

# Vztah povrchových vlastností kompozitních materiálů na adhezi buněk

Bc. Monika Konečná

---

Diplomová práce  
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. Monika Konečná**  
Osobní číslo: **T14472**  
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Vztah povrchových vlastností kompozitních materiálů na adhezi buněk**

### Zásady pro vypracování:

Studentka se seznámí s dosud publikovanými studiemi o vztahu povrchových vlastností materiálů k adhezi eukaryotických buněk a možnostech jejich modifikace. V návaznosti na takto získané informace naplánuje a provede sérii experimentů za účelem přípravy kompozitů s různými povrchovými vlastnostmi a následně stanoví vztah povrchových vlastností k buněčné adhezi. Materiály charakterizuje také z hlediska objemových vlastností. Studentka se detailně seznámí s prací v laboratoři buněčných kultur a s metodami přípravy a charakterizace kompozitů.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

**SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., RELICOVÁ, 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: **doc. Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.**  
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*

## 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<sup>1)</sup>;
- 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<sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3)</sup> 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<sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit 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, považuji 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 12. 5. 2016

Monika Konečná

<sup>4)</sup> 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 nevyjádřeně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhlo 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 odezvané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k prohlídce 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 výtah, opisy nebo rozmnoženiny.

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

<sup>5)</sup> 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 nezahrnuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, uděje-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 vzdělávacímu zařízení (školské dílo).

<sup>6)</sup> 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 Školské dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Dápodobně autor takového díla udělí svolení bez vědomí důvodu, mohou se tyto azoby domáhat nahrazením chybného projevu jeho vůle v soudu. Ústanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užití 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 jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložil, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlíží k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce je zaměřena na přípravu a charakterizaci kompozitních materiálů na bázi polyanilinu. V teoretické části jsou shrnuty dosavadní poznatky o kompozitních materiálech s vodivými polymery. V praktické části byla provedena syntéza různě modifikovaných polyanilinových kompozitů, a to především s příměsí nanočástic stříbra a siliky. Nejen syntéza polyanilinových prášků, ale také příprava filmů byla hlavní náplní této práce. Další krok zahrnoval měření materiálových charakteristik, mezi které můžeme zařadit povrchovou energii a měrnou elektrickou vodivost. Buněčná adheze a cytotoxicita byla testována pro vyhodnocení biologických vlastností materiálů. V poslední části byly vyhodnoceny antibakteriální vlastnosti pomocí diskové difúzní metody.

Klíčová slova: kompozity, polyanilin, vodivost, povrchová energie, antibakteriální testy, cytotoxicita

## **ABSTRACT**

This thesis focused on the preparation and characterization of composite materials based on polyaniline. The theoretical part summarizes current knowledge on composite materials with conducting polymers. In the practical part the synthesis of various modified polyaniline composites, especially with the additions of silver nanoparticles and silica was performed. Not only the synthesis of polyaniline powders, but also the preparation of films was the main focus of this thesis. Another step included measurements of material characteristics, such as surface energy and a specific electric conductivity. Cell adhesion and cytotoxicity was tested to evaluate the biological properties of materials. In the last part was evaluated antibacterial properties by disk diffusion method.

Keywords: composites, polyaniline, conductivity, surface energy, antibacterial assays, cytotoxicity

Na tomto místě bych chtěla především poděkovat vedoucímu mé diplomové práce, doc. Ing. Petru Humpolíčkovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné informace k tématu a trpělivost při vzniku této práce. Dále Ing. Zdence Kucekové Ph.D. a Ing. Nikole Mikušové za ochotu a pomoc při práci v laboratoři buněčných kultur a také při vyhodnocování výsledků. V neposlední řadě bych chtěla také poděkovat za morální podporu celé své rodině.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 KOMPOZITY</b> .....	<b>12</b>
1.1 VYUŽITÍ KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ .....	13
1.2 ČLENĚNÍ KOMPOZITŮ .....	16
1.3 MATRICE .....	17
1.3.1 Kompozity s polymerní maticí (PMCs).....	18
1.3.2 Kompozity s keramickou maticí (CMCs).....	19
1.3.3 Kompozity s kovovou maticí (MMCs).....	20
1.4 PLNIVA.....	20
1.4.1 Částicová plniva .....	21
1.4.2 Vytuzující vlákna .....	21
<b>2 KOMPOZITY S VODIVÝMI POLYMERY</b> .....	<b>22</b>
2.1 ELEKTRICKY VODIVÁ PLNIVA .....	23
2.1.1 Materiály na bázi uhlíku, jako jsou saze a uhlíkové nanotrubičky .....	23
2.1.2 Práškové kovy a jejich sloučeniny .....	24
2.1.3 Vodivé polymery (ICP) např. polypyrrol (PPY) a polyanilin (PANI).....	24
2.2 VODIVÉ POLYMERY .....	25
2.2.1 Mechanismus elektrické vodivosti .....	27
2.2.2 Transport náboje.....	27
2.2.3 Chemická vazba a konjugace .....	28
2.2.4 Dopování polymerů.....	28
2.3 PERKOLAČNÍ TEORIE .....	29
2.3.1 Základní perkolační model.....	30
2.3.2 Vodivost kompozitů a perkolační práh .....	31
2.4 APLIKACE KOMPOZITŮ S VODIVÝMI POLYMERY .....	33
<b>3 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA A CYTOTOXICITA POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ</b> .....	<b>34</b>
3.1 NANOTOXIKOLOGIE .....	35
3.2 STŘÍBRO JAKO ADITIVUM .....	37
3.2.1 Využití nanočástic Ag .....	38
3.2.2 Antibakteriální aktivita.....	39
3.2.3 Mechanismus cytotoxicity nanočástic stříbra .....	40
3.2.4 PANI-Ag kompozity .....	42
3.3 OXID ZINEČNATÝ JAKO ADITIVUM.....	44
3.3.1 Využití nanočástic ZnO.....	45
3.3.2 Antibakteriální aktivita.....	46
3.3.3 Mechanismus cytotoxicity oxidu zinečnatého .....	48
3.3.4 PANI-ZnO kompozity .....	50
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>51</b>
<b>4 POSTUP PŘÍPRAVY VZORKŮ</b> .....	<b>52</b>



4.1	SYNTÉZA PRÁŠKOVÉHO POLYANILINU.....	53
4.1.1	Postup přípravy prášků.....	53
4.2	SYNTÉZA POLYANILINOVÝCH FILMŮ.....	57
<b>5</b>	<b>METODIKA.....</b>	<b>59</b>
5.1	MĚŘENÍ ELEKTRICKÉ VODIVOSTI ČTYŘBODOVOU METODOU.....	59
5.2	MĚŘENÍ POVRCHOVÉ ENERGIE POMOCÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU.....	61
5.3	TESTY BUNĚČNÉ AKTIVITY.....	63
5.3.1	Informace o použitých buněčných liniích a kultivačním médiu.....	64
5.3.2	Trypsinizace a kultivace buněk.....	64
5.3.3	Buněčná adheze.....	65
5.3.4	Testy cytotoxicity práškového extraktu.....	65
5.3.4.1	MTT.....	66
5.4	ANTIBAKTERIÁLNÍ TESTY.....	67
5.4.1	Disková difúzní metoda.....	67
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY.....</b>	<b>69</b>
6.1	MĚRNÁ ELEKTRICKÁ VODIVOST PANI PRÁŠKŮ.....	70
6.2	POVRCHOVÁ ENERGIE PANI FILMŮ.....	71
6.3	BUNĚČNÁ ADHEZE.....	74
6.4	CYTOTOXICITA PRÁŠKOVÉHO EXTRAKTU.....	76
6.5	ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA.....	79
<b>7</b>	<b>DISKUZE.....</b>	<b>82</b>
	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>85</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>86</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>99</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>101</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>103</b>

## ÚVOD

Diplomová práce se zabývá vodivým polymerem, polyanilinem, jež se stal zajímavým a slibným především pro využití v biomedicínských aplikacích. Běžně se může vyskytovat v několika formách, které se navzájem liší stupněm oxidace a protonace (Humpolíček et al., 2012). Emeraldinovou sůl, jejíž vodivost se pohybuje v řádech 100 S/cm můžeme převést na nevodivou bázi, kdy se vodivost změní z jednotek S/cm na  $\sim 10^{-9}$  S/cm (Stejskal a Gilbert, 2002).

Velmi slibné se také jeví využití těchto vodivých polymerů jako kompozitních materiálů. V posledních letech se objevilo v literatuře velké množství publikací, zabývající se na například syntézou nanostrukturovaných částic PANI-Ag kompozitů, které jsou zajímavé především z hlediska antibakteriálních vlastností. Také silika se stala velmi zajímavým prvkem při syntéze kompozitů, a to především díky příznivým vlastnostem, jako je velikost pórů, morfologie a povrchové vlastnosti, které mají velký potenciál v budoucím využití (Akhter et al., 2012).

V praktické části budou proto vytvořeny různé modifikace, jak práškových forem, tak polyanilinových filmů společně se stříbrem a silikou. Příprava bude provedena podle postupu IUPAC (Stejskal a Gilbert, 2002). Mezi tyto modifikace můžeme zařadit syntézu kompozitu polyanilin-Ag, dále bude připravena polyanilinová báze, která v dalším kroku zreaguje s dusičnanem stříbrným a v poslední části bude vytvořen kompozit polyanilin-silika a polyanilin-Ag-silika. Pro srovnání bude také provedena syntéza čisté polyanilinové soli. Poté bude následovat série testování a to jak materiálových charakteristik, mezi které patří například měrná elektrická vodivost a povrchová energie, tak testy biologické aktivity, cytotoxicity a antibakteriálních vlastností. Cytotoxicita extraktů práškových forem bude zkoumána podle metod ČSN EN ISO 10 993-5, a to v koncentracích 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 1% a viabilita buněk bude vyhodnocena pomocí testu MTT.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 KOMPOZITY

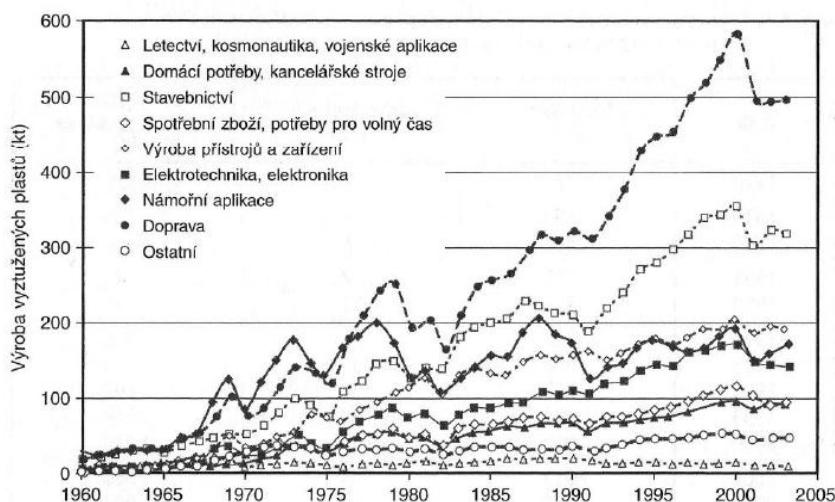
Termín kompozit původně vznikl ve strojírenství, kdy byly zkombinovány dva materiály s cílem napravit některé nedostatky a došlo tak k vytvoření kompozitu s užitečnými vlastnostmi. Například děla, která byla tvořena ze dřeva, byla opatřena měděnou konstrukcí, protože u dutého dřevěného válce docházelo často k prasknutí díky vnitřnímu tlaku. Objev kompozitů měl zásadní význam například u plachetnic, kdy díky železným trámům došlo k zamezení útoku mořských organismů na dřevo (Kelly a Mortensen, 2015).

