

Vlastnosti antibakteriálních kompozitů

Bc. David Podlipný

Diplomová práce
2015/2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů
akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. David Podlipný**
Osobní číslo: **T14475**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Vlastnosti antibakteriálních kompozitů**

Zásady pro vypracování:

Student se seznámí s dosud publikovanými studiiemi přípravy jak antibakteriálních aditiv, tak i přípravou antibakteriálních polymerních systémů (APS). Zaměří se na ekonomicky jednoduché, a technicky schůdné techniky příprav antibakteriálních aditiv, jako jsou hydrotermální srážecí syntézy, za pomoci konvenčního ohřevu či pomoci mikrovlnného ohřevu. Dále student termoplasticky zamíchá připravené plnivo do vhodné polymerní matrice. Následně student připravené antibakteriální aditiva, i APS, charakterizuje dle dostupných metod na CPS. Bude především kladen důraz na provedení vhodných antibakteriálních testů připravených APS.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., RELICHOVÁ, J. et al. Genetika. Brno: Masarykova univerzita, 2009.

ALBERTS B. et al. Molecular Biology of the Cell 5th ed. Garland Science.

DAVID A.P. BIZIOS R. Biological Interactions on Material Surfaces. ISBN 978-0-387-98160-4

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Bažant

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání diplomové práce:

15. ledna 2016

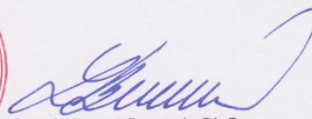
Termín odevzdání diplomové práce:

16. května 2016

Ve Zlíně dne 1. března 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Bc. Podlipný David

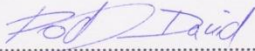
Obor: Inženýrství polymerů

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9. 5. 2016


.....

²¹ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlázení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²² zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užíje-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

²³ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlíáde k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Hlavním cílem této práce je příprava práškových plniv oxidu zinečnatého ZnO a oxidu zinečnatého se stříbrem Ag-ZnO a kompozitních materiálů s antibakteriální účinností. Teoretická část se zabývá vlastnostmi, toxicitou, a interakcemi výše zmíněných práškových plniv s lidským organismem, a s životním prostředím. V praktické části jsou syntetizována a charakterizována prášková plniva vybranými metodami, kupříkladu scanovací elektronovou mikroskopií, XRD práškovou difrakcí či EDX analýzou, a u daných plniv byla navíc určena fotokatalytická aktivita. U připravených kompozitních materiálů z těchto plniv byly provedeny zkoušky elektrických, dielektrických a mechanických vlastností. Důraz byl především kladen na stanovení antibakteriální aktivity kompozitních materiálů. Výsledky ukazují na potenciální využití antibakteriálních kompozitních materiálů, především v rámci hygieny či medicíny.

Klíčová slova:

Hierarchická struktura, nanočástice, ZnO, Ag-ZnO, kompozity, antibakteriální vlastnosti.

ABSTRACT

The main aim of this study was a preparation of powdered fillers of zinc oxide and zinc oxide with silver and also composite materials with antibacterial efficiency. Theoretical part is focused on properties, toxicity and interaction of the above-mentioned powdered fillers with human body and with environment. Powdered fillers are synthesized and characterized by chosen methods, such as scanning electron microscopy, XRD powdered diffraction or EDX analysis, and the photocatalytic activity was studied in practical part. The composite materials were studied for electric, dielectric and mechanical properties, and especially the prove is focused on the antibacterial activity of composite materials. The results of antibacterial composite materials show a potential for using, concretely in terms of the hygienic and medicine applications.

Keywords:

Hierarchical structure, nanoparticles, ZnO, Ag-ZnO, composites, antibacterial properties.

Na tomto místě bych velice rád poděkoval panu Ing. Pavlu Bažantovi, PhD., za jeho vstřícnou ochotu ve vedení této diplomové práce, trpělivost, toleranci a přátelskou výpomoc ve všech ohledech. Taktéž chci poděkovat za odborný dohled, konzultaci a všeobecné řešení této práce.

Rovněž bych velice rád poděkoval paní Ing. Daniele Veselé, za její značnou milost, laskavost, ochotu a výpomoc v mikrobiologické laboratoři jako takové, ale i za vyhodnocování výsledků antibakteriální aktivity.

Velice rád bych si přál poděkovat své mamince a přítelkyni, za neustálou podporu při řešení celé této problematiky.

Motto:

„Vědec rozmnožuje vztahy člověka s přírodou, ale podstatu a povahu těchto vztahů nemůže nijak změnit.“

(Anatole France 1844 – 1924)

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická, nahraná do IS/STAG, jsou totožné.

OBSAH

OBSAH	9
ÚVOD	11
TEORETICKÁ ČÁST	12
1 BAKTERIE	13
1.1 SLOŽENÍ A STRUKTURA	13
1.2 TVAR TĚLA BAKTERIE	13
1.3 ROLE BUNĚČNÉ STĚNY	14
1.4 BAKTERIÁLNÍ KONTAMINACE	15
1.5 NOSOKOMIÁLNÍ INFEKCE	16
1.6 ANTIBAKTERIÁLNÍ PŘÍSADY	16
2 NANOČÁSTICE	18
2.1 NANOČÁSTICE STŘÍBRA	18
2.2 CHARAKTERISTIKA NANOČÁSTIC STŘÍBRA	19
2.2.1 SUSCEPTIBILITA NANOČÁSTIC STŘÍBRA	19
2.2.2 NANOČÁSTICE STŘÍBRA JAKO BIOCIDNÍ LÁTKY	20
2.3 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA STŘÍBRA	20
2.3.1 EFEKT NANOSTŘÍBRA – REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU ROS	21
2.3.2 EFEKT NANOSTŘÍBRA – UVOLŇOVÁNÍ IONTŮ STŘÍBRA.....	21
2.4 CYTOTOXICITA NANOSTŘÍBRA	22
2.4.1 RIZIKO NANOČÁSTIC STŘÍBRA	23
2.4.2 VLIV NANOČÁSTIC STŘÍBRA NA LIDSKÝ ORGANISMUS.....	23
2.5 APLIKACE NANOČÁSTIC STŘÍBRA	24
3 NANOČÁSTICE OXIDU ZINEČNATÉHO	26
3.1 ÚVODNÍ PROBLEMATIKA	26
3.2 CHARAKTERISTIKA NANOČÁSTIC ZNO	26
3.3 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA ZNO	27
3.3.1 ANTIBAKTERIÁLNÍ „MESOSCALE“ STRUKTURA ZNO	28
3.4 TOXICITA ZNO	28
3.5 APLIKACE ZNO	29
4 NANOČÁSTICE AG-ZNO	30
4.1 SYNTÉZA AG-ZNO NANOKOMPOZITŮ	31
4.2 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA NANOČÁSTIC AG-ZNO	31
5 NANOKOMPOZITNÍ MATERIÁLY A JINÉ ANTIBAKTERIÁLNÍ PŘÍSADY	33
5.1 NANOČÁSTICE OXIDU TITANIČITÉHO TiO_2	33
5.2 NANOČÁSTICE ZLATA AU	34
5.3 NANOČÁSTICE HLINÍKU AL A MĚDI CU	34
6 ANTIMIKROBIÁLNÍ PŘÍSADY V DENTÁLNÍ APLIKACI	35
6.1 ANTIBAKTERIÁLNÍ ADHEZIVNÍ SYSTÉMY	35

6.1.1	NANOČÁSTICE STRĚBRA Ag	35
6.1.2	NANOČÁSTICE OXIDU ZINEČNATÉHO ZnO	36
6.1.3	ANTIBAKTERIÁLNÍ DENTÁLNÍ PRYSKYŘICOVÉ KOMPOZITY	36
PRAKTICKÁ ČÁST		37
7 MATERIÁL A METODIKA		38
7.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE		38
7.1.1	CHEMIKÁLIE POUŽITÉ PRO SYNTÉZU HIERARCHICKÝCH MIKROČÁSTIC	38
7.1.2	CHEMIKÁLIE POUŽITÉ PRO FOTOKATALYTICKOU AKTIVITU	38
7.1.3	CHEMIKÁLIE POUŽITÉ PRO ANTIBAKTERIÁLNÍ TESTY	39
7.2 CHARAKTERIZACE PLNIV A KOMPOZITŮ		39
7.3 SYNTÉZA PLNIVA		40
7.3.1	PŘÍPRAVA NANOSTRUKTUROVANÉHO ZnO A Ag-ZnO	40
7.3.2	PŘÍPRAVA KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ	41
8 VÝSLEDKY A DISKUZE		42
8.1 CHARAKTERIZACE PLNIV ZnO A Ag-ZnO		42
8.1.1	RENTGENOVÁ PRÁŠKOVÁ DIFRAKCE XRD	42
8.1.2	ENERGIOVĚ DISPERZNÍ ANALÝZA EDX	45
8.1.3	SCANOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE SEM	46
8.1.4	METODA BET	50
8.1.5	FOTOKATALYTICKÁ REAKCE	52
8.2 CHARAKTERIZACE PŘIPRAVENÝCH KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ		56
8.2.1	ANALÝZA DISTRIBUCE PLNIVA V POLYMERNÍ MATRICI DLE SEM	56
8.2.2	REZISTIVITA PRÁŠKOVÝCH PLNIV A KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ	58
8.2.3	DIELEKTRICKÉ VLASTNOSTI	59
8.2.4	MECHANICKÉ VLASTNOSTI	62
8.2.5	ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ	64
ZÁVĚR		69
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		70
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		80
SEZNAM OBRÁZKŮ		81
SEZNAM TABULEK		82
SEZNAM GRAFŮ		83

ÚVOD

Veliká řada přírodních a inženýrských nanomateriálů vykazuje silné antimikrobiální vlastnosti prostřednictvím rozmanitých mechanismů, zahrnující fotokatalytickou produkci ROS, podílející se na zničení buněčných komponent a virů (TiO_2 , ZnO), dále kompromitaci bakteriálního buněčného obalu (ZnO , nanoAg) a inhibici enzymové aktivity a DNA syntézy (chitosan).

Nanoforem oxidu zinečnatého a stříbra je v poslední době věnována velká pozornost z důvodu jejich unikátních vlastností. Tyto materiály jsou široce využívány v nepřeberném spektru aplikací. Nicméně, příprava kompozitních materiálů z těchto nanoforem způsobuje celou řadu problémů, které mohou vést až ke ztrátě funkce „nano“, kupříkladu v důsledku vzniku aglomerátů, a tím i sníženou antibakteriální aktivitu. Další otázkou představují zdravotní závadnosti, jako jsou toxicita a negativní vliv na životní prostředí nanočástic. Jednou z možností, jak předejít těmto problémům, a přitom si udržet požadované vlastnosti „nano“, a to i v případě zakomponování nanočástic do polymerní matrice, může být řešení ihned od prvopočátku vzniku těchto částic, a to i prostřednictvím řízené přípravy nanostrukturovaných hierarchických mikročástic.

Hlavní náplň práce spočívá ve vlastní syntéze antibakteriálních hierarchických nanočástic ZnO a hybridních nanočástic Ag-ZnO , jejichž termoplastická kompaundace s polymerními matricemi, a důkladná charakterizace plniva i matrice, s úzkou vazbou spojenou s potenciálním využitím v medicíně, kosmetice, či jiných odvětvích, hrají klíčovou roli v rámci kladení obrovského důrazu na prostředí s vyšší čistotou, a následná snížení rizika tvorby patogenních mikroorganismů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BAKTERIE

1.1 Složení a struktura

Takzvaná prokaryota lze zařadit pouze mezi jednobuněčné organismy s velikostí buňky udávající se v mikrometrech. Prvkovým a molekulárním složením se prokaryotická buňka neliší od buňky eukaryotické. Šest hlavních biogenních prvků – C, O, N, H, P a S, tvoří přibližně 97 % sušiny buňky. Čtyři hlavní biomolekulární látky – proteiny, nukleové kyseliny, polysacharidy a lipidy, tvoří taktéž 97 % sušiny. Krom cytoplazmy má prokaryotická buňka jen čtyři nepostradatelné struktury – jadernou hmotu, ribozomy, cytoplazmatickou membránu a buněčnou stěnu.

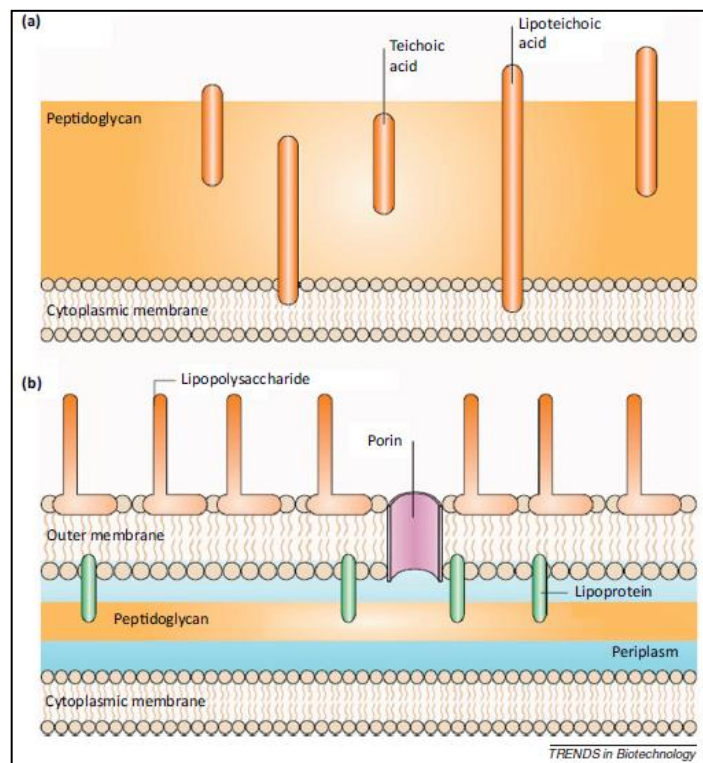
Cytoplazma představuje velmi viskózní, koncentrovaný roztok mnoha malých i velkých molekul, zcela vyplňující prostor buňky. Jaderná hmota, zvaná též nukleoid, je až na výjimky jediná, do kruhu stočená dvoušroubovice molekuly DNA (deoxyribonukleová kyselina), na proteinovém nosiči. Je tedy jediným chromozomem. DNA je zhruba tisíckrát delší než vlastní buňka, a proto je v buňce poskládána do smyček. Ribozomy jsou tělíška v cytoplazmě. Klidová buňka jich obsahuje několik set, rostoucí 30 000 i více. Cytoplazmatická membrána izoluje vnitřní prostředí buňky od vnějšího, a má polopropustné (semipermeabilní) vlastnosti. V této souvislosti můžeme zmínit i jev osmóza, chápána jako jednostranná difuze molekul rozpouštědla přes tuto polopropustnou membránu do roztoku. Buněčná stěna je tuhý obal, udělující buňce tvar, a mechanicky ji ochraňující před vlivy vnějšího prostředí [1].

1.2 Tvar těla bakterie

Bakterie (*Bacteria*), coby doména prokaryotických organismů o velikosti 0,3 μm až 2 μm , lze z hlediska tvaru rozlišovat do dvou základních typů. Jedná se o tvar kulatý, mající koky (*Coccus*). Kupříkladu se jedná o diplokoky, streptokoky, stafylokoky či sarciny. Druhý tvar, tyčinkovitý, může mít mnoho variací – vibrio, spirila či spirocheta. Důležitým taxonomickým kritériem pro klasifikaci bakterií je počet a uspořádání bičíků. Rozlišujeme monotricha, peritricha, lofotricha, amfitricha [1, 2].

1.3 Role buněčné stěny

Bakteriální stěna je koncipována tak, aby poskytovala pevnost, rigiditu a tvar, a chránila buňku před osmotickým prasknutím a mechanickým poškozením. Dle její struktury, komponentů a funkcí, může být bakteriální buněčná stěna (viz obrázek č. 1) rozdělena do dvou hlavních kategorií – Grampozitivní (+) a Gramnegativní (-). Stěna grampozitivních buněk obsahuje tlustou vrstvu (20 nm – 50 nm) peptidoglykanů (PG), která je přichycena k teichoovým kyselinám, jedinečné pro grampozitivní buněčnou stěnu [3]. Naopak, gramnegativní buněčné stěny jsou více komplexní, strukturálně a chemicky. Více specificky, buněčná stěna gramnegativních bakterií obsahuje tenkou PG vrstvu a obsahuje vnější membránu. Vnější membrána gramnegativních bakterií často uděluje rezistenci hydrofobním komponentům, včetně detergentů, a obsahuje jedinečné komponenty, lipopolysacharidy, zvyšující negativní náboj buněčné membrány. Rovněž jsou nezbytné pro strukturální integritu a viabilitu bakterií [4].



Obrázek 1: Struktura bakteriální buňky [4], přičemž:

- a) Grampozitivní bakteriální buněčná stěna je složena z tlustého a mnohvrstvého PG pouzdra (pláště) zvnějšku cytoplasmatické membrány, přičemž teichoové kyseliny jsou spojeny a zakotveny do PG, a lipoteichoové kyseliny sahají dovnitř cytoplasmatické membrány;

- b) Gramnegativní buněčná stěna je složena z vnější membrány zesíťované lipoproteiny k tenkým a jednovrstvým PG, umístěných uvnitř periplasmatického prostoru, jež je formováno mezi vnější (zahrnuje molekuly porinů a lipopolysacharidů) a vnitřní membránou.

1.4 Bakteriální kontaminace

Bakteriální kontaminace na rozdílných površích medicínských zařízení, obvazech, industriálních trubkách, balení potravin a separačních membránách, představuje globálně vážný problém v rámci zdravotní péče spojené s infekcí, spočívající v obrovské hrozbě pro jejich efektivitu a životnost [5, 6]. Obecně bakterie adherují na těchto površích, s následným růstem za vhodných podmínek prostředí, a to za vzniku takzvaných biofilmů, notoricky obtížně odstranitelných. Biofilmy poskytují ideální vnitřní úkryt pro bakterie se schopností bezpečné metabolizace, se zvýšenou tolerancí vůči antibiotikům a hostující imunologickou obranou, a taktéž infekce a šíření na další místa z hlediska rozšíření oblasti. Jediná efektivní cesta k odstranění biofilmu, indukujícího infekci/kontaminaci, spočívá v kompletním odstranění kontaminovaných zařízení/položek s náhradou za nové, třebaže jsou extrémně nevyhovující a drahé [6].

Jednodušší a levnější variantou se jeví způsob předcházení tvorby biofilmu na povrchu předmětů, přičemž jednou z možností, jak předejít tvorbě biofilmu, je modifikace polymerních řetězců roubováním různých nízko či vysokomolekulárních antibakteriálních skupin, jako jsou kvartérní amoniové skupiny, přírodní/syntetické peptidy, halogeny či fosfo/sulfo skupiny. Nicméně, takové modifikované povrchy jsou citlivé ke znečištění, bezprostředně po kontaktu s fyzikálními tekutinami, a tedy, antibakteriální činidla inhibující bakteriální růst jsou stále potřebná [5]. Další možnost může spočívat ve využití polymerů s vlastními antibakteriálními vlastnostmi, jako kupříkladu chitosan, anebo začlenění antibakteriální přísady do polymerní matrice.

1.5 Nosokomiální infekce

Nosokomiální infekce charakterizují infekce vznikající během 48 hodin po hospitalním přijetí, 3 dny pro propuštění pacienta, anebo 30 dní po provedení operace, a právě grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* je jedním z nejběžnějších případů. Byť tato bakterie nemusí způsobovat škodlivý účinek vůči lidskému zdraví, může naopak zapříčinit vážná onemocnění a smrtelné infekce lidem se slabou imunitou [7, 8, 9]. Pacienti v nemocnicích mohou obdržet infekci prostřednictvím vzdušné ventilace, stěn, podlah či vybavení.

Odhaduje se, že více než polovina nosokomiálních infekcí je spojeno s určitými typy implantovaných medicínských zařízení. Znepokojující rys infekčních biofilmů lze reprezentovat inherentní rezistencí bakteriálních buněk, rostoucích jako biofilm k antibiotikům, ve srovnání s planktonickými buňkami. Tedy, běžná antibiotická terapie je často úspěšná z hlediska zabití planktonických buněk, vylézajících z biofilmu, ale nedostatečná pro zabití buněk v biofilmu žijící, a infekční symptomy jsou cyklické povahy, vedoucí k výraznému účinku v nosokomiálních infekcích [7].

1.6 Antibakteriální přísady

Antibakteriální aktivita se vztahuje na sloučeniny, které lokálně zabíjí bakterie anebo zpomalují jejich růst, bez působení toxicity na okolní tkáň. Obecně mohou být přísady klasifikovány jako baktericidní, zabíjející bakterie, a bakteriostatické, zpomalující bakteriální růst. Antibakteriální přísady představují nejvyšší prvek z hlediska boje vůči infekčním onemocněním. Nicméně, s jejich širokým využitím a zneužíváním, se stal běžným fenoménem vznik bakteriální rezistence vůči antibakteriálním lékům, což značí majoritní problém. Rezistence je nejčastěji založena na vývojových procesech, konající se během, kupříkladu antibiotické terapie, a vedoucí k dědičné rezistenci. Krom toho, horizontální genový transfer prostřednictvím konjugace, transdukce či transformace, může být možnou cestou pro vybudování rezistence [10]. Tyto antibakteriálně rezistentní kmeny a druhy jsou neformálně referovány coby „superbugy“ a přispívají ke vzniku onemocnění, jež byly pod kontrolou po mnoho let.

Prominentním příkladem by mohly být bakteriální kmeny, způsobující tuberkulózu, jež jsou rezistentní vůči dříve efektivní antibakteriální léčbě. Vzhledem k faktu, při kterém se stávají rozvíjející se bakterie rezistentní vůči mnoha běžným antibakteriálním přísadám, pokračují infekční onemocnění ve smyslu největších, celosvětových zdravotních problémů.

Krom toho, stinnou stránkou pro konvenční antimikrobiální přísady nejsou pouze rozvoj mnohonásobné lékové rezistence, ale také nepříznivé vedlejší efekty. Léková rezistence vynucuje vysokou dávku antibiotik, často generující netolerantní toxicitu, což napovídá o rozvoji alternativních strategií pro léčbu bakteriálních onemocnění. Především, mnoho tříd antimikrobiálních nanočástic a nanonosičů pro dodávání antibiotik prokázalo svou efektivitu pro léčbu infekčních onemocnění, včetně těch rezistentních vůči antibiotikům, jak *in vitro*, tak i ve zvířecích modelech. Jeden z hlavních důvodů spočívá v jejich vysokém měrném povrchu, související s výskytem nových mechanických, chemických, elektrických, optických, magnetických, elektrooptických a magnetooptických vlastností nanočástic, jež jsou rozdílné od jejich objemových vlastností [4].

2 NANOČÁSTICE

Dle Evropské unie, konkrétně Commission Recommendation, lze definovat „nanomateriál“ za „přírodní“, vedlejší či syntetizovaný materiál, obsahující částice v nevázaném stavu či jako agregát, respektive aglomerát, přičemž padesát a více procent částic, dle číselné velikosti distribuce, odpovídá jedním či více vnějších rozměrů rozmezí velikostí 1 *nm* až 100 *nm* [11]. Významné nanomateriály, jako jsou chitosan, nanostříbro, oxid titaničitý TiO_2 či oxid zinečnatý ZnO , kupříkladu představují slibný předpoklad coby alternativa k tradičním chemickým desinfekčním prostředkům, generující škodlivé vedlejší produkty. Aplikace antimikrobiálních vlastností stříbrných sloučenin i iontů jsou historicky uznávaným tématem v rozmanité oblasti aplikací pro desinfekční medicínská zařízení a domácí aplikace pro úpravu vod, ovšem mechanismus toxicity je stále v otázce porozumění [12]. Vlastnosti, charakteristika, antibakteriální efektivita a aplikace nanomateriálů jsou podrobněji uvedeny a vysvětleny níže.

