanční (SPR) pásy a pocházejí z

interakce volných vodivostních elektronů NPs se zářením o vhodné vlnové délce [53]. Rezonanční efekt může být závislý na velikosti a tvaru nanočástic, ale také na povrchové úpravě či stupni agregace nanočástic [54].

Silné antimikrobiální vlastnosti byly prokázány u iontového stříbra, ale právě i u nanočástic Ag, čímž si našly cestu k širokému uplatnění, například v řadě medicínských a kosmetických přípravků. AgNPs jsou považovány za baktericidní přípravky v oblasti širokého spektra Gram-pozitivních i Gram-negativních bakterií [55-58], jež mohou zahrnovat i druhy bakterií s rezistencí vůči antibiotikům [59]. Nanočástice stříbra nacházejí také uplatnění při boji s různorodou řadou kvasinkových kmenů, jako například jsou *Candida, Pseudomonas* nebo *Saccharomyces* [60,61]. Vliv nanočástic stříbra byl studován také na onemocnění virového charakteru, a to konkrétně na viry HIV. Aktivity proti viru HIV byly potvrzeny jak na počátku virové replikace, tak v průběhu životního cyklu viru po jeho následném vstupu do buňky [62].

Mechanizmus antimikrobiálního účinku nanočástic stříbra nelze s jednoznačnou přesností určit, ačkoliv již byla provedena řada vědeckých studií ovšem s rozličnými výsledky. Možností a přístupů k problematice biologické aktivity nanočástic stříbra je v literatuře mnoho, například mechanismus, jež je založen na postupné rozpustnosti Ag NPs ve vodě za vzniku iontů stříbra Ag⁺ [63], efektivita díky jejich malým rozměrům, a tím i velké ploše povrchu, při níž dochází k fyzickému narušení integrity membrány buněk a penetraci nanočástic stříbra do cytoplazmy postiženého mikroorganizmu [64], interakce s genetickou buněčnou složkou, která může vést k inhibici translace transkriptázy [63,65].

Nanočástice stříbra vykazují vyšší cytotoxické vlastnosti než samotné jejich mikročástice, takže jejich účinnost je připisována především velikosti, tvaru a stupni agregace. Cytotoxické vlastnosti nanočástic mohou být doprovázeny také příspěvkem iontů stříbra, které jsou z nich postupně uvolňovány [63,66] AgNPs při výrazně vyšších koncentracích vykazují toxicitu jak proti mikroorganismům, tak i vůči lidským buňkám, což vyžaduje jejich intenzivní testování v nejrůznějších odvětvích biomedicíny. Z těchto testů vychází, že biologické vlastnosti nanočástic stříbra lze využít k hubení patogenních bakterií či plísní, a to při dosažení relativně nízkých koncentracích, jež nejsou toxické pro lidské buňky [67].

Nanočástice stříbra dále mohou vykazovat například výjimečné katalytické [68,69], elektrické [70,71], optické [72], a toxické [73-76], vlastnosti a nacházejí

uplatnění v řadě různých aplikací jako je fotovoltaika, chemické a biologické senzory, aditiva s výše zmíněnými antimikrobiálními účinky v medicínských pomůckách i v textilních materiálech. Specifickou vlastnost Ag NPs, v podobě závislosti jejich rozpustnosti na povrchové energii částic, je možno uplatit např. v elektricky vodivých lepidlech. Bod tání významně klesá s rostoucí energií povrchu, tedy se snižujícím se rozměrem částic [77]. V tomto ohledu mohou být Ag NPs využity jako vodivostní plniva do elektricky vodivých lepidel, jež jsou tvrzena při nízkých teplotách [78,79].

Další oblast aplikace nanočástic stříbra souvisí s jejich nelineárními optickými vlastnostmi [80,81] závislými výrazně na jejich velikosti [82]. Toto chování nanočástic je dáno existencí povrchového plasmonu [83,84], jehož výskyt úzce souvisí s např. povrchem zesíleným Ramanovým rozptylem (SERS) [85] či povrchem zesílenou fluorescencí [86].

2.2. Nanočástice oxidů železa

2.2.1. Vlastnosti a aplikace nanočástic oxidů železa

Nanočástice magnetických látek patří díky svým vlastnostem k hojně zkoumaným materiálům nanosvěta, a to nejen díky jejich netoxicitě, biokompatibilitě, biodegradabilitě [87,88], ale jak již bylo uvedeno výše, jejich vlastnosti se diametrálně liší, jestliže alespoň jeden z rozměrů se nachází pod 100 nm [89]. Při zachování těchto podmínek se u nich začíná projevovat anomální magnetické chování, k němuž patří například jednodoménovost magnetické struktury a superparamagnetizmus, asymetričnost hysterezních smyček, vysoké hodnoty diferenciální magnetické susceptibility, snížení hodnoty saturační magnetizace, zvýšení koercivity a remanence [90]. Ferimagnetické (resp. superparamagnetické) formy, jako jsou magnetit (Fe₃O₄) a maghemit (γ –Fe₂O₃), dnes patří k nejvíce využívaným zástupcům v bioaplikacích.



Obr. 2: Rozdělení oxidů železa a struktura jednotlivých fází Fe₂O₃. Převzato z [91].

Magnetické nanočástice oxidu železitého či podvojného oxidu železnatoželezitého, jako jsou γ-Fe₂O₃ (maghemit) a Fe₃O₄ (magnetit), často nacházejí využití v mnoha praktických odvětvích lidské aktivity. Jejich dominantní postavení v oblasti technologií a biomedicíny je zaručeno zajímavými magnetickými (např. superparamagnetismus, silná magnetická odezva při nízkých magnetických polích) a biochemickými (např. biologickou rozložitelností, biologickou kompatibilitou) vlastnostmi. Široká škála aplikačního využití magnetických nanočástic Fe₃O₄ a/nebo γ-Fe₂O₃ byla prokázána v nedávných letech, kde tyto magnetické částice mohou působit například jako biologické senzory [92], nosiče léků pro jejich cílené doručování či jako kontrastní látky v nukleární magnetické rezonanci [93], magnetické pigmenty [94], nosiče nanočástic stříbra pro dezinfekci [95], jako adsorbenty pro odstranění nežádoucích kontaminantů (znečišťující látky a/nebo anorganické nečistoty či látky organického původu) [96] či jako katalyzátory při degradace koncentrovaných fenolických vodných roztoků při nízké teplotě [97] nebo při jimi katalyzované konverzi oxidu uhličitého vedoucí k uhlovodíkům nebo oxidu uhelnatému [98,99]. Heterogenní katalytický systém složený z oxidu železa a přítomnosti mědi bývá pro tyto účely využíván, a to díky vysoké selektivitě a nízké produkci nežádoucích vedlejších produktů reakce [98,100].

Hojně využívané formy oxidů železa, minerály hematit (alfa fáze Fe₂O₃) a magnetit (Fe₃O₄), mohou být považovány za základní suroviny v průmyslové výrobě, a to díky svému častému výskytu a vysokému obsahu železa. Oxidy železa jako takové se nenalézají pouze v horninách a zeminách, v mnoha svých podobách se nacházejí také jako přirozená součást atmosféry, biosféry i hydrosféry. Do relativně početné skupiny oxidů železa, z nichž u větší části složení není dáno jen atomy kyslíku a železa, se řadí také hydratované oxidy, hydroxidy a hydroxid-oxidy železité. K této mnohačlenné skupině sloučenin lze však doplnit i amorfní Fe₂O₃, jenž v možnostech praktického využití nachází také své uplatnění [101].

2.3. Nanočástice mědi

2.3.1. Vlastnosti a aplikace nanočástice mědi

Částice mědi lze díky jejich vlastnostem a relativně nízké ceně mědi využívat v optických, či elektronických zařízeních a elektrických obvodech [102,103]. Nanočástice mědi jsou také studovány vzhledem k jejich velkému potenciálnímu využití jakožto katalyzátory či maziva [104,105].

Možnost produkovat kovové nanočástice s řízenou velikostí a tvarem je důležitou schopností pro studium jejich fyzikálních vlastností. Při přípravě nanočástic v laboratorním prostředí působí na strukturu, tvar a velikost částice okolní vlivy, jako například teplota, pH, tlak, vlhkost i použité chemikálie. Nanočástice mědi jsou velmi nestabilní i při přípravě ve vodném prostředí, a proto je nutné použití stabilizátorů. Mezi různými kovovými nanočásticemi se dostalo nanočásticím mědi velké pozornosti, protože měď je mnohem levnější než stříbro nebo zlato [106]. Vlastnosti nanočástic mědi nalezly uplatnění v katalýze, [102] jako chladící média pro elektronické systémy [103] či jako vodivé inkousty [107]. Navíc můžeme říct, částice mědi v nanometrickém měřítku vykazují ve viditelné oblasti významnou rezonanci lokalizovaného povrchového plazmatu stejně jako nanočástice stříbra či zlata [108]. Nicméně hlavní nevýhodou omezující rozšířenému použití Cu NPs je jejich tendence se okysličovat, a tudíž například literatura o syntéze nanočástic mědi s kontrolovanou velikostí a tvarem je méně vyvinutá než literatura zaměřená na Ag nebo Au NPs.



Obr. 3: (a) ilustrativní modelové znázornění nanočástic mědi a (b) TEM snímek nanočástic. Převzato z [109].

Nanočástice mědi mohou být zkoumány v rámci studia jejich katalytických vlastností při různých chemických transformacích. Reakce katalyzované nanočásticemi mědi jsou výhodnější ve srovnání s konvenčně katalyzovanými reakcemi, a to díky několika benefitům jako jsou např. potřeba nižšího užitého množství, vysoká hospodárnost, lepší výtěžky, nižší náklady, kratší reakční časy a recyklovatelnost katalyzátoru. Z mechanistického hlediska bylo prokázáno, že většina transformací probíhá prostřednictvím tvorby organokovových meziproduktů (C-Cu-X) během interakcí s nanočásticemi kovu [110].