Kompozitní materiál je definovaný jako heterogenní systém, který je tvořen minimálně dvěma fázemi. Existence těchto fází není snadné rozlišit pouhým okem a také se u nich výrazně liší chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti. Jedna z fází plní funkci *pojivové matrice* a druhá fáze, která je označovaná jako sekundární, se nazývá u polymerních kompozitů *plnivo* (Campbell, 2010). Mezi hlavní výhody kompozitních materiálů patří vysoká pevnost a tuhost, v kombinaci s nízkou hustotou při porovnání s jinými materiály, což v konečné fázi umožňuje docílit snížení hmotnosti materiálu. Mezi další výhodu můžeme zařadit odolnost vůči korozi, dobré tlumící vlastnosti a dále také možnosti vyrábět kompozity se složitými tvary, díky kombinaci různých typů materiálů. Oproti tomu musíme počítat se složitějším způsobem výroby a také zpracováním. Mezi nevýhody patří také vysoké náklady při navrhování náročných konstrukcí, a v neposlední řadě obtížnou identifikaci při poškození a náročnou opravu oproti běžným materiálům (Rusmee, 2005). Výztuž neboli pojivo zajišťuje pevnost a tuhost, proto je ve většině případů výztuž tvrdší, pevnější a tužší oproti matici. Výztuž se vyskytuje hlavně ve formě vláken nebo částic. Částicové kompozity mají tendenci být mnohem slabší a méně tuhé než kontinuální vláknové kompozity, ale vykazují mnohem nižší cenu. Částicové kompozity také obsahují méně vyztužení, až o 40-50 objemových procent, kvůli potížím při zpracování a křehkosti, ale hlouběji budou tyto dvě skupiny plniv popsány v kapitolách 1.4.1 a 1.4.2 (Campbell, 2010). Matrice (kontinuální fáze) udržuje vlákna ve správné orientaci a chrání je před otěrem. V polymerním kompozitu s kovovou maticí, které tvoří pevné spojení mezi vláknem a maticí, je hlavním úkolem matrice přenést zatížení prostřednictvím smykového napětí na rozhraní. U kompozitů s keramickou maticí je cílem zvýšení houževnatosti, spíše než docílení vyšší pevnosti a tuhosti (Bayraktar, 2016). Vlastnosti kompozitů můžeme velmi dobře ovlivnit prostřednictvím vlastností materiálových komponent a objemovým zastoupením vláken v matici. Vlastnosti jsou také ovlivněny geometrií složek, orientací vláken konfigurací jednotlivých vrstev. Z mikroskopického hlediska jsou kompozitní materiály hetero-

genní (nestejnorodé) struktury. Pokud se ovšem na kompozity podíváme z úrovně makrostruktury, můžeme je pokládat za homogenní (stejnorodé), aniž by tyto strukturální faktory ovlivnily anizotropii, která se mění v každém směru. Proto kompozity z hlediska makrostruktury můžeme pokládat za homogenní anizotropní materiál, jehož elastické vlastnosti jsou funkcemi směrů. Pokud změním směr souřadnic uvažovaných bodů, vlastnosti se nemění. Pokud srovnáme navrhování kompozitů s klasickými materiály, zjistíme, že má významné přednosti. Umožňuje nám to zlepšovat a řídit mechanické vlastnosti nově navrhovaného tělesa, jako je například pevnost, tuhost (poddajnost) a životnost (Petrtýl, 1991).

## 1.1 Využití kompozitních materiálů

Vzhledem k pokroku ve výrobních a technologických postupech, nacházejí dnes kompozity uplatnění v mnoha výrobních, ale i provozních oblastech (Ehrenstein, 2009). Kompozity jsou třídou materiálů, které obdržely velkou pozornost především díky stále se objevujícím novým typům materiálů, které jsou využitelné například v oblastech nanokompozitů a pro lékařské účely. Staly se jedním z nejpoužívanějších materiálů, především díky jejich přizpůsobivosti a snadné kombinaci s různými materiály (Hu, 2012). Využití nacházejí v průmyslových odvětvích, přes osobní, nákladní, lodní dopravu, letectví, v kosmickém průmyslu, u železničních vagonů atd. Například epoxidové pryskyřice s uhlíkovými vlákny se hojně využívají u závodních automobilů a polyesterové pryskyřice s vhodnými plnivými se staly jedny z prvních aplikací v silniční dopravě. Na obrázku č. 1 můžeme vidět vývoj vyztužených kompozitů v různých průmyslových odvětvích v USA v rozmezí let 1960-2005, kdy rozvoj těchto materiálů rapidně stoupl. Dále kompozitní materiály nacházejí uplatnění pro biomedicínské účely v oblasti dentálních a tkáňových materiálů, také se mohou využívat u katalyzátorů, senzorů a mnoha dalších (Gay, 2015). Práce Ziebowicz, Szewieczek, Dobrzanski, 2007 se zabývá možností aplikací kompozitů s měkkými magnetickými vlastnostmi, využitelnými jako indukční složka v elektronickém průmyslu. Závěrem bylo prokázáno, že použití nanostrukturovaných prášků (FINEMET) společně s termoplastickým PE vykazuje příznivé magnetické vlastnosti využitelné v mnoha aplikacích, jako je telekomunikační technika, senzory, transformace signálu a další.

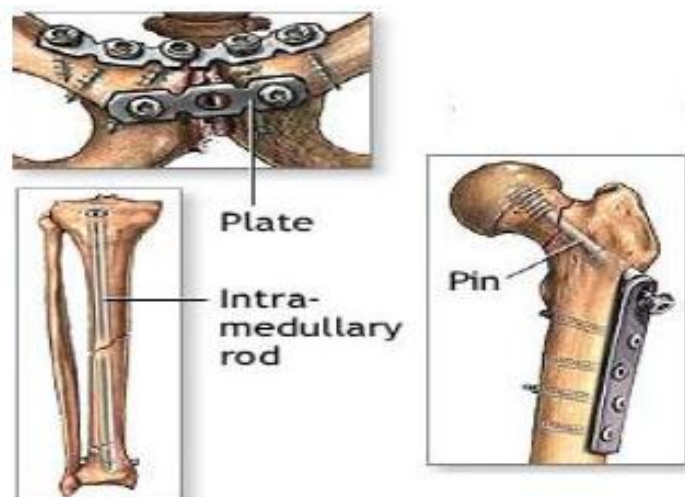


Obrázek 1 – aplikace vyztužených polymerů v USA

(Ehrenstein, 2009)

Velmi zajímavé využití kompozitů se nachází v oblasti kostního tkáňového inženýrství při opravách poškozené kostní tkáně pomocí scaffoldů. Využívá se zde řada syntetických materiálů na bázi bioaktivních skel a jejich polymerních kompozitů. Velmi slibným kompozitem se jeví sklokeramický scaffold se zlepšenými vlastnostmi díky povrchové modifikaci pórovité sítě. Z materiálového hlediska jeden typ materiálu obvykle neposkytuje potřebné mechanické nebo chemické vlastnosti, proto jsou kombinovány vlastnosti dvou nebo více materiálů. Polymerní a sklokeramické materiály, které mají schopnost degradovat *in vivo*, jsou ideálními kandidáty pro kompozitní scaffold, jelikož se postupně rozkládají a zároveň tvoří novou tkáň. Sklo a keramika v čisté formě jsou velmi křehké a proto vznik kompozitů tak těžší z výhod obou typů materiálů a minimalizuje jejich nedostatky. Kompozitní materiály proto nacházejí uplatnění při léčbě osteochondrálních defektů, při léčbě chrupavek, kloubních pouzder, při poškození degenerativních onemocnění, jako je osteoartritida (Chen, Roether, Boccaccini, 2008). Jedny z nejdůležitějších skupin kompozitních scaffoldů patří skupina bioaktivních skelných částic (Bioglass) společně s biodegradovatelnými polymery (PLLA, PHB), které prokázaly vysoký aplikační potenciál. Tyto materiály mají dobře definovanou porézní strukturu, zároveň jejich mechanické vlastnosti jsou blízké houbovitě kosti a mají také vysokou biologickou aktivitu (Davis a Leach, 2008).

Zanfir et al., 2016 se zabývá novými kompozity na bázi kolagen-hydroxyapatit/barium, titan (coll-HA/BT) využitelné v tkáňovém inženýrství. *In vitro* testy ukázaly, že uváděný kompozitní materiál představuje vhodný scaffold pro růst, adhezi a diferenciaci AFSC osteogenních buněk. V článku Cucuruz et al., 2016 se zabývá syntézou a charakterizací nových kompozitních materiálů na bázi polymetakrylové kyseliny a hydroxyapatitu s aplikacemi v zubním lékařství. Výsledky v této práci jsou v souladu s dalšími výzkumníky, kteří ukázali, že PMMA/HA kompozity vykazují dobrou biokompatibilitu, osteoinduktivní vlastnosti a lepší kompatibilitu s povrchem HA a buněčné matrice. Práce Pravee, Jackson a Naviin, 2012 se zabývá aplikacemi polymerních kompozitů v ortopedii, kdy se tyto materiály jeví jako velmi variabilní v možnostech využití různých tvarů a forem (filmy, vlákna atd.). Termoplastické polymery tvoří velmi pevné vazby, jsou biokompatibilní a vykazují odolnost vůči smáčení a vlhkosti (PEEK-PEAK). Dále například termosetové polymery na bázi epoxidových pryskyřic se liší jednak biokompatibilitou, ale také životností. Nenacházejí takové využití v ortopedických aplikacích, jsou však atraktivní v oblasti fixace zlomeniny. Polymerní kompozity, které se využívají v oblasti kostních plotének (obr. č. 2), mohou být vyrobeny jak z termosetů tak i termoplastů. Mezi takové materiály patří například CF/epoxid nebo CF/PMMA, CF/PP, CF/PEEK a další. Může zde být také zařazena kyselina polymléčná (PLA) nebo polyglykolová (PGA), které se využívají jako částečně vstřebatelné kompozitní materiály (např. CF/PLA).



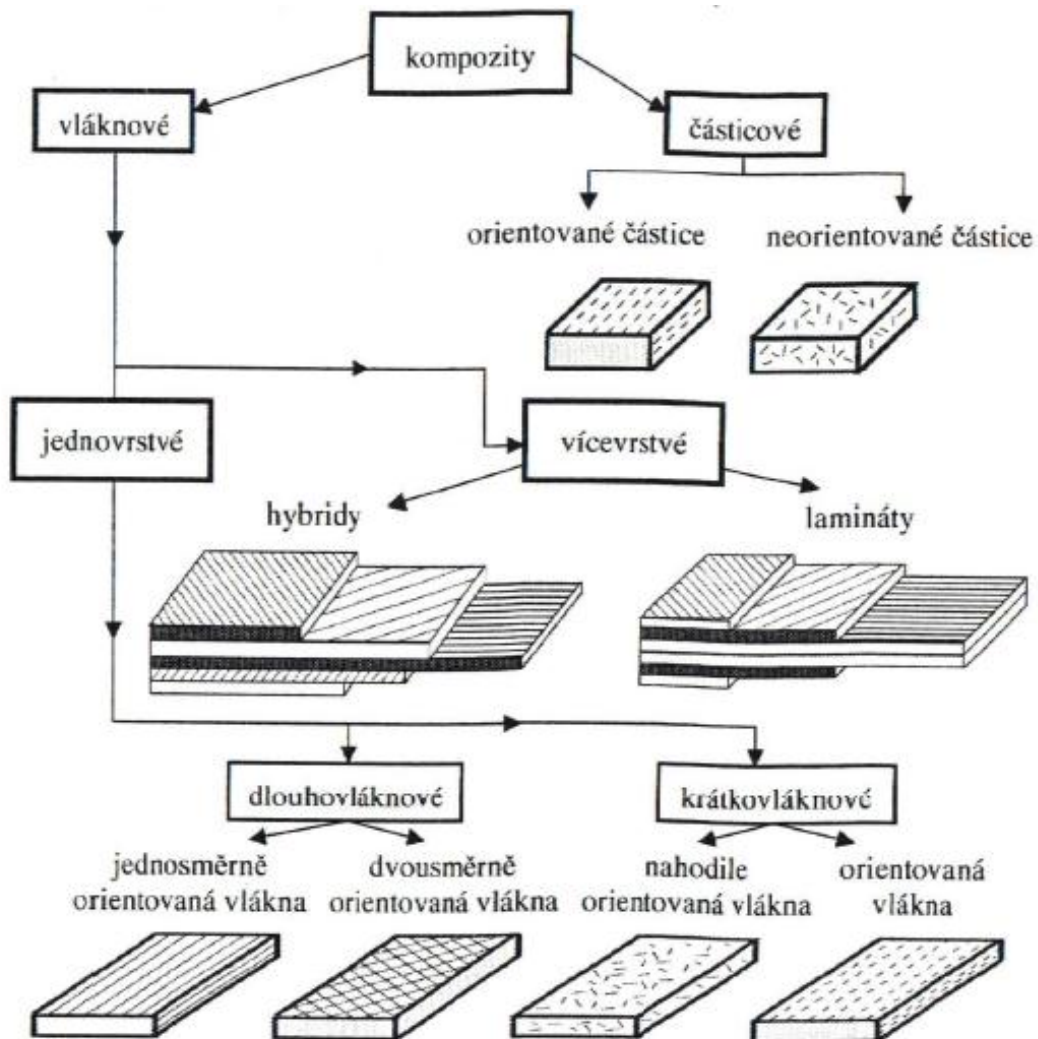
Obrázek 2 – polymerní kostní ploténky (Praveen, Jackson, Naviin, 2012)