2.1 Nanočástice stříbra

Nanostříbro představuje shluk atomů stříbra s velikostí v rozmezí od 1 *nm* – 100 *nm*, syntetizovaného rozdílnými způsoby, využívajících různé prekursorů, redukční a stabilizační činidla či surfaktanty. Nanostříbro může být připraveno s různými velikostmi, tvary a povrchovými vlastnostmi prostřednictvím různých technik, jako jsou fotoredukce, chemická redukce, hydrotermální a core-shell technika, s využitím templátů, nosičů anebo biosyntézy. Aplikované nanostříbro, využívané pro své antibakteriální vlastnosti, charakterizuje odlišná morfologie a fyzikálně-chemické vlastnosti, což znamená existenci mnoha možných cest nanostříbrných baktericidních účinků. Krom toho, morfologie a fyzikálně-chemické vlastnosti nanostříbra mohou ovlivňovat jejich interakce s bakteriemi, což se stává majoritním faktorem, zahrnovaný v nanostříbrných antimikrobiálních účincích. V nedávných letech bylo sumarizováno mnoho přehledů uvádějících antimikrobiální mechanismy nanostříbra, byť není mechanismus stále plně objasněn. Takzvané antivirové efekty jsou důležitou součástí antimikrobiální aktivity nanostříbra [13].

Antibakteriálních vlastností stříbra bylo povšimnuto již za dávných časů, ve starověku. Stříbro bylo využíváno při léčbě popálenin, dentálních pracích či bakteriálních infekčních kontrolách, ale také coby součást katetrů, a to ve formách kovového stříbra, nitrátu stříbra a sulfadiazinu stříbra. Využívání stříbra k léčbě bakteriálních infekcí se stalo neoblíbené po penicilinu, představeném v roce 1940. Nedávný objev bakterií rezistentním antibiotikům a

limitovaný účinek antibiotik oživil klinické využívání stříbra. Mezi mnoha rozdílnými typy kovů a kovových oxidů nanočástic se stříbrné nanočástice předvedly coby nejefektivnější vůči bakteriím, virům a jiným mikroorganismům. Rozmanité aplikace stříbrných nanočástic zahrnují obvazy na rány, povlaky pro medicínská zařízení a chirurgické masky, impregnované textilní tkaniny, nanogely a nano-plet'ové vody [14].

2.2 Charakteristika nanočástic stříbra

Otázky, týkající se syntézy, vlastností a charakterizace stříbrných nanočástic, byly adresovány v mnoha publikacích a přehledech, kde bylo jasně dáno, že antimikrobiální a katalytická aktivita stříbrných nanočástic závisí na jejich velikosti, struktuře, tvaru, velikosti distribuce nanočástic a fyzikálně-chemickém prostředí. Velikost částic je jednou z nejdůležitějších parametrů, a to nejen pro popis základních vlastností materiálů, ale také biologických systémů, což může mít vliv na množství klíčových vlastností, faktorů a procesů, jako jsou cílená doprava léčiv a distribuce. V ideálním případě platí, že by všechny částice, které jsou předmětem charakterizace, měly mít homogenní tvar a velikost s uniformními vlastnostmi, přičemž každá metoda na bázi měření velikosti částic by měla poskytnout stejné hodnoty jejich průměrů a velikostní distribuce částic, bez ohledu na princip využití techniky měření. Nicméně, v reálném světě tomu tak není, poněvadž většina nanočástic je neseferických s rozdílnými tvary, což nepochybně ovlivňuje jejich průměr [11].

2.2.1 Susceptibilita nanočástic stříbra

Struktura buněčné stěny hraje důležitou roli v toleranci či susceptibilitě (citlivosti) bakterií v přítomnosti nanočástic. Vlastnosti bakteriální buněčné stěny mohou hrát rozhodující roli v difuzi nanočástic uvnitř biofilmu matrice. Druhá senzitivita nesouvisí pouze se strukturou buněčné stěny grampozitivních a gramnegativních bakterií, přičemž mnoho dalších faktorů může mít vliv na susceptibilitu či toleranci bakterií k nanočásticím. Dalším faktorem, ovlivňující toleranci bakterií vůči nanočásticím, je míra bakteriálního růstu. Rychle rostoucí bakterie jsou více susceptibilní než pomaleji rostoucí bakterie vůči antibiotikům a nanočásticím, což je možné, poněvadž tolerující vlastnosti pomaleji rostoucích bakterií jsou vztaženy k expresi genů stresových reakcí. Dále, antibakteriální účinek vysoce závisí na konkrétním kmenu [4].

Velice zajímavým je fakt, při kterém jsou bakterie grampozitivní méně susceptibilní k nanostříbru nežli bakterie gramnegativní, což lze vysvětlit přílišně tlustší peptidoglykanovou buněčnou stěnou grampozitivních bakterií oproti bakteriím gramnegativním [15]. Tlustší molekuly peptidoglykanu grampozitivních bakterií formují hustou síť strukturující buněčnou stěnu okolo bakteriální buněčné membrány (obsahují lineární polysacharidové řetězce zesíťované krátkými peptidy pro vytvoření trojrozměrné rigidní struktury [16]), mající schopnost zabránit penetraci iontů stříbra do vnitřní části buněčné stěny. Tedy, ionty stříbra reagují pouze s vnější vrstvou peptidoglykanu a nemohou způsobit významné nepříznivé efekty na bakteriích. Negativně nabitá plasmatická DNA uvnitř bakterií je dalším cílem iontů stříbra, poněvadž ionty stříbra difundují do bakteriální stěny a vážou se na báze DNA pro inhibici procesů replikace a transkripce, dále bránící bakteriální produkci [6].

2.2.2 Nanočástice stříbra jako biocidní látky

Již bylo prokázáno, že jsou stříbrné nanočástice efektivními biocidy proti bakteriím, jako jsou například *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella mobilis*, a *Klebsiella pneumonia* [17], houbám, jako jsou *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisia*, *Trichophyton mentagrophytes*, a *Penicillium citrinum* [18], a v neposlední řadě, virům, jako jsou například Hepatitis B, HIV-1, anebo syncyciální virus [19]. Hybridní stříbrné nanokompozity s dendrimery a polymery byly prokázány efektivními pro bakterie *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a *Klebsiella mobilis*. Krom toho, stříbro umístěné do nanoporózních materiálů, jako jsou stříbrem vyměnitelné zeolity, projevují antibakteriální vlastnosti pro bakterie *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* [20].

2.3 Antibakteriální aktivita stříbra

Velmi důležitou roli v antimikrobiální aktivitě stříbrných nanočástic hraje velikost částic, a s tím i spojené fyzikálně-chemické vlastnosti. Obecně, částice menší než 10 nm jsou více toxické vůči bakteriím *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*. Stříbrné nanočástice v rozmezí 1 nm až 10 nm inhibují určité viry vazbou k hostitelským buňkám, a to přednostně vazbou k virovým gp120 glykoproteinům. Mimoto, taktéž bylo zjištěno, že trojúhelníkové nanodestičky, obsahující více reaktivní <111> roviny, jsou více toxické než tyčinky/sféry nanostříbra či Ag^+ ionty [12].

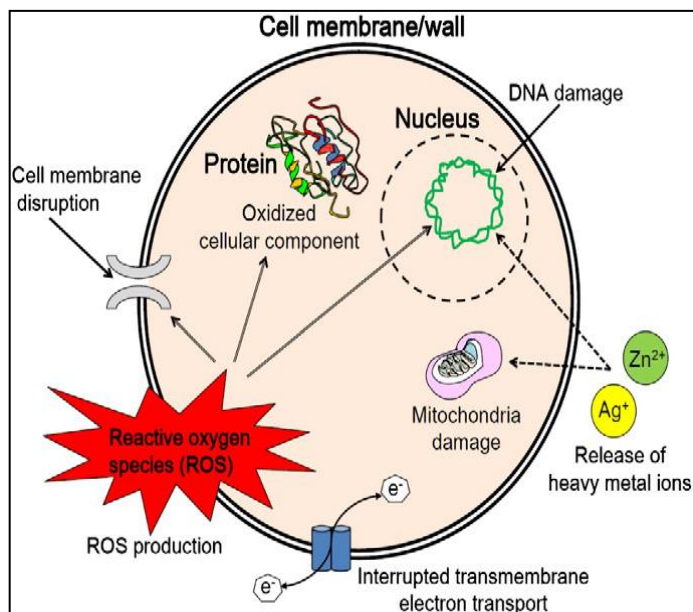
2.3.1 Efekt nanostříbra – reaktivní formy kyslíku ROS

Generace reaktivních forem kyslíku ROS je prostřednictvím nanočástic stříbra založena na uvolňování volných radikálů stříbra (viz obrázek č. 2), která dále vede k oxidativnímu stresu, zánětům, a z toho vyplývajícím poškození proteinů, membrán a DNA. Výsledky, obdržené metodou elektron-spinové rezonance, ukazují, že nanostříbro může indukovat, v závislosti na pH, produkci hydroxylových radikálů a kyslíku v přítomnosti peroxidu vodíku H_2O_2 , a biologicky relevantní produkt, nepřetržitě generovaný v buňkách. Využití takzvaných ROS scavenger („vychytávač“) by mohlo výrazně snížit úroveň ROS v bakteriích a antibakteriální aktivitu nanostříbra [3], poněvadž výsledky zřetelně potvrzují, že produkce ROS ovlivňuje antibakteriální aktivitu nanostříbra. Přemíra ROS může narušit rovnováhu oxidace/antioxidace, což vede uvnitř bakteriálních buněk k formování oxidativního stresu. Následně reagují ROS s biologickými molekulami, jako jsou proteiny, lipidy a DNA, způsobující významný a výrazný antibakteriální efekt. Přítomnost kyslíku je důležitým prvkem pro generaci ROS, z čehož vyplývá, že mohou být možným mechanismem, zprostředkovávající antibakteriální aktivitu za okolních podmínek [6].

Nanostříbro může být úspěšně párováno s mnoha dalšími antibakteriálními přísadami, jako jsou antibiotika, kovy, a NO/ROS generující komponenty, což by mělo být přisuzováno mnoha mechanismům účinku stříbra vůči bakteriím, zvyšující pravděpodobnost synergického účinku. V této fázi není možné přímé srovnání efektivnosti antibakteriálních přísad. Srovnávací studie efektivnosti s rozsáhlou mírou komponentů budou nezbytností v rozvoji a selektování více kombinací se synergickými antibakteriálními vlastnostmi, a ideálně, ne vyšší, než aditivní cytotoxicitou [21].

2.3.2 Efekt nanostříbra – uvolňování iontů stříbra

Kovové stříbro Ag^0 může být na povrchu nanostříbra oxidováno do formy Ag_2O v aerobních roztocích. Následně vytváří metabolismus bakterií kyselé prostředí pro uvolňování stříbrných iontů, což již bylo evidováno a prováděno v mnoha studiích a laboratořích, přičemž ionty stříbra interagují s bakteriální buněčnou stěnou, plasmovou membránou, bakteriální DNA, proteiny i ribozomy, což má za následek baktericidní efekt. Vzhledem k tomu, že se mohou ionty stříbra vázat k negativně nabitému peptidoglykanu, mohou se jednoduše připojit na thiolovou skupinu $-SH$. Stříbrné ionty interagují s thiolovými skupinami v proteinech, což vede k inaktivaci respiračních enzymů a následně produkci reaktivních forem kyslíku ROS [6].



Obrázek 2: Ukázka rozdílných antimikrobiálních mechanismů nanomateriálů neboli mechanismus toxicity nanočástic vůči bakteriím – nanočástice a jejich ionty (stříbra, zinku) mohou produkovat volné radikály, vedoucí k indukci oxidativního stresu (reaktivní formy kyslíku; ROS), přičemž produkované ROS mohou ireverzibilně poškozovat bakterii (membránu, DNA a mitochondrie), vedoucí k bakteriální smrti [4, 14]

2.4 Cytotoxicita nanostříbra

Intenzivně zkoumanou byla také toxicita nanostříbra vůči savčím buňkám [22]. Nedávné studie taktéž pojednávají o transportu, aktivitě a osudu stříbrných nanočástic na úrovni celulární a úrovni organismu. Nanostříbro je cytotoxické k mnoha rozdílným buněčným liniím, zahrnující myší fibroblasty NIH/3T3 [23], monocyty THP1, krysí jaterní buňky BRL 3A, samčí myší zárodečné buňky C18-4, lidské plicní fibroblastní buňky IMR-90 a buňky lidského glioblastomu U251. Vývojová toxicita a neurotoxicita nanostříbra jsou taktéž reportovány *in vitro* a *in vivo*.

Mnoho mechanismů bylo navrženo pro objasnění cytotoxicity nanostříbra. Stejně tak, jako u antibakteriálních efektů nanostříbra, i cytotoxicita je založena na uvolňování iontů stříbra, jež může zacílit mitochondrie z důvodu mitochondriálního swellingu („otoku“), aberantního metabolismu a apoptosy. Stříbrné ionty se mohou taktéž vázat s intracelulárními biologickými skupinami, jako jsou DNA/RNA komplexy pro blokaci procesů replikace a transkripce, ovlivňující buněčný cyklus, mající za následek genotoxicitu. Krom toho, cytotoxicita, vyvolávaná nanostříbrem a ionty stříbra, generující reaktivní formy kyslíku, jsou

nejintenzivněji zkoumanými mechanismy. Stensberg et al. spekovali o obousměrném efektu nanostříbra, přisuzovaného dávce expozice a buněčnému typu. Normálně lze považovat úroveň cytotoxicity nanostříbra či iontů stříbra za mnohem vyšší nežli úroveň antibakteriální. Nicméně, dlouhodobá expozice nízkým koncentracím nanostříbra může způsobit toxicitu vyšších organismů, z čehož tedy vyplývá, že je zapotřebí věnovat speciální pozornost nanostříbru, aplikovaného coby antibakteriální přísada [6].

2.4.1 Riziko nanočástic stříbra

Prodloužená expozice solubilním sloučeninám obsahujících stříbro může způsobovat ireverzibilní pigmentaci kůže (tzv. argyrie) a očí (tzv. argyrosis), krom dalších toxických efektů, zahrnujících poškození orgánů (játra a ledviny), podráždění očí, kůže, respiračního a gastrointestinálního traktu, ale také změny v množství krevních buněk. Ovšem na druhé straně se zdá, že kovové stříbro představuje minimální riziko vůči zdraví a tedy stříbrné nanočástice jsou navrhovány v některých studiích jako netoxické, ovšem jiné studie referují nežádoucí účinky stříbrných nanočástic, v závislosti na koncentraci, na úrovni mitochondriální aktivity. Lze tedy říci, že příchod stříbrných nanočástic, ve smyslu slibných antimikrobiálních nanomateriálů, vyžaduje zřetelné a plné objasnění jejich potenciální toxicity [24].

2.4.2 Vliv nanočástic stříbra na lidský organismus

Využívání stříbrných nanomateriálů se stává čím dál více rozsáhlým prvkem z hlediska dvou hlavní expozic – lidského organismu a ekosystému. Stříbrné nanočástice mohou být uvolňovány do životního prostředí vypouštěním z místa hlavní produkce, z erozí inženýrských (syntetických) materiálů domácích produktů (kupříkladu antibakteriální povlaky a stříbrem impregnované vodní filtry), z umývání (praní) či likvidace produktů obsahujících stříbro. Stříbro uvolňované do přírodních a technických systémů bude mít pravděpodobně dopad na nejnižší trofickou úroveň, to jest bakterie. Nicméně, velice málo je známo o trofickém transferu stříbra a dopadech na vyšší organismy. Ve skutečnosti již byla prokázána toxicita vůči aerobním a anaerobním druhům bakterií, izolovaných z čistíren odpadních vod, přičemž můžeme spekulovat o vážném narušení kritické environmentální infrastruktury, za předpokladu, že se zatížení stříbra do čistíren odpadních vod významně navýší.

Hlavní cesta do oblasti lidského organismu spočívá v respiračním a gastrointestinálním systému, a kůži, které jsou rozhraním mezi inertními systémy lidského organismu a externím životním prostředím. Kupříkladu se jedná o vstup stříbrných nanomateriálů prostřednictvím respiračního traktu, způsobený inhalací prachu či výparů obsahující stříbrné nanomateriály v místě výroby, dále mluvíme o možném vstupu z vody, dětských hraček, či stříbrem upravovaných potravinových obalů, anebo penetrací kůže prostřednictvím textilií a kosmetik obsahující stříbro. Mezi další potenciální vstupní cesty může být taktéž zahrnut ženský pohlavní trakt, způsobený inkorporací stříbrných nanočástic prostřednictvím početných ženských hygienických prostředků, ale také systematickým podáváním, jak jsou využívány pro jisté zobrazovací a terapeutické účely, anebo inkorporací do medicínských implantátů, katetrů či obvazů na rány.

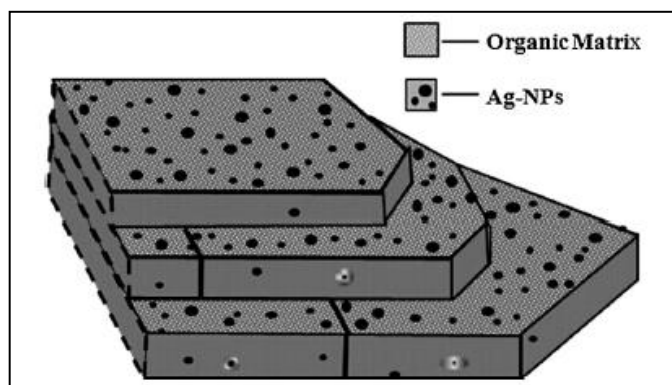
Důkazy u hlodavců ukazují, že po vstupu do těla mohou stříbrné nanočástice akumulovat, a v některých případech, zničit tkáň, jako jsou játra, plíce, a čichové žárovky, anebo penetrovat skrze hematoencefalickou bariéru. Studie týkající se lidských buněk dokazují, že stříbro může být genotoxické. Krom toho vedlo uvolňování ionického stříbra ke sterilitě škeble *Macoma Balthica* v Sanfranciském zálivu během roku 1980 [20].

Další problematika se zaobírá schopností nanočástic stříbra přejít hematoencefalickou bariérou prostřednictvím trans-synaptického transportu, s následnou akumulací v mozku. *In vitro* studie ukázaly, že nanočástice stříbra snižují mitochondriální funkci v neuroblastomu myši, hepatických buňkách, karcinomu lidské kůže a lidských epidermálních keratinocytech. Další *in vivo* studie demonstrovaly vliv těchto nanočástic na proces oxidativního stresu, infarkt myokardu, trombózu a záněty [13].

2.5 Aplikace nanočástic stříbra

S rapidním rozvojem nanotechnologií byly aplikace nadále rozšiřovány, přičemž dnes patří stříbro mezi nejčastěji využívaný a upravovaný nanomateriál v oblasti spotřebitelských produktů. Oblečení, respirátory, vodní filtry pro domácnost, antikoncepce, antibakteriální spreje, kosmetiky, detergenty, dietní doplňky, prkénka, boty, mobilní telefony, laptopy, klávesnice a dětské hračky, patří mezi maloobchodní produkty využívající antimikrobiálních vlastností stříbrných nanomateriálů.

Rozdílné formy stříbrných nanomateriálů, ve výše zmíněných produktech, již zahrnují kovové stříbrné nanočástice [25], částice chloridu stříbrného, stříbrem impregnované zeolitové prášky a aktivované uhlíkové materiály, komplexy dendrimerů stříbra a kompozity, kompozity tvořené polymerními a stříbrnými nanočásticemi [26], kompozitní nanoprášky tvořené dioxidy stříbra a titanu, a stříbrné nanočástice nanesené na polymerech, jako je například polyurethan. Zatímco všechny zmíněné formy stříbra vykazují do určité míry antimikrobiální aktivitu prostřednictvím uvolňování stříbrných iontů, stříbrné nanočástice nemohou projevovat dodatečné antimikrobiální schopnosti objemovým či ionickým stříbrem [20]. Rovněž lze mluvit i o ekologicky přínosné chemické strategii syntetizovaných stříbrných nanočástic, vložených do struktury prášku skořápky sládky jedlé (PMS coby organická matrice), sloužící jako scaffold (viz obrázek č. 3). Antibakteriální vlastnosti syntetizovaného systému byly zkoumány vůči mořské vodě a sladkovodním bakteriím, přičemž se tento systém osvědčil jako efektivní, dlouhodobý antibakteriální, a protihnilobní agend [27].



Obrázek 3: Schematická ilustrace adsorpce nanočástic stříbra do organické matrice [27]

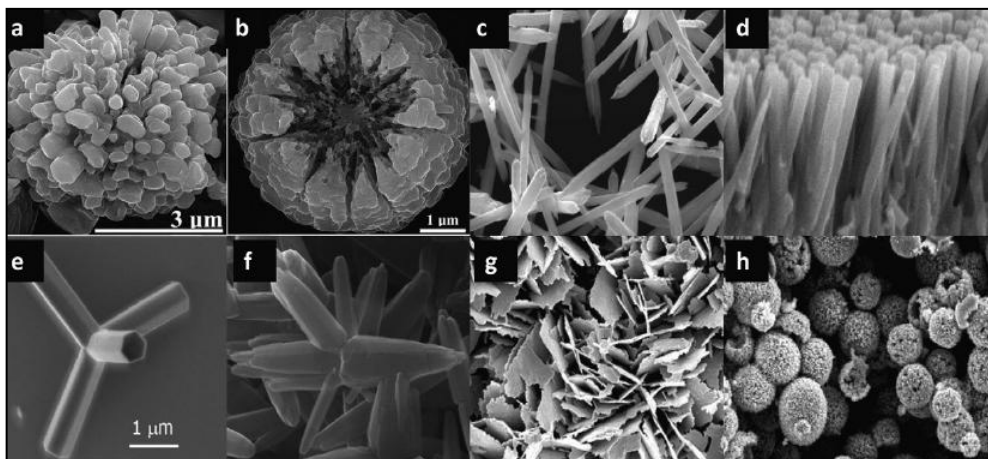
3 NANOČÁSTICE OXIDU ZINEČNATÉHO

3.1 Úvodní problematika

Oxid zinečnatý představuje polovodičový materiál se širokým zakázaným pásmem (3,37 eV) a je považován za důležitý, vzhledem k vysoké excitační vazebné energii (60 meV), ve srovnání s GaN (25 meV) či ZnSe (22 meV) [28, 29]. Mikročástice ZnO se tradičně využívají jako bílý pigment do kaučukových směsí jako aditivum. Zatímco byly tyto mikročástice z pigmentů převážně vytlačeny, jejich využití v rámci kaučuků zůstává velmi podstatné. ZnO byl využíván v rozmanitých aplikacích po tisíciletí, a může být odpovědně považován za vyspělý inženýrský materiál, s nynější roční produkcí blížící se 1,5 milionů tun. Nicméně, v posledních desetiletích mluvíme o prudkém vzestupu množství vědeckých publikací, adresujících tento materiál, indikující významné a nové zajímavosti. Dřívější majoritní využití, fotokopiové papíry jako fotokonduktivní přísady a v linoleu, takřka vymizelo. Krom toho, ZnO již není základním bílým pigmentem v barvách. V současné době spočívá majoritní využití ZnO v gumárenském průmyslu, následovaný keramikou, ovšem i ve specializovaných aplikacích, jako jsou vrtné výplachy (tekutiny) pro ropný a plyný průmysl. Rovněž je ZnO zkoumán pro aplikace, jako jsou LED, transparentní tranzistory, solární buňky a paměťová zařízení, a jako základ transparentních induktivních oxidů pro konzumní zařízení [14, 30].