Katalytická účinnost nanočástic mědi byla například diskutována v případě redukce 4-nitrofenolu přebytkem NaBH₄ jako modelového katalytického systému. Tato modelová reakce [111,112] se často používá k vyhodnocení katalytické aktivity různých kovových nanočástic včetně stříbra [113,114], zlata [115], palladia [116] a platiny [117]. Pro tento typ katalyzované reakce byly nanočástice mědi připraveny redukcí měďnatých iontů tetrahydridoboritanem sodným v přítomnosti sodné soli kyseliny polyakrylové o molekulové hmotnosti 1200 (NaPA 1200). Průměrná velikost připravených Cu NPs se pohybovala v rozmezí 2,5-3 nm. V závislosti na vstupní koncentraci mědi a koncentraci dodatečně přidaného polyakrylátu sodného k disperzi částic Cu, primárně vytvořené nanočástic o průměrné velikosti 20 až 100 nm. Množství dodatečně přidaného polyakrylátu či šiřičitanu sodného [118] ovlivňuje stabilitu částic mědi proti oxidaci vzduchem [119].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 3.1. Biologické a antimikrobiální aplikace nanočástic stříbra

3.1.1. Cílené antibakteriální a antifungální vlastnosti magnetických nanokompozitů oxidů železa a nanočástic stříbra

Magnetické nanokompozity představují jeden z aplikačně nejzajímavějších příspěvků současných nanotechnologických přístupů z hlediska manipulace s nanomateriály. Při vystavení vnějšímu magnetickému poli mohou být tyto nanokompozity cíleně transportovány na určité místo (např. v lidském těle) a mohou tak působit jako účinné nosiče léků. Takovéto nanokompozity mohou být složeny například z nanočástic oxidů železa (Fe₃O₄ a/nebo y-Fe₂O₃) sloužících jako magnetická jádra, která jsou pokryta vrstvou porézních oxidů křemíku, v jejichž pórech jsou uloženy molekuly konkrétního léku [120]. Magnetické nanočástice oxidů železa (Fe₃O₄ a/nebo γ-Fe₂O₃) představují rodinu nejvhodnějších kandidátů na přípravu magnetických nanokompozitů, a to z důvodu jejich vhodných magnetických (např. superparamagnetismus) a biochemických (např. netoxicita, biokompatibilita) vlastností a také nízké ceny. Nanočástice oxidů železa se v současnosti používají jako kontrastní látky při vyšetřování magnetickou rezonancí (MRI) [121]. Další možná aplikace magnetických nanočástic oxidů železa se rýsuje v oblasti léčby rakoviny metodou hypertermie, kde intenzivní zahřívání magnetických nanočástic, generované během jejich cyklické remagnetizace za použití střídavých magnetických polí, je využito k ničení rakovinných buněk a tkání [122].

Nicméně agregační nestabilita magnetických nanočástic způsobená magnetickými a elektrostatickými interakcemi je považována za jeden z vážných problémů při jejich syntéze a zejména při jejich aplikaci v praxi. Aby se zabránilo jejich koalescenci, lze je umístit do vhodné polymerní matrice, která může být složena například z polysacharidů [123], karboxymethylcelulózy [124,125], sulfonovaných polyanilinů [126], polyethyleniminů nebo případně karboxylových

polyethyleniminů [127] (styren-blok-isopren) [128], kyseliny polymetakrylové [120]. V některých případech však polymerní matrice, do kterých jsou magnetické částice včleněny, mohou vyvolat určité omezení aplikačního potenciálu syntetizovaných nanokompozitů, které spočívají zejména v omezení jejich možného transportu v důsledku podstatné velikosti kompaktní polymerní matrice. V literatuře jsou zřídka popsány metody syntézy binárních nanokompozitů oxidu železitéhobez využití polymerní matrice. Ying a kol. [129] uvádí způsob přípravy heterodimerických nanočástic Ag-Fe₃O₄, které byly syntetizovány redukcí Ag v přítomnosti nanočástic zárodků magnetitu. Li a Liu [130] představili metodu pro výrobu kompozitních částic Ag/γ-Fe₂O₃ o průměru v rozmezí 200-300 nm, zatímco Cho [131] uvádí syntézu magnetických nanostruktur SiO₂/Fe₃O₄/Ag o velikosti přibližně 200 nm.

V rámci této práce se podařilo syntetizovat dva typy magnetických binárních nanokompozitů, Ag@Fe₃O₄ a y-Fe₂O₃@Ag, které charakterizovány a následně testovány na jejich antibakteriální aktivitu. Jako magnetická složka nanokompozitu byly použity nanočástice podvojného oxidu železnato-železitého Fe₃O₄ (magnetitu) o průměrné velikosti asi 70 nm a nanočástic monodispersního oxidu železitéh γ-Fe₂O₃ (maghemit) s průměrnou velikostí 5 nm. Nanokompozity byly připraveny insitu chemickou redukcí iontů stříbra redukčním činidlem maltózou za přítomnosti dané magnetické fáze a molekul polyakrylátu sloužících jako spojovací činitel mezi oxidy železa a nanočásticemi stříbra. V případě nanokompozitu Ag@Fe₃O₄ byly nanočástice stříbra o velikosti přibližně 5 nm ukotvené na povrchu nanokrystalů Fe₃O₄. Naopak u nanokompozitů γ-Fe₂O₃@Ag, nanočástice stříbra o velikosti v rozmezí 20-40 nm, byly obklopeny ultrajemnými nanočásticemi γ-Fe₂O₃. V případě nanokompozitu γ-Fe₂O₃@Ag, molekuly polyakrylátu výrazně potlačují působení mezičásticových magnetických interakcí, jak dokládají magnetizační měření. Oba testované nanokompozity představují velmi výraznou antibakteriální a antifungální aktivitu proti deseti testovaným bakteriálním kmenům (minimální inhibiční koncentrace (MIC) od 15.6 mg/L do 125 mg/L) a čtyřem druhům kvasinek (MIC od 1.9 mg/L do 31.3 mg/L). Akutní cytotoxicita proti myším embryonálním fibroblastům (24hod LC50) u testovaných nanokompozitů byla pozorována při koncentracích vyšších než 430 mg/L (Ag@Fe₃O₄) a 292 mg/L (γ-Fe₂O₃@Ag).

Srovnáním hodnot MIC a hodnot 24hod LC50 syntetizovaných nanokompozitů lze usuzovat, že oba nanokompozity jsou schopné účinně ničit mikroorganismy při koncentracích řádově nižších, než vykazují hodnoty LC50, tj. koncentracích, které nejsou toxické pro savčí (eukaryotické) buňky. S ohledem na necytotoxickou povahu polyakrylátového linkeru, oba druhy stříbrných nanokompozitů jsou dobře použitelné pro cílené magnetické dodávání nanočástic stříbra v lékařských a dezinfekčních aplikacích.



Obr. 4: schématické znázornění jednotlivých reakčních kroků vedoucích k přípravě a) γ-Fe₂O₃@Ag a b) Ag@Fe₃O₄ nanokompozitu. Převzato z [132].

3.1.2. Příprava a *in vitro* baktericidní a fungicidní účinnost

NanoSilver@methylcelulózového hydrogelu

Methylcelulózový hydrogel s obsahem nanočástic stříbra (bude využíváno sdruženého názvu NanoSilver@methylcellulose hydrogel převzatého z anglického jazyka) byl využíván ke studiu lokálních baktericidních aplikací. Vysoce koncentrovaná disperse nanočástic stříbra o koncentraci Ag NPs 5 g/L a o průměrné velikosti nanočástic 10 nm, byla připravena redukcí stříbrné soli AgNO3 pomocí silného redukčního činidla tetrahydridoboritanu sodného. Ag NPs o takto vysoké koncentraci byly následně stabilizovány proti jejich agregaci přídavkem sodné soli kyseliny polyakrylové. Připravené nanočástice stříbra byly následně inkorporovány do metylcelulózové suspense za lehce zvýšené teploty, což vedlo k formaci NanoSilver@methylcellulose hydrogelu při zpětném ochlazení na laboratorní teplotu. In vitro test antibakteriální aktivity prokázal vysokou baktericidní a fungicidní účinnost jak v případě původní disperse nanočástic stříbra, tak i z nich vytvořeného hydrogelu proti širokému spektru bakterií a kvasinek, včetně multirezistentních kmenů, jako například methicillin-resistentní Staphylococcus aureus. Již velice nízká koncentrace Ag NPs dosahující hodnoty 0,84 mg/L Ag v takto připravené disperzi je schopna prokazovat antibakteriální účinnost. V případě kombinace disperze nanočástic stříbra v NanoSilver@methylcellulose hydrogelu, nejnižší antibakteriální účinnost byla prokázána při koncentraci dosahující 25 mg/L Ag.

Popáleninová poranění ovlivňují přirozenou kožní bariéru a některé systémové obranné mechanismy hostitele, které vedou k mikrobiální kolonizaci v popálenině a eventuálně k rozvoji sepse rány. Nejdůležitějším přístupem při péči o rány tohoto popáleninového typu je topická antimikrobiální léčba pro kontrolu kolonizace a proliferace mikrobiálních patogenů. Nadužívání a iracionální aplikace antibiotik přispěly k rozvoji bakteriální rezistence, která vedla k vysoké nemocnosti a úmrtnosti pacientů s popáleninami. Z tohoto hlediska se ukázalo, že antimikrobiální činidla na bázi stříbra (např. dusičnan stříbrný a sulfadiazin stříbra) jsou účinné v péči o popáleninové rány a významně snižují morbiditu a mortalitu pacientů. Stříbrný sulfadiazin (SSD) se proto stal jedním z vedoucích topických antimikrobiálních
činidel používaných k léčbě infekcí ran během posledních čtyř desetiletí [133]. Ošetření popáleninových ran pomocí sloučenin na bázi stříbra má mnoho výhod, jako je například víceúrovňový antibakteriální účinek, což významně snižuje schopnost bakterií vyvinout bakteriální rezistenci. Kromě toho je stříbro účinné proti vysoce rezistentním bakteriím, jako jsou *Staphylococci sp., Enterococci sp.* atd. Nicméně působení antimikrobiálních činidel na bázi iontového stříbra (Ag⁺) (dusičnan stříbrný, stříbrný sulfadiazin), použitých pro topické aplikace, může být omezeno některými nepříznivými účinky, jako je vazba iontového stříbra s halogenovými anionty nebo bílkovinami v tělních tekutinách nebo vznikem zašednutí barvy kůže (argyrie) při dlouhodobém užívání (dermální toxicita) [134,135]. Naopak, tato omezení a nepříznivé účinky mohou být překonány, jestliže se používají nanočástice stříbra namísto iontového stříbra. Stříbrné NPs jsou stejně účinné proti bakteriím jako iontové stříbro, a navíc nanočástice stříbra vykazují mnohem méně toxické účinky pro lidské buňky než iontové stříbro. Kombinace hydrogelového systému se stříbrnými NPs by proto byla výhodnou volbou pro topickou léčbu ran. [136,137].

V posledních letech se hydrogely, jakož i polymerní materiály napuštěné vodou, vyvinuly kvůli jejich vynikajícím vlastnostem, které zahrnují trojrozměrnou strukturu, hydrofilnost a vysokou kapacitu absorpce vody. Vzhledem k jedinečným vlastnostem hydrogelů se tyto používají při léčbě povrchových poranění, umožňují dobrou hydrataci, která je důležitá pro rychlé zhojení a reepitelizaci rány. Nicméně, výraznou nevýhodou komerčně dostupných hydrogelových materiálů je fakt, že neposkytují ochranou bariéru proti potenciální infekci rány. Začlenění NPs stříbra do hydrogelů může tuto nevýhodu překonat a poskytnout účinnou antibakteriální bariéru, jež chrání bakteriální penetraci a kolonizaci postižených míst, což konečně vede k lepšímu a rychlejšímu hojení zranění bez komplikací spojených s mikrobiálními infekcemi. Jak disperze stříbrných NPs, tak hydrogelu NanoSilver@methylcellulose, se ukázala být účinná proti širokému spektru bakterií a kvasinek včetně vysoce odolných kmenů, jako je MRSA. Takto připravený NanoSilver@methylcelulózový hydrogel představuje slibnou topickou antimikrobiální formu léčiva pro léčbu popálenin a ran.