## 1.2 Členění kompozitů

Při možnostech vzájemného kombinování složek kompozitního materiálu se stává členění kompozitů komplikovaným problémem. Konstrukční kompozity můžeme nejčastěji klasifikovat na základě použité matrice nebo plniva (výztuže), (Ehrenstein, 2009). Mezi vyztužující materiál můžeme zařadit například kovy (W, Fe, Cr, Mo, Ti, Ni a jejich slitiny). Mezi nekovové materiály patří jak anorganické, tak organické. Z anorganické výztuže to mohou být keramické materiály ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$ , SiC, TiC, WC, atd.) dále uhlíkové, borové a skleněné (E, S). Skleněná vlákna z bezalkalické skloviny jsou vynikajícím elektrickým izolantem s vysokou propustností pro záření, proto se označují jako E-vlákna. Je to nejčastěji používaný typ vlákna. Dalším typem je např. S-sklo s vyšším obsahem  $\text{SiO}_2$ , MgO a  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Mezi organické výztuže můžeme zařadit polymerní materiály jako aramidová vlákna (Kevlar) nebo polyamidová vlákna (Nylon) atd. Aramidová vlákna mají mnoho vynikajících vlastností, ovšem také některé nevýhody. Je to nejlehčí vyztužující vlákno, je silně anizotropní, to znamená, že jeho vlastnosti měřené ve směru vlákna se liší od vlastností v příčném směru. Vyskytují se na trhu ve formě pramenců, přízí, tkanin a povrchových rohoží. Matrici můžeme opět rozdělit na kovy, mezi které můžeme zařadit Al, Ag, Fe, Mg, Ti, Co, atd. A dále na nekovové materiály, kde se z anorganických matric využívají keramické materiály, skla, uhlík a z organických materiálů jsou to především polyestery, vinylestery, fenolické pryskyřice, epoxidy, polyamidy atd. Podle geometrického tvaru výztuže (nosné části) můžeme kompozity rozdělit na vláknové, částicové a skeletové. Skeletový kompozitní materiál je tvořen pórovitou maticí prostoupenou souvislým nosným skeletem. Jednotlivé typy výztuže podle geometrické struktury jsou popsány níže (Ehrenstein, 2009; Vrbka, 2008).

Materiál vláken a materiál matrice můžeme kombinovat různým způsobem, kompozit může být typu kov-kov, polymer-polymer, keramika-kov, keramika-polymer. Požadavkem je však dobrá mezifázová adheze a vhodné deformačně-napěťové vlastnosti (Vrbka, 2008). Rozdělení kompozitů na základě geometrie složky vyztužení můžeme vidět na obrázku č. 3. Je patrné, že základní rozdělení je na vláknové a částicové kompozity. Vláknové kompozity jsou vyztuženy vlákny, která mají délkové rozměry zřetelně větší než průřezové. Částicové kompozity jsou plněny částicemi, které můžeme definovat jako nevláknový útvar, který nemá dlouhý rozměr (Laš, 2004).





Obrázek 3 – klasifikace kompozitních materiálů (Laš, 2004).

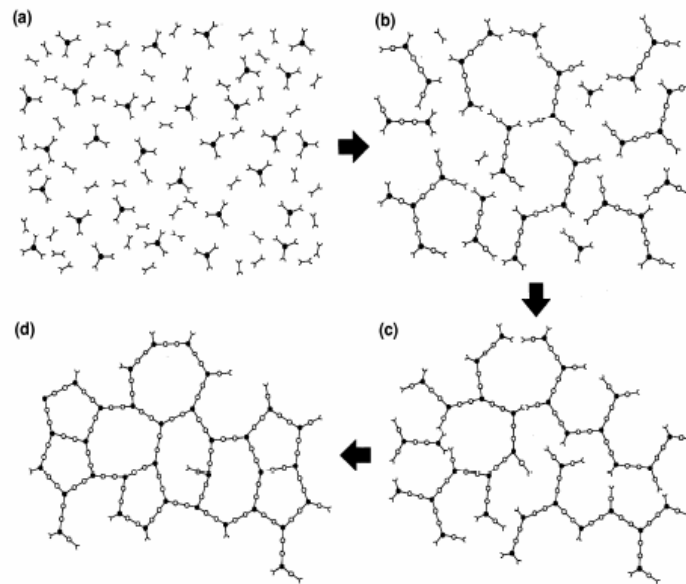
### 1.3 Matrice

Matrice v kompozitním materiálu je spojitou fází a zajišťuje hlavně celistvost kompozitního tělesa. To znamená, že zabezpečuje dokonalé spojení nosné části a vytváří tvar, který zajistí řádnou funkci. Matrice udržuje preferovaný směr vláken a přenáší působící zatížení do výztuže. Při použití křehkých vláken matrice pomáhá zvyšovat lomovou houževnatost a také určuje odolnost celého kompozitu (Iftekhhar, 2004). Na základě typu matrice můžeme členění kompozitů rozdělit na materiály s kovovou maticí (z ang. metal matrix composites, MMCs), s polymerní maticí (PMCs) a dále na materiály s keramickou maticí (CMCs), (Jose et al., 2012).

### 1.3.1 Kompozity s polymerní matricí (PMCs)

Tento typ kompozitu se skládá z různých krátkých nebo nekonečných vláken spojených dohromady organickou polymerní matricí. Na rozdíl od keramického matricového kompozitu (CMCs), ve kterém se výztuž používá zejména pro zlepšení lomové houževnatosti, vyztužení PMC poskytuje vysokou pevnost a tuhost. PMC je navržen tak, že mechanické zatížení je přenášeno do konstrukce tvořenou výztuží (Wang, Zheng, Zheng, 2011). PMC jsou velmi populární především díky nízké ceně a jednoduchým způsobem zhotovení. Dále mezi výhody vyztužených polymerních matric můžeme zařadit vysokou odolnost proti zlomení, odolnost proti otěru, nárazu, proti korozi a také například odolnost proti únavě. Na druhou stranu jejich omezení způsobují především nízké teploty jejich použití (Jose et al., 2012). Do této skupiny můžeme zařadit termoplastické polymery a termosety, které patří mezi nejpoužívanější typy polymerních matric. Termoplastické kompozity umožňují velmi produktivní výrobu kompozitních dílů. Výrobní cyklus je mnohem kratší než při použití pryskyřic, které je potřeba vytvrdit. Termoplastickou matrici je potřeba pouze po vstříknutí do formy ochladit pod teplotu tvarové stálosti. Můžeme zde zařadit polypropylenové matrice, dále polyamidy (PA6, PA6.6), lineární polyestery (PET, PBT), které se používají pro tvarově komplikované díly. Další skupinou jsou reaktoplasty, mezi které můžeme zařadit nejlevnější nenasycené polyesterové pryskyřice (UP), dále vinylesterové pryskyřice (VE), epoxidové pryskyřice a například fenolformaldehydové pryskyřice (PF), které jsou nehořlavé a jsou proto používány do interiérů letadel, vozů metra atd. (Lenfeld).

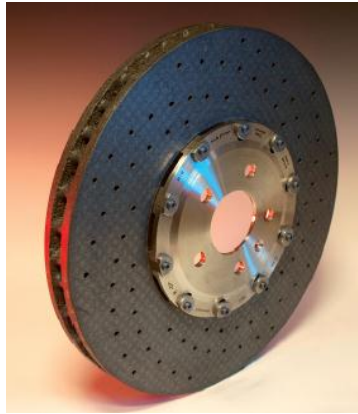
Na rozdíl od termoplastů, zahrnuje zpracování termosetů chemické reakce vytvrzování. Tento proces je znázorněn na obrázku č. 4. Obrázek (a) znázorňuje jednotlivé monomery a oligomery. Následně dochází ke zvýšení molekulové hmotnosti, což způsobí nárůst viskozity (obrázek b). Molekuly ve formě viskózní kapaliny přecházejí do gelového stavu. Tento zlomový bod se nazývá bod gelace a je znázorněn na obrázku (c). Na posledním obrázku (d) je znázorněn plně vytvrzený reaktoplast (Prime).



Obrázek 4 – schéma procesu vytvrzení reaktoplastu  
(Prime)

### 1.3.2 Kompozity s keramickou maticí (CMCs)

Tento typ kompozitu je vyroben z vláken vložených do keramické matrice a díky struktuře vláken a matrice mohou být ovlivněny vlastnosti celého kompozitu a tím přizpůsobeny konkrétním aplikacím. Jedná se zejména o kompozity vyrobené za účelem náročných tepelných a mechanických požadavků. Existuje mnoho různých typů CMC a to například C/SiC, což je kompozit složený z karbonových vláken a matrice z karbidu křemíku, kdy se tento materiál používá jako brzdový kotouč u osobních automobilů (obr. č. 5), (Clauß, 2008). Jak už bylo zmíněno, CMC se používají v mnoha procesech, kde je zapotřebí materiál s vysokou tepelnou a mechanickou odolností, proto se tyto materiály využívají pro horké plynové ventily ke kontrole toku plynu. Při porovnání s kovovými ventily je životnost těchto Ox/Ox kompozitů mnohem delší a proto kompenzuje jejich pořizovací náklady. Mezi další aplikace CMC, použitelné ve vysokoteplotních procesech, mohou být zařazeny plamenové trubky, výměníky tepla a dále například ochranné dlaždice. Vysoká odolnost proti opotřebení a příznivé třecí vlastnosti CMC vedou k aplikacím, jako jsou posuvná kontaktní ložiska, brzdy a různé spojovací desky (Raether, 2013).



Obrázek 5 – brzdové kotouče  
z C/SiC (Raether, 2013)

### 1.3.3 Kompozity s kovovou maticí (MMCs)

Kompozity s kovovou maticí obsahují kov s nízkou hustotou, jako je například hliník nebo hořčík, vyztužené částicemi nebo vlákny, a to karbidem křemíku, grafitem atd. (Kainer, 2006). Práce Salih et al., 2015 se zabývá svařováním hliníkových kompozitů (AMC), které přitahují značnou pozornost díky potenciálu pro letecké aplikace. Nicméně realizace používání těchto materiálů je velmi omezená vzhledem k obtížím související s postupy konvenčního svařování.

Nanočásticemi vyztužené kovové matrice jsou velmi slibné materiály, určené pro širokou škálu aplikací. Nanočástice zlepšují základní materiál, zvyšují odolnost proti opotřebení, zlepšují tlumivé vlastnosti a mechanickou pevnost. Různé druhy kovů, především Al, Mg, Cu, které se používají pro výrobu kompozitů, mohou být vyztuženy například keramickými nanočásticemi, a to karbidy, nitridy, oxidy, uhlíkovými částicemi atd. Tyto materiály by mohly být atraktivní pro výrobu brzdových součástí v leteckém průmyslu, v oblasti elektronických zařízení, u kotoučových brzd a například u třmenů (Casati a Vedani, 2014).

## 1.4 Plniva

Plniva patří mezi důležité přísady, které výrazně ovlivňují vlastnosti směsí a výrobků. Většinou jsou to tuhé látky používané hlavně ve formě prášku nebo vláken. Historicky poprvé bylo plnivo ve formě sazí použito do kaučuků, pro zlepšení pevnosti a tvrdosti materiálu (Ducháček, 2006). Podle tvaru vyztuže můžeme kompozity dělit na částicová a vláknová.