3.2 Charakteristika nanočástic ZnO

Morfologie částic ZnO (viz obrázek č. 4) může být kontrolována různými technikami syntéz, procesními podmínkami, prekuzory, pH systémy a koncentrací reaktantů [31]. ZnO je fenomenálním materiálem, představující i další obrovskou škálu tvarů a morfologií v mikro/nanoměřítku [28], produkovaných za specifických podmínek. Mnoho z nich má rozmanitá pojmenování – nanotyčinky [31], nanodestičky [32], nanolisty, nanokrabičky [32], nepravidelně tvarované částice, polyhedrální bubny, hexagonální hranoly, nanopaličky, nanotřílusky, tetralusky, nanodráty, nanopásky, nanohřebeny a nanopily, nanopružiny, nanospirály a nanohelixy, nanokroužky, nanoklece, nanojehly, nanotrubičky, nanokoblihy, nanovrtule a nanokvětiny [30].



Obrázek 4: SEM obrázky oxidu zinečnatého ukazující rozdílné morfologie [30]

Syntézy nových nanostruktur ZnO vedou k cílené a žádané přípravě ZnO struktur na míru, pomocí kterých lze získat požadované vlastnosti. V minulosti se ukázaly atraktivními nejen 1D, ale i sférické 3D nanostruktury. Další skupiny taktéž ukázaly evoluci a výrobu 3D vyvinutých nanostruktur rozdílných typů a morfologií, ovšem s malým či limitovaným stupněm kontroly [28].

3.3 Antibakteriální aktivita ZnO

Nedávno bylo zjištěno, že nanočástice ZnO mají antibakteriální aktivitu vůči důležitým potravinovým patogenům, jako jsou *Escherichia coli* O157:H7, či enterotoxická *Escherichia coli* [14], z čehož vyplývají silné antibakteriální účinky vůči rozmanitému spektru bakterií, byť je mechanismus antibakteriálního účinku stále předmětem bádání [33]. Mezi jeden z primárních mechanismů lze začlenit fotokatalytickou generaci peroxidu vodíku. Krom toho byly také indikovány penetrace buněčného obalu a dezorganizace bakteriální membrány při kontaktu s nanočásticemi ZnO, způsobující inhibici bakteriálního růstu. Nicméně, role iontů Zn^{2+} , uvolněných z rozpuštěného ZnO, není doposud zcela jasná. Pravděpodobnost účinku spočívá ve vazbě iontů Zn^{2+} k membránám mikroorganismů, což může prodloužit takzvanou lag fázi cyklu mikrobiálního růstu [12].

Další příklad antibakteriální aktivity vůči grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* spočívá v tom, že ZnO nanočástice zničí lipidy a proteiny bakteriální buněčné membrány, což vede k unikání intracelulárního obsahu, a nakonec vše končí smrtí bakteriální buňky [34]. Dokonce byly referovány i další mechanismy na principu zvýšení permeability membrány, celulózní internalizace, a intracelulární strukturální změny polyvinylalkoholu PVA,

obaleného nanočásticemi ZnO. Nicméně, protichůdné výsledky reportují i o účinku velikosti částic na antibakteriální aktivitu ZnO. Jones et al. pozorovali, že menší částice ZnO byly více toxické než částice větší, ovšem žádná velikost se nevztahuje k efektům, nalezených v dalších studiích Franklin et al. [14].

3.3.1 Antibakteriální „mesoscale“ struktura ZnO

Velikost mikročástic musí zajistit standardní zpracovatelnost práškových materiálů bez dodatečné úpravy a vyhnout se tím pronikání částic skrze kůži či sliznici, na rozdíl od běžně pozorovaného chování nanočástic. Relativně velké částice představují výhodu s ohledem na další vstupy do lidského těla, jako jsou inhalace či požití.

V tomto případě lze právě diskutovat o částicích ZnO, poněvadž se jedná o významné anorganické antibakteriální plnivo. Antibakteriální aktivita nanočásticových forem ZnO je tedy dobře známa, a navíc, jejich efektivita je ve smyslu antibakteriálních přísad smysluplně dokumentována v literatuře, a přitom hierarchicky, „mesoscale“ strukturované ZnO nanočástice mohou být připraveny relativně jednoduše precipitací z roztoků zinečnatých solí [35].

3.4 Toxicita ZnO

ZnO je obecně kategorizován za netoxický materiál, nezpůsobující kožní a oční podráždění, a bez evidence karcinogenity, genotoxicity a reprodukce toxicity v člověku. Nicméně, prášková forma může být hazardním z hlediska inhalace či požití, poněvadž způsobuje stav známý jako zinková horečka či zinková malarická zimnice. Symptomy tohoto syndromu jsou zimnice, horečka, kašel a svíravost na hrudi, a právě z tohoto důvodu je zapotřebí dodržovat příslušná bezpečnostní opatření při přípravě, balení, transportu a manipulaci ZnO. Dle EU klasifikace nebezpečnosti je ZnO považován za ekotoxický a velmi toxický pro vodní prostředí. Rozpustné zinkové komponenty jsou považovány za ekotoxické pro vodní organismy navzdory těm, jež jsou nezbytné pro člověka, živočichy a rostliny ve stopových množstvích. Bylo prokázáno, že ekotoxicita ZnO vůči vodnímu prvku *Tetrahymena thermophila* je zcela způsobena solubilizovanou frakcí, tedy ionty Zn^{2+} . Toxicity mikročástic ZnO, nanočástic ZnO a solubilních Zn^{2+} jsou podobné, jakmile jsou brány v potaz jejich rozdílné rozpustnosti. Tyto hodnoty jsou rozsahově o řád nižší než solubilní Cu^{2+} [36].

Oxid zinečnatý má dlouhou historii využívání opalovacích krémů, sloužících k ochraně proti UVA i UVB záření, s nanočásticemi mající své uplatnění od pozdního roku 1990, ovšem zde byla jistá znepokojení z hlediska možných nepříznivých účinků na lidské zdraví a životní prostředí. Nicméně, současná evidence ukazuje, že nanočástice ZnO nepronikají viabilními kožními buňkami, a zůstávají na vnější vrstvě nepoškozené kůže (*stratum corneum*) s nízkou systematickou toxicitou [30, 34, 37].

3.5 Aplikace ZnO

Nanostrukturovaný oxid zinečnatý s rozdílnými morfologiemi byl vždy vynikajícím materiálem pro řadu vědců a prvkem pro mnohé aplikace v opto/elektronice [38], katalýze a medicíně [28]. ZnO může být tedy v závislosti na koncovém využití považován za objemovou chemickou látku či specializovaný semikonduktor. Má specifické optické, elektrické a termální vlastnosti, jež jsou atraktivní pro řadu velmi rozmanitých aplikací. Kupříkladu, jeho vysoký refraktivní index (1,95 – 2,10) byl využitelný v pigmentových aplikacích, dále může být elektrický, vhodně dopovaný semikonduktor, a je termálně stabilní k extrémně vysokým teplotám (alespoň ~1800 °C). Fyzikální a chemické vlastnosti ZnO prášku zajišťují značné využití v rámci kaučukových aditiv. Alternativně, velká plocha měrného povrchu „aktivního“ stupně umožňuje využití v desulfurizačních procesech chemických provozů. Jako polovodič má ZnO uplatnění v optoelektronice a transparentních induktivních filmech [30].

Dále, jednotlivé studie naznačují, že aplikace nanočástic ZnO mohou být efektivní pro konzervování zemědělských produktů a potravin. Tyto nanočástice, oproti nanočásticím stříbra, vynikají svou nízkou produkční cenou, bílým zabarvením a schopností působit coby filtr vůči UV záření. Nanočástice ZnO byly vždy využity coby nosiče léčiv [14, 39], dále aktivní přísady v antibakteriálních krémech, pleťových a ústních vodách a mastech (Sudocrem). Ačkoliv mají ionty Zn^{2+} a nanočástice ZnO antibakteriální aktivitu, vodní organismy mohou být vysoce senzitivní vůči rozpuštěnému zinku, a právě z tohoto důvodu bude jednoduchost rozpustnosti ZnO, a s tím spojená aplikace v úpravě pitných vod, limitována [12].

4 NANOČÁSTICE AG-ZNO

ZnO byl rovněž extenzivně studován coby katalyzátor v rámci nápravy životního prostředí, a za účelem výroby jako nanomateriál hraje primární roli z důvodu jeho nízké ceny, excellentní elektrochemické stability, vysoké elektronové mobility a velkému povrchu. Nicméně, rapidní rekombinace fotoexcitovaných elektronů a děr omezuje jeho fotokatalytickou účinnost. Kromtoho je ZnO nestabilní z důvodu snadné aglomerace, přičemž zabránění aglomerace těchto nanostruktur hraje klíčovou roli pro zachování vysoké fotoaktivity takzvaných nano-fotokatalyzátorů, a právě nejefektivnější metoda spočívá ve využití heterostruktur na bázi polovodičů s vhodnou kompozicí a/nebo morfologií, nicméně, vlastnosti těchto polovodičů mohou být modifikovány přidavkem ušlechtilých kovů, jako jsou zlato, platina či stříbro, poněvadž vykazují vynikající katalytickou aktivitu [40, 41]. A právě v rámci stříbrem dopovaných nanostruktur oxidů kovů mohou stříbrné nanočástice významně zvyšovat na povrchů oxidů kovů interfaciální kinetiku přenosu náboje mezi kovem a polovodičem, což může podstatně zvýšit fotoaktivitu stříbrem dopovaných nanostruktur ve srovnání s nedopovanými oxidy kovů [40].

Při vystavení Ag-ZnO nanostruktur viditelnému záření jsou v ušlechtilých kovech formovány nosiče náboje prostřednictvím absorpce viditelného záření, a právě tato unikátní vlastnost vytváří z Ag-ZnO nanostruktur potenciální kandidáty pro fotokatalýzu a speciální aplikace [42], vyžadující antibakteriální vlastnosti či detekční vlastnosti pro určení plynů. Předpokládá se, že precizně designované Ag-ZnO nanostruktury budou poskytovat novou možnost pro rozvoj vysoce efektivních solárních článků a plynových senzorů [40]. ZnO vykazuje konduktivitu typu N, a přidavkem stříbra vede ke konduktivitě typu P, tedy, dopované stříbro modifikuje optické a elektronické vlastnosti ZnO, což ovlivňuje fotokatalytickou aktivitu [41].

V nedávných letech byly nanočástice stříbra úspěšně připojovány k nanočásticím ZnO s rozdílnými geometriemi/morfologiemi, zahrnující duté sféry, kvěťáky či 3D květiny coby ZnO hierarchické mikrostruktury. Nicméně, výroba Ag-ZnO nanostruktur je stále obtížná ze dvou důvodů – „samonukleace“ nanočástic stříbra a kontrolování stavu povrchu nanostrukturních „semen“ ZnO tak, aby byly vhodné pro růst nanočástic stříbra. Gao et al. [43] referovali zvýšenou fotokatalytickou aktivitu ekologických Ag-ZnO nanostruktur syntetizovaných v přítomnosti bovinního sérového albuminu (BSA) s hydrotermální metodou,

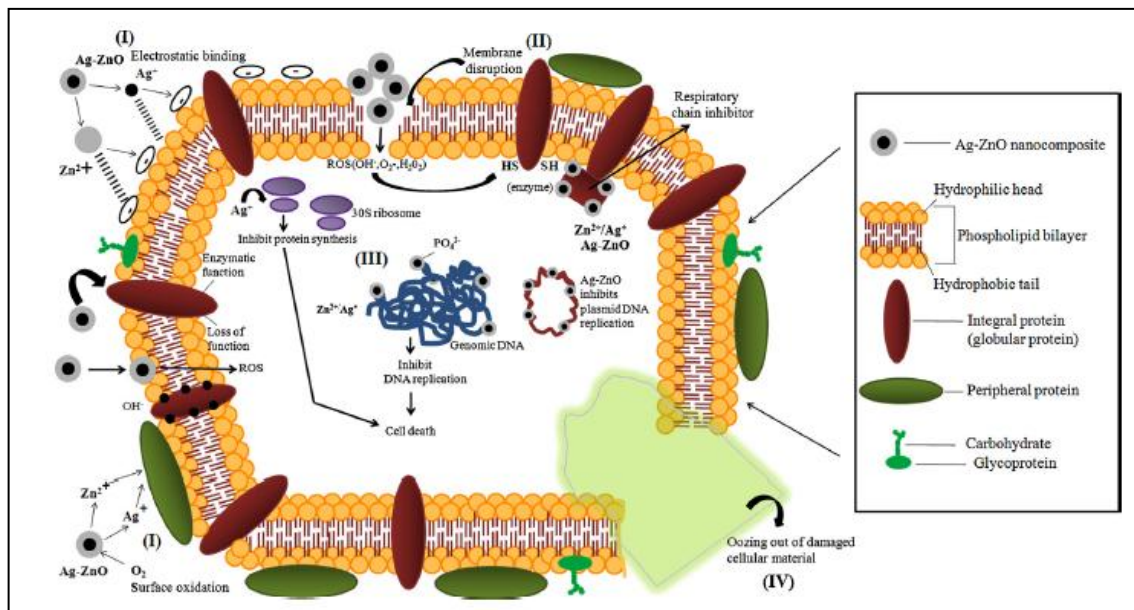
přičemž BSA operuje jako kontrolor tvaru, redukční činidlo Ag^+ a řešitel „samonukleačních“ problémů nanočástic stříbra [40].

4.1 Syntéza Ag-ZnO nanokompozitů

Až do dnešního data bylo referováno mnoho metod syntézy Ag-ZnO nanokompozitů, jako jsou metoda sol-gel, metoda koprecipitace, metoda hydrotermální, pulzní laserová depozice, plasmou asistovaná chemická depozice z plynné fáze a termolýza. Nicméně, všechny výše uvedené metody využívají extrémních teplotních a tlakových podmínek a dlouhé reakční doby, což omezuje jejich využívání v komerčních a laboratorních prostorech [44].

4.2 Antibakteriální aktivita nanočástic Ag-ZnO

Již v podkapitolách 1.4 a 1.5 bylo řečeno, že navyšování vzniku a znovuoobjevení patogenů rezistentních léčivům, především antibiotikům rezistentní bakteriální kmeny, houby a paraziti, se stávají vážným problémem v oblasti zdravotní péče a sektoru potravinové technologie, a právě bezpečnostní rizika spojená s touto problematikou vyžadují potřebu modifikací tradičních antimikrobiálních komponent či výzkum dalších slibných alternativ [5, 6, 7, 8, 44]. Rovněž se ví, že je stříbro charakterizováno jako nejzajímavější a nejslibnější kandidát inhibičních a antibakteriálních vlastností, ovšem je spojen s problémem agregace a rizikem značného ovlivnění chemických a antibakteriálních vlastností [4, 12, 14, 44], a právě proto se pro předcházení této problematiky stříbro kombinuje s polymery (chitosan) v rámci formování polymerních nanokompozitů, anebo s vrstvou oxidu kovu (oxid zinečnatý/hořečnatý/vápenatý). Prostřednictvím U.S. Food and Drug Administration (*FDA*, 2011) byl nedávno oxid zinečnatý uznán a propagován, mezi pěti sloučeninami zinku, jako bezpečný materiál s dlouhodobě známou antibakteriální aktivitou, a z tohoto důvodu nabízejí Ag-ZnO nanokompozity potenciální aplikace v průmyslu balení potravin pro rozvoj antimikrobiálních povlaků a pro povlakování chirurgických zařízení za účelem prevence nosokomiálních infekcí [44, 45]. Obrázek č. 5 představuje čtyři pravděpodobné způsoby antibakteriální aktivity Ag-ZnO nanokompozitů, citlivých na bakteriální buněčnou smrt.



Obrázek 5: Schematická presentace antibakteriálního mechanismu

Ag-ZnO nanokompozitů [44]

Za prvé **(I)**, Ag-ZnO nanokompozity mohou interagovat přímo s bakteriální buněčnou membránou uvolňováním iontů stříbra Ag^+ a Zn^{2+} po oxidaci povrchu, dále přes pórovitost kompozitu či elektrostatické interakce mezi uvolněnými ionty a negativně nabitou bakteriální buněčnou stěnou. Dalším eventuálním způsobem, dláždící cestu dovnitř bakteriálních buněk a vedoucí k poškození membránových proteinů a lipidové dvojvrstvy prostřednictvím uvolňování iontů $\text{Ag}^+/\text{Zn}^{2+}$ či formování ROS, by mohla být disrupce bakteriální buněčné membrány **(II)**. Za třetí **(III)**, na celulární úrovni se jedná o disrupci bakteriální buněčné membrány změnou membránových proteinů či enzymové aktivity zprostředkovaných ROS [46], ovšem na molekulární úrovni mluvíme o inhibici replikace DNA/plazmidu a proteinů/enzymů v buňkách prostřednictvím formování ROS či přímo iontů $\text{Ag}^+/\text{Zn}^{2+}$, poněvadž inhibice DNA replikace, pomocí iontů $\text{Ag}^+/\text{Zn}^{2+}$ interakcí s cukernými/fosfátovými skupinami či genovou změnou, vede k postihnutí nezbytné proteinové exprese pro celulární fungování, a navíc, ion Ag^+ je znám pro jeho interakce s ribozomální podjednotkou 30S, vedoucí k inhibici proteinové syntézy nezbytné pro bakteriální řízení. Poslední způsob **(IV)** značí únik intracelulárního materiálu z důvodu membránové disrupce, což může způsobit smrštění buněčné membrány, vedoucí koneckonců k celulární lýze [44].

5 NANOKOMPOZITNÍ MATERIÁLY A JINÉ ANTIBAKTERIÁLNÍ PŘÍŠADY

Nejaktuálnější pokroky v rámci polymerní a kompozitové vědy a technologie umožňují design materiálů a struktur v nanoměřítku, což má za následek expandující vývoj multifunkčních materiálů se zvýšenými fyzikálními a mechanickými vlastnostmi pro mnoho aplikačních polí. Díky komplexním fyzikálním interakcím mezi složkami, vyskytujícími se na atomární úrovni, jsou nanomodifikované polymery opatřeny mimořádně zlepšenými vlastnostmi, dokonce i při nízkých úrovních plniva, a vytvářející polymerním nanokompozitům unikátní spektrum vlastností [47].

5.1 Nanočástice oxidu titaničitého TiO₂

Oxid titaničitý TiO₂ patří mezi běžně využívaný polovodičový fotokatalyzátor, přičemž nanočástice TiO₂ jsou nejvíce studovaným materiálem fotokatalytické antimikrobiální aktivity mezi rozmanitými nanočásticemi. Obrovské množství informací, nahromaděných za posledních dvacet let, demonstrovalo silnou baktericidní aktivitu TiO₂ při obdržení iradiace blízkým UV zářením, a UV zářením typu A. Požadovaná koncentrace pro úmrtí bakterií se mění v intervalu 100 ppm až 1000 ppm, v závislosti na velikosti nanočástic TiO₂, jakož i intenzitě a vlnové délce světelného zdroje [14]. Nové studie informují o antibakteriální efektivitě nanočástic TiO₂ v pořadí *Escherichia coli* > *Pseudomonas aeruginosa* > *Staphylococcus aureus* > *Enterococcus faecium* > *Candida albicans*, která je zdánlivě determinována komplexitou a hustotou buněčné membrány/stěny [46]. Taktéž bylo oznámeno, že fotokatalytická antimikrobiální efektivita nanočástic TiO₂ byla v pořadí virus > bakteriální stěna > bakteriální spora, závisející na tloušťce mikrobiální povrchové struktury. Růstová inhibice bakterie *Enterobacter cloacae* na základě UV iradiace nanočástic TiO₂ byla méně účinná než u bakterií *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* [48, 49].

5.2 Nanočástice zlata Au

Antimikrobiální aktivita nanočástic zlata je zprostředkována silnými elektrostatickými přitažlivostmi k negativně nabitě dvojvrstvě buněčné membrány, což bylo také podpořeno pozorováním, při kterém byla zjištěna střední (mírná) toxicita kationtových částic, zatímco u aniontových částic nikoliv. Nanočástice zlata, konjugované s antimikrobiálními činidly a protilátkami, byly také prozkoumány z hlediska získání selektivních antimikrobiálních účinků [14]. Kupříkladu bylo demonstrováno selektivní zabíjení bakterie *Staphylococcus aureus* nanočásticemi zlata, konjugovanými s protilátkou anti-protein A, s cílem zaměření se na bakteriální povrch. Bylo zjištěno, že silné hypertermické efekty indukované laserem, doprovázené tvorbou bublin okolo clusterů nanočástic zlata, efektivně poškodí bakterie [50]. Mnoho studií referuje o silných antimikrobiálních účincích vůči grampozitivním a gramnegativním bakteriím, zahrnující kmeny rezistentní vůči antibiotikům, prostřednictvím nanokompozitů zlato/léčivo (kupříkladu nanočástice zlata, povlečené antibiotiky, jako jsou streptomycin, gentamicin a neomycin). V nedávných studiích se ukázalo, že chitosan, obsahující ve své struktuře nanočástice zlata, vykazuje ve spojení s ampicilem dvojnásobné zvýšení antimikrobiální aktivity, ve srovnání s volným ampicilem. Tedy, nanočástice zlata představují slibné pomocné látky pro antibiotickou terapii z hlediska léčby vážných bakteriálních infekcí při snížení antibiotického dávkování s minimálními nepříznivými efekty [14].

5.3 Nanočástice hliníku Al a mědi Cu

Nanočástice oxidu hlinitého Al_2O_3 jsou známy z hlediska projevu mírných inhibičních efektů na mikrobiální růst skrze narušení buněčné stěny, ale jen ve velmi vysokých koncentracích, zatímco v nedávných studiích se potvrdilo, že nanočástice $\text{Ag/meso-Al}_2\text{O}_3$ vykazují rozsáhlé inhibiční efekty na bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Měď Cu je strukturální složkou mnoha enzymů v mnoha živých mikroorganismech. Nicméně, volné měďnaté ionty Cu^{2+} mohou ve vysokých koncentracích generovat toxické účinky vytvořením reaktivních forem kyslíku ROS, čímž dochází k narušení syntézy aminokyselin a DNA. Kupříkladu bylo prokázáno, že nanočástice mědi vykazují oproti nanočásticím stříbra vyšší afinitu k aminovým a karboxylovým skupinám ve vysoké hustotě na povrchu bakterie *Bacillus subtilis*, dále jsou levnější, snadno mísitelné s polymery, a relativně chemicky a fyzikálně stabilní [14].

6 ANTIMIKROBIÁLNÍ PŘÍSADY V DENTÁLNÍ APLIKACI

Adhezivní materiály snižují antimikrobiální aktivitu ve srovnání s amalgámem a oxidem zinečnatým. Mnoho technik se zabíralo zvýšením antimikrobiální aktivity výplňových materiálů. Ačkoliv antimikrobiální aktivita těchto materiálů je důležitá, zavedení antimikrobiálních přísad/technik by nemělo předčít úkor dalších materiálových vlastností. Změny prostředí v rámci materiálu mohou především ovlivňovat bakteriální odpověď na antimikrobiální [51].

6.1 Antibakteriální adhezivní systémy

Uvolňování antibakteriálních monomerů a/nebo částic do adhezivních systémů by mohlo být do budoucna předmětem vylepšení (nanotuby/sféry/vlákna). Jedna ze studií ukázala, že stříbrné nanočástice vykazují lepší disperzi a antibakteriální schopnost imobilizovaných dutých tub oxidu křemičitého ve srovnání s dutými sférami oxidu křemičitého. Mimoto, současné trendy zahrnují inkorporaci částic (stříbra) dovnitř dentálních adhezivních systémů pro zlepšení antibakteriální aktivity [52]. Jiné aktuální studie ukazují, že využití nano-stříbra společně s antibakteriálními monomery zvyšuje antibakteriální aktivitu, demonstruje slabou viabilitu biofilmu a metabolickou aktivitu, a nezasahuje do mechanických vlastností [53].