Obr. 5: Antibakteriální aktivita testovaného NanoSilver/methylcellulose hydrogelu při různých koncentracích nanočástic stříbra na agarové živné půdě proti (a) *Escherichia coli* 3954, (b) *Staphylococcus aureus* 3953, (c) *Staphylococcus epidermidis* 879, (d) *Staphylococcus aureus* 4591 (MRSA), (e) *Klebsiella pneumoniae* 2486 (ESBL), (f) *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, (g) *Pseudomonas aeruginosa* 532, (h) *Staphylococcus epidermidis* 901, (i) *Candida albicans* I, (j) *Candida albicans* II, (k) *Candida tropicalis* and (l) *Candida parapsilosis*. Převzato z [138].

3.1.3. Synergická antibakteriální účinnost antibiotik kombinovaných s nanočásticemi stříbra

Nanočástice stříbra představují velký aplikační potenciál v medicíně právě díky jejich vysoké antimikrobiální aktivitě. Klasická antibiotická terapie se stává limitovanou autovývojem bakterií a rozšířující se bakteriální rezistencí vedoucí k vyšší morbiditě a úmrtnosti u pacientů nakažených infekcemi způsobenými multirezistentními bakteriemi [139,140]. Ag NPs reprezentují efektivní antimikrobiální činitele schopné zabít bakterie při tak nízké koncentraci jako jsou jednotky miligramů na litr [141,142] a které nepředstavují cytotoxický efekt pro savčí buňky [143,144]. Nicméně, doposud žádná relevantní data v odborné literatuře neuvádějí zmínku o vývoji bakteriální rezistence vůči nanočásticím stříbra. Odůvodnění, proč bakterie nemohou rozvinout svoji rezistenci i oproti Ag NPs je pravděpodobně multimodálního charakteru na několika úrovních bakteriální struktury ve srovnání se specifickým a cíleným mechanismem působení klasických antibiotik.

Stříbrné NPs ovlivňují současně mnoho bakteriálních struktur a metabolických procesů. Bylo prokázáno, že nanočástice stříbra inaktivují bakteriální enzymy [145], [146], narušují bakteriální metabolické procesy [147] a bakteriální buněčnou stěnu, akumulují se v cytoplazmatické membráně a zvyšují její propustnost [141,142], interagují s DNA [145] a vytvářejí reaktivní formy kyslíku [148].

Stříbrné nanočástice vykazující multimodální antibakteriální účinek jsou vhodnými kandidáty pro použití v kombinaci s tradičními antibiotiky, což by napomohlo zlepšení jejich antibakteriálního působení. V rámci této práce provedená systematická studie byla zaměřena na kvantifikaci synergického účinku antibiotik s různými způsoby působení a různých chemických struktur, v kombinaci s Ag NPs proti *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Všechna testovaná antibiotika kombinovaná s Ag NPs prokazovala silné synergické účinky již při velmi nízkých koncentracích obou látek, antibiotika i nanočástic stříbra. Nebyly pozorovány žádné trendy pro synergické účinky těchto antibiotik v kombinaci s agonisty, což naznačuje nespecifické synergické účinky. Pro dosažení účinného

antibakteriálního působení antibiotik postačí již velmi nízké množství stříbra, což představuje důležitý zdroj potenciálních lékařských aplikací v důsledku zanedbatelného cytotoxického účinku Ag NPs na lidské buňky při těchto koncentračních úrovních.

Na základě vyhodnocení získaných hodnot minimálních inhibičních koncentrací (MIC) byly prokázány silné synergické účinky antibiotik s AgNPs proti Escherichia coli pro koncentrace stříbra 5 a 2,5 mg/L. Při těchto koncentracích Ag byly MIC antibiotik většinou o dva až tři řády nižší než u nekombinovaných (čistých) antibiotik. Při nižších koncentracích stříbra byl synergický účinek pozorován u antibiotik Gentamicin (GEN), Colistin (COL) a Ofloxacin (OFL), s MIC více než dvakrát tak nízkou jako MIC samotných antibiotik. Antibiotika GEN, COL a OFL vykazovala synergickou aktivitu při nejnižší koncentraci stříbra zřejmě kvůli vysoké citlivosti E. coli na tato antibiotika. MIC čistých GEN, COL a OFL antibiotik proti E. coli byla velmi nízká, a to pod 1 mg/L. Na druhou stranu, minimální inhibiční koncentrace Oxolinic acid a Aztreonam proti Escherichia coli dosahovaly hodnot také pod 1 mg/L. Synergické účinky těchto antibiotik však nebyly pozorovány pro nejnižší koncentraci stříbra. Velmi překvapivé a nečekané zjištění byl v tomto případě synergický účinek Ampicillinu (AMP) kombinovaného s Ag NPs. Samotný AMP nevykazoval žádnou antibakteriální aktivitu proti E. coli, a to i při nejvyšší testované koncentraci rovnající se 32 mg/L, vzhledem k rezistenci Escherichia coli vůči tomuto antibiotiku. Ze získaných výsledků je zřejmé, že kombinace AMP s Ag NPs obnovuje jeho antibakteriální aktivitu. Nízká koncentrace stříbra je dostatečná k obnovení citlivosti Escherichia coli k AMP. Synergická účinnost antibiotik s Ag NPs proti Pseudomonas aeruginosa byla podobná jako proti E. coli. MIC antibiotik v kombinaci s Ag NPs byly o dva až tři řády nižší pro nejvyšší koncentrace stříbra (5 mg/L a 2,5 mg/L). V případě nižší koncentrace stříbra, synergický účinek byl pozorován u antibiotik Meropenem (MER), Gentamicin (GEN) a Coloistin (COL). Vysvětlení je podobné jako v případě Escherichia coli; MER, GEN a COL jsou také antibiotika s vysokou antibakteriální aktivitou, která vykazuje nízké MIC proti Pseudomonas aeruginosa [149].



Obr. 6: (a) Lognormální velikostní distribuce získaná z DLS měření; (b) TEM snímek a (c) UV-Vis absorpční spektrum nanočástic stříbra o průměrné velikosti 26 nm a s úzkou velikostní distribucí. Převzato z [149].

Tabulka 1: MIC antibiotik (mg/L) v kombinaci s Ag NPs při různých koncentracích stříbra pod MIC samotných Ag NPs (7,5 mg/L) oproti *Escherichia coli* (vysvětlení jednotlivých zkratek názvů antibiotik, viz. 4.2.)

	AMP	AMS	CZL	CRX	СХТ	GEN	СОТ	COL	oxo	OFL	ТЕТ	AZT
ATB + 0 mg/L Ag												
NPs	-	8	2	1	1	0,5	4	0,5	0,5	0,03	4	0,03
ATB + 0,6 mg/L Ag												
NPs	-	8	2	1	1	0,03	2	0,125	0,5	0,015	4	0,03
ATB + 1,25 mg/L												
Ag NPs	-	8	2	1	1	0,06	2	0,125	0,5	0,015	2	0,03
ATB + 2,5 mg/L Ag												
NPs	0,03	0,03	0,0019	0,00097	0,00097	0,00048	2	0,00097	0,5	0,00024	1	0,0078
ATB + 5 mg/L Ag												
NPs	0,00097	0,00097	0,00097	0,00097	0,00097	0,00048	0,0019	0,00048	0,00097	0,00024	0,00048	0,0019

Tabulka 2: MIC antibiotik (mg/L) v kombinaci s Ag NPs při různých koncentracích stříbra pod MIC samotných Ag NPs (7,5 mg/L) oproti *Pseudomonas aeruginosa*

	PIP	РРТ	AZT	MER	CTZ	CPR	СРМ	GEN	AMI	COL	OFL	CIP
ATB + 0 mg/L Ag												
NPs	4	4	4	1	1	4	2	0,25	1	0,5	1	0,125
ATB + 0,6 mg/L Ag												
NPs	4	4	4	1	1	4	1	0,03	0,25	0,125	1	0,03
ATB + 1,25 mg/L Ag												
NPs	2	4	4	0,5	1	4	1	0,015	0,25	0,06	1	0,03
ATB + 2,5 mg/L Ag												
NPs	0,015	0,0039	0,00097	0,0019	0,00024	0,00048	0,00024	0,00048	0,00048	0,00048	0,00024	0,00024
ATB + 5 mg/L Ag												
NPs	0,0078	0,0039	0,00097	0,0019	0,00024	0,00048	0,00024	0,00048	0,00048	0,00048	0,00024	0,00024

	PEN	OXA	AMS	СМР	TET	СОТ	ERY	CLI	CIP	GEN	TEI	VAN
ATB + 0 mg/L Ag												
NPs	0,125	0,25	0,5	4	0,25	1	0,125	0,125	0,25	0,25	0,25	1
ATB + 0,6 mg/L Ag												
NPs	0,025	0,25	0,125	4	0,015	0,03	0,06	0,015	0,03	0,25	0,03	0,03
ATB + 1,25 mg/L												
Ag NPs	0,015	0,03	0,06	2	0,015	0,0078	0,06	0,015	0,015	0,06	0,015	0,00097
ATB + 2,5 mg/L Ag												
NPs	0,0006	0,00048	0,00048	0,00048	0,00012	0,0019	0,00012	0,00012	0,00012	0,00048	0,00097	0,00097

Tabulka 3: MIC antibiotik (mg/L) v kombinaci s Ag NPs při různých koncentracích stříbra pod MIC samotných Ag NPs (5 mg/L) oproti *Staphylococcus aureus*

Bakteriální kmen Staphylococcus aureus s MIC AgNPs 5 mg/L prokazoval vyšší citlivost vůči AgNPs než ostatní bakterie. Vyšší náchylnost Staphylococcus aureus na AgNPs se projevuje silnějšími synergickými účinky. Nejvyšší koncentrace stříbra (2,5 mg/L stříbra) vedou k nejvyššímu poklesu MIC antibiotik, a to o dva až tři řády. Při koncentraci stříbra 1,25 mg/L byly synergické účinky pozorovány téměř u všech testovaných antibiotik, přičemž jejich MIC se snížily přibližně o jeden řád. Na rozdíl od bakteriálních kmenů Escherichia coli a Pseudomonas aeruginosa byl synergický účinek pozorován častěji při nejnižší použité koncentraci stříbra (0,6 mg/L) u bakterie Staphylococcus aureus. Zatímco u Escherichia coli a Pseudomonas aeruginosa byly pozorovány synergické účinky při nejnižší použité koncentraci stříbra pouze u tří antibiotik (GEN, COL a OFL a MER, GEN a COL), v případě Staphylococcus aureus došlo k synergickým účinkům u devíti antibiotik (Penicillin, Ampicillin/sulbactam, Tetracyklin, Co-trimoxazole, Erythromycin, Clindamycin, Ciprofloxacin, Teicoplanin a Vancomycin), jejichž MIC byly více než dvojnásobně nižší než MIC samotných antibiotik. Příčinou synergického efektu pro většinu testovaných antibiotik při nejnižších koncentracích stříbra byla nízká hodnota MIC těchto antibiotik proti testovanému kmenu Staphylococcus aureus.