### 1.4.1 Částicová plniva

Částice mohou být přidány k matrici především pro zlepšení mechanických vlastností, jako je pevnost a tuhost. Přidáním částic do polymerní matrice můžeme ovlivnit řadu dalších vlastností, jako je rozměrová stálost, elektrická izolace, tepelná vodivost a další. Mezi základní typy částicových plniv mohou být zařazena plniva sférická (izometrická) nebo destičkové částice (anizometrické), (Bayraktar, 2016). Polymerní matrice se vyztužují především anorganickými částicemi, používají se mikromleté minerály. Složením jsou to hlavně hlinitokřemičitany (mastek, kaolin), vrstevnaté hlinitokřemičitany (slídy) a uhličitan (vápenec). Polyolefiny (PE, PP) vyztužené částicemi  $Mg(OH)_3$  jsou dokonce samozhášivé. Částicové vyztuže jsou také široce využívány například u biomedicínských kompozitů, kdy se využívají pro keramické matrice zubních a kostních aplikací. Nejčastější formou částicového plniva je hydroxyapatit, který se jako přirozená součást kostí vyskytuje společně s kolagenem. (Iftekhar, 2004). V práci Lung et al. 2015 jsou vyhodnoceny příznivé závěry začlenění nanočástice hydroxyapatitu v matrici pryskyřice *bis*-GMA, kdy díky silanizaci dochází ke zlepšení, jak fyzikálních, tak mechanických vlastností.

### 1.4.2 Vyztužující vlákna

Vlákna se vkládají do matricových materiálů, aby vytvořila vláknový kompozit. Díky schopnosti dosahovat vysokých pevností se vláknové kompozity staly nejdůležitější třídou kompozitních materiálů. Můžeme je dělit na dvě základní skupiny a to materiály s kontinuálními vlákny a krátkými vlákny. Mnohé vlastnosti jsou určeny právě délkou, orientací a objemovým podílem vláken. Zajímavým typem vláken jsou whiskery, vyrobené z monokrystalů s průměrem kolem 10  $\mu m$ . Dalším typem materiálů vyztužených kontinuálními vlákny z jednotlivých elementárních vrstev jsou lamináty. Matrice jsou většinou na bázi fenolických pryskyřic, plnivo může být jakýkoliv materiál přes papír, plátno, skleněná vlákna (Rusmee, 2005). Mezi vlákna, která se využívají v biomedicínských aplikacích, patří z polymerních materiálů především polyestery, polyolefiny, aromatické polyamidy, dále vstřebatelné polymery jako kolagen, kyselina polymléčná (PLA), z neorganických to jsou vlákna skleněná, uhlíková atd. (Iftekhar, 2004).

## 2 KOMPOZITY S VODIVÝMI POLYMERY

Elektricky vodivé polymerní kompozity (CPC) se skládají z jedné nebo více vodivých plniv, například uhlíku, kovu nebo vodivé polymerní částice rozptýlené v polymerní matrici na bázi jednoho polymeru nebo vícefázové směsi. Vzhledem k jejich výhodným vlastnostem, jako je snadná příprava, nízké náklady, schopnost pozměnit elektrické vlastnosti, slouží k aplikacím jako je například stínění elektromagnetického rušení, antistatické materiály, dále slouží jako senzory a vodiče. Elektrický odpor určuje specifické aplikace, které můžeme vidět na obrázku č. 6 (Pang et al., 2014). Vývoj vodivých polymerních kompozitů je velmi perspektivní a tyto materiály jsou stále široce studovány. Vzhledem k jejich odolnosti proti korozi a nízké hustotě, mohou CPC nahradit širokou škálu aplikací (Király a Ronkay, 2015). Práce Omar et al., 2016 se zabývá studiem kompozitních materiálů s vodivými polymery, jako elektrochemických senzorů pro NADH. Práce poukazuje na jedinečné vlastnosti kompozitů na bázi polymerů, kdy další práce výzkumníků by měly být zaměřeny na rozšíření využití těchto senzorů především pro detekci krevního séra, lidské moči a pro farmaceutické využití.

měrný odpor [ $\Omega \cdot \text{cm}$ ]		aplikace a produkty
$10^{14}$ $10^{12}$	izolant	izolace
$10^{10}$ $10^8$	elektrostaticky disipativní	antistatické materiály: palivové nádrže, průmyslové trubky, antistatické skladovací kontejnery, elektrostatické sloučeniny, elektronické konektory, mikroskopické materiály a další
$10^4$ $10^2$	vodivý	senzory a elektromagnetické rušení: samoregulační topná tělesa, snímací materiály, protiproudové chrániče, elektronická nosná zařízení, snímací zařízení pro organické kapaliny
$10^{-2}$ $10^{-4}$	vysoce vodivý	vodiče: kovové náhrady, vodivá adheziva a povlaky, bipolární desky, odpory, termoelektrické materiály, svorkovnice a další

Obrázek 6 – klasifikace materiálů CPC podle jejich měrného elektrického odporu a oblasti použití (vlastní tvorba, upraveno dle Pang et al., 2014)

## 2.1 Elektricky vodivá plniva

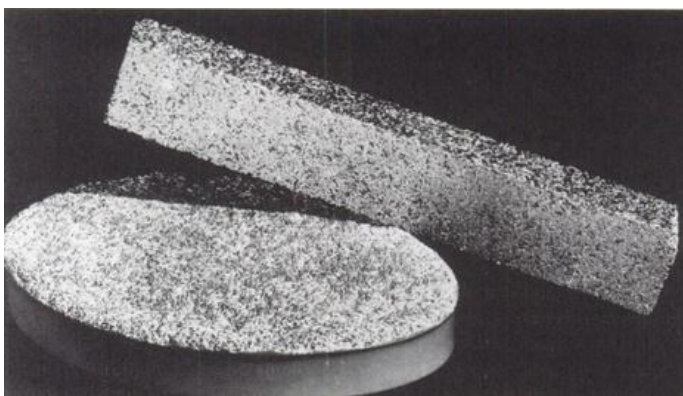
Z pohledu elektrické vodivosti můžeme většinu polymerních materiálů zařadit do skupiny nevodičů. Jejich měrná elektrická vodivost (konduktivita) je menší než  $10^{-12}$  S/cm. Včleněním elektrovodného plniva do polymerní matrice za určitých podmínek vznikne elektrovodivý kompozitní systém. Začleněním vodivého plniva dostaneme materiál s dobrými dielektrickými a tepelnými vlastnostmi. Vodivost je tedy vlastnost materiálu, která umožňuje přenášet nebo vést elektřinu a teplo. Mezi elektrovodivá plniva můžeme kromě kovových prášků zařadit plniva na bázi různých modifikací uhlíku. Mezi tyto modifikace patří například částice grafitu, dále různé přechodové formy alotropů uhlíku, uhlíkové saze, fullereny, uhlíkové nanotrubičky nebo grafenové nanodestičky (Pelíšková a Sába, 2012). Různé typy vodivých plniv spolu s matricí vytvoří kompozitní materiál s elektrickou vodivostí. Tři nejdůležitější skupiny vodivých plniv jsou zmíněny níže (Hooshmand et al., 2011).

### 2.1.1 Materiály na bázi uhlíku, jako jsou saze a uhlíkové nanotrubičky

Saze jsou široce používaným plnivem pro polymery, využívající se za účelem upravení mechanických, elektrických a optických vlastností. Elektricky vodivé saze obdržely zvláštní pozornost díky výrobě vodivých polymerních kompozitů. Používají se v aplikacích, jako speciální elektrické díly v automobilech, elektrody pro palivové články a další. Mezi nejdůležitější vlastnosti patří specifický povrch a struktura, které významně ovlivňují elektrickou vodivost (Pantea et al., 2003). Jak bylo zmíněno výše, jako plnivo mohou být využity také uhlíkové nanotrubičky (CNT). CNT jsou alotropní formou vyskytující se s válcovitou nanostrukturou. Jsou to multifunkční materiály využitelné pro nanoelektronické a fotovoltaické zařízení, dále jako supravodiče, elektromechanické pohony a například elektrochemické kondenzátory (Hooshmand, 2011). Elektrické aplikace uhlíku a jejich kompozitů popisuje také ve svém článku D. D. L. Chung, 2004. Zmiňuje aplikace, které jsou zkoumány především pro potřeby průmyslu, a to od elektrod, snímačů, elektrických spínačů, přes stínění elektromagnetického rušení.

### 2.1.2 Práškové kovy a jejich sloučeniny

Pokud přidáme plnivo v podobě kovových částic, zvýšíme tím u většiny polymerních kompozitů vodivost. Při výběru materiálu a plniva je potřeba dbát na správnou kombinaci složek. Například měď v materiálu polykarbonát způsobuje degradační účinky (Xanthos, 2010). Jako vodivé termoplasty se obvykle využívají matrice ABS, PE, PP, PS, PBT a další. Plniva mohou být použita například jako hliníkové vločky (obr. č. 7), vlákna z nerezové oceli, pokovená skla, poniklovaná uhlíková PAN atd. (Katz a Mileski, 1987).



Obrázek 7 – aluminum/epoxy  
kompozit (Katz, Mileski, 1987)

### 2.1.3 Vodivé polymery (ICP) např. polypyrrol (PPY) a polyanilin (PANI)

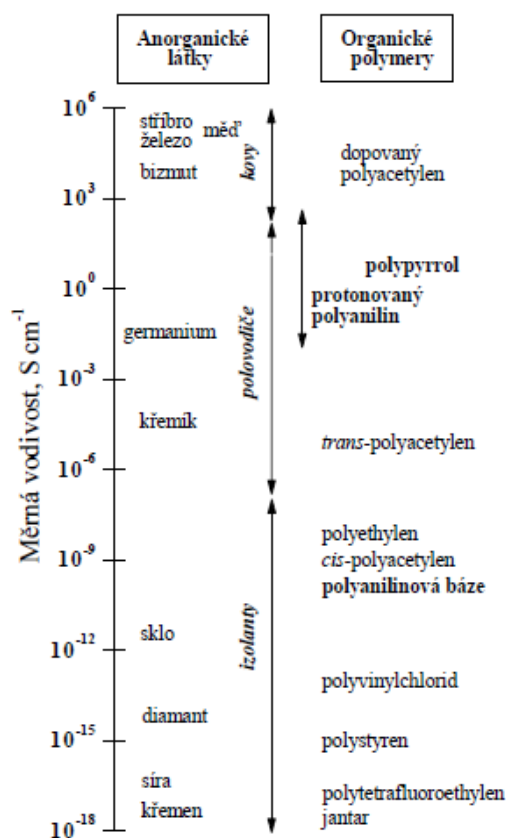
Vodivé polymery vyvolaly mezi výzkumníky velký zájem, a to především díky dobré vodivosti, stabilitě, snadné přípravě, cenové dostupnosti a dobrým redoxním vlastnostem ve srovnání s jinými organickými materiály. Vodivé polymery mají potenciál pro zařízení kombinující vlastnosti mechanické, elektrické a fotovoltaické. Mezi tyto materiály můžeme zařadit polyanilin (PANI), polypyrrol (PPY) a polythiofen (PTH), (Takpire a Waghuley, 2015). Podrobnější informace o vodivých polymerech podává kapitola 2.2.



## 2.2 Vodivé polymery

Vodivé polymery (CPs) jsou klasifikovány jako materiály, které vykazují vysoce reverzibilní redoxní chování díky neobvyklé kombinaci vlastností kovů a plastů. Velkou pozornost tyto materiály přilákaly vzhledem k jejich multifunkčnosti a snadnosti syntézy (Bagheri, Ayazi, Naderi, 2013). Vodivé polymery, patřící do skupiny polyaromátů, jako je polyacetylen, polyanilin, polypyrrol, polythiofen, poly(p-fenylen), poly(fenylen-vinylen), byly důkladně studovány (obr. č. 8). Ze všech výše zmíněných, je polyanilin pro mnoho vědeckých skupin tím nejzajímavějším a to především díky stabilitě v přítomnosti kyslíku a vody. Poprvé jej připravil Letheby v roce 1962 elektrochemickou oxidací anilinu v kyselině sírové (Kumar a Sharma, 1998).

Historie výše zmíněných vodivých polymerů začíná v roce 1977, kdy japonská vědecká skupina v čele s Hideki Shirakawem objevila, že halogenací *trans*-polyacetylen je zvýšena elektrická vodivost o několik řádů. Tato vodivost byla dosažena přítomností par jódu, kdy výsledný produkt dosahoval vodivosti 0,01-30 S.m<sup>-1</sup>. Za objev a rozvoj vodivých polymerů, byla v roce 2000 udělena Nobelova cena již zmíněnému Hideki Shirakawovi, dále americkému fyzikovi Heegerovi a chemikovi MacDiarmidovi z Pensylvánské univerzity (Nešpůrek, Prokeš, Stejskal, 2001). Konjugovaný systém střídání jednoduché a dvojně vazby, zlepšuje stabilitu molekuly, také pohyblivost elektronů a dopravu elektrického náboje v rámci polymerního řetězce (Moutsatsou et al., 2015). Zlepšením vodivosti docílíme také přípravou vodivých kompozitních materiálů, které přilákaly širokou pozornost především díky snadnému zpracování, nízkým nákladům a schopností pozměnit elektrické vlastnosti ve srovnání s čistými vodivými polymery (Pang et al., 2014).