6.1.1 Nanočástice stříbra Ag

Nanočástice stříbra jsou efektivní vůči biofilmům, poněvadž mohou atakovat mnoho míst uvnitř buňky ve velmi nízké koncentraci (0,5 % – 1,0 %) z důvodu zabránění bakteriálního růstu, přičemž se ukázalo, že dusičnan stříbrný AgNO_3 má nejefektivnější baktericidní efekt, následovaný nanočásticemi stříbra. Ve stomatologii musí být během přípravy nanočástic stříbra brány v potaz základní aspekty, jako jsou za prvé, difuze nanočástic do biofilmu zubního plaku, vykazující inverzní chování mezi velikostí a efektivitou, poněvadž nanočástice větší než 50 nm nemohou penetrovat biofilm [54], a za druhé, negativně nabitě nanočástice vykazují obtíž v difuzi skrze biofilm, pravděpodobně z důvodu přítomnosti karboxylových a fosforylových skupin na povrchu bakterií, jež poskytují buněčnému povrchu elektronegativitu [13]. Lze se zmínit i o stříbrných nanokrystalech s excelentní schopností disperze v organických rozpouštědlech a zvýšení hustoty výplně a mezifázové interakce. Dále, organické antibakteriální přísady poskytují rapidní a silný antibakteriální účinek, ale jednoduchá migrace, chudá tepelná rezistence a toxicita mohou limitovat jejich

aplikace v dentálních kompozitech, zatímco anorganické antibakteriální přísady mají lepší kompatibilitu, dlouhotrvající a širokospektrální antibakteriální vlastnosti, přičemž látky na bázi stříbra jsou jedním z nejběžněji využitelných anorganických antibakteriálních přísad [55].

6.1.2 Nanočástice oxidu zinečnatého ZnO

Zinek bývá taktéž využíván ve stomatologii po mnoho let jako hlavní plnivový komponent dentálních cementů. Ionty zinku vykazují efektivní antibakteriální aktivitu, přičemž tento efekt je vyšší, než ve formě nanočástic ZnO. Baktericidní efekt nanočástic ZnO může být přisuzován jejich schopnosti interakce s buněčnou membránou mnoha bakteriálních druhů, přičemž se zinek silně váže k lipidům a proteinům, mění osmotickou rovnováhu a zvyšuje permeabilitu membrány [43]. Je ovšem zapotřebí zdůraznit, že výsledky nanotoxikologie vykazují významnou cytotoxicitu nanočástic ZnO na lidských dásňových fibroblastech (HGF). Nicméně, tato toxicita je značně redukována za předpokladu, kdy jsou tyto částice vloženy do sodno-fosforylovaného chitosanu, působícího jako matrice pro produkci antimikrobiálních periodontálních (parodontálních) ob vazů [13].

6.1.3 Antibakteriální dentální pryskyřicové kompozity

Pryskyřicové kompozity, nejpopulárnější dentální obnovující materiály, mají excelentní vlastnosti [55, 56], jako jsou dobré estetické vlastnosti, přijatelné mechanické vlastnosti či rychlá obnova. Dlouhotrvající a vysoce efektivní výkony obnovovacích pryskyřicových kompozitů jsou vždy očekávány v klinických aplikacích. Široce se věří, že neúspěch obnovy je především spjat s mechanickými vlastnostmi kompozitů a sekundárních kazů. Ačkoliv navyšování plniva a zahrnování nových nízkosmršťovacích monomerů snižují polymerační smrštění, bakteriálnímu množení není stále efektivně zabráněno, čímž je vyšší pozornost dána antibakteriálním dentálním pryskyřicovým kompozitům [55]. Krom toho bylo pozorováno, že kompozity umožňují větší akumulaci dentálního plaku na jejich površích než u ostatních výplňových (obnovovacích) materiálů [57]. S ohledem na kompozity, komerčně dostupné produkty zahrnují materiály, uvolňující fluoridy, které nemají antibakteriální účinky po vyléčení, což může vysvětlovat to, proč kompozity akumulují více plaku nežli další výplňové materiály. Každý typ antibakteriálního kompozitu má své výhody a nevýhody, a navíc, další modifikace jsou zapotřebí k obdržení klinicky využitelných materiálů, a právě aplikace nanočástic stříbra a nanočástic ZnO hraje klíčivou roli v rámci poskytnutí antimikrobiálních vlastností [58].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 MATERIÁL A METODIKA

7.1 Použité chemikálie

7.1.1 Chemikálie použité pro syntézu hierarchických mikročastic

- Hexahydrát dusičnanu zinečnatého $(\text{ZnNO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ p.a. (0,01 mol)
- Uhličitan amonný $(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{CO}_3$ p.a. (0,01 mol)
- Dusičnan stříbný AgNO_3 p.a. (0,1 mol)

Tabulka 1: Charakteristické údaje použitých chemikálií pro syntézu práškových plniv

Chemikálie	Molární hmotnost M_r	EINECS	CAS
$(\text{ZnNO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	297,49	231-943-8	10196-18-6
$(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{CO}_3$	96,10	233-786-0	10361-29-2
AgNO_3	169,87	231-853-9	7761-88-8

- Kopolymer ethylenvinylacetát (EVA Copolymer Escorene™ Ultra; ExxonMobil)
- Termoplastický elastomer Versify 3401 (TPE Versify 3401; The Dow Chemical Company)
- Semikrystalický polypropylen (PP; Slovnaft Tatren)

7.1.2 Chemikálie použité pro fotokatalytickou aktivitu

- Krystalová violet pro mikroskopii $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{Cl}$
- Komerční oxid titaničitý TiO_2 p.a.
- Komerční ZnO

Tabulka 2: Charakteristické údaje použitých chemikálií pro fotokatalytickou aktivitu

Chemikálie	Molární hmotnost M_r	EINECS	CAS
$\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{Cl}$	407,98	208-953-6	548-62-9
Komerční TiO_2	79,90	236-675-5	13453-67-7
Komerční ZnO	81,38	215-222-5	1314-13-2

7.1.3 Chemikálie použité pro antibakteriální testy

- a) Plate Count Agar (Standard Methods Agar) (HIMEDIA) 500 g
- b) Fyziologický roztok chlorid sodný p.a. (Mikrochem) 1000 g
- c) Splachovací roztok SCDLP – Soyabean Casein Digest Medium (Tryptone Soya Broth) 500 g
- d) Lecitin natural – sojový granulovaný 100 g, vysoce účinný
- e) TWEEN 80

7.2 Charakterizace plniv a kompozitů

Analýza krystalografické struktury plniv byla provedena pomocí stolního rentgenového difraktometru Rigaku MiniFlex 600, který využívá jako zdroj XRD záření kobaltovou anodu. Stolní rastrovací elektronový mikroskop Phenom Pro byl použit pro získání velikosti hierarchických mikročástic plniv po žíhání a distribuci plniva v polymerní matrici na lomu. Elektronový rastrovací mikroskop FEI NOVA NANOSEM 650 byl použit rovněž pro analýzu velikosti a struktury částic plniva po procesu žíhání, ovšem předmětem pozorování byla morfologie nanočástic plniva.

Prvková analýza plniv byla provedena pomocí energiově disperzní rentgenové analýzy (EDX), obsahující analyzátor (*Oxford Instruments INCA, UK*), který byl součástí SEM mikroskopu. Veškeré analýzy byly provedeny při urychlovacím napětím 20 kV.

Volumetrický sorpční analyzátor BELSORP-mini II (*BEL JAPAN, INC.*) byl použit pro určení velikosti měrného povrchu a pórovitosti plniva.

Zdrojem UV záření pro určení fotokatalytické aktivity plniva byla použita fokusovaná UV lampa o intenzitě $4000 \mu W \cdot cm^2$ ve vzdálenosti 10 cm, a vlnové délce 365 nm. Fotokatalytická aktivita plniva byla analyzována pomocí UV-VIS spektrofotometru Cary 300 (*Varian, Spojené státy americké*).

Pomocí přístroje DSM Xplore 5 & 15 Micro Compounder Verze 2. 0 bylo termoplasticky zamícháno plnivo do polymerní matrice, přičemž vzniklý kompozit byl následně vylišován prostřednictvím ručního lisu.

Digitální elektrometr Keithley 6517B, se schopností přesného měření nízkých proudů, vysokých impedancí, odporu a náboje, provedl měření rezistivity práškových plniv i kompozitních materiálů, na základě čtyřbodového systému elektrod dle metody vodivosti van der Pauwa.

Dielektrické vlastnosti kompozitních materiálů byly provedeny prostřednictvím zařízení, umožňující přesnou dielektrickou charakterizaci materiálů v širokém frekvenčním, impedančním a teplotním rozsahu, ALPHA-AT impedanční analyzátor Novocontrol Concept 50.

Mechanické zkoušky kompozitních materiálů byly provedeny pomocí stolního dvousloupového univerzálního zkušebního trhačního stroje Testometric M350-5CT, využívající komplexní software Win Test Analysis.

V rámci antibakteriálních testů bylo zapotřebí inkubátoru Memmert INB 40053, minitřepačky MS1 (*MS1 Minishaker IKA*[®]), stericellu BMT a. s. Cejl 50, parního sterilizátoru 3870 ELPV Tuttna a flowboxu Thermo Electron LED GmbH.

Dále byly pro experimenty použity drobné přístroje, jako jsou laboratorní váhy Denver Summit Instrument SI-4002 a RADWAG AS 220.R2, mikrovlnné trouby Samsung, magnetická míchačka Heidolph MR Hei-Standard s míchadlem, temperační lázeň z dvojitého skla, sušárny Memmert UNB 400, dále odměrné baňky, kádinky a válce o různých objemech, pipety Variable Volume Micropipette Capacity VIP700 (Biohit Proline 5000 μ l) či PS kyvety.

7.3 Syntéza plniva

7.3.1 Příprava nanostrukturovaného ZnO a Ag-ZnO

Příprava nanostrukturovaného plniva oxidu zinečnatého ZnO probíhala pomocí konvenční metody dvoustupňovým procesem, přičemž zdrojem zinečnatých iontů Zn^{2+} byl prekurzor $(ZnNO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ o koncentraci 1 mol/l, který se rozpustil ve 100 ml destilované vody. Do takto připraveného roztoku, intenzivně míchaného, byl přikapáván uhličitán amonný $(NH_4)_2 \cdot CO_3$ o koncentraci 1 mol/l, který byl rozpuštěn ve 125 ml destilované vody. Přikapávání probíhalo za laboratorní teploty po dobu 100 minut. Vzniklá bílá sraženina byla následně přefiltrována a vysušena při teplotě 80 °C. Po vysušení produktu do konstantní teploty byl vzorek žhán po dobu 2 hodin na teplotu 450 °C. Proces žhání probíhal rychlostí 5 °C za minutu. Tímto způsobem byly dále připraveny i produkty s obsahem stříbra. V prvním případě byl zdrojem stříbrných částic $AgNO_3$ o koncentraci 0,1 mol/l (produkt označen Ag-ZnO-1), a v druhém případě o koncentraci 0,5 mol/l (produkt označen Ag-ZnO-2). Oba tyto produkty byly připraveny mícháním s $(ZnNO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ a $AgNO_3$ ve 100 ml destilované vody, a následným pomalým přikapáváním $(NH_4)_2 \cdot CO_3$.

Opět vznikla bílá sraženina, která byla následně přefiltrována a vysušena. Meziprodukty Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 byly žíhány stejným postupem, jako meziprodukt ZnO. Po ukončení procesu žíhání byla patrná změna barvy u vzorku s obsahem stříbra z bílé na béžovou až mléčně hnědou. Vzorek Ag-ZnO-2 byl připraven z důvodu ověření si vlivu přídavku různého množství stříbra na vybrané vlastnosti, ať už plniva, tak i připraveného kompozitu, obsahujícího pouze polypropylenovou matici (obsah plniva činí 3 hmotnostní procenta).



Obrázek 6: Syntéza ZnO (nalevo) a Ag-ZnO-1 (napravo) s následnou filtrací

7.3.2 Příprava kompozitních materiálů

Připravená prášková plniva ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 byla následně pomocí mikrohnětiče termoplasticky zamíchána s polymerními maticemi EVA, Versify 3401 a PP. Obsah práškového plniva byl u polymerních matic EVA a Versify 3401 zvolen v rozsahu 1, 3, a 5 hmotnostních procent. U PP matrice bylo poté přimícháno 5 % ZnO/Ag-ZnO-1, a 3 % Ag-ZnO-2. U termoplastického míchání se ve třetí minutě změnilы procesní podmínky, kdy byly změněny otáčky šneků z 50 otáček na 100 otáček za minutu. Celkový proces termoplastického míchání trval dohromady pět minut. Proces lisování rovněž probíhal pět minut.

Tabulka 3: Procesní podmínky termoplastického míchání a lisování

Druh polymeru	Termoplastické míchání			Lisování	
	Teplota [°C]	Čas [min]	Otáčky šneků [min ⁻¹]	Teplota [°C]	Čas [min]
EVA	150	0-3-5	50-100	150	5
TPE	190	0-3-5	50-100	190	5
PP	220	0-3-5	50-100	220	5

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem této práce byla příprava a charakterizace vlastností syntetizovaných potenciálních antibakteriálních plniv, jakož i posléze připravených kompozitních materiálů. V práci byly využity tři typy práškových plniv a tři typy polymerních materiálů (viz výše), u kterých bylo analyzováno široké spektrum vlastností. Níže jsou uvedeny charakterizace a vlastnosti plniv, a následně kompozitů.

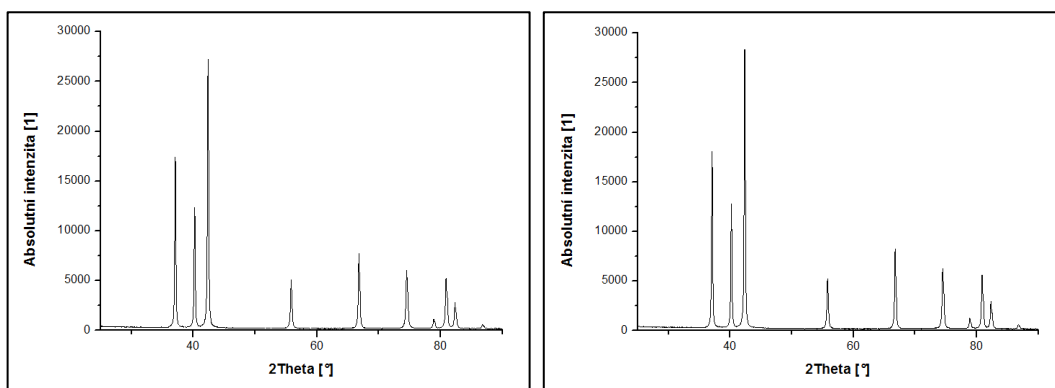
8.1 Charakterizace plniv ZnO a Ag-ZnO

8.1.1 Rentgenová prášková difrakce XRD

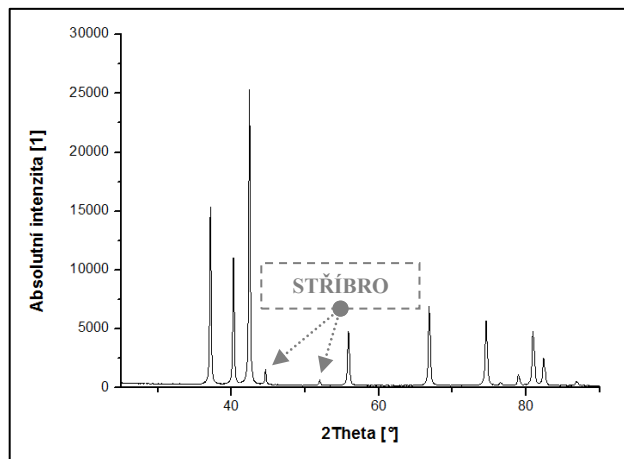
Rentgenová prášková difrakce XRD byla použita pro identifikaci krystalografické struktury plniv ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2.

V grafech č. 1 a č. 2 si lze všimnout charakteristických píků u vzorků ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2, odpovídajících hexagonální krystalografické struktuře wurzite ZnO. U všech analyzovaných vzorků odpovídají charakteristické krystalografické píky ZnO hodnotám úhlů $37,08^\circ$; $40,20^\circ$; $42,40^\circ$; $55,84^\circ$; $66,80^\circ$; $74,54^\circ$ a $80,91^\circ$.

V případě vzorku Ag-ZnO-2 byly nalezeny i krystalografické píky stříbra, odpovídající hodnotám $44,61^\circ$ a $51,99^\circ$. Přítomnost těchto malých píků, charakteristických pro stříbro, je zobrazena šedými šipkami v grafu č. 2. Na základě získaných hodnot prostřednictvím metody XRD lze zřetelně konstatovat, že žádné jiné krystalické struktury již nejsou pozorovatelné, tudíž se v daných plnivech vyskytují pouze krystalické domény ZnO a Ag.

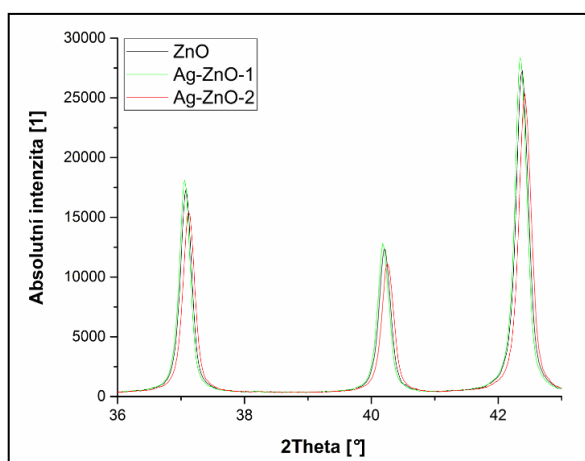


Graf 1: XRD difraktogramy nanostrukturovaných částic ZnO (vlevo), Ag-ZnO-1 (vpravo)



Graf 2: XRD difraktogram hybridních částic Ag-ZnO-2

V případě produktu Ag-ZnO-1 není pomocí XRD metody detekována přítomnost krystalografických domén nanočástic stříbra, což lze vysvětlit tím, že množství nanočástic stříbra je v produktu Ag-ZnO-1 ve srovnání s ZnO zanedbatelné množství, a pravděpodobně jsou charakteristické píky pro stříbro uschovány v pozadí (šum). Další možností, vysvětlující nepřítomnost krystalických struktur stříbra, může být vysvětlena pomocí tzv. dopování krystalické struktury ZnO atomy stříbra, ke kterému může dojít v průběhu procesu žíhání za vysokých teplot [59, 60]. Tento jev, dopování ZnO, se projeví na difraktogramu posunem jejich charakteristických píků. Jak je patrné z grafu č. 3, produktům Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 se posunuly krystalografické píky ZnO přibližně o $0,4^\circ$ oproti krystalografickým píkům vzorku ZnO. Pro ověření si přítomnosti stříbra ve vzorku Ag-ZnO-1, byla provedena následující EDX analýza.



Graf 3: XRD difraktogram posunu krystalografických píků práškových produktů

Tabulka 4: Velikost krystalických domén D dle Scherrera

Plnivo	Velikost krystalických domén D [nm]
ZnO komerční	72
ZnO	14
Ag-ZnO-1	15/-
Ag-ZnO-2	13/13

$$2 \cdot w_d \cong 2 \cdot \sqrt{\frac{\ln 2}{\pi}} \cdot \frac{\lambda}{D \cdot \cos \theta} \Rightarrow 2 \cdot w_d = \frac{k \cdot \lambda}{(D \cdot \cos \theta)} \quad (1)$$

Příčemž:

D – průměrná velikost krystalů [nm]

k – tvarový faktor částic [$\cong 0,94$]

$2 \cdot w_d$ – šířka píku v polovině maximální výšky [1]

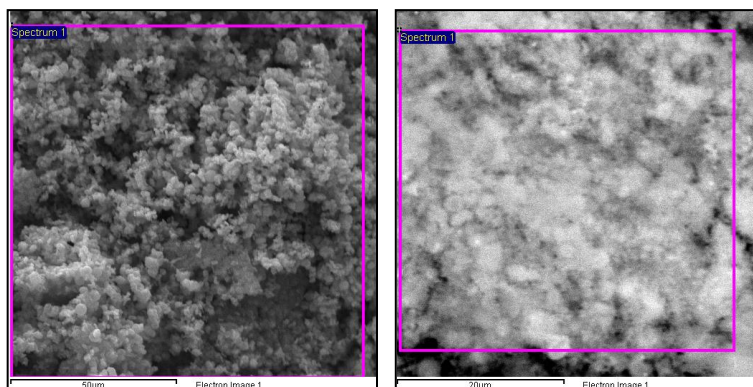
λ – vlnová délka XRD záření [0,1789 nm]

θ – Braggův úhel [°].

Dle Scherrerovy rovnice (1) byla spočítána velikost krystalických domén D komerčního ZnO ve srovnání s námi připravenými práškovými plnivými ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2. Velikost krystalické domény komerčního ZnO je přibližně pětikrát vyšší, nežli odpovídající hodnoty krystalických domén syntetizovaných práškových plniv, což znamená, že námi připravené částice ZnO obsahují krystalické domény o velikosti pouhých 14 nm. Vzorek Ag-ZnO-1 obsahuje krystalické ZnO domény o velikosti 15 nm, u vzorku Ag-ZnO-2 jsou poté krystalické domény ZnO i stříbra velké 13 nm. U vzorku Ag-ZnO-1 nelze prostřednictvím XRD metody určit velikost krystalické domény stříbra.

8.1.2 Energiově disperzní analýza EDX

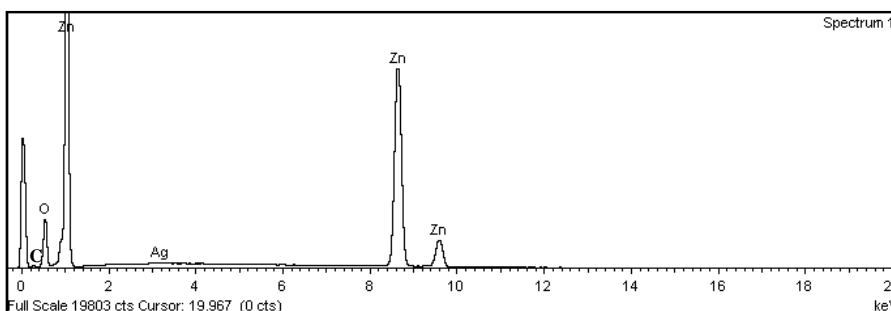
Pomocí metody EDX byla provedena analýza vzorků Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 za účelem určení obsahu plniva ZnO, a především obsahu stříbra v daných vzorcích. Prvkové složení bylo získáno z plochy vzorku o straně čtverce minimálně $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$ (viz obrázek č. 7) tak, aby byla analyzována co největší plocha, a obdržená data odpovídala průměrnému rozložení prvků ve vzorku.