3.2. ENVIRONMENTÁLNÍ VYUŽITÍ NANOČÁSTIC OXIDŮ ŽELEZA

3.2.1. Využití ultrajemných superparamagnetických nanočástic oxidu železa při odstraňování arsenu z vodného prostředí

Arzeničnany mohou představovat riziko lidské pro zdraví, jestliže se nacházejí ve zdrojích vody. Pro jejich odstraňování byly rozličné vyvinuty



Obr. 7: Reakční schéma experimentu. Převzato z [96].

technologie, z nichž je velmi často využívána sorpční metoda za použití širokého spektra vhodných sorbentů. Nanočástice oxidů železa jsou často užívány kvůli jejich vysoké ploše povrchu a schopností manipulace s nimi pomocí externího magnetického pole. Adsorpční kapacita oxidů železa může být posílena mezoporézní povahou uspořádání nanočástic v systému, a to díky silným vzájemným magnetickým interakcím, jež se existují mezi samotnými nanočásticemi.

Ultrajemné a téměř monodisperzní superparamagnetické nanočástic γ-Fe₂O₃ o velikosti 4 nm byly syntetizovány jednostupňovou mokrou chemickou metodou. Touto cestou připravené nanočástice γ-Fe₂O₃ vzájemně magneticky interagují, což vytváří druh mezoporézní struktury, která díky vysoké ploše povrchu nanočástic významně zvyšuje adsorpční schopnost sorbentu. Díky jejich slibným magnetickým

vlastnostem lze pohyb připravených nanočástic a jejich kumulaci na určitém místě snadno ovládat malými vnějšími magnetickými poli.

Magnetické vlastnosti syntetizovaného systému nanočástic γ -Fe₂O₃ byly sledovány měřením hysterezních smyček při teplotě 5 a 300 K a magnetických křivek ZFC/FC pod vnějším magnetickým polem 0,1 T. Při 5 K izotermická magnetizační křivka systému γ -Fe₂O₃ vykazovala významnou hysterezi, což znamená, že magnetické momenty nanočástic γ -Fe₂O₃ jsou zablokovány v časovém měřítku měření magnetizace (pro měření SQUID, charakteristická doba měření je 10 s). Kromě toho, nízkoteplotní hysterezní smyčka vykazovala asymetrii, což naznačuje výskyt fenoménu výměnných interakcí typického pro magnetické nanočástice s rovnoměrně magnetizovaným jádrem a magneticky neuspořádanými povrchovými vrstvami (Nogues and Schuller, 1999). Je známo, že pod určitou velikostí částic začínají ovlivňovat povrchové a konečné účinky magnetického chování velmi jemných částic (Dormann et al., 1997).



Obr. 8: Hysterezní křivky při ř a 300 K v okolí nulového magnetického pole a znázorněná separace ZFC/FC magnetizačních křivek. Převzato z [96].

Úplné odstranění arseničnanů z vodného prostředí za použití těchto magnetických nanočástic oxidu železitého bylo dosaženo při poměru Fe/As odpovídající poměru 20/1 a při pH směsi v rozmezí od 5 do 7,6 (za těchto podmínek mohou být arseničnany zcela odstraněny již během několika minut). Na základě experimentálních výsledků byla jako nejefektivnější koncentrace pro odstraňování arzeničnanových iontů, zvolena hodnota 2,15 g/L a pH pohybující se v kyselé oblasti (na základě Zeta potenciálu sorbentu v závislosti na pH). Mezi nanosystémy na bázi

oxidu železa, které byly doposud syntetizovány a použity v oblasti sanace arzeničnanů, toto uspořádání nanočástic oxidu železa (III) vykazovalo nejvyšší Freundlichův adsorpční koeficient a rovnovážnou sorpční kapacitu za zvolených podmínek.



Obr. 9: (a) Zeta-potenciál jako funkce pH, (b) vliv pH na As(V) odstranění (koncentrace γ -Fe₂O₃ NPs odpovídá 2,15 g/L) a (c) vliv koncentrace γ -Fe₂O₃ na odstranění As (V). Převzato z [96].



Obr. 10: (a) Adsorpční kinetická křivka, (b) závislost q_e na reakčím čase (koncentrace γ -Fe₂O₃ NPs odpovídá 2,15 g/L). Převzato z [96].

3.3. KATALYTICKÁ ÚČINNOST KOMPOZITU NANOČÁSTIC OXIDU ŽELEZITÉHO A MĚDI

3.3.1. Vysoce účinný nanokatalyzátor oxid železitý s obsahem Cu pro nízkotlakou konverzi CO₂

Dva typy nanokatalyzátorů na bázi oxidu železa, čistý oxid železitý (FeNC) a oxid železitý s příměsí nanočástic mědi (Cu-FeNC), byly připraveny metodou sonikace. Aby byla získána vysoce disperzní nanoCu, byla pro Cu-FeNC použita nová syntézní cesta, kde ve druhém kroku syntézy byla měď dodána k předem připravenému oxidu železa v podobě soli a v přítomnosti středně silného redukčního činidla a intenzivní sonikace vznikaly nanočástice mědi. Katalyzátor na bázi nanočásticového oxidu železitého s obsahem mědi byl zkoumán a použit pro redukci CO₂ vodíkem s vysokou katalytickou účinností při nízkých tlacích.

Rostoucí požadavky na energie a obavy o životní prostředí vedly k významnému výzkumnému zájmu na konverzi CO₂. Hydrogenace CO₂ pomocí H₂ z udržitelných zdrojů se považuje za slibnou metodu, jež může pomoci snížit emise CO₂, a to jeho katalytickou konverzí na prospěšné chemické látky, jako jsou alkoholy (např. metanol), uhlovodíky (např. metan, benzen atd.) nebo CO s následnou možností jejich dalšího zpracování. Přestože již mnoho investic bylo vynaloženo na rozvoj efektivních procesů konverze CO₂, významné zlepšení lze dosáhnout navržením vysoce efektivních katalyzátorů. Získávání dalších informací o hydrogenaci CO₂ může navíc napomoci rozvoji vysoce účinného katalyzátoru a integrované procesní technologie pro zmírnění dopadu produkce skleníkových plynů [150,151].

V podstatě se metanol průmyslově vyrábí ze syntézního plynu, který využívá převážně katalyzátor zkombinovaný z CuO/ZnO/Al₂O₃ [152]. Nicméně, mnoho

studií naznačuje, že methanol může být tvořen přímo z oxidu uhličitého [153,154]. Metanizace CO₂ nebo jeho přeměna na CO, zejména na levně produkovaných katalyzátorech pracujících za podmínek příznivých pro životní prostředí, jsou další významné způsoby přeměny CO₂ [155].

Konverze CO₂ může probíhat různými způsoby, jako například hydrogenací CO₂ na metan a další uhlovodíky nebo na methanol. Při vyšších reakčních teplotách může být přechod CO₂ na oxid uhelnatý dominantní v důsledku tzv. "Reverse water gas shift reakce (RWGS)" [156,157]. Katalyzovaná konverze CO₂ byla zkoumána například na katalyzátorech na bázi železa jako potenciálních cenově příznivých kandidátech vedoucí k uhlovodíkům nebo oxidu uhelnatému [158,159]. Bylo také prokázáno, že katalyzátory na bázi železa v přítomnosti draslíku či bez něj, mají nastavitelnou selektivitu a aktivitu při hydrogenaci CO₂ směrem k uhlovodíkům za vysokých tlaků a tvorbě CO za atmosférického tlaku [160] a nanočástice železa na nosiči z uhlíkových nanotrubiček byly vysoce aktivní při přeměně CO₂ na produkty C₁₋₅ a CO [161]. Při pokusu o kontrolu selektivity byly připraveny a zkoumány také katalyzátory na bázi železa obohacené částicemi zlata nebo na nosičích, jako je oxid hlinitý, titan, oxid zirkoničitý a zeolity [162,163].

V literatuře existuje mnoho studií realizovaných na různých heterogenních katalytických systémech pro účinnou syntézu methanolu z CO₂. V těchto studiích převládají katalyzátory na bázi mědi kvůli jejich vysoké selektivitě a nízké produkci nežádoucích vedlejších produktů [164]. Pro tento účel bylo testováno velké množství podpůrných materiálů, jako jsou ZnO, ZrO₂, Al₂O₃, TiO₂, Fe₂O₃, ZnFe₂O₄ a SiO₂. Navíc byly studovány i multimetalické materiály s Cu jako hlavní složkou [165]. Koprecipitace solí kovů s následnou kalcinací byla nejrozšířenějším postupem pro přípravu katalyzátorů na bázi mědi [166,167].

Oxid železitý je běžně používán pro metanaci CO₂ nebo CO ale i Fischer-Tropsch syntézu a může být využit i pro přeměnu CO₂ na CO. Měď je vysoce účinný katalyzátor pro konverzi CO₂ na CH₄ a CH₃OH [168]. Využití sonochemické metody při syntéze nanokatalytického systému může významně zlepšit jeho disperzitu a tím i katalytickou aktivitu [169].

Katalyzátor pro tuto studii byl připraven jako nanostrukturovaný oxid železitý s přítomností nanočástic mědi. Syntéza katalyzátorů byla provedena za použití nové metody redukce podpořené sonifikací. Změna chemického a fyzikálního stavu připravených katalyzátorů byla sledována za reakčních podmínek za použití kombinace *in situ* rentgenového rozptylu a rentgenových absorpčních technik a jejich katalytická účinnost za použití reakce s teplotním programem. Další charakterizace katalyzátoru před a po reakci byla prováděna pomocí Ramanovy spektroskopie, XRD, skenovací transmisní elektronové mikroskopie (STEM) a transmisní elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením (HRTEM) včetně skenovací transmisní elektronové mikroskopie (STEM) a energetické disperzní spektrometrie (EDS).