Obrázek 8 – elektrická vodivost vybraných látek (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2011)

Elektrické a optické vlastnosti podobné kovům a polovodičům, ale také atraktivní vlastnosti spojené s běžnými polymery, jako je snadnost syntézy a zpracování, jsou klíčové pro širokou škálu aplikací v průmyslu. Mezi tyto aplikace můžeme zařadit například oblast mikroelektroniky, fotovoltaické zařízení, světelné diody, elektrochromní displeje a další (Zhong et al., 2013).

Výzkum v roce 1980 přinesl nové poznatky, kdy tyto materiály dobře interagují s biologickými molekulami, které se používají v oblasti biosenzorů. V polovině 90. let byly objeveny vhodné vlastnosti vodivých polymerů k elektrické stimulaci, migraci a DNA syntéze. Studie zahrnují výzkum v oblasti nervů, kostí, svalů a srdeční tkáně, díky reakci na elektrické impulsy. Další oblast využití zahrnuje například tkáňové inženýrství, biosenzory, neuronové sondy a nástroje pro podání léčiva (Guimard, Gomez, Schmidt, 2007). Biosenzor je analytický přístroj, který obsahuje citlivý prvek biologického původu, který je buď součástí, nebo v těsném kontaktu s fyzikálně-chemickým převodníkem. Tento převodník obsahuje elektronický signál, který je přímo úměrný koncentraci jedné nebo několika chemických látek ve vzorku (Skládal, 2002). Slouží k monitorování a diagnostice metabolitů, jako je glukóza, močovina, hormony, protilátky a další (Ahuja et al., 2006). Mehrotra, 2015 uvádí ve svém článku možné aplikace nanomateriálů v oblasti biosenzorů, kdy by se měla budoucí práce zaměřit na objasnění mechanismu interakce materiálu a biomolekul ze strany elektrod nebo nanofilmů s užitím nových vlastností pro novou generaci biosenzorů. Tyto materiály mají velké vyhlídky, které budou uplatněny v klinické diagnostice, analýze potravin, při řízení různých procesů a například při monitorování životního prostředí.

Vývoj biosenzorů vytvořil základ pro použití vodivých polymerů v mnoha biologických aplikacích. Předchozí studie ukázaly, že buňky jako jsou fibroblasty, neurony a osteoblasty reagují na elektrické pole vytvořené elektrodami *in vitro* nebo *in vivo*, proto by tyto vodivé materiály mohly posloužit jako biomateriály pro různé buněčné funkce. Mezi důležité vlastnosti CPs požadované pro inženýrské aplikace tkání patří vodivost, reverzibilní oxidace, redoxní stabilita, biokompatibilita a dále například hydrofobicita (Guimard, Gomez, Schmidt, 2007). V práci se Wang et al., 1999 zabývá optimalizací biokompatibility polyanilinu, která byla docílena kovalentní modifikací. Existuje celá řada způsobů, jak pozměnit funkci povrchu CPs, nicméně hlavním zájmem je, aby se zabránilo narušení vodivosti. Štěpná kopolymerace polyanilinu emeraldinu s kyselinou alkylovou, byla použita k imobilizaci kolagenu, kde bylo docíleno snížení zánětu *in vivo*.

Přímá modifikace monomeru anilinu k vytvoření funkční skupiny (methyl-chlorid), která může být spojena s jakoukoliv aminokyselinou, byla zkoumána v práci Guterman et al., 2002. Funkce polyanilinu s tryptofanem byla představena touto technikou a byla zjištěna dobrá proliferace a reakce na NGF (nerve growth factor), buněk PC12.

### 2.2.1 Mechanismus elektrické vodivosti

Po objevení polymerů bylo snahou mnoha výzkumných skupin objasnit mechanismus transportu náboje. Vlastnosti kovů a izolátorů, jako jsou elektrické, dielektrické a optické, jsou obecně dobře popsány. Vzhledem k odlišnostem těchto materiálů, je nutné transport náboje popsat jiným způsobem (Zarass et al., 2003).

Vodivé polymery jsou jedinečné v tom, že jejich řetězce střídají jednoduché a dvojně vazby vázané  $sp^2$  hybridizovanými atomy, které propůjčují polymeru polovodivé vlastnosti. Střídání jednoduché a dvojně vazby má za účel vytvoření elektronového oblaku překrytím p-orbitalů, čímž vzniká konjugovaný systém. Tento systém je popsán na základě elektronických funkcí vln, které jsou delokalizovány v celém řetězci. To umožňuje pohyblivost náboje podél hlavního řetězce polymeru mezi sousedními řetězci (Guimard, Gomez, Schmidt, 2007)

### 2.2.2 Transport náboje

Vodivé polymery jsou vysoce neuspořádaným systémem, který způsobuje lokalizaci náboje. Obsahují směs krystalické a amorfní fáze, proto je třeba vzít v úvahu transport náboje nejen podél řetězců polymerů, ale také v rámci celého systému. Studie konduktivity v závislosti například na teplotě, proudu, magnetismu, stupni dopování a frekvenci, byla potvrzena existence několika mechanismů transportu náboje. Ideální vodivý polymer je složený z jednorozměrných řetězců, který obsahuje identické konstituční jednotky. Právě  $\pi$ -konjugovaný systém zapříčiňuje, že tyto polymery díky dopování dosahují konduktivity vodičů. Nečistoty a defekty způsobují rozptyl nositele náboje a tím způsobují ohmický odpor látek. S rostoucí koncentrací defektů dochází k růstu odporu materiálu. Pokud koncentrace defektů dosáhne jisté hodnoty, zůstane nositel náboje uvězněn v určité oblasti. Dochází tak k lokalizaci nositele náboje. Nositel náboje přeskakuje mezi jednotlivými energetickými stavy a proto je tento mechanismus označován jako přeskoková vodivost a můžeme je popsat pomocí měrné vodivosti  $\sigma$  (Pratt, 1996).

$$\sigma = \sigma_0 \exp\left[-(T_0/T)^{1/(d+1)}\right]$$

Kde  $\sigma_0$  a  $T_0$  jsou parametry,  $d$  je dimenze vzorku. Pro třírozměrné vzorky platí Mot-tův vztah teplotní závislosti konduktivity, kde exponent  $1/(d+1)$  se rovná hodnotě  $1/4$ . Pokud přenos náboje probíhá podél jednorozměrného řetězce, proto tento experiment je roven  $1/2$  ( $d=1$ ), (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

Pouhým změřením teplotní závislosti vodivosti, nezískáme všechny potřebné informace o transportu náboje. Další informace je potřeba získat například měřením závislosti vodivosti na intenzitě elektrického pole, závislosti permitivity a dalších veličin. Mezi další důležité hodnoty patří zkoumání struktury vodivých polymerů pomocí rentgenového záření. Veškeré tyto informace podávají výsledný pohled na transportní vlastnosti vodivých polymerů (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

### 2.2.3 Chemická vazba a konjugace

Ukázalo se, že dobrým východiskem pro popis transportu je teorie přenosu náboje vypracovaná pro amorfni polovodiče. Ve vodivých polymerech je také transport ovlivněn neuspořádaností, která způsobuje lokalizaci náboje. Jednorozměrné řetězce vodivého polymeru se skládají z identických konstitučních jednotek. V polymerech dochází k delokalizaci  $\pi$ -elektronů po celé délce řetězce a tyto elektrony vytvářejí pásy analogické pásům v polovodičích. V ideálním případě je  $\pi$ -pás (tzv. HOMO) zcela zaplněn a  $\pi^*$ -pás (tzv. LUMO) zcela prázdný a materiál je nevodivý. Ke zvýšení vodivosti dochází pomocí „dopování“ (Tiitu, 2006).

### 2.2.4 Dopování polymerů

Vodivost polymerů můžeme několikanásobně zvýšit dopováním pomocí oxidačních/redukčních substituentů nebo donor/akceptorových radikálů. Shirakawa and Ikeda, 1971 zjistili, že dopováním polyacetyleny kovovými substituenty, dochází ke zvýšení vodivosti o 9-13 řádů. Dopování se provádí chemickými metodami vystavením konjugovaných polymerů různými činidly, pomocí plynu, roztoku nebo elektrochemickou oxidací či redukcí (Kumar a Sharma, 1998). Mezi základní typy dopování patří dopování nejčastěji plynem, roztokem, elektrochemicky, vlastním dopováním, dále například radiací anebo pomocí iontoměničů. Dopování pomocí iontové implantace spočívá v bombardování polymeru paprskem iontů o energii v rozmezí 10 keV – 2 MeV. Velkou výhodou je stabilita vodivosti těchto polymerů vůči okolnímu prostředí. Ovšem při vysokých hodnotách ener-

gie dopování může docházet k degradaci materiálu. Vývoj této metody je ale ještě v počátcích a bude vyžadovat vylepšení struktury polymeru. Další unikátní chemické dopování je dopování polyanilinu v důsledku protonace. Při reakci emeraldinové báze s kyselinou se nezmění počet elektronů, ale dojde ke změně jejich rozložení. To vede ke zvýšení vodivosti a změně polovodivé formy polyanilinu (emeraldinová báze) na vodivou emeraldinovou sůl. Ke změně elektrických vlastností, struktury, stability polyanilinu můžeme také docílit odebráním nebo dodáním elektronů chemickou či elektrochemickou oxidací nebo redukcí (Lange et al., 2008).

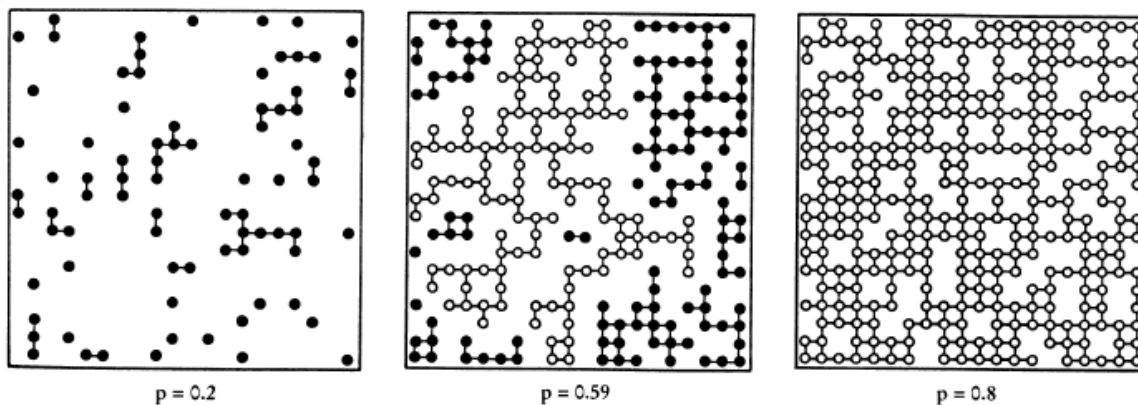
### 2.3 Perkolační teorie

Perkolace je nejjednodušší základní model ve statistické mechanice, který vykazuje fázové přechody při vzniku propojeného, neuspořádaného systému. I přes jeho velmi jednoduchá pravidla, jej lze aplikovat k popisu široké škály jak přírodních, tak technologických systémů (Saber, 2015). Myšlenku teorie perkolace poprvé zmínil ve své studii chemik Paul Flory na začátku r. 1940. Ovšem studie z pohledu matematického se datuje do roku 1954, kdy se inženýr Simon Broadbent a matematik John Hammersley zabývali designem uhlíkových filtrů pro plynové masky. V této práci navrhli koncept perkolačního prahu. Hammersley ve své studii „Perkolace struktur a procesů“ uvádí, že nové počítače, které se staly dostupné pro řadu vědců, byly v té době jedním z důvodů pro rozvíjení teorie perkolace (Stauffer a Aharony, 1994).