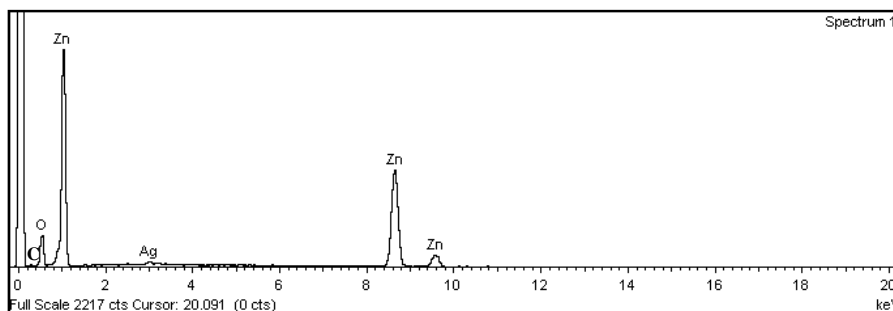


Obrázek 7: Ukázka plochy vzorku Ag-ZnO-1 (nalevo), Ag-ZnO-2 (napravo)

Pomocí této analýzy bylo určeno, že vzorek Ag-ZnO-1 obsahuje 51,8 % atomárního kyslíku, 48,1 % atomárního zinku a pouze 0,1 % atomárního stříbra (0,31 hmotnostních procent). Vzorek Ag-ZnO-2 obsahuje 60,5 % atomárního kyslíku, 38,9 % atomárního zinku a 0,6 % atomárního stříbra (1,7 hmotnostních procent).

Z uvedených výsledků vyplývá, že obsah stříbra ve vzorcích je velmi malý, až zanedbatelný, přičemž obsah stříbra ve vzorku Ag-ZnO-2 představuje 5x vyšší hodnotu, nežli v případě vzorku Ag-ZnO-1. Dále bylo detekováno nepatrné množství uhlíku C, pocházející z uhlíkové pásky, která slouží pro fixaci práškového plniva při přípravě vzorků a odvod elektrostatického náboje při provádění metody SEM.





Graf 4: EDX spektra vzorků Ag-ZnO-1 (výše), Ag-ZnO-2 (níže)

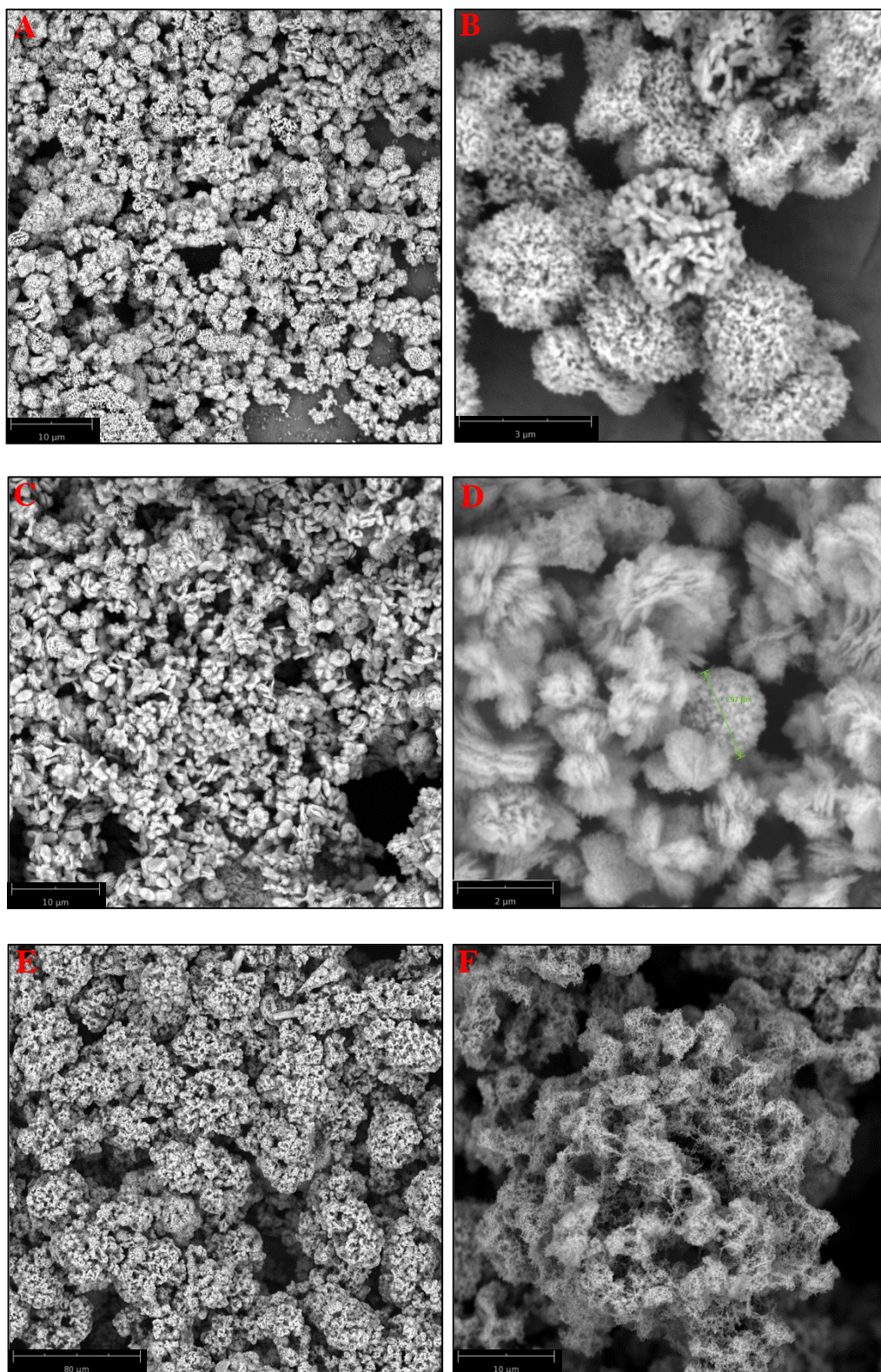
8.1.3 Scanovací elektronová mikroskopie SEM

Na jednotlivých snímcích č. 8 až č. 10 jsou uvedeny SEM mikrofotografie hierarchických nanočástic oxidu zinečnatého a nanočástic stříbra v rozdílných měřících. Dané fotografie zkušebních vzorků jsou prostřednictvím elektronových mikroskopů pořízeny po procesu žihání.

Prostřednictvím rastrovacího elektronového mikroskopu Phenom Pro byla analyzována mikrostruktura částic vzorku ZnO, přičemž lze sledovat menší shluky těchto částic kulovitého porovitého tvaru, mající pravidelnou, homogenní povahu (obrázky č. 8A a 8B). Obrázek č. 8B ukazuje ZnO nanočástice v podobě „malých mozečků“. V tomto vzorku mají sekundární mikročástice ZnO velikost o průměru do 4 μm . Tato mikrostruktura je složena z velmi malých nanočástic ZnO o průměru do 200 nm.

U vzorku Ag-ZnO-1 lze pozorovat třidimenzionální hierarchii nanočástic, tvořící výslednou mikrostrukturu ZnO. Nejvíce viditelná hierarchická struktura ZnO je tvořena z poréznicích, plátkových mikročástic, připomínající disky či koblihy (obrázky č. 8C a 8D). Tyto mikročástice zaujímají velikost o průměru do 5 μm . Plátky ZnO v mikročásticích dosahují délky až 1 μm , o síle stěny do 200 nm. Tyto plátky jsou dále složeny ze sférických nanočástic ZnO o velikosti menší než 100 nm. U tohoto vzorku nebylo možné pomocí daného elektronového mikroskopu detekovat přítomnost nanočástic stříbra.

Vzorek Ag-ZnO-2 vykazuje spojitou hierarchickou strukturu porézního charakteru, tvořící jemnou pavučinovou síť částic ZnO, mající průměr okolo 40 μm . Nicméně, na SEM snímku č. 8E si můžeme všimnout „lišejníkovitého/mechovitého“ charakteru těchto strukturovaných nanočástic. Na detailu obrázku č. 8F lze vidět „schopnost“ částic vytvářet mezi sebou řetízky, různorodě zapletené. Délka těchto řetízků činí přibližně 5 μm , a jejich průměr je pod 100 nm. Opět prostřednictvím daného elektronového mikroskopu nebylo možné detekovat přítomnost nanočástic stříbra.

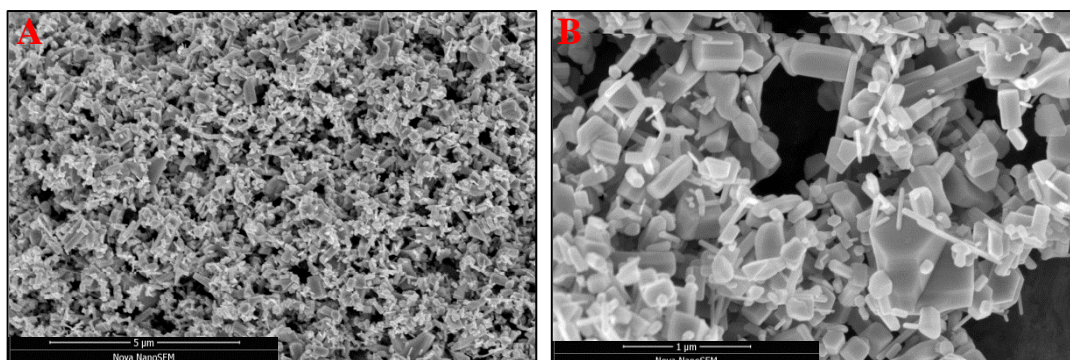


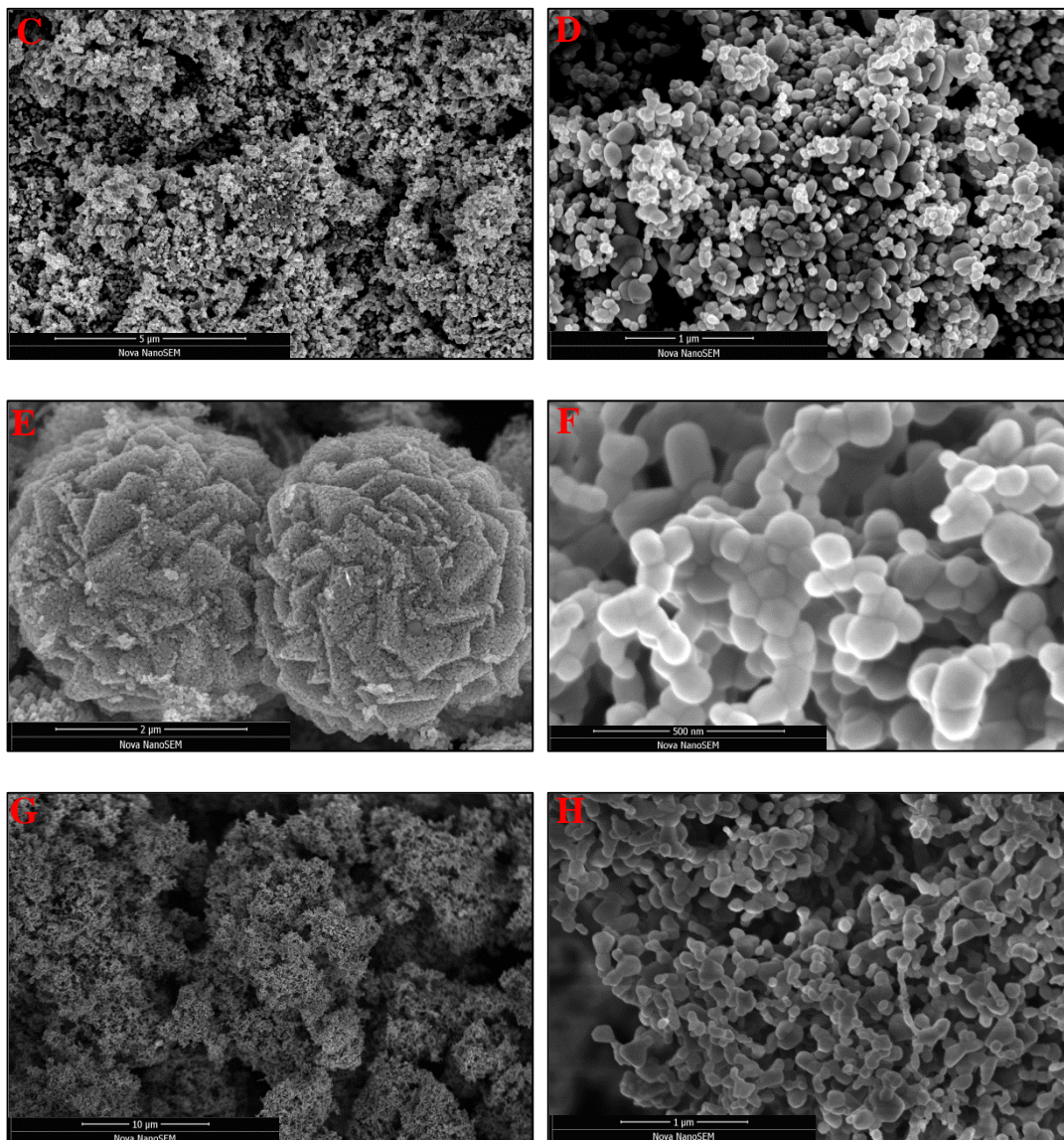
Obrázek 8: SEM snímky nanostrukturovaných mikročastic ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 po vyžhání, přičemž: A, B) ZnO; C, D) Ag-ZnO-1; E, F) Ag-ZnO-2

Pro bližší pozorování nanostruktury produktů byl použit elektronový mikroskop s vyšším rozlišením FEI NOVA NANOSEM 650. Mikrofotografie 9A a 9B představují strukturu komerčního ZnO, přičemž lze detekovat jasné hexagonální (šesterečné) krystalografické soustavy s různou velikostní i tvarovou distribucí částic, kterou tento vzorek ZnO vykazuje. U obrázku č. 9A vidíme i krátké/dlouhé jehličky, různorodě poskládané, pospojované svými konci a zakomponované do struktury mikročástic ZnO. Na obrázcích č. 9C a 9D lze vidět nanočástice připraveného ZnO vzorku, tedy částice sférického až elipsovitého tvaru a rozdílné velikostní distribuce částic, mající poloměr o velikosti do 250 nm.

Nanočástice vzorku Ag-ZnO-1 jsou zobrazeny na SEM snímcích č. 9E a 9F. Nanočástice ZnO, tvořící hierarchickou strukturu, jsou v podobě sférických nanočástic o velikosti přibližně 100 nm, skládající se do řetízků a následně vyšších sférických struktur. Porozita a slinutost částic je způsobena procesem žhání. Ze snímků je patrné, že jsou u tohoto materiálu primární nanočástice ze všech vzorků nejmenší. Detailem mikrofotografie 8F lze vyjádřit korálkovitou strukturu primárních nanočástic, proporcionálně slinutých a pospojovaných do sebe.

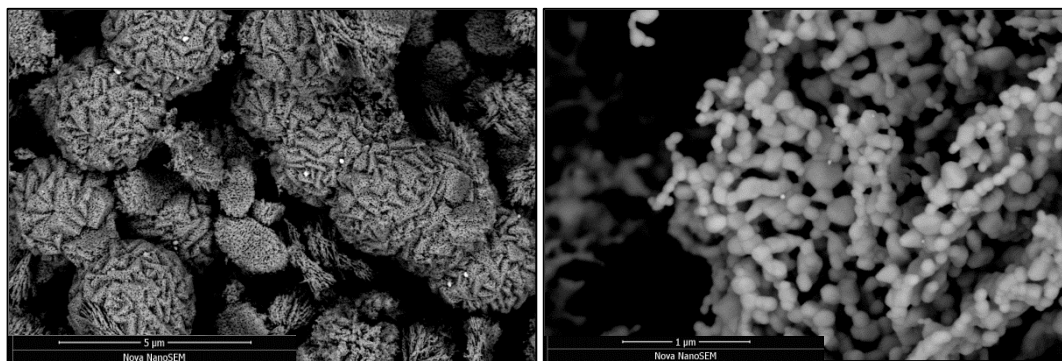
U vzorku Ag-ZnO-2 (obrázky č. 9G a 9H) lze vidět pórovitou strukturu, opět vlivem procesu žhání. Primární nanočástice ZnO jsou místy slinuté do sebe, tvořící tyčinkovité řetízky se zaoblenými hranami, různorodě pospojovanými a vytvářejícími celistvou síť. Velikost nanočástic se pohybuje okolo 250 nm. Světle šedé, prosvítající sférické částice, odpovídají nanočásticím stříbra.





Obrázek 9: SEM snímky nanostrukturovaných mikročástic ZnO komerční, ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 po vyžhání, přičemž: A, B) ZnO komerční; C, D) Ag-ZnO-1; G, H) Ag-ZnO-2

Pomocí BSE detektoru, fungujícího na principu zpětně odražených elektronů, byl analyzován materiálový kontrast výše uvedených vzorků. SEM snímek č. 10 představuje u obou vzorků strukturu ZnO částic, mezi kterými můžeme sledovat velmi malé, ovšem jasně světlé body. Tyto body představují nanočástice stříbra. Velikost nanočástic stříbra se pohybuje u vzorku Ag-ZnO-1 do 80 nm, u vzorku Ag-ZnO-2 je velikost nanočástic stříbra podobná. Kromtoho, na obrázku č. 10 (nalevo) jsou pozorovatelné nanočástice stříbra (viz světlé body), zaklesnuté do pórovité struktury ZnO.



Obrázek 10: Detail SEM snímků nanostrukturovaných mikročástic Ag-ZnO-1 (nalevo), Ag-ZnO-2 (napravo)

8.1.4 Metoda BET

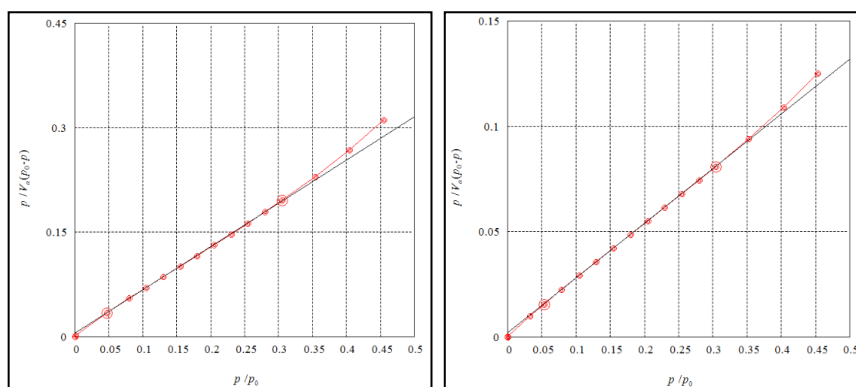
Metoda BET, neboli Brunauer – Emmett – Teller theory, byla prováděna z důvodu zjištění velikosti měrného specifického povrchu a_s a velikosti pórů a_p daných práškových plniv. Na základě tabulky č. 5 si lze všimnout, že velikost měrného povrchu komerčního ZnO je podobná námi připravenému vzorku ZnO. Nicméně, vzorky Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 mají až čtyřikrát větší měrný povrch ($17 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ a $14 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) oproti komerčnímu ZnO ($4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), a ve srovnání s připraveným ZnO pouze dvakrát ($7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Dále lze říci – čím vyšší je celkový objem pórů a_v , tím vyšší je i měrný specifický povrch a_s .

Rovněž se ukazuje, že vzorek Ag-ZnO-1 má ve své struktuře nejvyšší zastoupení pórů ($0,15 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$), a to až dvakrát více, nežli ve struktuře vzorku Ag-ZnO-2 ($0,071 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$). Této informaci odpovídá i porovnání komerčního a námi připraveného ZnO, přičemž celkový objem pórů ve struktuře komerčního ZnO ($0,016 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$) je dvakrát nižší, nežli ve struktuře připraveného ZnO ($0,032 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$). Důležité podotknout korespondování výsledků, uvedených v tabulce č. 5, s výsledky, obdrženy prostřednictvím SEM analýzy (viz jemná, pavučinová povaha nanočástic Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2).

Tabulka 5: Hodnoty měrného specifického povrchu a_s , velikosti pórů a_p práškových plniv

Plnivo	Měrný specifický povrch a_s [$m^2 \cdot g^{-1}$]	Střední průměr pórů a_p [nm]	Celkový objem pórů a_v [$cm^3 \cdot g^{-1}$]
ZnO komerční	4,11	15,54	0,016
ZnO	6,96	20,21	0,035
Ag-ZnO-1	16,64	35,42	0,150
Ag-ZnO-2	14,41	19,74	0,071

Rovněž je nutné poukázat na rozdíl mezi práškovými plnivy Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2. Důraz je kladen především na střední průměr a_p a celkový objem pórů a_v , poněvadž obsah stříbra ve struktuře vzorku Ag-ZnO-2 je pětinasobně vyšší, nežli ve struktuře vzorku Ag-ZnO-1, což má evidentně vliv na celkovou morfologii, a tím pádem i velikost měrného specifického povrchu a_s a celkový objem pórů částic a_v . Tedy, čím větší je povrch mikro/nanočástic, tím menší je střední průměr mikropórů, a tím pádem i celkový objem. Na základě obdržených dat a níže uvedeného grafu č. 5 lze konstatovat lehké zakřivení červené křivky, představující nárůst měrného specifického povrchu a_s , od standardní lineární makroporézní křivky, z čehož vyplývá, že se jedná o takzvané mezoporézní látky. V případě makroporézních či neporézních látek by červená křivka naprosto splývala se standardní křivkou, v případě čistě mikroporézních látek by se jednalo o značný pokles červené křivky.



Graf 5: BET průběh nárůstu měrného specifického povrchu a_s v závislosti na celkovém objemu pórů a_v pro ZnO (nalevo) a Ag-ZnO-1 (napravo)

8.1.5 Fotokatalytická reakce

Obrázek č. 11 prezentuje aparaturu, použitou pro fotokatalytickou degradaci krystalové violeti o koncentraci $3,5 \text{ mg/l}$ pomocí syntetizovaných plniv ZnO, Ag-ZnO-1, Ag-ZnO-2, a navíc, pro srovnání fotokatalytických účinků byla provedena i fotokatalytická reakce komerčního ZnO a komerčního TiO₂. Pro určení přesné fotokatalytické aktivity plniv byla sledována i fotodegradace roztoku samotné krystalové violeti pod depozicí UV záření.

Daná aparatura byla sestavena z fokusované UV lampy o intenzitě $4000 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^2$ a vlnové délce 365 nm , sloužící coby zdroj UV záření. Při experimentu byla lampa umístěna přibližně 10 cm nad hrdlem reakční kádinky do ohniska UV záření. Do kádinky s obsahem 50 ml roztoku krystalové violeti bylo předem přidáno 20 mg práškového plniva. Během experimentu byl roztok intenzivně míchán pomocí magnetické míchačky s míchadlem při otáčkách 350 otáček za minutu, a navíc byl chlazen pomocí chlazené skleněné nádoby s dvojitým pláštěm, poněvadž mezi stěnami nádoby protékala neustále studená voda. Třicet sekund po vypnutí magnetické míchačky bylo ve zvolených intervalech odebráno 1 ml vzorku. Fotokatalytická aktivita plniv byla analyzována pomocí UV-VIS spektrofotometru Cary 300.