Restrukturalizace daného katalyzátoru v nanometrovém měřítku byla odhalena pomocí *In situ* X-ray rozptylu. *In situ* XANES (X-ray absorption near edge structure) prokázal vývoj ve složení katalyzátoru a oxidačním stavu složek železa a mědi za reakčních podmínek spolu s podpůrným účinkem přítomné mědi při chemické transformaci složky železa.



Obrázek 11: Složení vzorku FeNC získané dle LCF (Linear combination fitting) Fe K-edge XANES (a) a průměrný oxidační stav železa pro vzorek FeNC (b). Složení vzorku Cu-FeNC dle LCF Fe K-edge XANES (c) a průměrný oxidační stav železa

pro Cu-FeNC vzorek (d). Složení vzorku Cu-FeNC dle LCF Cu K-edge XANES (e) a průměrný oxidační stav Cu pro Cu-FeNC vzorek (f). Převzato z [170].

Rentgenová difrakce (XRD), XANES a Ramanova spektroskopie ukázaly, že počáteční nanokatalyzátor je složen z oxidů železa, které se liší chemickou povahou (α -Fe₂O₃, Fe₃O₄, FeO(OH)) a dimenzionalitou, zatímco katalyzátor po konverzi CO₂ byl identifikován jako směs α -Fe, Fe₃C a stopového množství Fe₅C₂. Významný nárůst rychlosti redukce CO₂ je přisuzován přítomnosti nanočástic mědi, což naznačuje, že nanočástice Cu aktivují vodík, který se přelévá na sousední pozice železa a usnadňuje účinnější konverzi oxidu uhličitého.



Obr. 12: Teplotní závislost TOR na celkovém počtu atomů Fe během druhé teplotní rampy pro CO_2 (m/z = 44) pro (a) FeNC, a (b) Cu-FeNC. Na obrázku (c) a (d) TOR pro CO (m/z = 28), metan (m/z = 15), metanol (m/z = 31), a benzen (m/z = 78) jsou uvedeny pro FeNC a Cu-FeNC. Převzato z [170].

4.ZÁVĚR

Cílem předkládané disertační práce byla příprava nanočásticových a nanokompozitních systémů, dále studium jejich vlastností a následně implementace do různorodých biologických i analytických aplikací. Účinnost vytvořených materiálů byla studována u nanočástic stříbra (Ag NPs), nanočástic mědi (Cu NPs), a to buď jako samostatných činitelů, tak ve formě nanokompozitů v kombinaci s nanočásticemi oxidů železa (Fe_xO_y NPs), jež samy o sobě vykazují zajímavé vlastnosti. Vytvořené nanokompozitní systémy skýtají velký potenciál v zachování si aktivních vlastností nanočástic vzácného kovu, ať už například antibakteriálních v případě nanočástic stříbra, katalytických u nanočástic mědi, tak i specifických vlastností nosiče, zejména díky možnosti manipulace vnějším magnetickým polem.

Magnetické binární nanokompozity, aplikačně zajímavé látky díky jejich vzájemné kombinaci, mohou být složeny z nanočástic oxidů železa (Fe₃O₄ a/nebo γ-Fe₂O₃) jako donorů magneticky využitelných vlastností a nanočástic ušlechtilého kovu, jako nosiče specifického aplikačního potenciálu v oblasti biologie a katalýzy.

V rámci této práce byly syntetizovány dva typy mg. nanokompozitů s obsahem nanočástic stříbra, Ag@Fe₃O₄ a γ-Fe₂O₃@Ag, u nichž byla studována jejich antibakteriální aktivita. Magnetické nanočástice podvojného oxidu železnatoželezitého Fe₃O₄ vykazovaly průměrnou velikost přibližně 70 nm a nanočástic monodispersního oxidu železitého, γ-Fe₂O₃, byly syntetizovány s průměrnou velikostí 5 nm. Samotná kombinace nanočástic oxidů železa s Ag NPs byla připravena pomocí in-situ chemické redukce stříbrných iontů v přítomnosti redukčního činidla – maltózy a molekul spojovacího činitele – polyakrylátu. Nanočástice stříbra o velikosti přibližně 5 nm byly ukotvené na povrchu nanokrystalů Fe₃O₄ v případě nanokompozitu Ag@Fe₃O₄ a na druhou stranu, nanokompozit y-Fe₂O₃@Ag, projevoval smysl "core-shell" struktury, kde nanočástice stříbra o velikosti od 20 do 40 nm, byly obklopeny ultrajemnými nanočásticemi γ-Fe₂O₃. Oba připravené a zkoušené nanokompozity představovaly významnou antibakteriální a antifungální aktivitu proti testovaným bakteriálním kmenům s minimální inhibiční koncentrací od 15.6 mg/L do 125 mg/L a v případě testovaných druhů kvasinek MIC od 1.9 mg/L do 31.3 mg/L. Akutní cytotoxicita proti myším embryonálním fibroblastům (24hod LC50) u testovaných nanokompozitů byla pozorována při koncentracích vyšších než 430 mg/L (Ag@Fe₃O₄) a 292 mg/L (γ-Fe₂O₃@Ag).

Další část této disertační práce se věnovala tvorbě a využití methylcelulózového hydrogelu s obsahem nanočástic stříbra NanoSilver@methylcellulose hydrogel, a to ke studiu lokálních baktericidních aplikací. K přípravě hydrogelu byla využívána vysoce koncentrovaná disperse nanočástic stříbra o koncentraci Ag NPs 5 g/L a o průměrné velikosti nanočástic 10 nm. Ag disperze byla syntetizována redukcí stříbrné soli AgNO3 silným redukčním činidlem, tetrahydridoboritanem sodným a následně stabilizována přídavkem sodné soli kyseliny polyakrylové. Touto cestou připravené Ag NPs byly inkorporovány do metylcelulózové suspense za lehce zvýšené teploty a při zpětném ochlazení na laboratorní teplotu došlo k formaci NanoSilver@methylcellulose hydrogelu. In vitro antibakteriální test prokázal vysokou baktericidní a fungicidní aktivitu v Ag disperzi, tak i v případě vytvořeného hydrogelu. Antimikrobiální účinnost byla prokázána již při velice nízké koncentraci Ag NPs dosahující hodnoty 0,84 mg/L Ag v připravené disperzi a v případě NanoSilver@methylcellulose hydrogelu se nejnižší antibakteriální aktivita projevovala při koncentraci dosahující 25 mg/L Ag.

V poslední části řešené disertační práce, zaměřené na antibakteriální aktivitu, byla systematická studie provedena při kvantifikaci synergického účinku antibiotik v kombinaci s Ag NPs proti bakteriálním kmenům Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa a Staphylococcus aureus. Všechna testovaná antibiotika kombinovaná s Ag NPs prokazovala silné synergické účinky již při velmi nízkých koncentracích obou látek. Pro dosažení účinného synergického antibakteriálního působení antibiotik postačilo již nízké množství Ag NPs a při těchto koncentračních úrovních se zanedbatelným cytotoxickým účinkem Ag NPs na lidské buňky. Na základě vyhodnocení získaných hodnot minimálních inhibičních koncentrací (MIC) byly prokázány silné synergické účinky antibiotik s AgNPs proti Escherichia coli pro koncentrace stříbra 5 a 2,5 mg/L. Následně, synergická účinnost antibiotik s Ag NPs proti Pseudomonas aeruginosa byla podobná jako proti E. coli. MIC antibiotik v kombinaci s Ag NPs byly o dva až tři řády nižší pro nejvyšší koncentrace stříbra (5 mg/L a 2,5 mg/L). Poslední testovaný bakteriální kmen Staphylococcus aureus s MIC AgNPs 5 mg/L prokazoval vyšší citlivost vůči AgNPs než ostatní bakterie. Vyšší náchylnost Staphylococcus aureus na AgNPs se projevoval silnějšími synergickými účinky. Nejvyšší koncentrace stříbra (2,5 mg/L stříbra) vedly k

nejvyššímu poklesu MIC antibiotik, a to o dva až tři řády. Při koncentraci stříbra 1,25 mg/L byly synergické účinky pozorovány téměř u všech testovaných antibiotik, přičemž jejich MIC se snížily přibližně o jeden řád.

Předposlední kapitola experimentální části disertační práce se zabývá syntézou a využitím ultrajemných a téměř monodisperzních superparamagnetických nanočástic γ-Fe₂O₃ o velikosti 4 nm, jež byly syntetizovány jednostupňovou mokrou chemickou metodou. Takto připravené nanočástice γ-Fe₂O₃ vykazovaly mezoporézní strukturu, a tudíž projev vysoké plochy povrchu nanočástic, což může mít za následek významné adsorpční schopnosti sorbentu. Těchto vlastností bylo využíváno pro úplné odstranění arseničnanů z vodného prostředí a dosaženo při poměru Fe/As odpovídající poměru 20/1 a při pH směsi v rozmezí od 5 do 7,6. Na základě experimentálních výsledků byla jako nejefektivnější koncentrace zvolena hodnota 2,15 g/L γ-Fe₂O₃ a pH směsi pohybující se v kyselé oblasti. Mezi nanosystémy na bázi oxidu železa, které byly doposud syntetizovány a použity v oblasti sanace arzeničnanů, toto uspořádání nanočástic oxidu železa (III) vykazovalo nejvyšší Freundlichův adsorpční koeficient a rovnovážnou sorpční kapacitu za zvolených podmínek

Poslední pasáž předkládané práce se věnuje syntéze a následné aplikaci dvou typů nanokatalyzátorů na bázi oxidu železa. Slepý oxid železitý (FeNC) a oxid železitý s příspěvkem nanočástic mědi (Cu-FeNC) byly připraveny sonikační metodou. Pro získání Cu-FeNC, s přítomností vysoce disperzní mědi, byla zvolena nová syntézní cesta, kde ve druhém kroku syntézy byl donor mědi přidáván k předem připravenému oxidu železa za přítomnosti mírného redukčního činidla. Restrukturalizace daného katalyzátoru v nanometrovém měřítku byla odhalena pomocí *In situ* X-ray rozptylu. *In situ* XANES prokázal vývoj ve složení katalyzátoru a oxidačním stavu složek železa a mědi za reakčních podmínek spolu s podpůrným účinkem přítomné mědi při chemické transformaci složky železa. Cu-FeNC byl považován za účinný katalyzátor pro konverzi CO₂ při nízkém parciálním tlaku CO₂ a H₂ (0,0125 atm a 0,0375 atm). "Turnover rates", přepočítané na celkový počet atomů železa, bylo získáno až $3 \cdot 10^{-3}$; $1,5 \cdot 10^{-3}$; $5,4 \cdot 10^{-4}$ a $4 \cdot 10^{-6}$ molekul·atom⁻¹·s⁻¹ pro reakční produkty oxid uhelnatý, methan, methanol a benzen, byly získány při nízké aktivační energii.