Perkolační teorie byla vyvinuta s cílem popsat proudění v porézních materiálech. Později tento model přitáhl zájem vědců pracujících v různých oblastech. Ve vědě materiálů můžeme pomocí teorie perkolace vysvětlit řadu vlastností, například vytvoření pevného systému pomocí molekul a řadu dalších vlastností stejného materiálu, který vytváří síť měkkou (Avramov a Tonchev, 2016). Dále bylo zjištěno, že teorie perkolace má širokou aplikaci pro pochopení vodivých materiálů, magnetických modelů, v oblasti koloidů atd. Z matematického hlediska je perkolace atraktivní, protože vysvětluje vztahy mezi pravděpodobností a algebraickými/topologickými vlastnostmi grafů (Saber, 2015). Ve studii Krasowska, Barszczewska-Rybarek, (2016) se zabývali teorií perkolace při studiu morfologie polymerních sítí vytvořené fotopolymerizací dimethakrylátu pro dentální aplikace. Výsledky ukazují na pozitivní účinek, kdy teorie perkolace může posloužit jako nový nástroj pro studium struktury systémů používaných v současné stomatologii.

### 2.3.1 Základní perkolační model

Perkolace představuje základní model pro strukturálně neuspořádaný systém. Pokud vezmeme v úvahu čtvercovou mříž, každé místo je obsazené náhodně s pravděpodobností  $p$  nebo může být prázdné s pravděpodobností  $(1-p)$ . Pro ilustraci můžeme předpokládat, že obsazená místa jsou elektrické vodiče, prázdná místa představují izolátory. Z toho plyne, že elektrický proud bude procházet mezi vodiči, které mezi sebou těsně sousedí. Pokud jsou spojeny dvě protilehlé strany vodivého čtverce, představuje to vodivý materiál. Při nízkých hodnotách  $p$  se směs chová jako izolační materiál, protože neexistuje vodivá cesta spojující protilehlé hrany. Tento model můžeme vidět na obrázku č. 9, kde jsou vodiče propojeny spojnicemi, které představují vodivé vazby. Černé puntíky představují vodivé úseky a prázdná kolečka zobrazují úseky spojující dvě strany. S rostoucí koncentrací a pravděpodobností  $p$  dochází ke shlukování vodičů, které vytvářejí vodivé úseky. S rostoucím  $p$  se zvětšuje počet vodivých úseků, a pokud je pravděpodobnost  $p=1$  bude materiál obsahovat pouze vodiče. Mezi těmito hodnotami můžeme najít kritickou pravděpodobnost  $p_c$ , kde se tato hodnota nazývá perkolační práh (Bunde a Kantelhardt, 2005).



Obrázek 9 – perkolace ve čtvercové mřížce (Bunde, Kantelhardt, 2005)

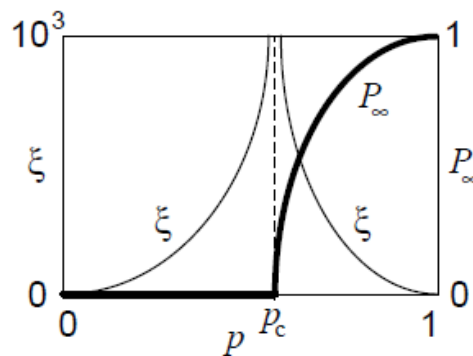
V mřížce můžeme rozlišit dva typy úseků (shluků), a to konečné úseky, které jsou tvořeny izolovanými vodivými skupinami a nekonečné úseky, které tvoří vodivou cestu mezi protilehlými stranami. Určením hodnoty  $p_\infty$  zjistíme pravděpodobnost vzniku vodivého úseku v materiálu v závislosti na koncentraci a tím pádem na pravděpodobnosti  $p$ . Na obrázku č. 10 můžeme vidět schéma závislosti pravděpodobnosti a korelační délky na koncentraci obsazených míst. Perkolační přechod můžeme vyjádřit vztahem:

$$p_\infty \sim (p - p_c)$$

Z grafu vidíme, že pokud  $p < p_c$ , hodnota pro  $p_\infty$  je rovna nule, ale pokud  $p$  překročí hodnotu  $p_c$ , dochází k růstu křivky. Tento vztah udává však pouze přibližnou hodnotu a kritický exponent  $\beta$  je závislý na rozměrech mřížky (Kesten, 2006). Po překročení kritické hodnoty  $p_c$  dochází k vytvoření nekonečných shluků a tudíž k vodivosti. Lineární závislost konečných úseků nad a pod kritickým bodem  $p_c$  je dána korelační délkou  $\xi$ . Délka korelace je definována jako střední vzdálenost mezi dvěma stejnými oblastmi konečných úseků a představuje charakteristickou délku stupnice v perkolaci. Jestliže  $p$  se blíží  $p_c$ ,  $\xi$  se zvyšuje podle vztahu,

$$\xi \sim |p - p_c|^{-\nu}$$

se stejným exponentem  $\nu$  pod a nad prahovou hodnotou. Zatímco  $p_c$  závisí výslovně na typu mřížky, kritické exponenty  $\beta$  a  $\nu$  jsou univerzální a závisí pouze na rozměru mřížky (Bunde a Kantelhardt, 2005).

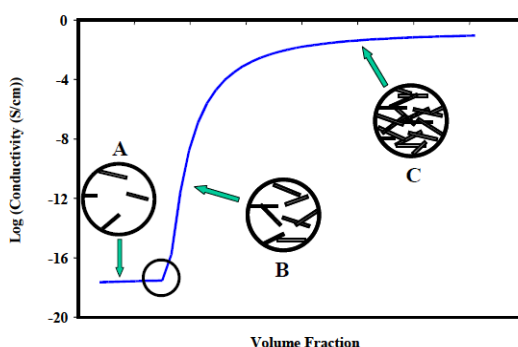


Obrázek 10 – schéma závislosti pravděpodobnosti (tučná čára) a korelační délky (tenká čára) na koncentraci obsazených míst (Bunde a Kantelhardt, 2005)

### 2.3.2 Vodivost kompozitů a perkolační práh

Vodivá plniva, jako jsou uhlíková vlákna, působí jako kanály pro elektronovou vodivost. Elektrony těmito kanály volně proudí, ale jakmile se dostanou na konec vlákna, se kterými se setkávají v polymerní matrici, působí jako hráz a blokují tok elektronů. Po přidání dostatečného množství plniva se začnou uhlíková vlákna navzájem překrývat a tvoří tak propojenou cestu v rámci celého objemu kompozitu (Rhodes, 2007). Obecně platí, že existují tři hlavní oblasti, které řídí vodivost polymerního kompozitu. Závislost na objemové frakci je znázorněna na obrázku č. 11. Při nízkém obsahu plniva, jak znázorňuje oblast A, je vodivost kompozitního materiálu velmi nízká. V určitém bodě, při dosažení

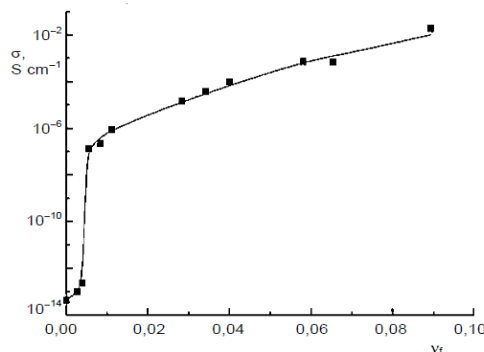
tzv. perkolačního prahu neboli kritické koncentrace  $V_k$ , nemá plnivo na vodivost téměř žádný vliv. Jakmile dojde k překročení této hranice, vodivost se začne prudce zvyšovat s velmi malým zvýšením množství plniva (oblast B). Po této oblasti drastického zvýšení, dochází k mírnému zvýšení vodivosti, jak je patrné z oblasti C. To je způsobeno vytvořením kompletní vodivé sítě a propojením částic plniva pro přenos elektronů (Clingerman, 2001).



Obrázek 11 – závislost elektrické vodivosti na objemovém podílu plniva (Clingerman, 2001)

Vodivost závisí nejen na relativním množství plniva, ale hlavně také na propojení částic. Aspekty jako velikost částic, tvar a vliv poměru plniva určují práh perkolace. Bylo zjištěno, že menší částice s větším poměrem snižují perkolační práh. Jedná se o velmi žádanou vlastnost pro mnoho aplikací. To znamená dosažení vysoké úrovně elektrické vodivosti v závislosti na nižším objemu plniva (Rhodes, 2007). Při velmi nízkých koncentracích plniva není vzdálenost mezi částicemi dostatečná k propojení a vytvoření elektrovodivé sítě. Konduktivita polymerního kompozitu je zejména dána vodivostí matrice. S rostoucím množstvím plniva dochází ke zmenšování vzdálenosti mezi jednotlivými částicemi, aglomeráty nebo shluky. K přeskoku elektronu může dojít prostřednictvím přeskového nebo tunelového mechanismu. Na obrázku č. 12 můžeme vidět závislost konduktivity kompozitu na množství plniva pro kompozit silikonový kaučuk/saze. Křivka se projevuje skokovým zvýšením vodivosti až o několik řádů. Poté následuje pouze mírný růst měrné elektrické vodivosti, která směřuje k hodnotě vodivosti plniva (Pelíšková a Sába, 2012).





Obrázek 12 – perkolační křivka  
(Pelíšková a Sába, 2012)

## 2.4 Aplikace kompozitů s vodivými polymery

Vodivé polymerní kompozity mají některé speciální vlastnosti, mezi které patří například dobrá elektrická vodivost, odolnost proti korozi, nízká hmotnost a dobré mechanické vlastnosti. Proto se tyto materiály začaly používat v mnoha technických aplikacích, jako jsou vodivé a polovodivé polymerní vlákna, povlaky odolné proti korozi, solární kolektory atd. (Hooshmand, 2011). Elektricky vodivé, teplem tvrditelné kompozitní materiály, jako jsou například antistatická epoxidová lepidla, mohou obsahovat velkou škálu plniv, mezi která patří například kovové částice, vlákna, vločky, oxidy kovů, saze atd. Tyto materiály jsou široce používány v mnoha aplikačních oblastech, včetně automobilového průmyslu, dále v letectví, lékařství a pro elektronické účely. Požadovaná vodivost materiálu určuje typ a koncentrace plniva potřebného v daném systému (Carroll, Czerw, Webster, 2005). Organické vodiče, mezi které patří vodivé polymery, byly intenzivně zkoumány, ale dosud byla věnována malá pozornost termosetům s antistatickými a adhezivními účinky. Polyani- lin je jedním z nejslibnějších elektricky vodivých polymerů a jeho potenciální aplikace sahají od optických, elektronických zařízení, přes antistatické obaly a nátěry (Jia et al., 2003). Bedeloglu et al. 2011 zmiňuje, že polyanilin a jeho kompozity jsou potenciálním kandidátem v moderních aplikacích, jako jsou fotovoltaické články, transparentní elektrody, snímače vlhkosti a dále například světelné diody. Wang et al., 2012 se ve své studii zabývá kompozity PANI/metaloid a PANI/grafen. Uvádí, že tyto kompozity mají slibnou strukturu pro fotovoltaické aplikace. Většina vědců prokázala, že syntetizované PANI/TiO<sub>2</sub> kompozity jsou vhodné pro aplikace solárních článků a dále například snímačů plynu (Takpire a Waghuley, 2015).

### 3 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA A CYTOTOXICITA POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ

V poslední době došlo k velkému rozvoji nových typů materiálů, a to zejména kompozitů. Proto se výzkum zaměřil na zkoumání materiálů na atomární, molekulární a makromolekulární úrovni s cílem pochopit struktury materiálů v nano měřítku. Polymerní nanokompozity na bázi anorganických nanočástic, dispergované v polymerní matici, jsou zajímavé především díky zpracovatelnosti, zlepšeným vlastnostem a relativně nízkým nákladům. Mimořádnou výhodou nanokompozitů na bázi polymerů je zlepšení mechanických vlastností. Nanotechnologie a nanočástice jsou stále více využívány především pro jejich potenciální aplikace například v leteckém průmyslu, v oblasti nanoelektroniky, při nápravě životního prostředí a také pro zdravotnické a lékařské produkty. Nanočástice jsou struktury, které mají rozměry v rozsahu 1-100 nm (Ahamed et al., 2010). Nanotechnologie a nanověda dostala podporu začátkem roku 1980 díky dvěma hlavním faktorům, a to zrodem vědního oboru zabývajícího se klastry a vynálezem rastrovacího tunelového mikroskopu (STM). Tento vývoj vedl k objevu fullerenů v roce 1985 (Singh et al., 2008).