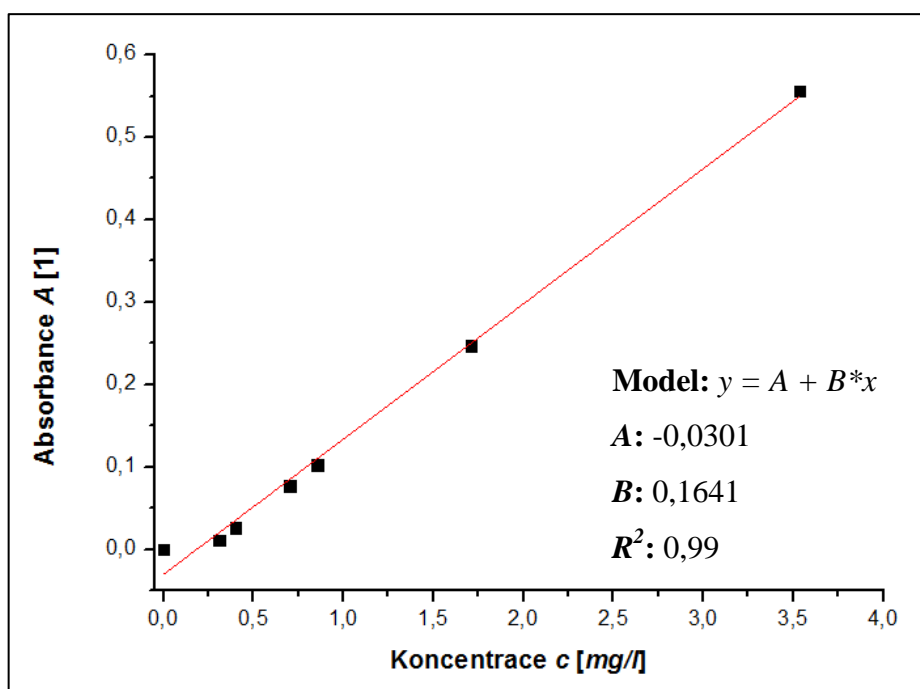


Obrázek 11: Sestavená aparatura potřebná pro průběh fotokatalytické aktivity plniv

Pomocí kalibrační křivky (viz graf č. 6) byla zjištěna přesná koncentrace použité krystalové violeti, jejíž hodnota činí $3,535 \text{ mg/l}$ (viz tabulka č. 6). Vyhodnocení fotokatalytické aktivity probíhalo u všech uvedených práškových plniv při vlnové délce 582 nm , krom plniva TiO₂, který posouvá absorpční maximum krystalové violeti na vlnovou délku 578 nm .

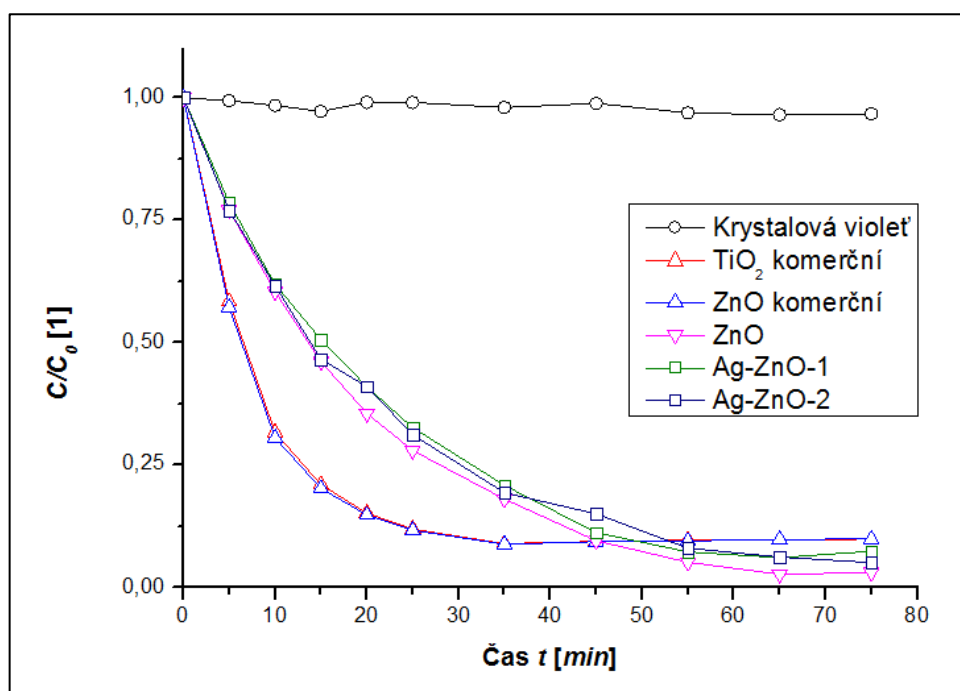
Tabulka 6: Hodnoty teoretické koncentrace c_t a přepočtené koncentrace c standardů

Typ standardu	Teoretická koncentrace c_t [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Absorbance A [1]	Koncentrace c [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
Standard 1	0,0000	0,0000	0,0000
Standard 2	0,3500	0,0111	0,3105
Standard 3	0,4375	0,0263	0,4004
Standard 4	0,7000	0,0772	0,7014
Standard 5	0,8750	0,1029	0,8533
Standard 6	1,7500	0,2474	1,708
Standard 7	3,5000	0,5563	3,535

**Graf 6:** Závislost absorbance A na přepočtené koncentraci c

Níže uvedený graf č. 7 představuje průběh fotokatalytické aktivity námi připravených práškových plniv, a pro srovnání i komerčních materiálů, v závislosti na době odběru (0, 5, 10, 15, 20, 25, 35, 45, 55, 65 a 75 minut). Lze si tedy všimnout, že samotná krystalová violet nedegraduje v námi sledovaném časovém intervalu, a její průběh je takřka konstatní (žádná ztráta barevnosti). Nicméně, jinak je tomu u práškových plniv. Barevnost krystalové violeti vlivem práškového plniva v průběhu působení UV záření klesá, jak je patrné na

grafu č. 7, kde je promítnuta změna barevnosti coby úbytek koncentrace krystalové violeti v čase, prostřednictvím UV-VIS metody.



Graf 7: Průběh degradace krystalové violeti v porovnání s uvedenými plnivými v závislosti na čase t

V tabulce č. 7 jsou uvedeny rychlostní koeficienty t a jejich převrácené hodnoty ($1/t$) fotokatalytické aktivity použitých vzorků, odpovídající době, kdy nastane právě 63 % fotokatalytických změn. Nejrychlejší, a přitom velmi podobnou fotokatalytickou aktivitu, mají komerční produkty ZnO a TiO₂ (ztráta barevnosti okolo 25. minuty), jejichž rychlostní koeficient přibližně odpovídá hodnotě $0,1 \text{ min}^{-1}$. Námi připravená prášková plniva mají fotokatalytickou aktivitu téměř dvakrát nižší než komerční vzorky. Rychlostní koeficient u námi připravených vzorků se pohybuje v intervalu $0,04 \text{ min}^{-1} - 0,05 \text{ min}^{-1}$. Průběh fotokatalytické aktivity připravených plniv (ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2) mezi sebou je až na menší odchylku podobný (ztráta barevnosti až okolo 45. minuty). Stejný trend lze pozorovat i u komerčních produktů ZnO a TiO₂.

Tabulka 7: Hodnoty rychlostní konstanty prvního řádu, odchylky měření a poločas rozpadu práškových plniv

Plnivo	Rychlostní koeficient t [min^{-1}]	Odchylka t [min^{-1}]	$1/t$ [min]
<i>TiO₂ komerční</i>	0,0999	0,0088	10,01
<i>ZnO komerční</i>	0,1040	0,0077	9,614
<i>ZnO</i>	0,05407	0,0024	18,49
<i>Ag-ZnO-1</i>	0,04499	0,0011	22,23
<i>Ag-ZnO-2</i>	0,04557	0,0012	21,94

Oproti dřívěji publikovaným výsledkům vědeckého týmu na zdejší univerzitě UTB Zlín (Centrum polymerních systémů) dosahuje fotokatalytická aktivita u námi připravených hierarchických vzorků ZnO dvakrát až desetkrát vyšších rychlostních účinků.

I přesto, že je velikost měrného povrchu připravených materiálů vyšší než u komerčních vzorků, neprojevuje se tato vlastnost pozitivně z hlediska rychlosti fotokatalytických účinků. Nelze vysledovat ani vliv stříbra u vzorků Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2, obsahující nanočástice stříbra, které by měly fotokatalytické vlastnosti zvýšit [59, 60], a jejich fotokatalytická aktivita je, s největší pravděpodobností prostřednictvím velmi malého množství těchto částic ve vzorku, srovnatelná s námi připraveným vzorkem ZnO. Další možnou roli hraje aglomerace plniva v míchaném roztoku, kdy v průběhu fotokatalytického experimentu dochází ke shlukování částic vzorků, a plnivo klesá na dno. Tím pádem je snížena dostupnost aktivních center, interagujících s krystalovou violetí, a snížena fotokatalytická účinnost. Následující možnost, ovlivňující rychlost fotokatalytické reakce, spočívá v odběrech vzorku během experimentu. To znamená, že se nikdy nepodaří odebrat pouze čistý roztok, bez aktivního plniva. Část odebraného plniva nejen, že způsobí zkreslení výsledků absorpance u metody UV-VIS, ale také jeho snížená koncentrace v roztoku ovlivňuje, respektive snižuje samotnou schopnost fotokatalytické aktivity.

8.2 Charakterizace připravených kompozitních materiálů

Poté, co byla připravena potenciální antibakteriální prášková plniva, smysl další práce spočíval v přípravě kompozitních materiálů prostřednictvím mikrohnětiče DSM Xplore 5 & 15 Micro Compounder a následné vylisování za dané teploty za vzniku kompozitních destiček (fólií) o tloušťce $\pm 0,45 \text{ mm}$.



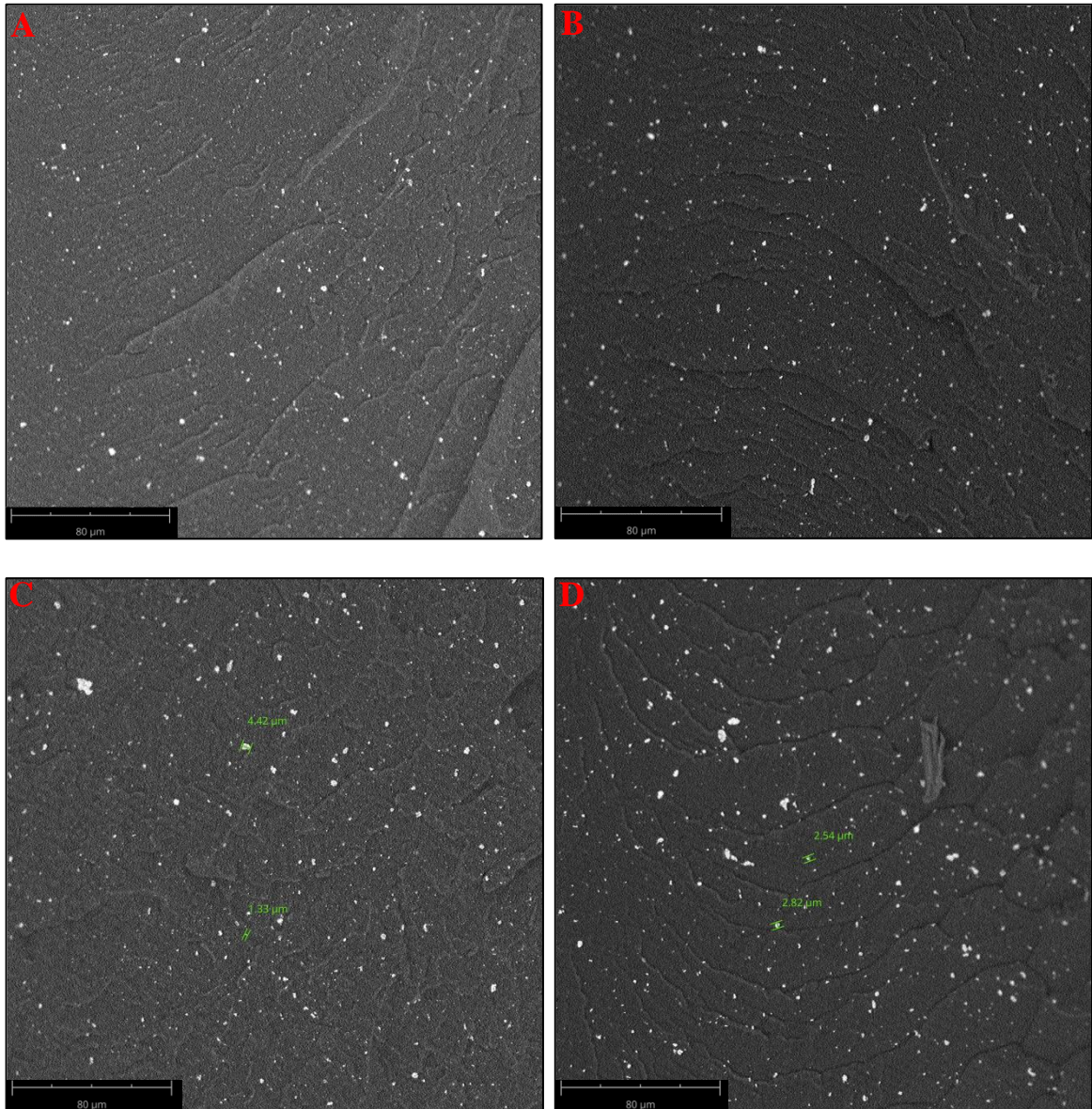
Obrázek 12: Ukázka vytlačené struny EVA + 1 % ZnO (nalevo) a vylisované kompozitní destičky Versify 3401 + 1 % Ag-ZnO-1 (napravo)

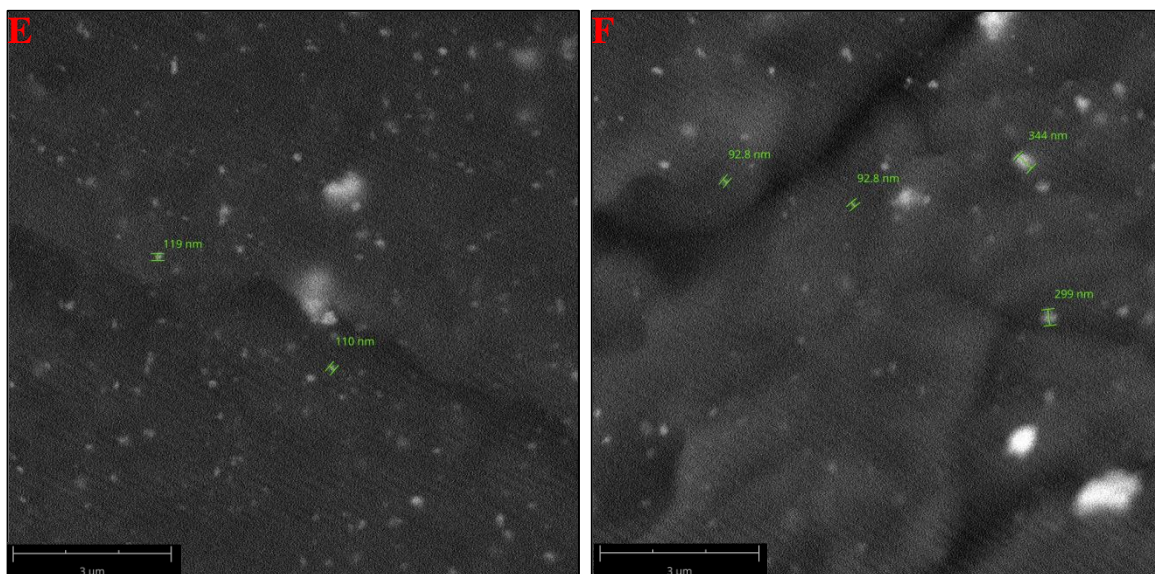
8.2.1 Analýza distribuce plniva v polymerní matici dle SEM

Prostřednictvím elektronového mikroskopu Phenom Pro a BSE detektoru byla prozkoumána analýza lomové plochy jednotlivých kompozitních materiálů, a sledována distribuce plniva v polymerní matici. Pro získání lomové plochy bylo zapotřebí zlomit vzorek v kapalném dusíku.

Lomová plocha kompozitního materiálu nám představuje tmavé pozadí, tvořené polymerní maticí (EVA/Versify 3401/PP), a rovněž viditelné „světlé tečky“, značící prášková plniva. Lze si tedy všimnout dvou typů fotografií, vykazující mikroskopické (13A až 13 D) a následně nanometrické (13E až 13 F) rozměry tak, aby bylo možné analyzovat nejen samotné nanočástice ZnO, Ag-ZnO-1 či Ag-ZnO-2, ale i shluky neboli aglomeráty plniv. Konkrétně, na prvních fotografiích 13A a 13B nelze přehlédnout výbornou distribuci částic práškového plniva ZnO a Ag-ZnO-1 v polymerní matici EVA. Žádné aglomeráty, na rozdíl od SEM snímků č. 13C až 13F, nejsou viditelné. Tedy, u snímků č. 13C až 13F tyto aglomeráty plniva nelze předhlédnout, jejichž přítomnost je způsobena nedostačujícím procesem termoplastického míchání (doba, otáčky).

Z mikroskopického hlediska dosahují v kompozitech hierarchické částice plniva rozměrů $1 \mu\text{m} - 3 \mu\text{m}$. Případné aglomeráty částic dosahují rozměrů menších než $20 \mu\text{m}$. V oblasti nanometrického rozlišení lze diskutovat o částicích, dosahujících velikosti desítek až stovek nanometrů.





Obrázek 13: Analyzované snímky lomových ploch uvedených kompozitních materiálů, přičemž: A) EVA + 5 % ZnO, B) EVA + 5 % Ag-ZnO-1 – výborná distribuce plniva; C) PP + 5 % ZnO, D) Versify 3401 + 5 % Ag-ZnO-1 – mikroskopický pohled; E) EVA + 5 % Ag-ZnO-1, F) PP + 5 % Ag-ZnO-1 – nanometrický pohled

8.2.2 Rezistivita práškových plniv a kompozitních materiálů

V tabulce č. 8 jsou uvedeny hodnoty povrchové rezistivity připravených práškových plniv. Připravený oxid zinečnatý vykazuje hodnotu povrchové rezistivity $5 \cdot 10^5 \Omega \cdot cm$, zatímco u vzorků Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 mluvíme o řádově vyšší povrchové rezistivitě, $10^6 \Omega \cdot cm$. Převrácená hodnota povrchové rezistivity, značící elektrickou vodivost, která nabírá u syntetizovaných práškových plniv hodnoty řádově $10^{-6} S \cdot cm^{-1}$ až $10^{-7} S \cdot cm^{-1}$, řadí připravená prášková plniva mezi materiály s polovodivými vlastnostmi. I přes zakomponování nanočástic stříbra k hierarchickým mikročásticím ZnO se vodivost nezvyšuje, jak je patrné u vzorku Ag-ZnO-1, a materiál se tedy chová jako polovodič. Tato situace se nemění ani u vzorku Ag-ZnO-2, kde je obsah nanočástic stříbra pětikrát vyšší než u předešlého vzorku.

Tabulka 8: Hodnoty povrchové rezistivity a elektrické vodivosti práškových plniv

Typ plniva	Rezistivita [$\Omega \cdot cm$]	Vodivost [$S \cdot cm^{-1}$]
ZnO	$4,94 \cdot 10^5$	$2,02 \cdot 10^{-6}$
Ag-ZnO-1	$8,12 \cdot 10^6$	$1,23 \cdot 10^{-7}$
Ag-ZnO-2	$6,58 \cdot 10^6$	$1,52 \cdot 10^{-7}$

Tabulka č. 9 představuje hodnoty rezistivity čistých polymerních matric a připravených kompozitů, přičemž z dat vyplývá, že polymerní matrice bez plniv mají vyšší hodnotu rezistivity, než s plnivem. Hodnota rezistivity kompozitů je o několik jednotek nižší než u čistých polymerních matric. Rezistivita kompozitů se výrazně neliší ani u vzorku Ag-ZnO-2, kde je obsah stříbra pětikrát vyšší ve srovnání se vzorkem Ag-ZnO-1. Schopnost kompozitních materiálů být elektricky vodivým souvisí s teorií perkolačního prahu, pojednávající o kritické koncentraci plniva. Kritickou koncentraci plniva ovšem nedosahuje ani jeden ze vzorků, z čehož vyplývá, že se pohybujeme pod kritickým perkolačním prahem, a proto spadají námi připravené kompozitní materiály do oblasti nevodivých materiálů.

Tabulka 9: Hodnoty povrchové rezistivity čistých polymerních matric a připravených kompozitů

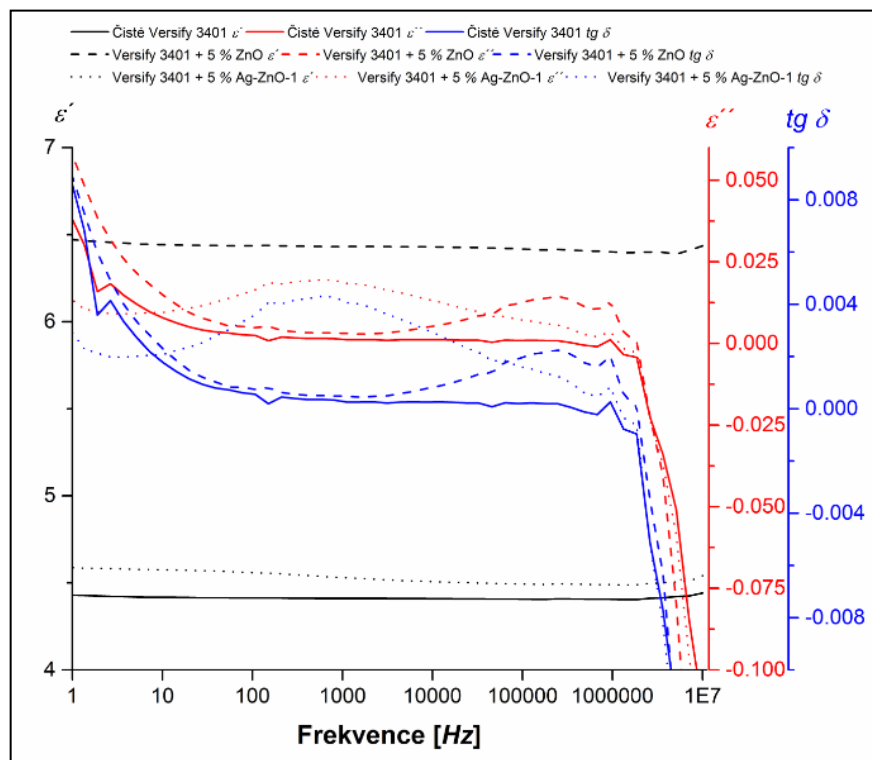
Typ plniva	Procentuální zastoupení plniva [%]	Rezistivita polymerní matrice [$\Omega \cdot cm$]		
		Versify 3401	EVA	PP
<i>Žádné</i>	0	$15,3 \cdot 10^7$	$12,2 \cdot 10^7$	Mimo rozsah
		Rezistivita kompozitu [$\Omega \cdot cm$]		
<i>ZnO</i>	1	$14,6 \cdot 10^7$	$11,8 \cdot 10^7$	-
	3	$12,3 \cdot 10^7$	$9,7 \cdot 10^7$	-
	5	$9,1 \cdot 10^7$	$7,6 \cdot 10^7$	$8,5 \cdot 10^7$
<i>Ag-ZnO-1</i>	1	$13,1 \cdot 10^7$	$10,5 \cdot 10^7$	-
	3	$9,5 \cdot 10^7$	$8,4 \cdot 10^7$	-
	5	$7,5 \cdot 10^7$	$6,5 \cdot 10^7$	$8,3 \cdot 10^7$
<i>Ag-ZnO-2</i>	3	-	-	$9,2 \cdot 10^7$

8.2.3 Dielektrické vlastnosti

Polymerní materiály se chovají jako dielektrika, se schopností polarizace při vložení do vnějšího elektrického pole, o čemž svědčí i níže uvedené grafy č. 8 až č. 10, představující závislost imaginární složky permitivity ε'' a reálné složky permitivity ε' na frekvenci f . Jejich vzájemným poměrem ($\varepsilon''/\varepsilon'$) je dán ztrátový faktor $tg \delta$, rovněž v závislosti na frekvenci f . Dielektrika jako taková neobsahují žádné volné elektrické náboje, ovšem vyznačují se řadou elementárních prvků, obsahující elektrický náboj (zejména se jedná o

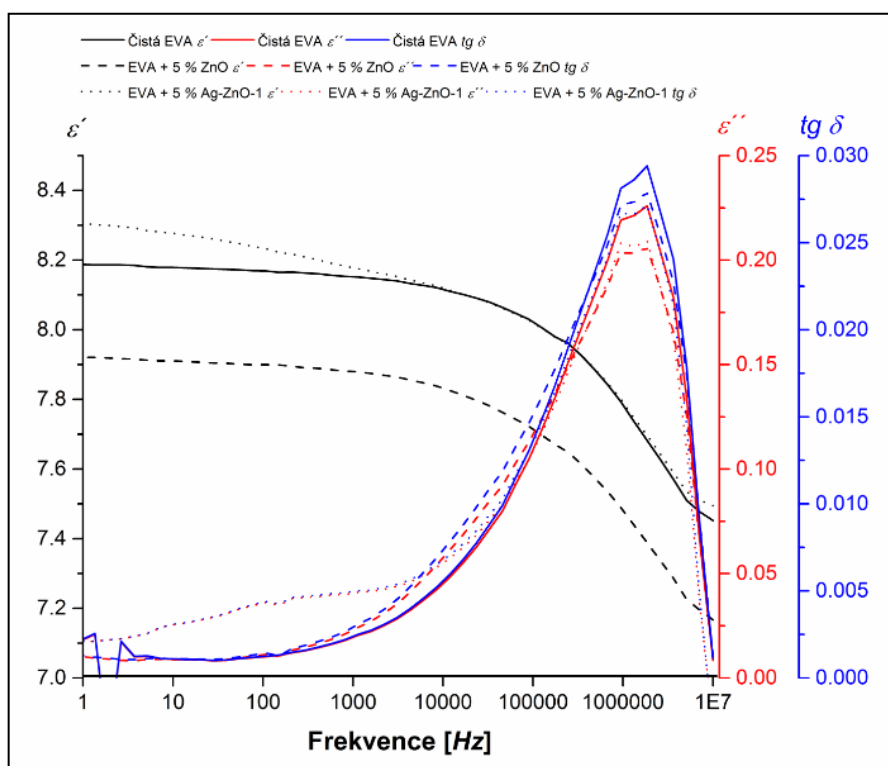
atomy, funkční skupiny, vodíkové můstky, potenciální ionty či dipólové momenty), které umožňují polarizaci samotného dielektrika.