5. SUMMARY

The aim of this thesis was preparation of nanoparticle and nanocomposite systems, furthermore exploration of their attributes and subsequently implementation into various biological and analytic applications. The efficiency of created materials was studied at silver nanoparticles (Ag NPs), copper nanoparticles (Cu NPs), either as single agents or in the form of nanocomposites in combination with iron oxide nanoparticles (FexOy NPs), these by themselves exhibit interesting properties.

Created nanocomposite systems exhibits huge potential in maintaining active characteristics of nanoparticles of rare metal, either for example antibacterial properties in case of silver nanoparticles, catalytic characteristic of copper nanoparticles, or also specific magnetic behavior of carrier, mostly thanks to the possibility of manipulation by external magnetic field.

Magnetic binary nanocomposites, that are interesting substances in applications due to their mutual combination, can be composed of iron oxide nanoparticles (Fe₃O₄ and/or γ -Fe₂O₃) as donors with magnetic exploitable characteristic and nanoparticles of rare metal, as carriers of specific applicable potential in field of biology and catalysis.

Within this thesis there were synthesized two types of magnetic nanocomposites with the amount of silver nanoparticles, Ag@Fe₃O₄ and γ -Fe₂O₃@Ag, at which there was studied their antibacterial activity. Magnetic nanoparticles of binary magnetic iron oxide, Fe₃O₄, showed average magnitude of approximately 70 nm and nanoparticles of monodisperse iron oxide, γ -Fe₂O₃, which were synthesized with average magnitude of 5 nm. The combination of iron oxide nanoparticles with Ag NPs itself was prepared with usage of *in-situ* chemical reduction of silver ions in presence of mild reduction agent - maltose and binding agent molecules – polyacrylate acid. Silver nanoparticles with magnitude of approximately 5 nm were anchored at the surface of nanocrystals Fe₃O₄ in case of nanocomposite Ag@Fe₃O₄ and on the other hand, nanocomposite γ -Fe₂O₃@Ag showed a ,,core-shell" structure, where silver nanoparticles of magnitude from 20 to 40 nm were surrounded by ultrafine nanoparticles of γ -Fe₂O₃. Both prepared nanocomposites showed significant antibacterial and antifungal activity against tested bacterial strains with minimum inhibitory concentration from 15.6 mg/L to

125 mg/L, and in case of testing yeast species MIC from 1.9 mg/L to 31.3 mg/L. Acute cytotoxicity against mouse embryonic fibroblasts (24h LC50) in the tested nanocomposites was observed at concentrations higher than 430 mg/L (Ag@Fe₃O₄) and 292 mg/L (γ -Fe₂O₃@Ag).

Latter part of this thesis deals with the creation and usage of methylcellulose hydrogel with silver nanoparticles - NanoSilver@methylcellulose hydrogel, for the study of local bactericidal applications. For the preparation of hydrogel there was used a highly concentrated dispersion of silver nanoparticles with concentration of Ag NPs 5 g/L and average size of nanoparticles of 10 nm. Ag dispersion was synthesized using reduction of silver salt AgNO₃ by reduction agent, sodium borohydride and subsequently stabilized by the addition of the sodium salt of polyacrylic acid. The Ag NPs were incorporated into the methylcellulose suspension at slightly elevated temperatures, and NanoSilver@methylcellulose hydrogel was formed upon re-cooling up to room temperature. The *in vitro* antibacterial test demonstrated high bactericidal and fungicidal activity in Ag dispersion as well as in case of created hydrogel. Antimicrobial efficiency was ascertained at a very low Ag NPs concentration of 0.84 mg/L Ag in the prepared dispersion, and the lowest antibacterial activity of NanoSilver@methylcellulose hydrogel was presented at a concentration of 25 mg/L Ag.

Next part of this thesis is focused on systematic study using quantification of synergistic effect of antibiotics in combination with Ag NPs against bacterial strains *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. All tested antibiotics combined with Ag NPs showed strong synergistic effect at very low concentrations of both substances and negligible cytotoxic effect of Ag NPs on human cells. The strong synergistic effects of antibiotics with Ag NPs against *Escherichia coli* for silver concentrations of 5 and 2.5 mg/L have been demonstrated based on the evaluation of the obtained minimal inhibitory concentrations values (MIC). Subsequently, the synergistic efficiency of Ag NPs against *Pseudomonas aeruginosa* was similar to that of *E. coli*. MIC antibiotics in combination with Ag NPs were two to three orders lower for the highest silver concentration (5 mg/L and 2.5 mg/L). The results of last test on bacterial strain, *Staphylococcus aureus*, demonstrated higher sensitivity to Ag NPs at MIC 5 mg/L than other bacteria. The higher susceptibility of *Staphylococcus aureus* to Ag NPs was manifested by stronger synergistic effects. Silver concentration of 2.5 mg/L of Ag led to the highest decrease

in MIC of antibiotics by two to three orders. At a silver concentration of 1.25 mg/L, synergistic effect was observed for almost all tested antibiotics with decreasing of MIC by about one order.

Last but one chapter of experimental part of this thesis deals with synthesis and utilization of ultrafine monodisperse superparamagnetic nanoparticles of γ -Fe₂O₃ that were synthesized by one-step wet chemical method. The γ -Fe₂O₃ nanoparticles showed a mesoporous structure, and hence manifestation of high surface area of nanoparticles, which can lead to significant absorption efficiency. Nanoparticles of iron oxide were used for removing of arsenates from aquatic environment and were successful at a Fe/As ratio of 20/1 and value of pH of the mixture ranging from 5 to 7.6. Concentration at 2.15 g/L of γ -Fe₂O₃ was chosen like the most effective value on the basis of experimental results. Among iron oxide nanosystems that were so far synthesized and used in the area of arsenates remediation, this arrangement of iron oxide (III) nanoparticles showed the highest Freundlich adsorption coefficient and equilibrium sorption capacity under the chosen conditions.

The last part of this thesis pursues a synthesis and subsequent application of two types of nanocatalyst on the basis of iron oxide. Rare iron oxide (FeNC) and iron oxide with the contribution of copper nanoparticles (Cu-FeNC) were prepared using the sonication method. New synthesis way was chosen due to obtaining of Cu-FeNC with the presence of highly dispersed copper nanoparticles. Copper donor was added into the already-prepared iron oxide NPs in the presence of mild reducing agent during the second synthesis step. Restructuring of the given catalyst in nanometer scale was revealed by In situ X-ray range. The evolution of the catalyst composition and oxidation state of the iron and copper components with the supporting effect of the copper presented in the chemical transformation of the iron component was observed by In situ XANES. Cu-FeNC was considered as an efficient catalyst for the conversion of CO₂ at low partial pressure of CO₂ and H₂ (0.0125 atm and 0.0375 atm). Turnover rates recalculated to the total number of iron atoms in low activation energy were acquired to be $3 \cdot 10 - 3$; $1, 5 \cdot 10 - 3$; $5, 4 \cdot 10 - 4$ and $4 \cdot 10 - 6$ molecules atom⁻¹·s⁻¹ ¹ based on reaction products carbon monoxide, methane, methanol and benzene. These results of this presented part of the dissertation thesis represent a perspective direction for the production of an efficient catalyst for low-pressure carbon dioxide conversion.

6. LITERATURA

- Feynman, R. (1964). "The Brownian Movement". The Feynman Lectures of Physics, Volume I. pp. 41-, 1
- 2. Myers, Dr. Drew. "Chemistry of photography". Cheresources.com. GlobalSpec. Retrieved January 25, 2009
- 3. "There's plenty of room at the bottom", Feynman, Engineering and Science, 1960
- 4. Hošek, Úvod do annotechnologie, 2010
- 5. Butkus, M. A.; Edling, L.; Labare, M. P. J. Water Supply Res. Technol-Aqua 2003, 52, 407.
- 6. Chen, S. P.; Wu, G. Z.; Zeng, H. Y. Carbohydr. Polym. 2005, 60, 33-38.
- Zhang, L. Z.; Yu, J. C.; Yip, H. Y.; Li, Q.; Kwong, K. W.; Xu A.W.; Wong, P. K. Langmuir 2003, 19, 10372.
- 8. Park, S. J.; Jang, Y. S. J. Colloid Interface Sci. 2003, 261, 238.
- 9. Lee, D.; Cohen, R. E.; Rubner, M. F. Langmuir 2005, 21, 9651.
- 10. Taylor, P. L.; Ussher A. L.; Burrell, R. E. Biomaterials 2005, 26, 7221.
- 11. Shanmugam, S.; Viswanathan, B.; Varadarajan, T. K. Mater. Chem. Phys. 2006, 95, 51.
- 12. Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizurova N., Sharma V.K., Nevecna T., Zboril R., *J. Phys. Chem B* **2006**, *110*, 16248
- 13. Ulkur, E.; Oncul, O.; Karagoz, H.; Yeniz, E.; Celikoz, B. Burns 2005, 31, 874.
- 14. Parikh, D. V.; Fink, T.; Rajasekharan, K.; Sachinvala, N. D.; Sawhney A. P. S.; Calamari, T. A.; Parikh, A. D. *Text. Res. J.* **2005**, *75*, 134.
- Alt, V.; Bechert, T.; Steinru[°]cke, P.; Wagener, M.; Seidel, P.; Dingeldein, E.; Domann, U.; Schnettler, R. *Biomaterials* 2004, 25, 4383.
- Gosheger, G.; Hardes, J.; Ahrens, H.; Streitburger, A.; Buerger, H.; Erren, M.; Gunsel, A.; Kemper, F. H.; Winkelmann, W.; Eiff, Ch. *Biomaterials* 2004, 25, 5547.
- 17. Bosetti. M.; Masse`, A.; Tobin, E.; Cannas, M. Biomaterials 2002, 23, 887.
- Gauger, A.; Mempel, M.; Schekatz, A.; Schafer, T.; Ring, J.; Abeck, D. Dermatology 2003, 207, 15.
- 19. Lee, H. J.; Jeong, S. H. Text. Res. J. 2005, 75, 551.
- Rupp, M. E.; Fitzgerald, T.; Marion, N.; Helget, V.; Puumala, S.; Anderson, J. R.; Fey, P. D. Am. J. Infect. Control 2004, 32, 445.
- 21. Samuel, U.; Guggenbichler, J. P. Int. J. Antimicrob. Agents 2004, 23S1, S75.
- 22. Strathmann, M.; Wingender, J. Int. J. Antimicrob. Agents 2004, 24, 36.
- 23. Yuranova, T.; Rincon, A. G.; Bozzi, A.; Parra, S.; Pulgarin, C.; Albers, P.; Kiwi, J. J. *Photochem. Photobiol. A* **2003**, *161*, 27.
- 24. Jeong, S. H.; Yeo, S. Y.; Yi, S. C. J. Mater. Sci. 2005, 40, 5407.
- 25. Chou, W. L.; Yu, D. G.; Yang, M. C. Polym. AdV. Technol. 2005, 16, 600.
- 26. Sun, R. W. Y.; Chen, R.; Chung, N. P. Y.; Ho, C. M.; Lin, C. L. S.; Che, C. M. *Chem. Commun.* **2005**, *40*, 5059.
- 27. Matijevic, E. Chem. Mater. 1993, 5, 412.
- 28. Nickel, U.; Castell, A. Z.; Poppl, K.; Schneider, S. Langmuir 2000, 16, 9087.
- 29. Leopold, N.; Lendl, B. J. Phys. Chem. B 2003, 107, 5723.
- 30. Khanna, P. K.; Subbarao, V. V. S. Mater. Lett. 2003, 57, 2242.
- 31. Sondi, I.; Goia, D. V.; Matijevic, E. J. J. Colloid Interface Sci. 2003, 260, 75.