Nově vyvinuté nanokompozity s baktericidními vlastnostmi na sebe upozorňují v posledních letech nejen kvůli vlivu na zdraví člověka a bezpečnost, ale také z důvodu možnosti prodloužení životnosti materiálů používaných v každodenním životě. Možnost použití těchto materiálů je velmi široká. Pro nemocniční účely se například využívají různé typy sterilních materiálů, kde dochází ke kontaminaci ran mikroorganismy, a to především houbami a bakteriemi. Dále se využívají například při čištění vod, to znamená odstranění nebo inaktivace patogenních mikroorganismů (Zvekic, 2011). Kovové nanočástice jsou nejslibnější, protože vykazují dobré antibakteriální vlastnosti vzhledem k jejich poměru plocha/objem, což se těší velkému zájmu výzkumných pracovníků. Různé typy materiálů, jako je měď, zinek, titan, hořčík, zlato, stříbro a další, jsou široce používány jako antibakteriální částice, ale nanočástice stříbra se ukázaly jako nejúčinnější, neboť mají výborný antimikrobiální účinek proti bakteriím, virům a jiným eukaryotickým mikroorganismům (Ray, Yadav, Gade, 2008).

Nedávné studie, popisující cílenou dopravu nanočástic, jako kontrastních látek pro včasnou charakterizaci aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění na buněčné a molekulární úrovni, by mohly představovat nový krok pro zobrazení a usnadnění podávání léčiva. Nanotechnologická zařízení, která by sloužila například pro detekci včasné diagnó-

zy a pro monitorování, by mohla mít široký vliv při léčbě pacienta, u nemocí jako je rakovina nebo Alzheimerova choroba a tím pádem snížit riziko úmrtnosti (Singh et al., 2008). Dále se nanostruktury využívají v řadě aplikací, například jako sondy pro ultrasensitivní molekulární snímače, pro diagnostické zobrazení, jako čidla pro fotodynamickou terapii (PDT), jako nosiče pro podání léčiva, dále například pro solární články a světelné diody. Na obrázku číslo 13 můžeme vidět přehled aplikací typů nanostruktur, stav v *in vivo* systémech a biologickou oblast využití. (Fisher a Chan, 2007).

Nanostruktura	Aplikace	Oblast znepokojení	Oblast zájmu
Kovové nanočástice	kontrastní látky, nosiče léčiv	částice způsobují toxicitu, reaktivní formy kyslíku	exkrece
Nanočástice	terapie hypertermie	není prokázáno	exkrece
Fullereny	terapie hypertermie, podání vakcíny	generace protilátek	imunotoxicita
Nanokrystaly	fluorescentní kontrastní látky	metabolismus	intracelulární/orgá nová redistribuce
Polymerní nanočástice	nosiče léčiv, terapeutika	není známo	metabolismus, imunotoxicita, aktivace komplementu
Dendrimery	nosiče léčiv/radioaktivně značené sondy	metabolická cesta	povrchová chemie a elementární efekty, aktivace komplementu
Liposomy	podání léčiv, kontrastní látky	hypersensitivní reakce	aktivace komplementu

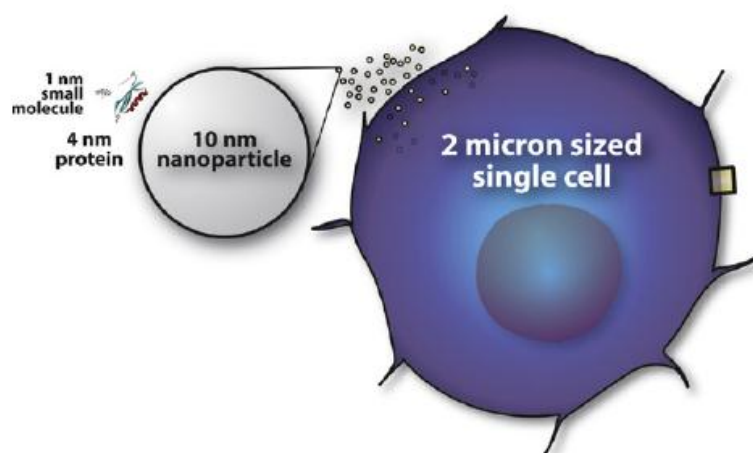
Obrázek 13 – přehled tříd nanostruktur, aplikace a jejich charakterizace v *in vivo* systémech (vlastní tvorba, upraveno dle Fisher a Chan, 2007)

### 3.1 Nanotoxikologie

Na druhou stranu, chemické látky ve formě nanočástic vykazují odlišné toxikologické vlastnosti než jejich makroskopická forma, proto nanotoxikologie byla navržena jako nové odvětví toxikologie, která by měla vyřešit mezery ve znalostech a řešit konkrétní vlivy účinků nanomateriálů (Arora et al., 2011). Účinek nanočástice na biologický systém je závislý na místě vstupu, velikosti nanočástice, druhu zvoleného materiálu, kontaminace

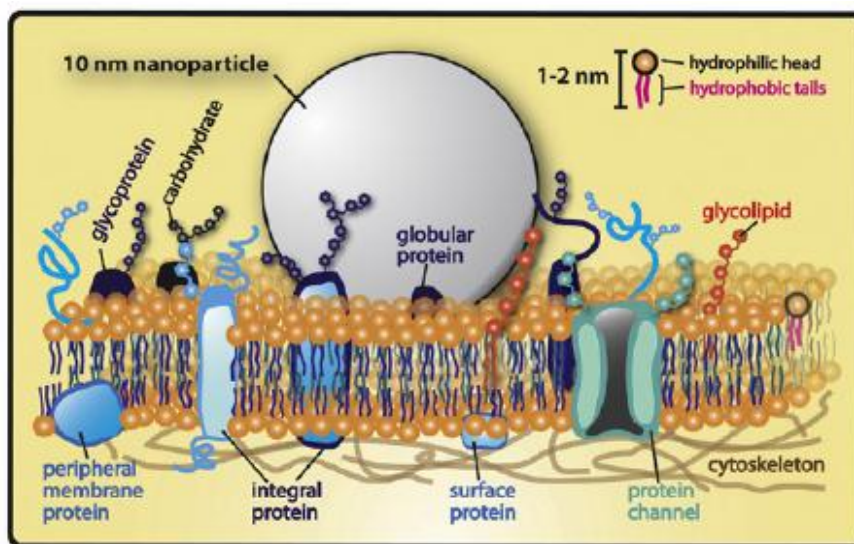
povrchu, ale také na pH v jednotlivých orgánech a tkáních. Osud nanočástice v organismu závisí především na velikosti a chemické povaze. Menší částice pronikají mnohem snadněji do tkání a mohou tak vyvolat toxický efekt ve větší vzdálenosti od místa vstupu, oproti větším částicím se mnohem lépe vylučují. Dále například u částečně rozpustných nanočástic se iontová forma jeví jako více nebezpečná. Toxicky působí ovšem obě formy-iontová i částicová. Z kovových nanočástic mohou být pro člověka genotoxické a karcinogenní například Ni, Co, Cu, ale přesný mechanismus není zcela objasněn. Vzhledem k odlišným reakcím jak nanočástic, tak biologického systému v závislosti na struktuře a prostředí je třeba vyvíjet nové testy a prozkoumat veškeré možnosti interakcí, které by umožnily správně zhodnotit potenciální zdravotní rizika (Dohnalová a Dohnal, 2015).

Proteiny a nukleové kyseliny jsou hlavním tématem mnoha typů výzkumů, zahrnující nanotechnologie. Jediná buňka velká obvykle několik desítek mikronů je obrovská oproti velikosti nanočástic s rozměrem 10 nm. V tomto smyslu výzkumníci po celém světě využívají různé anorganické, organické a kompozitní částice pro studium biologických procesů, které jsou důležité v oblastech podávání léčiv a zobrazování biologických systémů. V poslední době se stále více prací zabývá interakcí mezi proteinem a nanočásticí. Na obrázku č. 14 vidíme porovnání velikosti nanočástice (10 nm), dále proteinu APP (4 nm), což je amyloidní prekurzorový protein a malou molekulu léčiva DHED, který se používá při léčbě Alzheimerovy choroby (Suh et al., 2008).



Obrázek 14 – srovnání velikostí proteinů, molekuly DHED, nanočástic a savčí buňky (Suh et al., 2008)

Včlenění nanočástice do biologického systému bude mít za následek velké množství interakcí s okolním systémem. Úsilí zkoumat rozhraní mezi nanostrukturovanými a biologickými systémy má klíčový vývoj, který pomůže při studiu biologických systémů v oblasti farmakologie a medicíny (obr. č. 15), (Suh et al., 2008).



Obrázek 15 – buněčná membrána, kde je včleněná nanočástice o velikosti 10 nm (Suh et al., 2008)

### 3.2 Stříbro jako aditivum

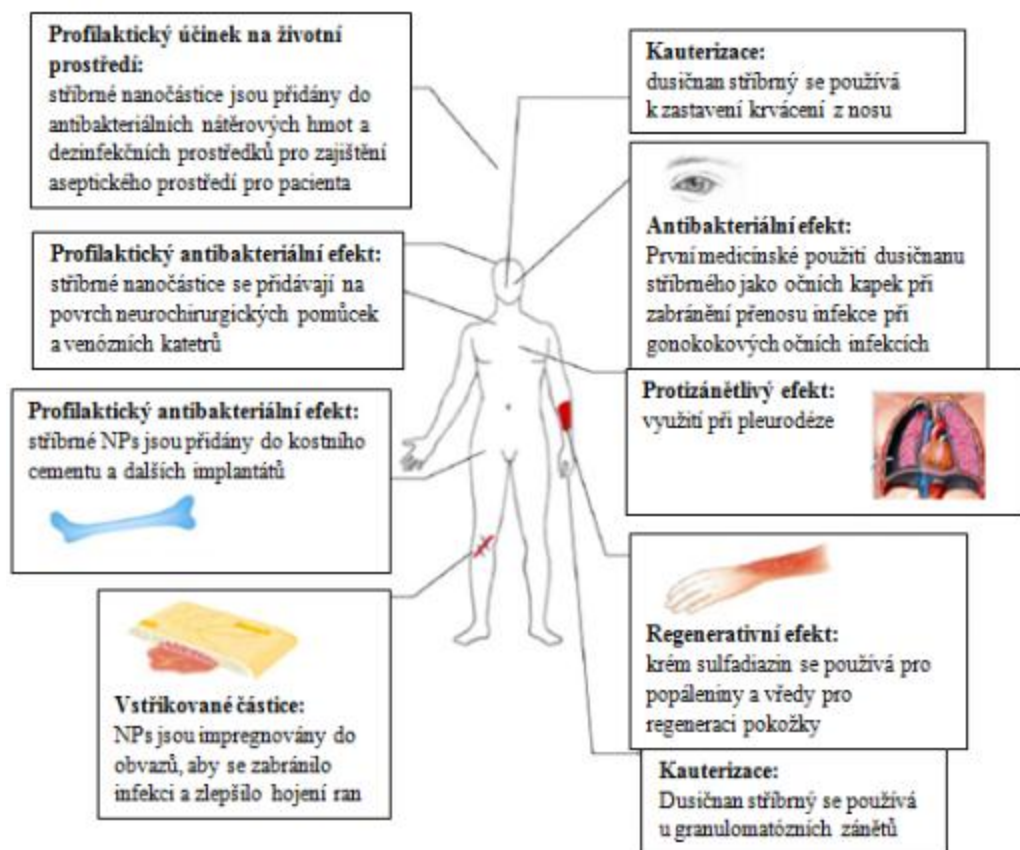
Stříbro je bílý, lesklý, kovový prvek, který je umístěn na 47 místě v periodické tabulce prvků. Čisté stříbro v ideálním případě představuje tažný, poddajný kov, má nejvyšší elektrickou a tepelnou vodivost. Stříbro je téměř vždy jednomocný prvek, ale vytváří i oxidy, fluoridy, sulfidy ve kterém je stříbro dvojmocné. Stříbro neoxiduje na vzduchu, ale v přítomnosti sirovodíku, který je obsažen ve vzduchu, vytváří sulfid stříbrný. To je důvod, proč stříbrné předměty potřebují pravidelné čištění. Stříbro je také velmi stabilní ve vodě (Chen a Schluesener, 2007).