Graf č. 8 popisuje dielektrické chování čisté polymerní matrice Versify 3401 a polymerní matrice s plnivem ZnO a Ag-ZnO-1. U těchto typů produktů je reálná složka permitivity ε' v daném regionu frekvence konstantní. Polymerní matrice Versify 3401 s obsahem 5 % ZnO plniva vykazuje výrazně vyšší hodnoty reálné složky permitivity ε' (6,48), ve srovnání s čistou polymerní matricí (4,45) a matricí s obsahem plniva 5 % Ag-ZnO-1 (4,6). Dále je patrná změna dielektrických ztrát u kompozitu s obsahem plniva 5 % Ag-ZnO-1 ($\text{tg } \delta = 0,004$), která má maximum při frekvenci ($8 \cdot 10^2 \text{ Hz}$). Kompozit s 5 % ZnO plniva vykazuje maximum dielektrických ztrát, ovšem posunuté k vyšším hodnotám frekvence ($9 \cdot 10^2 \text{ Hz}$). Ve vysokých frekvencích $1 \cdot 10^7 \text{ Hz}$ můžeme vidět pokles imaginární složky permitivity ε'' a dielektrických ztrát u všech tří produktů.



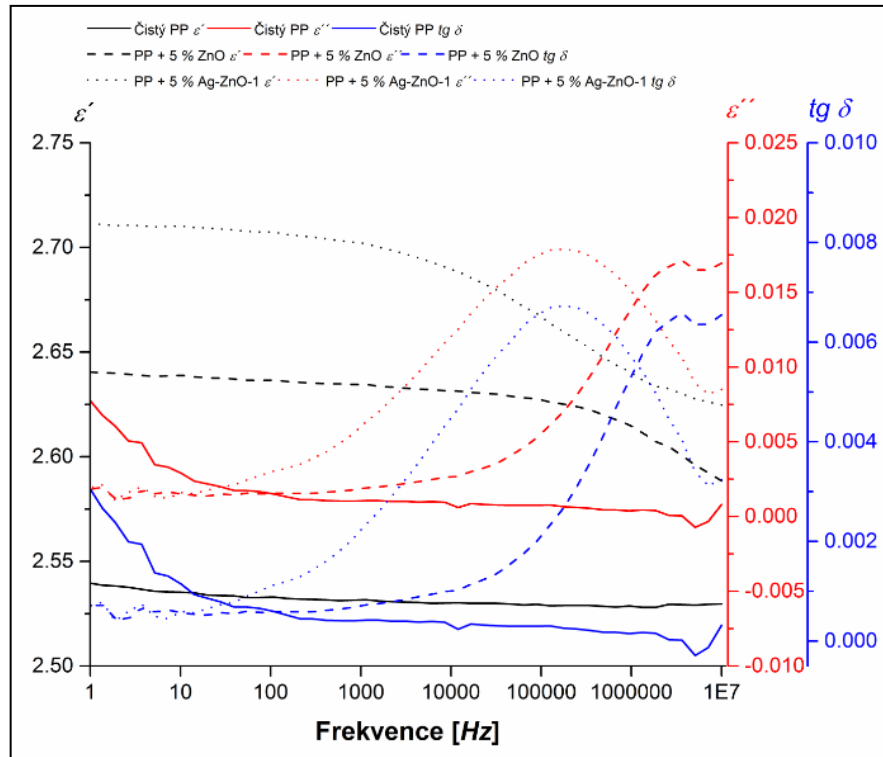
Graf 8: Závislost reálné ε' a imaginární ε'' složky permitivity a ztrátového faktoru $\text{tg } \delta$ na frekvenci pro materiály: čisté Versify 3401, Versify 3401 + 5 % ZnO a Versify 3401 + 5 % Ag-ZnO-1

Z grafu č. 9 vyplývá, že reálná složka permitivity ε' čisté matrice EVA i kompozitů klesá se stoupající frekvencí, z důvodu elektrických relaxačních procesů. U čisté polymerní matrice EVA a kompozitů s obsahem plniva 5 % ZnO a 5 % Ag-ZnO-1 nastávají dielektrické ztráty při vyšších hodnotách frekvence ($2 \cdot 10^6$ Hz). U těchto typu kompozitů práškové plnivo nepříliš výrazně ovlivňuje dielektrické vlastnosti polymerní matrice. U kompozitu EVA s Ag-ZnO-1 plnivem můžeme vidět u frekvencích okolo 100 Hz jiný průběh imaginární složky permitivity ε'' a ztrátového faktoru, který se liší jak od čisté polymerní matrice, tak od kompozitu s obsahem plniva ZnO.



Graf 9: Závislost reálné ε' a imaginární ε'' složky permitivity a ztrátového faktoru $tg \delta$ na frekvenci pro materiály: čistá EVA, EVA + 5 % ZnO a EVA + 5 % Ag-ZnO-1

U čisté polypropylenové matrice (viz graf č. 10) opět vidíme konstantní reálnou složku permitivity ε' , ovšem u plněného kompozitu tato složka viditelně klesá se stoupající frekvencí. Dále si můžeme všimnout, že u PP kompozitu s obsahem 5 % ZnO plniva dochází k maximu dielektrických ztrát ($tg \delta = 0,0067$) při vyšších frekvencích ($5,1 \cdot 10^6$ Hz), zatímco u kompozitů s obsahem 5 % Ag-ZnO-1 plniva nastávají tyto dielektrické ztráty ($tg \delta = 0,0065$) při frekvenci ($1,8 \cdot 10^5$ Hz).



Graf 10: Závislost reálné ε' a imaginární ε'' složky permitivity a ztrátového faktoru $\text{tg } \delta$ na frekvenci pro materiály: čistý PP, PP + 5 % ZnO a PP + 5 % Ag-ZnO-1

8.2.4 Mechanické vlastnosti

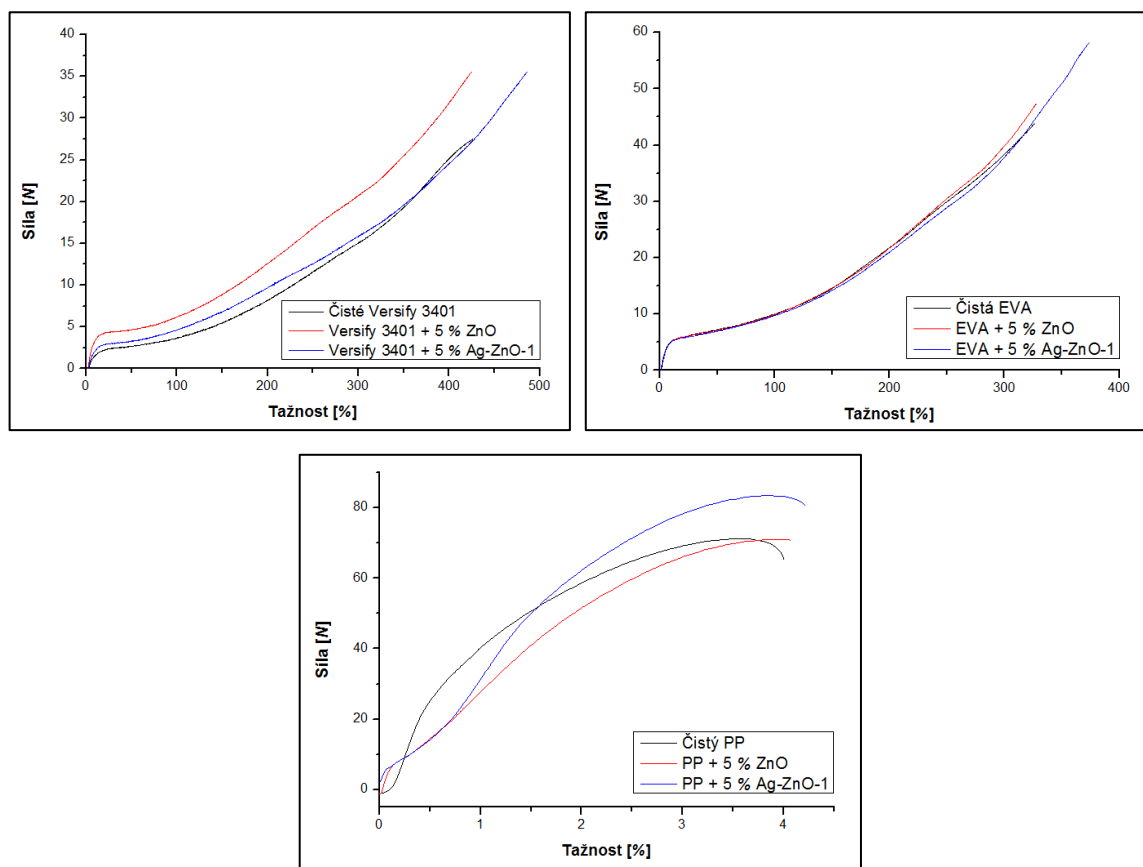
Tahová zkouška byla prováděna na základě normy ČSN EN ISO 527-1, 3. Pro tahovou zkoušku byla použita oboustranná lopatka. Tahová zkouška u matric Versify 3401 a EVA i s plnivy probíhala rychlostí $200,00 \text{ mm/min}$, zatímco semikrystalický PP, rovněž s plnivy, desetinasobně nižší rychlostí, a to $20,00 \text{ mm/min}$. Výjimku poté tvořil PP obsahující 3 % Ag-ZnO-2, kde rychlost tahové zkoušky činila 15 mm/min (velice křehký materiál). Níže uvedené grafy tahové zkoušky znázorňují rostoucí sílu F v závislosti na průběhu tažnosti. Výsledky tahové zkoušky, uvedené v tabulce č. 10, ukazují, že se mechanické vlastnosti, jako je pevnost a tažnost polymerní matrice a plněných kompozitů, mění v rámci směrodatné odchylky, bez ohledu na to, jaký typ kompozitního materiálu byl právě v rámci tahové zkoušky měřen.

Tabulka 10: Hodnoty tažnosti při nejvyšší pevnosti a napětí při přetrhu v rámci tahové zkoušky

Typ vzorku	Tažnost při nejvyšší pevnosti [%]		Napětí při přetrhu [MPa]	
	Průměrná hodnota	Směrodatná odchylka	Průměrná hodnota	Směrodatná odchylka
<i>Čisté Versify 3401</i>	1574	86	9,5	2,1
<i>Versify 3401 + 1 % ZnO</i>	1727	98	12,0	1,0
<i>Versify 3401 + 3 % ZnO</i>	1820	40	14,1	1,1
<i>Versify 3401 + 5 % ZnO</i>	1515	238	9,2	5,4
<i>Versify 3401 + 1 % Ag-ZnO-1</i>	1720	181	12,3	2,3
<i>Versify 3401 + 3 % Ag-ZnO-1</i>	1622	63	12,3	1,5
<i>Versify 3401 + 5 % Ag-ZnO-1</i>	1678	282	12,2	3,3
<i>Čistá EVA</i>	1181	88	12,5	1,2
<i>EVA + 1 % ZnO</i>	1382	95	19,6	3,1
<i>EVA + 3 % ZnO</i>	1275	147	16,2	4,7
<i>EVA + 5 % ZnO</i>	1369	79	18,1	1,8
<i>EVA + 1 % Ag-ZnO-1</i>	1329	127	17,6	3,4
<i>EVA + 3 % Ag-ZnO-1</i>	1308	140	17,5	4,8
<i>EVA + 5 % Ag-ZnO-1</i>	1177	164	12,7	4,6
<i>Čistý PP</i>	14,5	1,3	30,9	2,2
<i>PP + 5 % ZnO</i>	12,9	2,3	29,4	1,4
<i>PP + 5 % Ag-ZnO-1</i>	17,4	2,6	28,9	4,9
<i>PP + 3 % Ag-ZnO-2</i>	13,6	1,3	32,3	3,1

Hodnoty tažnosti při nejvyšší pevnosti jsou u plněných kompozitů s matricí Versify 3401 rovny 1700 %, s matricí EVA 1300 % a s matricí PP 15 %. Polypropylen coby semikrystalický polymer je sice pevným a tvrdým materiálem s pravidelně uspořádanou strukturou řetězců, ovšem je křehký, na rozdíl od kopolymeru EVA a termoplastického elastomeru Versify 3401. Jiná situace nastává u vlastnosti pevnost materiálů, kde čistá matrice PP nabývá nejvyšších hodnot, a to 31 MPa, zatímco TPE Versify 3401 pouze

hodnoty 9,5 MPa a kopolymer EVA hodnoty 12,5 MPa. U plněných kompozitů jsou hodnoty pevnosti srovnatelné.



Graf 11: Závislost síly F při přetruhu na tažnosti a pevnost pro čisté polymerní matrice Versify 3401, EVA a PP a kompozity obsahující 5 % ZnO a 5 % Ag-ZnO-1 plniva

8.2.5 Antibakteriální vlastnosti kompozitních materiálů

Provedení antibakteriálních testů oplachovací metodou probíhalo prostřednictvím normy ISO 22196. Navážené suspenze (viz tabulka č. 11) byly uloženy do horizontálního autoklávu s dobou sterilace 15 minut při 121 °C. Po „vylihování“ vzorků a polypropylenových ochranných fólií prostřednictvím 70% ethanolu bylo naneseno 100 μ l bakteriální suspenze prostřednictvím mikropipety na vzorky, umístěných na Petriho misce. Poté byly samotné vzorky o ploše 625 mm^2 překryty sterilní polypropylenovou fólií o ploše 400 mm^2 , a vloženy do vlhkého inkubátoru po dobu 24 h při 35 °C, přičemž po uplynutí této doby se mohla provést oplachovací metoda (viz níže). Nakonec, po 24 h a 48 h, byly spočítány narostlé bakteriální kolonie.

Tabulka 11: Navážka jednotlivých komponentů pro vykonání antibakteriálních testů

<i>Plate Count Agar PCA</i>	9,4 g/400 ml
<i>Fyziologický roztok chlorid sodný NaCl</i>	3,4 g/400 ml
<i>Pufr dihydrogenfosforečnan draselný KH₂PO₄</i>	0,5 ml/400 ml
<i>Splachovací roztok SCDLP</i>	12 g/400 ml
<i>Lecitin natural</i>	0,4 g/400 ml
<i>TWEEN 80</i>	2,8 g/400 ml

Princip oplachovací metody spočívá ve čtyřnásobném opláchnutí (z obou stran) vzorků a oddělané sterilní krycí fólie prostřednictvím splachovacího roztoku SCDLP. Vzniklý roztok se mikropipetou přenesse do umělohmotné zkumavky pro desetinné ředění. Následně jsou roztoky, podrobené desetinnému ředění, zality agarem PCA, rozeřtým a vytemperovaným na 50,3 °C. Po stanovené době, 24 h a 48 h, jsou počítány narostlé bakteriální kolonie.

Tabulka 12: Vypočtené hodnoty antibakteriálních aktivit *R* jednotlivých typů vzorků dle ISO 22196

Označení vzorku	<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516		<i>Escherichia coli</i> CCM 4517	
	<i>N</i> [CFU/cm ²]	<i>R</i> [1]	<i>N</i> [CFU/cm ²]	<i>R</i> [1]
<i>Čisté Versify 3401</i>	7,1E+05	U _t = 5,9	1,9E+07	U _t = 7,3
<i>Versify 3401 + 1 % ZnO</i>	3,4E+05	0,32	6,3E+04	2,5
<i>Versify 3401 + 3 % ZnO</i>	5,4E+04	1,1	6,1E+04	2,5
<i>Versify 3401 + 5 % ZnO</i>	2,9E+03	2,4	6,3E+04	2,5
<i>Versify 3401 + 1 % Ag-ZnO-1</i>	4,2E+05	0,23	6,5E+05	1,5
<i>Versify 3401 + 3 % Ag-ZnO-1</i>	1,5E+05	0,68	3,3E+05	1,8
<i>Versify 3401 + 5 % Ag-ZnO-1</i>	2,3E+05	0,49	4,3E+04	2,7
<i>Čistá EVA</i>	3,7E+05	U _t = 5,6	2,1E+07	U _t = 7,3
<i>EVA + 1 % ZnO</i>	6,0E+05	< 0,0	1,9E+06	1,0
<i>EVA + 3 % ZnO</i>	2,0E+05	0,27	1,1E+06	1,3
<i>EVA + 5 % ZnO</i>	6,8E+04	0,74	1,5E+05	2,2
<i>EVA + 1 % Ag-ZnO-1</i>	3,7E+05	< 0,0	1,4E+06	1,2
<i>EVA + 3 % Ag-ZnO-1</i>	1,7E+05	0,34	5,7E+05	1,6

<i>EVA + 5 % Ag-ZnO-1</i>	1,1E+05	0,53	1,6E+05	2,1
<i>Čistý PP</i>	2,3E+05	$U_t = 5,4$	1,7E+06	$U_t = 6,2$
<i>PP + 5 % ZnO</i>	1,0E+01	4,4	< 1,0	> 6,2
<i>PP + 5 % Ag-ZnO-1</i>	4,1	4,8	< 1,0	> 6,2
<i>PP + 3 % Ag-ZnO-2</i>	6,3	4,6	5,0	5,5

Ukázka výpočtu živoschopných bakterií N pro čistou polymerní matrici Versify 3401:

$$N = \frac{100 \cdot C \cdot D \cdot V}{A} \quad (2)$$

Příčemž (dle ISO 22196):

N – počet viabilních bakterií (CFU) obdržených na cm^2 na testovaný vzorek [1]

C – průměrný počet bakterií (kolonií) pro duplicitní misky [1]

D – diluční faktor pro misky využité pro výpočet [1]

V – objem SCDLP přidaného do vzorku [2,5 ml]

A – plocha povrchu krycího filmu (fólie) [400 mm^2]

$$N = \frac{100 \cdot 114 \cdot 10^4 \cdot 2,5 \text{ ml}}{400 \text{ mm}^2} \Rightarrow N \doteq 7,1 \cdot 10^5 \text{ CFU/cm}^2$$

Ukázka výpočtu antibakteriální aktivity R pro kompozitní materiál PP + 5 % Ag-ZnO-1:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) \Rightarrow R = U_t - A_t \quad (3)$$

Příčemž (dle ISO 22196):

R – antibakteriální aktivita [1]

U_0 – průměr přirozeného logaritmu počtu viabilních bakterií obdrženého z neupravených testovacích vzorků bezprostředně po 24 h [CFU/ cm^2]

U_t – průměr přirozeného logaritmu počtu viabilních bakterií obdrženého z neupravených testovacích vzorků po 24 h [CFU/cm^2]

A_t – průměr přirozeného logaritmu počtu viabilních bakterií obdrženého z upravených testovacích vzorků po 24 h [CFU/cm^2]

$$R = 5,4 - \log(6,3) \Rightarrow R \doteq 4,6$$



Obrázek 14: Ukázka oplachovací metody dle ISO 22196

Měření antibakteriální aktivity probíhalo u všech připravených kompozitních materiálů, to znamená, u vzorků skládající se ze tří polymerních matric (EVA, Versify 3401 a PP) a tří práškových plniv (ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2). Povrch kompozitních destiček byl vystaven dvěma různým bakteriálním kmenům – grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* (CCM 4516) a gramnegativní bakterii *Escherichia coli* (CCM 4517). Tabulka č. 12 představuje počty viabilních bakterií N a s tím související antibakteriální aktivity R , určených na základě rovnic (2) a (3).

U neupravených polymerních matric (čisté Versify 3401, EVA a PP) vyplývá naprostá antibakteriální neúčinnost a daná polymerní matrice je vyloženě poseta narostlými bakteriálními koloniemi. Nicméně, situace se mění u vzorků, obsahující prášková plniva, a samozřejmě, obrovská závislost spočívá i na druhu použitého bakteriálního kmenu.

Kompozitní materiály Versify 3401 + 1 %, 3 % a 5 % Ag-ZnO-1 vykazují přibližně pětikrát nižší antibakteriální účinnost vůči bakterii *Staphylococcus aureus*, nežli vůči bakterii *Escherichia coli*. Zajímavé je, že tatáž polymerní matrice, ovšem s 1 %, 3 % a 5 % ZnO plniva vykazuje dokonce vyšší efektivitu vůči bakterii *Escherichia coli* ($R = 2,5$), ve srovnání s plnivem ZnO, mající různé hmotnostní zastoupení stříbra.

Taktéž lze v tomto případě poukázat na téměř stejnou antibakteriální aktivitu kompozitního materiálu Versify 3401 + 5 % ZnO ($R = 2,4/2,5$) u obou bakterií, v případě Versify a 5 % Ag-ZnO-1 je účinnost vůči bakterii *Staphylococcus aureus* 0,49, a vůči bakterii *Escherichia coli* 2,7. U kompozitních materiálů, obsahující polymerní matrici EVA, a všechny uvedené hmotnostní koncentrace práškových plniv ZnO a Ag-ZnO-1, je vykazována vůči bakterii *Staphylococcus aureus* vyloženě mizivá antibakteriální účinnost, anebo takřka žádná. Nejlepší antibakteriální vlastnosti lze pozorovat u kompozitu EVA + 5 % ZnO i 5 % Ag-ZnO-1 u bakterie *Escherichia coli*. U polypropylenové matrice s práškovými plnivými ZnO a Ag-ZnO-1 v koncentracích 5 hmotnostních procent je vykazována vysoká antibakteriální efektivita vůči oběma bakteriálním koloniím, což rovněž platí i pro kompozitní materiál PP + 3 % Ag-ZnO-2, kde je hodnota R nepatrně nižší, a to 5,5 (vůči bakterii *Escherichia coli*), a 4,6 (vůči bakterii *Staphylococcus aureus*).