- 32. Gutie'rrez, M.; Henglein, A. J. Phys. Chem. 1993, 97, 11368
- 33. Morones, J. R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J.B.; Ramirez J. T.; Yacaman, M. J. *Nanotechnology* **2005**, *16*, 2346.
- Baker, C.; Pradhan, A.; Pakstis, L.; Pochan, D. J.; Shah, S. I. J. Nanosci. Nanotechnol. 2005, 5, 244.
- 35. Fujiwara Y., Kobayashi Y., Kita K., Kakehashi R., Noro M., Katayama J., et al. J. *Electrochem. Soc.* 2008, 155, 377.
- 36. Kohler J.M., Abahmane L., Wagner J., Albert J., Mayer G., *Chem. Eng. Sci.* **2008**, *63*, 5048.
- 37. Lin Y.C., Lin C.H., Environ. Prog. 2008, 27, 496.
- 38. Mohan Y.M., Lee K., Premkumar T., Geckeler K.E., Polymer 2007, 48, 158.
- 39. Wang A.Q., Liu J.H., Lin S.D., Lin T.S., Mou C.Y., J. Catal. 2005, 233, 186.
- 40. Lee D., Cohen R.E., Rubner M.F., Langmuir 2005, 21, 9651.
- 41. Lee H.J., Yeo S.Y., Jeong S.H., J. Mater. Sci. 2003, 38, 2199.
- 42. Pal S., Tak Y.K., Song J.M., Appl. Environ. Microbiol. 2007, 73, 1712.
- 43. Sondi I., Salopek-Sondi B., J. Colloid. Interface Sci. 2004, 275, 177.
- 44. Lok C.N., Ho C.M., Chen R., He Q.Y., Yu W.Y., Sun H.Z., et al. *J Proteome Res* **2006**, *5*, 916.
- 45. Cao Y.W.C., Jin R.C., Mirkin C.A., Science 2002, 297, 1536.
- 46. Freeman R.G., Grabar K.C., Allison K.J., Bright R.M., Davis J.A., Guthrie A.P., et al., *Science* **1995**, 267, 1629.
- 47. Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L.T., Itzkan I., Dasari R., et al., *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1667.
- Prucek R., Panacek A., Fargasova A., Ranc V., Masek V., Kvitek L., et al., *Cryst. Eng. Comm.* 2011 doi:10.1039/c1030ce00776e.
- 49. Nie S.M., Emory S.R., Science 1997, 275, 1102.
- 50. Garrell R.L., Anal. Chem. 1989, 61, A401.
- 51. Jain P.K., Huang X.H., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A., Acc. Chem. Res. 2008, 41, 1578.
- 52. Hu K.W., Huang C.C., Hwu J.R., Su W.C., Shieh D.B., Yeh C.S., *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2956.
- 53. Ledwith, M.D., Aherne, D., Kelly, J.M. In *Nanotechnologies for the Life Sciences* **2010**; pp. 99–147.
- 54. Ju-Nam, Y., Lead, J.R. Sci. Total Environ. 2008, 400, 396.
- 55. Mohanty, S., Mishra, S., Jena, P., Jacob, B., Sarkar, B., Sonawane, A.: Nanomed. Nanotech. Biol. Med. 2012, 8, 916.
- 56. Guzman, M., Dille, J., Godet, S.: Nanomed. Nanotech. Biol. Med. 2012, 8, 37.
- 57. 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.: *Nanomed. Nanobiotech. Biol. Med.* **2007**, *3*, 95.
- 58. Panacek A., Kvítek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizúrova N., Sharma V.K., Nevecna T., Zboril R.: *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 16248.
- 59. Percival S.L., Bowler P.G., Dolman J.: International wound journal 2007, 4, 186.
- 60. Panacek A., Kolar M., Vecerova R., Prucek R., Soukupova J., Krystof V., Hamal P., Zboril R., Kvitek L.: *Biomaterials* **2009**, *30*, 6333.
- 61. Rai M.K., Deshmukh S.D., Ingle P., Gade K.: J. Appl. Microbiol. 2012, 112, 841.

- 62. Lara H.H., Garza-Treviño E.N., Ixtepan-Turrent L., Singh D.K.: J. Nanobiotechnol. 2011, 9, 1.
- 63. You C., Han C., Wang X., Zheng Y., Li Q., Hu X., Sun H.: *Mol. Biol. Rep.* **2012**, *39*, 9193.
- 64. Su H.-L., Chou C.-C., Hung D.-J., Lin S.-H., Pao I.-C., Lin J.-H., Huang F.-L., Dong R.-X., Lin J.-J.: *Biomaterials* **2009**, *30*, 5979.
- 65. Gordon O., Vig Slenters T., Brunetto P.S., Villaruz A.E., Sturdevant D.E., Otto M., Landmann R., Fromm K.M.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 4208.
- 66. Ahamed M., Alsalhi M.S. Siddiqui M.K.: J. Clin. Chim. Acta 2010, 411, 1841.
- 67. Prucek R., Tucek, J., Kilianova M., Panacek A., Kvitek L., Filip J., Kolar M., Tomankova K., Zboril R.: *Biomaterials* **2011**, *32*, 4704.
- 68. Solanki J.N., Murthy Z.V.P.: Ind. Eng. Chem. Res. 2011, 50, 12311.
- 69. Roucoux A., Schulz J., Patin H.: Chem. Rev. 2002, 102, 3757.
- 70. Kuila B.K., Garai A., Nandi A.K.: Chem. M 2007, 19, 5443.
- 71. Haw M.: Nature 2003, 422, 556.
- 72. Jin R.C., Cao Y.C., Hao E.C., Metraux G.S., Schatz G.C., Mirkin C.A.: *Nature* **2003**, *425*, 487.
- 73. Stefan M., Marius S., Hritcu L., Lucian H., Mihasan M., Marius M., Pricop D., Daniela P., Gostin I., Irina G., Olariu R.-I., Romeo-Iulian O., Dunca S., Simona D., Melnig V., Viorel M.: J. Mater. Sci.: Mater. Med. 2011, 22, 789.
- 74. Banerjee M., Mallick S., Paul A., Chattopadhyay A., Ghosh S.S.: *Langmuir* **2010**, *26*, 5901–5908.
- 75. Dallas P., Zboril R., Bourlinos A.B., Jancik D., Niarchos D., Panacek A., Petridis D.: *Macromol. Mater. Eng.* **2010**, *295*, 108.
- Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizurova N., Sharma V.K., Nevecna T., Zboril R.: J. Phys. Chem. B 2006, 110, 16248.
- 77. Castro T., Reifenberger R.: Phys. Rew. B 1990, 42, 8548.
- 78. Chen D., Qiao X., Qiu X., Chen J.: J. Mater. Sci. 2009, 44, 1076.
- 79. Pothukuchi S., Li, Y., Wong C.P.: J. Appl. Polym. Sci. 2004, 93, 1531.
- 80. Kelly K.L., Coronado E., Zhao L. L., Schatz G.C., J. Phys. Chem. B 2003, 107, 668.
- 81. Unnikrishnan K.P., Nampoori V.P.N., Ramakrishan V., Umadevi M., Vallabhan C.P.G., J. Physics D Applied Physics 2003, 36, 1242.
- 82. Sukhov N.L., et al, Russian Chemical Bulletin 1997, 46, 197.
- 83. Liau Y.-H., et al, J. Phys. Chem B, 2001, 105, 2135.
- 84. Voisin C., et al, J. Phys. Chem B, 2001, 105, 2264.
- 85. Garell R.L., Analytical Chemistry 1989, 61, A401.
- Parfenov A., Gryczynski I., Malicka J., Geddes C.D., Lakowicz J.R., J. Phys. Chem. B 2003, 107, 8829.
- 87. Hao R., Xing R., Xu Z., Hou Y., Gao S., Sun S., Adv. Mater. 2010, 22, 2729
- Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Elst L.V., Muller R.N., *Chem. Rev.* 2008, 108, 2064
- 89. Ju-Nam Y., Lead J.R., Sci. Total Environ., 2008, 400, 396
- 90. Cornell R.M., Schwertmann U., The iron oxides structure properties reactions accurence and uses, **2003**, VCH Verlag, Weinheim.
- 91. Zboril R., Mashlan M., Petridis D. Chemistry of Materials, 2002, 14, 969.
- 92. Colomb, J., Louie, K., Massia, S.P., Bennett, K.M. Magn. Reson. Med. 2010 64, 1792