Předpoklad této práce spočíval ve schopnosti práškového plniva jak ZnO, tak Ag-ZnO, být více efektivní vůči růstu bakteriálních kolonií. Tento předpoklad se především potvrdil pro plnivo ZnO, ovšem i u plniva Ag-ZnO u PP matrice pozorujeme velice mírný nárůst kolonií *Staphylococcus aureus* a silnější antibakteriální účinnost, ve srovnání s dalšími použitými matricemi, obsahující ve své struktuře plnivo Ag-ZnO. Nicméně, na základě výsledků lze konstatovat, že kompozitní materiály s plnivem ZnO vykazují podstatně vyšší aktivitu, nežli s plnivem Ag-ZnO. Rovněž je důležité podotknout, že se grampozitivní bakterie charakterizují menší susceptibilitou k nanostříbru nežli bakterie gramnegativní, a to prostřednictvím tlustší peptidoglykanové buněčné stěny se schopností zabránit penetraci iontů stříbra do vnitřní části buněčné stěny. Pro získání vyšší antibakteriální efektivity je možné aplikovat i vyšší obsah stříbra v plnivu Ag-ZnO. Naším cílem bylo ovšem aplikovat co nejnižší hmotnostní zastoupení stříbra, potažmo plniva jako takového, při zachování nejvyšší možné antibakteriální aktivity, čím by se dosáhlo snížení nákladů na přípravu kompozitních materiálů.

ZÁVĚR

Prostřednictvím nové dvoustupňové přikapávací syntézy a následného žíhání byly připraveny hierarchické částice ZnO a hybridní částice Ag-ZnO s velmi malým obsahem nanočástic stříbra. Z výsledků XRD analýzy vyplývá, že byly připraveny krystalické hexagonální struktury ZnO, a kubické struktury stříbra. Během procesu žíhání s největší pravděpodobností dochází k dopování struktury ZnO atomy stříbra. Velikost krystalických domén ZnO i stříbra se pohybuje okolo 15 nm. Přítomnost stříbra ve vzorcích byla potvrzena EDX analýzou, která odhalila, že se ve vzorku Ag-ZnO-1 nachází pětkrát méně stříbra, než ve vzorku Ag-ZnO-2. Pomocí elektronové mikroskopie byla pozorována hierarchická porézní struktura připravených plniv. Dále metoda potvrzuje, že přítomnost stříbrných iontů ovlivňuje morfologii částic ZnO, a následně i vlastnosti s nimi spojené, kupříkladu měrný specifický povrch, což potvrzuje metoda BET. Fotokatalytická aktivita připravených práškových plniv dosahuje, ve srovnání s komerčními vzorky, pouze dvakrát nižší rychlosti. U všech syntetizovaných plniv proběhne do 25 minut všech 63 % fotokatalytických změn.

Připravené kompozitní materiály vykazují poměrně dobrou distribuci a dispergaci plniva v polymerní matrici, navíc elektrické, dielektrické, a mechanické vlastnosti se příliš neliší ve srovnání s vlastnostmi polymerních matric. Antibakteriální aktivita kompozitních materiálů byla testována vůči zástupcům grampozitivních a gramnegativních bakterií. Výsledky ukazují, že kompozity mají lepší antibakteriální aktivitu vůči bakterii *Escherichia coli* (reprezentant gramnegativních bakteriálních kmenů). U tohoto kmene byla dosažena antibakteriální aktivita, a to u všech kompozitů s obsahem 5 hmotnostních procent ZnO i 5 hmotnostních procent Ag-ZnO plniva, odpovídající hodnotám, které dostačují pro aplikace v rámci hygieny. U kompozitů, představovaných polypropylenovou matricí a obsahem plniva minimálně 3 % Ag-ZnO-2, 5 % Ag-ZnO-1 či 5 % ZnO, bylo dosaženo antibakteriální aktivity, jak u bakterie *Escherichia coli*, tak u bakterie *Staphylococcus aureus* (reprezentant grampozitivních bakteriálních kmenů), odpovídající medicínským aplikacím.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. JELÍNEK, J., ZICHÁČEK, V., 2006. *Biologie pro gymnázia: (teoretická a praktická část)*. Vydání osmé – rozšířené. Olomouc: Nakladatelství Olomouc. Rozsah stran: 19 – 20; 339 – 341. ISBN: 80-718-2217-5.
2. BENEŠOVÁ, M., 2003. *Odmaturuj! z biologie*. Vydání první. Brno: Didaktis. Rozsah stran: 9 – 10; 28 – 29. ISBN 80-862-8567-7.
3. HE, W. et al., 2012. Mechanisms of the pH dependent generation of hydroxyl radicals and oxygen induced by Ag nanoparticles. *Biomaterials*. Vol. 33, issue 30, p. 7547 – 7555. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.06.076.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961212007260>

4. HAJIPOUR, M. J. et al., 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. Vol. 30, issue 10, p. 499 – 511. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779912000959>

5. MACHOVSKY, M. et al., 2014. Antibacterial performance of ZnO-based fillers with mesoscale structured morphology in model medical PVC composites. *Materials Science and Engineering: C*. Vol. 41, p. 70 – 77. DOI: 10.1016/j.msec.2014.04.034. ISSN 09284931.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493114002264>

6. GUO, L. et al., 2013. Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Vol. 439, p. 69 – 83. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2012.12.029.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777571200893X>

7. ALI, Z. A., YAHYA, R., and PUTEH, R., 2015. Antibacterial polymer based transparent coating for elimination of Staphylococcus Aureus. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. Vol. 195, p. 2218 – 2220. DOI: 10.1016/j.sbspro.2015.06.303.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1877042815037829>

8. ASADINEZHAD, A. et al., 2010. An in vitro bacterial adhesion assessment of surface-modified medical-grade PVC. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Vol. 77, issue 2, p. 246 – 256. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.02.006.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776510000809>

9. KUČEKOVÁ, Z. et al., 2013. Antibacterial properties of polyaniline-silver films. *Chemical Papers*. Vol. 67, issue 8, p. 1103 – 1108. DOI: 10.2478/s11696-013-0385-x.

Dostupné také z: <http://www.degruyter.com/view/j/chempap.2013.67.issue-8/s11696-013-0385-x/s11696-013-0385-x.xml>

10. WITTE, W., 2004. International dissemination of antibiotic resistant strains of bacterial pathogens. *Infection, Genetics and Evolution*. Vol. 4, issue 3, p. 187 – 191. DOI: 10.1016/j.meegid.2003.12.005.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134804000310>

11. KEJLOVÁ, K. et al., 2015. Characteristics of silver nanoparticles in vehicles for biological applications. *International Journal of Pharmaceutics*. Vol. 496, issue 2, p. 878 – 885. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.024.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517315302921>

12. LI, Q. et al., 2008. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research*. Vol. 42, issue 18, p. 4591 – 4602. DOI: 10.1016/j.watres.2008.08.015. ISSN 00431354.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135408003333>

13. PADOVANI, G. C. et al., 2015. Advances in dental materials through nanotechnology: Facts, perspectives and toxicological aspects. *Trends in Biotechnology*. Vol. 33, issue 11, p. 621 – 636. DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.09.005.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779915001912>

14. HUH, A. J., KWON, Y. J., 2011. „Nanoantibiotics“: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*. Vol. 156, issue 2, p. 128 – 145. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.07.002.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365911004792>

15. SCOTT, J. R., BARNETT, T. C., 2006. Surface proteins of gram-positive bacteria and how they get there. *Annual Review of Microbiology*. Vol. 60, issue 1, p. 397 – 423. DOI: 10.1146/annurev.micro.60.080805.142256.

Dostupné také z:

<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.60.080805.142256>

16. TAMBOLI, D. P., LEE, D. S., 2013. Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 260, p. 878 – 884. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.06.003.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389413004032>

17. BENN, T. M., WESTERHOFF, P., 2008. Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. *Environmental Science*. Vol. 42, issue 11, p. 4133 – 4139. DOI: 10.1021/es7032718.

Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es7032718>

18. KIM, J. S. et al., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. Vol. 3, issue 1, p. 95 – 101. DOI: 10.1016/j.nano.2006.12.001.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1549963406003467>

19. ELECHIGUERRA, J. et al., 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology*. Vol. 3, issue 1, p. 6. DOI: 10.1186/1477-3155-3-6.

Dostupné také z: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/3/1/6>

20. MARAMBIO-JONES, C., HOEK, E. M. V., 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*. Vol. 12, issue 5, p. 1531 – 1551. DOI: 10.1007/s11051-010-9900-y.

Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11051-010-9900-y>

21. CLOUTIER, M., MANTOVANI, D. and ROSEI, F., 2015. Antibacterial coatings: Challenges, perspectives, and opportunities. *Trends in Biotechnology*. Vol. 33, issue 11, p. 637 – 652 DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.09.002.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779915001882>

22. ASHARANI, P. V. et al., 2009. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells. *ACS Nano*. Vol. 3, issue 2, p. 279 – 290. DOI: 10.1021/nn800596w.

Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn800596w>

23. HSIN, Y. H. et al., 2008. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. *Toxicology Letters*. Vol. 179, issue 3, p. 130 – 139. DOI: 10.1016/j.toxlet.2008.04.015.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427408001252>

24. RADZIG, M. A. et al., 2013. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Vol. 102, p. 300 – 306. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.07.039. ISSN 09277765.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776512004341>

25. ARORA, S. et al., 2008. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters*. Vol. 179, issue 2, p. 93 – 100. DOI: 10.1016/j.toxlet.2008.04.009.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427408001197>

26. BAJPAI, S. K. et al., 2007. Synthesis of polymer stabilized silver and gold nanostructures. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. Vol. 7, issue 9, p. 2994 – 3010. DOI: 10.1166/jnn.2007.911.

Dostupné také z: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article>

27. LI, X. et al., 2015. Preparation and antibacterial performance testing of Ag nanoparticles embedded biological materials. *Applied Surface Science*. Vol. 330, p. 237 – 244. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.01.004.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433215000148>

28. KHAN, A. et al., 2015. Three dimensional spherically evolved nanostructures of ZnO comprised of nanowires and nanorods for optoelectronic devices. *Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics*. Vol. 10, issue 5, p. 700 – 704. DOI: 10.1166/jno.2015.1820.

Dostupné také z: <http://www.researchgate.net/publication/280554597>

29. SEDLÁK, J. et al., 2015. Zinc oxide nanoparticles with surface modified by degradation of capping polymers in situ during microwave synthesis. *Advanced Powder Technology*. Vol. 26, issue 4, p. 1064 – 1071. DOI: 10.1016/j.apt.2015.04.016.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921883115000928>

30. MOEZZI, A., MCDONAGH, A. M. and CORTIE, M. B., 2012. Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications. *Chemical Engineering Journal*. Vol. 185 – 186, p. 1 – 22. DOI: 10.1016/j.cej.2012.01.076.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138589471200099X>

31. WANG, T. X., LOU, T. J., 2008. Solvothermal synthesis and photoluminescence properties of ZnO nanorods and nanorod assemblies from ZnO₂ nanoparticles. *Materials Letters*. Vol. 62, issue 15, p. 2329 – 2331. DOI: 10.1016/j.matlet.2007.11.083.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X07011986>

32. MAHMUD, S., 2011. One-dimensional growth of zinc oxide nanostructures from large micro-particles in a highly rapid synthesis. *Journal of Alloys and Compounds*. Vol. 509, issue 9, p. 4035 – 4040. DOI: 10.1016/j.jallcom.2011.01.013.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092583881100034X>

33. PADMAVATHY, N., VIJAYARAGHAVAN, R., 2011. Interaction of ZnO nanoparticles with microbes – A physio and biochemical assay. *Journal of Biomedical Nanotechnology*. Vol. 7, issue 6, p. 813 – 822. DOI: 10.1166/jbn.2011.1343.

Dostupné také z: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article>

34. HUANG, Z. et al., 2008. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. *Langmuir*. Vol. 24, issue 8, p. 4140 – 4144. DOI: 10.1021/la7035949.

Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la7035949>

35. MACHOVSKY, M. et al., 2014. Antibacterial performance of ZnO-based fillers with mesoscale structured morphology in model medical PVC composites. *Materials Science and Engineering: C*. Vol. 41, p. 70 – 77. DOI: 10.1016/j.msec.2014.04.034. ISSN 09284931.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493114002264>

36. MORTIMER, M., KASEMETS, K. and KAHRU, A., 2010. Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahymena thermophila*. *Toxicology*. Vol. 269, issue 2 – 3, p. 182 – 189. DOI: 10.1016/j.tox.2009.07.007.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X09003643>

37. VARAPRASAD, K. et al., 2016. Nano zinc oxide–sodium alginate antibacterial cellulose fibres. *Carbohydrate Polymers*. Vol. 135, p. 349 – 355. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.078.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861715008267>

38. Švorčík, V., 2001. Polymerní filmy v medicíně a elektronice. *Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická*. Rozsah stran: 1 – 7.

Dostupné také z:

<http://docplayer.cz/1108187-Polymerni-filmy-v-medicine-a-elektronice.html>

39. JIANG, P. et al., 2007. Hierarchical shelled ZnO structures made of bunched nanowire arrays. *Advanced Functional Materials*. Vol. 17, issue 7, p. 1303 – 1310. DOI: 10.1002/adfm.200600390.

Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.200600390>

40. PATIL, S. S. et al., 2016. Green approach for hierarchical nanostructured Ag-ZnO and their photocatalytic performance under sunlight. *Catalysis Today*. Vol. 260, p. 126 – 134. DOI: 10.1016/j.cattod.2015.06.004. ISSN 09205861.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092058611500351X>

41. ANSARI, S. A. et al., 2014. Highly visible light active Ag@ZnO nanocomposites synthesized by gel-combustion route. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. Vol. 20, issue 4, p. 1602 – 1607. DOI: 10.1016/j.jiec.2013.08.006.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226086X13003699>

42. GAO, S. et al., 2011. Hierarchical Ag/ZnO micro/nanostructure: Green synthesis and enhanced photocatalytic performance. *Journal of Solid State Chemistry*. Vol. 184, issue 4, p. 764 – 769. DOI: 10.1016/j.jssc.2011.01.025.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022459611000260>

43. HAJIPOUR, M. J. et al., 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. Vol. 30, issue 10, p. 499 – 511. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779912000959>

44. MATAI, I. et al., 2014. Antibacterial activity and mechanism of Ag-ZnO nanocomposite on *S. aureus* and GFP-expressing antibiotic resistant *E. coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Vol. 115, p. 359 – 367. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.12.005.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776513007534>

45. REYES-VIDAL, Y. et al., 2015. Electrodeposition, characterization, and antibacterial activity of zinc/silver particle composite coatings. *Applied Surface Science*. Vol. 342, p. 34 – 41. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.03.037.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433215006042>

46. KÜHN, K. P. et al., 2003. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere*. Vol. 53, issue 1, p. 71 – 77. DOI: 10.1016/S0045-6535(03)00362-X.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565350300362X>

47. QUARESIMIN, M. et al., 2015. Multifunctional polymer nanocomposites with enhanced mechanical and anti-microbial properties. *Composites Part B: Engineering*. Vol. 80, p. 108 – 115. DOI: 10.1016/j.compositesb.2015.05.027.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359836815003315>

48. ROGUSKA, A. et al., 2015. TiO₂ nanotube composite layers as delivery system for ZnO and Ag nanoparticles — An unexpected overdose effect decreasing their anti-bacterial efficacy. *Materials Science and Engineering: C*. Vol. 51, p. 158 – 166. DOI: 10.1016/j.msec.2015.02.046. ISSN 09284931.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493115001666>

49. SANGARI, M. et al., 2015. Photocatalytic and antimicrobial activities of fluorine doped TiO₂-carbon nano cones and disc composites. *Materials Science in Semiconductor Processing*. Vol. 31, p. 543 – 550. DOI: 10.1016/j.mssp.2014.12.052.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369800114007446>

50. MÜHLING, M. et al., 2009. An investigation into the effects of silver nanoparticles on antibiotic resistance of naturally occurring bacteria in an estuarine sediment. *Marine Environmental Research*. Vol. 68, issue 5, p. 278 – 283. DOI: 10.1016/j.marenvres.2009.07.001.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141113609000932>

51. FARRUGIA, CH., CAMILLERI, J., 2015. Antimicrobial properties of conventional restorative filling materials and advances in antimicrobial properties of composite resins and glass ionomer cements – A literature review. *Dental Materials*. Vol. 31, issue 4, p. e89 – e99. DOI: 10.1016/j.dental.2014.12.005.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564114006885>

52. ZHANG, K. et al., 2013. Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit carries. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. Vol. 101B, issue 6, p. 929 – 938. DOI: 10.1002/jbm.b.32898.

Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.b.32898>

53. COCCO, A. R. et al., 2015. A systematic review about antibacterial monomers used in dental adhesive systems: Current status and further prospects. *Dental Materials*. Vol. 31, issue 11, p. 1345 – 1362. DOI: 10.1016/j.dental.2015.08.155.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564115003693>

54. PEULEN, T-O., WILKINSON, T. J., 2011. Diffusion of nanoparticles in a bio-film. *Environmental Science*. Vol. 45, issue 8, p. 3367 – 3373. DOI: 10.1021/es103450g.

Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es103450g>

55. LIU, F. et al., 2013. Novel Ag nanocrystals based dental resin composites with enhanced mechanical and antibacterial properties. *Progress in Natural Science: Materials International*. Vol. 23, issue 6, p. 573 – 578. DOI: 10.1016/j.pnsc.2013.11.011.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1002007113001603>

56. BEYTH, N. et al., 2014. Antibacterial dental resin composites. *Reactive and Functional Polymers*. Vol. 75, p. 81 – 88. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.11.011.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138151481300254X>

57. CHATZISTAVROU, X. et al., 2015. Designing dental composites with bioactive and bactericidal properties. *Materials Science and Engineering: C*. Vol. 52, p. 267 – 272. DOI: 10.1016/j.msec.2015.03.062.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493115002441>

58. IMAZATO, S., 2003. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dental Materials*. Vol. 19, issue 6, s. 449 – 457. DOI: 10.1016/S0109-5641(02)00102-1.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564102001021>

59. HOSSEINI, S. M. et al., 2015. Effect of Ag doping on structural, optical, and photocatalytic properties of ZnO nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*. Vol. 640, p. 408 – 415. DOI: 10.1016/j.jallcom.2015.03.136.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092583881500849X>

60. LONG, S. et al., 2016. Effect of doping behaviors of Ag and S on the formation of p-type Ag–S co-doped ZnO film by a modified hydrothermal method. *Thin Solid Films*. Vol. 600, p. 13 – 18. DOI: 10.1016/j.tsf.2015.12.070.

Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040609016000031>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Všechny uvedené zkratky byly vysvětleny v textu diplomové práce.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Struktura bakteriální buňky	14
Obrázek 2: Ukázka rozdílných antimikrobiálních mechanismů nanomateriálů	22
Obrázek 3: Schematická ilustrace adsorpce nanočástic stříbra do organické matrice	25
Obrázek 4: SEM obrázky oxidu zinečnatého ukazující rozdílné morfologie	27
Obrázek 5: Schematická presentace antibakteriálního mechanismu.....	32
Obrázek 6: Syntéza ZnO (nalevo) a Ag-ZnO-1 (napravo) s následnou filtrací	41
Obrázek 7: Ukázka plochy vzorku Ag-ZnO-1 (nalevo), Ag-ZnO-2 (napravo)	45
Obrázek 8: SEM snímky nanostrukturovaných mikročástic ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 po vyžihání	47
Obrázek 9: SEM snímky nanostrukturovaných mikročástic ZnO komerční, ZnO, Ag-ZnO-1 a Ag-ZnO-2 po vyžihání.....	49
Obrázek 10: Detail SEM snímků nanostrukturovaných mikročástic Ag-ZnO-1 (nalevo), Ag-ZnO-2 (napravo)	50
Obrázek 11: Sestavená aparatura potřebná pro průběh fotokatalytické aktivity plniv.....	52
Obrázek 12: Ukázka vytlačené struny EVA + 1 % ZnO (nalevo) a vylisované kompozitní destičky Versify 3401 + 1 % Ag-ZnO-1 (napravo)	56
Obrázek 13: Analyzované snímky lomových ploch uvedených kompozitních materiálů.....	58
Obrázek 14: Ukázka oplachovací metody dle ISO 22196	67

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Charakteristické údaje použitých chemikálií pro syntézu práškových plniv.....	38
Tabulka 2: Charakteristické údaje použitých chemikálií pro fotokatalytickou aktivitu.....	38
Tabulka 3: Procesní podmínky termoplastického míchání a lisování.....	41
Tabulka 4: Velikost krystalických domén D dle Scherrera.....	44
Tabulka 5: Hodnoty měrného specifického povrchu a_s , velikosti pórů a_p práškových plniv.....	51
Tabulka 6: Hodnoty teoretické koncentrace c_t a přepočtené koncentrace c standardů.....	53
Tabulka 7: Hodnoty rychlostní konstanty prvního řádu, odchylky měření a poločas.....	55
Tabulka 8: Hodnoty povrchové rezistivity a elektrické vodivosti práškových plniv.....	58
Tabulka 9: Hodnoty povrchové rezistivity čistých polymerních matric a připravených kompozitů.....	59
Tabulka 10: Hodnoty tažnosti při nejvyšší pevnosti a napětí při přetrhu v rámci.....	63
Tabulka 11: Navážka jednotlivých komponentů pro vykonání antibakteriálních testů.....	65
Tabulka 12: Vypočtené hodnoty antibakteriálních aktivit R jednotlivých typů vzorků dle ISO 22196.....	65

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: XRD difraktogramy nanostrukturovaných částic ZnO (vlevo), Ag-ZnO-1 (vpravo)	42
Graf 2: XRD difraktogram hybridních částic Ag-ZnO-2	43
Graf 3: XRD difraktogram posunu krystalografických píků práškových produktů	43
Graf 4: EDX spektra vzorků Ag-ZnO-1 (výše), Ag-ZnO-2 (níže)	46
Graf 5: BET průběh nárůstu měrného specifického povrchu a_s v závislosti na celkovém objemu pórů a_v pro ZnO (nalevo) a Ag-ZnO-1 (napravo).....	51
Graf 6: Závislost absorbance A na přepočtené koncentraci c	53
Graf 7: Průběh degradace krystalové violeti v porovnání s uvedenými plnivý v závislosti na čase t	54
Graf 8: Závislost reálné ε' a imaginární ε'' složky permitivity a ztrátového faktoru $tg \delta$ na frekvenci pro materiály: čisté Versify 3401, Versify 3401 + 5 % ZnO a Versify 3401 + 5 % Ag-ZnO-1.....	60
Graf 9: Závislost reálné ε' a imaginární ε'' složky permitivity a ztrátového faktoru $tg \delta$ na frekvenci pro materiály: čistá EVA, EVA + 5 % ZnO a EVA + 5 % Ag-ZnO-1	61
Graf 10: Závislost reálné ε' a imaginární ε'' složky permitivity a ztrátového faktoru $tg \delta$ na frekvenci pro materiály: čistý PP, PP + 5 % ZnO a PP + 5 % Ag-ZnO-1	62
Graf 11: Závislost síly F při přetrhu na tažnosti a pevnost pro čisté polymerní matrice Versify 3401, EVA a PP a kompozity obsahující 5 % ZnO a 5 % Ag-ZnO-1 plniva	64