- 93. Gupta, A.K., Gupta, M., Biomaterials 2005 26, 3995.
- 94. Yang, H.H., Zhang, S.Q., Chen, X.L., Zhuang, Z.X., Xu, J.G., Wang, X.R., *Anal. Chem.* **2004** 76, 1316.
- 95. Prucek, R., Tucek, J., Kilianova, M., Panacek, A., Kvitek, L., Filip, J., Kolar, M., Tomankova, K., Zboril, R. Biomaterials **2011** 32, 4704.
- Kilianova M. R. Prucek, J.Filip, J. Kolarík, L. Kvitek, A. Panacek, J. Tucek, R.Zboril, Chemosphere 93 (2013) 2690
- 97. Prucek, R., Hermanek, M., Zboril, R. Appl. Catal. A Gen. 2009 366, 325.
- 98. W. Wei, G. Jinlong Front. Chem. Sci. Eng. 5 (2011) 2.
- 99. J. Kirchner, J.K. Anolleck, H. Lösch, S. Kureti, Appl. Catal. B Environ. (2017).
- 100.L.K. Obid Tursunov, A. Kustov, A. Travyanov, *Proceedings of 48th IASTEM International Conference*, New York, USA, 2017, 1.
- 101.R. M. Cornell, U. Schwertmann, The Iron Oxides, VCH: Weinheim 1996
- 102.N. N. Hoover, B. J. Auten and B. D. Chandler, J. Phys. Chem. B, 2006, 110, 8606–8612.
- 103.3 H. Kim, S. R. Dhage, D. Shim and H. T. Hahn, Appl. Phys. A, 2009, 97, 791.
- 104.Zhou J.F., Wu Z.S., Zhang Z.J., Tribol. Lett. 2000, 8, 213
- 105. Tarasíc S., Kolubaev A., Belyaev S., Lerner M., Temper F., Wear 2002, 252, 63
- 106. P. Dixit, J. M. Mia and R. Presser, *Electrochem. Solid-State Lett.*, 2006, 9, 16.
- 107. Y. Lee, J. Choi, K. J. Lee, N. E. Stott and D. Kim, *Nanotechnology*, 2008, 19, 415604.
- 108.E. J. Zeman and G. C. Schatz, J. Phys. Chem., 1987, 91, 634
- 109.M.A.B. Aissa, B. Tremblay, A. Andrieux-Ledier, E. Maisonhaute, N. Raouafia, A. Courty, *Nanoscale*, **2015**, *7*, 3189
- 110.Grigory V., Zyryanov A., Thmajee V., Charushin O., *Coordination chemistry reviews* 2017 353, 15
- 111.N.Pradhan, A. Pal, T. Pal, Colloid Surf. A 2002 196, 247.
- 112.N.Pradhan, A. Pal, T. Pal, *Langmuir*, 17. 1800, 2001.
- 113.Y. Lu, Y. Mei, M. Ballauff, M. Drechsler, J. Phys. Chem. B, 2006 110, 3930.
- 114.Y. Lu, Y. Mei, M. Schrinner, M. Ballauff, M.W. Moller, J. Phys. Chem. C 2007 111 7676
- 115.M.Schrinner, F. Polzer, Y. Mei, Y. Lu, B. Haupt, M. Ballauff, A. Goldel, M. Drechsler, J. Preussner, U. Glatzel, *Macromol. Chem. Phys.*, 2007 208, 1542.
- 116.S. Harish, J. Mathiyarasu, K. Phani, V. Yegnaraman, Catal.Lett. 2009 128 197.
- 117. Y. Mei, G. Sharma, Y. Lu, F. Polzer, M. Ballauff, M. Drechsler, T. Irrgang, R. Kempe, *Langmuir*, vol. 21, 12229 2005.
- 118. Robert P., L. Kvitek, A. Panacek, L. Vancurová, J. Soukupová, D. Jancik, R. Zboril *Journal of Material chemistry*, Issue 44, 2009.
- 119.R. Prucek, A.Panáček, J. Filip, L. Kvítek, R. Zbořil, World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering Vol:8, No:6, 2014.
- 120.Chen DY, Jiang MJ, Li NJ, Gu HW, Xu QF, Ge JF, et al. J Mater Chem 2010, 20, 6422
- 121.Kluchova K, Zboril R, Tucek J, Pecova M, Zajoncova L, Safarik I, et al. *Biomaterials* **2009**,30:2855.
- 122.Corr SA, Rakovich YP, Gun'ko YK. Nanoscale Res Lett 2008,3: 87
- 123.Travan A, Pelillo C, Donati I, Marsich E, Benincasa M, Scarpa T, et al. *Biomacromolecules* 2009,10:1429.

- 124. Nadagouda MN, Varma RS. *Biomacromolecules* **2007**,8:2762.
- 125.Pinto RJB, Marques P, Neto CP, Trindade T, Daina S, Sadocco P. Acta Biomater 2009,5:2279.
- 126.Reddy KR, Lee KP, Gopalan AY, Kang HD. React Funct Polym 2007,67:943.
- 127. Masotti A, Pitta A, Ortaggi G, Corti M, Innocenti C, Lascialfari A, et al. *Magn Reson Mater Phys Biol Med* **2009**,22: 77.
- 128.Park MJ, Park J, Hyeon T, Char K. J Polym Sci Polym Phys 2006,44:3571.
- 129.Bao J, Chen W, Liu TT, Zhu YL, Jin PY, Wang LY, et al. ACS Nano 2007,1:293.
- 130.Liu XM, Li YS. Mater Sci Eng C Biomimetic Supramol Syst 2009,29:1128.
- 131.Chen M, Kim YN, Lee HM, Li C, Cho SO. J Phys Chem C 2008,112: 8870.
- 132.R. Prucek, J. Tucek, M. Kilianova, A. Panacek, L. Kvitek, J. Filip, M. Kolar, K. Tománkova, R.Zboril, *Biomaterials*, **2011**, 32, 4704
- 133.C. L. Fox, and S. M. Modak, S. M., *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 5, no. 6, 582, 1974.
- 134.X. Chen, and H. J. Schluesener, Toxicol. Lett., 176, no. 1, 1, Jan. 2008.
- 135.<u>http://www.silvermedicine.org/medical-products-silver.html</u>.
- 136. Y. M. Mohan, T. Premkumar, K. Lee, and K. E. Geckeler *Macromol. Rapid Commun.*, 27, no. 16, 1346, **2006**.
- 137.V. Thomas, M. Namdeo, Y. M. Mohan, S. K. Bajpai, M. Bajpai, J. *Macromol. Sci. A*, 45, no. 1, 107, 2008.
- 138.A. Panacek, M. Kilianova, R. Prucek, V. Husickova, R. Vecerova, M. Kolar, L. Kvitek, R. Zboril, World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Chemical, Nuclear, Metallurgical and Materials Engineering, Vol 8, No 6, 2014
- 139.C. M. Luna, P. Vujacich, M. S. Niederman, C. Vay, C. Gherardi, J. Matera, and E. C. Jolly, *Chest*, *111*, no. 3, 676, **1997**.
- 140.J. Rello, A. Torres, M. Ricart, J. Valles, J. Gonzalez, A. Artigas, and R. Rodrigueroisin, *Am. J. Resp. Crit. Care.*, 150, 6, 1545, **1994**.
- 141.J. R. Morones, J. L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J. B. Kouri, J. T. Ramirez, and M. J. Yacaman, *Nanotechnology*, 16, 10, 2346, 2005.
- 142.I. Sondi, and B. Salopek-Sondi, J. Colloid Interf. Sci., 275, 177, 2004.
- 143.A. Panacek, M. Kolar, R. Vecerova, R. Prucek, J. Soukupova, V. Krystof, P. Hamal, R. Zboril, and L. Kvitek, *Biomaterials*, *30*, 31, 6333, **2009**.
- 144.S. Krajewski, R. Prucek, A. Panacek, M. Avci-Adali, A. Nolte, A. Straub, R. Zboril, H. P. Wendel, and L. Kvitek, *Acta Biomaterialia*, 9, 7, 7460, **2013**.
- 145.W. R. Li, X. B. Xie, Q. S. Shi, S. S. Duan, Y. S. Ouyang, and Y. B. Chen, *Biometals*, 24, 1, 135, **2011**.
- 146.W. R. Li, X. B. Xie, Q. S. Shi, H. Y. Zeng, Y. S. Ou-Yang, and Y. B. Chen, Appl. Microbiol. Biot., 85, 4, 1115, 2010.
- 147.H. H. Lara, N. V. Ayala-Nunez, L. D. I. Turrent, and C. R. Padilla *World J. Microb. Biot.*, 26, 4, 615, **2010**
- 148.O. Choi, and Z. Q. Hu, Environ. Sci. Technol., 42, 12, 4583, 2008.
- 149.A. Panacek, M. Smekalova, M. Kilianova, R Prucek, K. Bogdanova, R. Vecerova, M. Kolar, M. Havrdova, G. Anna Płaza, J. Chojniak, R. Zboril, L, Kvitek, *Molecules* 2016, 21, 26
- 150.R. Satthawong, N. Koizumi, C.S. Song, P. Prasassarakich, Catal. 57 (2014) 588.

- 151.X.M. Liu, G.Q. Lu, Z.F. Yan, J. Beltramini, Ind. Eng. Chem. Res. 42 (2003) 6518–6530
- 152.G. Bozzano, F. Manenti, Prog. Energy Combust. 56 (2016) 71-105.
- 153.H. Ahouari, A. Soualah, A. Le Valant, L. Pinard, P. Magnoux, Y. Pouilloux, CO₂, *React. Kinet. Mech. Catal.* 110 (**2013**) 131.
- 154.A. Baiker, Appl.Organomet. Chem. 14 (2000) 751.
- 155.J. Kirchner, J.K. Anolleck, H. Lösch, S. Kureti, Appl. Catal. B Environ. (2017).
- 156.S.H. Kang, J.W. Bae, P.S.S. Prasad, J.H. Oh, K.W. Jun, S.L. Song, K.S. Min, *J. Ind. Eng. Chem.* 15 (**2009**) 665.
- 157.M. Muhler, E. Tornqvist, L.P. Nielsen, B.S. Clausen, H. Topsoe, *Catal. Lett.* 25 (1994) 1.
- 158.M.D. Lee, J.F. Lee, C.S. Chang, T.Y. Dong, , Appl.Catal. 72 (1991) 267.
- 159.L.K. O. Tursunov, A. Kustov, A. Travyanov, Proceedings of 48th IASTEM International Conference, New York, USA, 2017, pp. 1.
- 160.P.H. Choi, K.W. Jun, S.J. Lee, M.J. Choi, K.W. Lee, Catal. Lett. 40 (1996) 115-118.
- 161.L.M. Chew, H. Ruland, H.J. Schulte, W. Xia, M. Muhler, J. *Chem. Sci.* 126 (**2014**) 481–486.
- 162.K.S. Lin, A.K. Adhikari, K. Dehvari, J.H. Yang, C.W. Shu, *Chinese J. Phys.* 50 (**2012**) 271.
- 163.S.S. Nam, H. Kim, G. Kishan, M.J. Choi, K.W. Lee, *Appl. Catal. a-Gen.* 179 (1999) 155–163.
- 164.G. Ertl, H. Knözinger, J. Weitkamp, *Handbook of Heterogeneous Catalysis*, VCH, Weinheim, **1997**.
- 165.P. Courty, H. Ajot, C. Marcilly, B. Delmon, Powder Technol. 7 (1973) 21-38.
- 166.G.G. Wang, Y.Z. Zuo, M.H. Han, J.F. Wang, *React. Kinet. Mech. Catal.* 101 (**2010**) 443.
- 167.D.J. Wang, F.R. Tao, H.H. Zhao, H.L. Song, L.J. Chou, *Chinese J. Catal.*32 (2011) 1452.
- 168.H. Mistry, F. Behafarid, R. Reske, A.S. Varela, P. Strasser, B. Roldan Cuenya, , *ACS Catal.* 6 (2016) 1075.
- 169.R.V. Kumar, Y. Mastai, Y. Diamant, A. Gedanken, J. Mater. Chem. 11 (2001) 1209
- 170.A. Halder, M. Kilianova, B. Yang, E. C. Tyo, S. Seifert, R. Prucek, A. Panacek, P. Suchomel, O. Tomanec, D. J. Gosztola, D. Milde, H.-H. Wang, L. Kvitek, R. Zboril, S. Vajda, *Applied Catalysis B: Environmental* (2018) 128.