Mezi hlavní aplikace stříbra patří využití jeho dezinfekčních vlastností pro hygienické a lékařské účely, ačkoli mechanismus ještě není zcela objasněn. Už v dávných dobách využil Hippokrates prášek Ag k léčbě vředů, ale hlavně sloučeniny stříbra se začaly hojně využívat a staly se hlavní zbraní proti infekci za první světové války až do příchodu antibiotik. V iontové i koloidní formě se využívá od devatenáctého století. V roce 1884 německý porodník C. S. F. Crede představil 1% roztok dusičnanu stříbrného jako očního

roztoku pro prevenci novorozeneckého zánětu spojivek (Gonococcal Ophthalmia neonatorum), což je pravděpodobně první vědecky doložené lékařské použití stříbra (Chen, Schluesener, 2007).

### 3.2.1 Využití nanočástic Ag

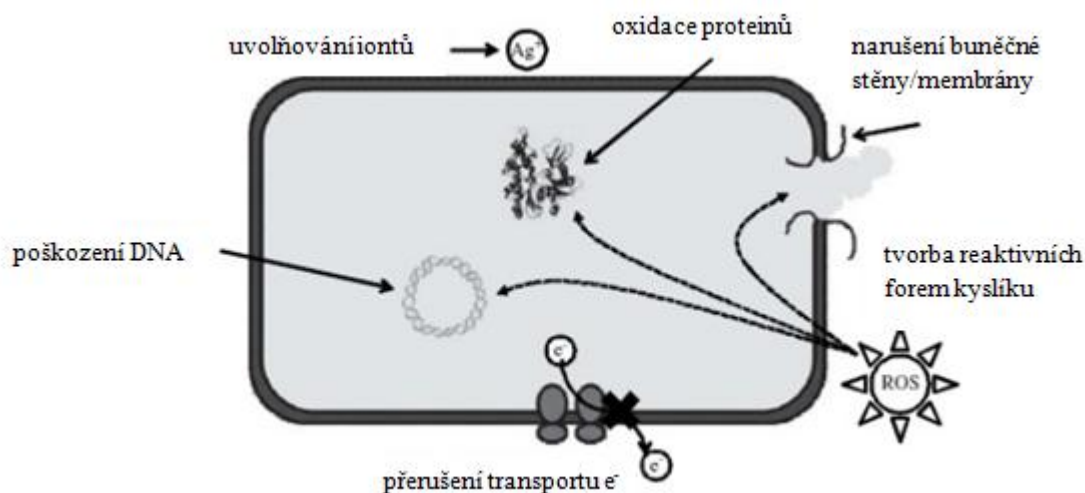
Nanostříbro je v současné době jedním z nejvíce známých nanomateriálů s řadou možností využití a praktických aplikací. Dnes se nanočástice stříbra (AgNPs) používají v obrovském množství spotřebního zboží, včetně textilií, kuchyňského nádobí, skladování potravin, oblečení, v oblasti hygienických a kosmetických přípravků, kojeneckých lahví, hraček a mnoho dalších. Vzhledem k jejich dobrým antibakteriostatickým, antivirovým a atimykotickým působením, jsou AgNPs široce používány jako doplněk stravy, pro obvazy, zubní hygienu, do implantátů a zdravotnických prostředků. Dále jsou využívány k léčbě karcinomu prsu, leukémie, využívající se také v průmyslových procesech v oblasti katalyzátorů, dále v elektronice a optice (Hendrickson et al., 2015). Na obrázku č. 16 vidíme na pravé straně využití stříbra ve formě roztoku  $\text{AgNO}_3$  a na levé použití nanočástic stříbra (NPs) v medicíně. Tradičně se dusičnan stříbrný používá v celé řadě lékařských aplikací, včetně zastavení průtoku krve z nosu, u pleurodézy při uzavírání ran hrudní dutiny nebo u granulomatózních zanětů. Krém sulfadiazin stříbrný se používá v širokém spektru léčby popálením, ikdyž argyria (zabarvení kůže) představuje časté vedlejší účinky. Nanočástice se objevují jako antibakteriální činidlo příští generace, využitelné hlavně pro zdravotnické prostředky. Obvazy obsahující stříbro jsou již komerčně dostupné například pod názvem Acticoat. NPs poslouží jako různé přísady nebo povlaky katetrů, do kostních cementů, pro použití gelů a nátěrových hmot jako antibakteriální dezinfekční prostředky (Chaloupka et al., 2010).



Obrázek 16 – využití nanočástice stříbra v oblasti medicíny (vlastní tvorba, upraveno dle Chaloupka et al., 2010)

### 3.2.2 Antibakteriální aktivita

Antibakteriální aktivita stříbra je dobře známa, svědčí o tom například jeho současné klinické použití v léčbě popálenin. Je prokázáno, že stříbro a nanočástice stříbra ve vodných roztocích jsou biologicky aktivní a skutečně zprostředkovávají baktericidní účinky. Jak již bylo zmíněno, tento mechanismus nebyl dosud plně objasněn, ale nedávné studie dokazují, že právě nanočástice se na interakci plně podílejí. Předpokládá se, že ionty stříbra interagují s třemi hlavními složkami bakteriální buňky a produkují baktericidní účinek. Mezi tyto hlavní části patří stěna peptidoglikanu, plazmatická membrána a bakteriální DNA spolu s bakteriálními proteiny (Chaloupka et al., 2010). Antibakteriální aktivita může souviset s několika mechanismy, které jsou znázorněny na obrázku č. 17 (Emamifar, 2011).



Obrázek 17 – různé mechanismy antibakteriální aktivity nanočástic stříbra (vlastní tvorba, upraveno dle Emamifar, 2011)

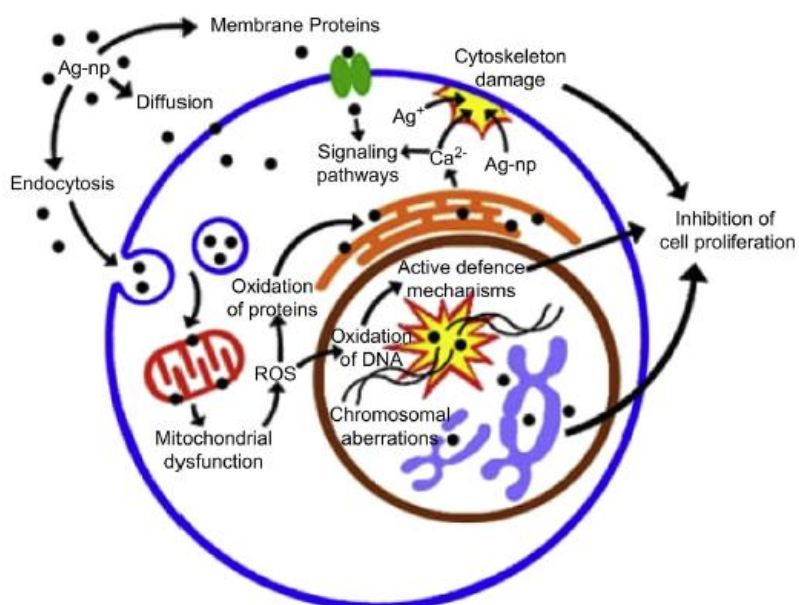
Nanočástice stříbra značně ovlivňují buněčnou stěnu bakterií a bylo prokázáno, že způsobují lýzu buněk. Antibakteriální aktivita nanočástic může být způsobena například produkcí reaktivní formy kyslíku (ROS). Tento mechanismus byl zjišťován pomocí proteomiky využívající 2D elektroforézu společně s hmotnostní spektroskopií proteinových vzorků buněk *Escherichia coli*. Analýza ukázala, že prekuzory membránových proteinů (OmpA, OmpC, OmpF) díky nanočásticím zabraňují mechanismus ochrany proti poškození buněčné stěny. Narušení buněčné stěny a membrány způsobuje kolaps funkce proteinů a inhibuje syntézu ATP, vede ke zničení membrány a může způsobit poškození DNA (Guo et al., 2013).

### 3.2.3 Mechanismus cytotoxicity nanočástic stříbra

Kontakt s výrobky obsahující nanočástice stříbra, ať už v oblasti potravinářství nebo lékařství, způsobuje výrazné obavy možných nepříznivých účinků ve formě inotů  $\text{Ag}^+$  uvolňovaných z povrchu nanočástic vodného média. Z tohoto důvodu mnoho studií zahrnuje současné pokusy rozpustných stříbrných solí  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{COOAg}$  atd. Iontové stříbro je vysoce reaktivní a může difundovat přes buněčnou stěnu a pronikat do buňky, zatímco nanočástice jsou absorbovány endocytózou a hromadí se v buňkách. Toxické účinky disperzního nanostříbra a mechanismy těchto účinků jsou diskutovány v řadě studií a recenzí (Hendrickson et al., 2015).



Nedávná studie pojednává o dopravě, aktivitě a osudu nanočástic stříbra na úrovni jak buněk, tak celého organismu (Stensberg, 2011). Bylo zjištěno, že nanostříbro je toxické vůči několika buněčným liniím, včetně myších fibroblastů (NIH/3T3), monocytů (THP1), krysích jaterních buněk (BRL3A), myších zárodečných buněk (C18-4), lidských plicních fibroblastů (IMR-90) a dále například lidských buněk glioblastomu (U251). Vývojová toxicita a neurotoxicita nanostříbra je pozorována jak *in vitro*, tak *in vivo* systémech a bylo také navrženo několik mechanismů k objasnění cytotoxicity. Podobně jako jeho antibakteriální účinky, cytotoxicita nanostříbra je spojována s uvolňováním stříbrných iontů  $\text{Ag}^+$ , které ovlivňují funkci mitochondrií, tím pádem metabolismus, vedoucí až k apoptóze. Ionty stříbra se také mohou vázat intracelulárně k DNA, RNA a blokovat tak replikaci a transkripci, dále mohou ovlivňovat buněčný cyklus a vést ke genotoxicitě. Navíc cytotoxicita generovaná reaktivní formou kyslíku (ROS) je nejvíce studovaným mechanismem. Nanočástice stříbra způsobují produkci ROS, ty se poté akumulují v buňkách a výsledný oxidační stres může vést k poškození DNA, proteinů a to způsobuje apoptózu či nekrózu (Guo et al., 2013). Toxicita nanostříbra úzce souvisí s její transformací v biologických a environmentálních podmínkách. Je potřeba vždy rozlišit, jaká část toxicity je z iontové formy a jaká část z nanostříbra. AshaRani et al., 2008, studovali antiproliferativní aktivitu nanostříbra a navrhli mechanismus toxicity. Částice nanostříbra mohou interagovat s membránovými proteiny a aktivovat signální dráhy, což vede k inhibici proliferace buněk (obr. č. 18), (MsShan, Ray, Yu, 2014).



Obrázek 18 – mechanismus toxicity nanočástic stříbra (McShan, Ray, Yu, 2014)

Yu et al., 2014 studoval účinky nanočástic stříbra u embryí a plodů potkanů. Byla zde zkoumána teratogenita a embryotoxické účinky. Nebyly zde pozorovány žádné smrtelné či toxické příznaky, nicméně došlo ke snížení obsahu glutationu a snížení aktivity katalýzy v jaterních buňkách. V práci Elle et al., 2013 obdržely krysy peronálně podané nanočástice stříbra a bylo zde prokázáno zvýšení hladiny radikálů kyslíku v oblasti jater a srdce. Kromě studií toxicity nanostříbra na zvířecích modelech, byly prováděny také toxikologické experimenty na lidských dobrovolnících. Munger et al., 2014 studoval toxicitu nanočástic koloidního stříbra peronálně podané. Nebyly zjištěny žádné metabolické či hematologické změny, žádné změny v profilu moči a žádné toxické účinky. Loeschner et al., 2011, Hadrup et al., 2012, van der Zande et al., 2012, Park, 2013 porovnávali ionty  $\text{Ag}^+$  a nanočástic. Závěrem bylo vyhodnoceno, že stříbro ve formě nanočástic bylo vyloučeno z těla ven, ale zároveň byla prokázána toxicita iontů stříbra. Akumulované stříbro se vyskytovalo ve všech orgánech GIT (Hendrickson et al., 2015).

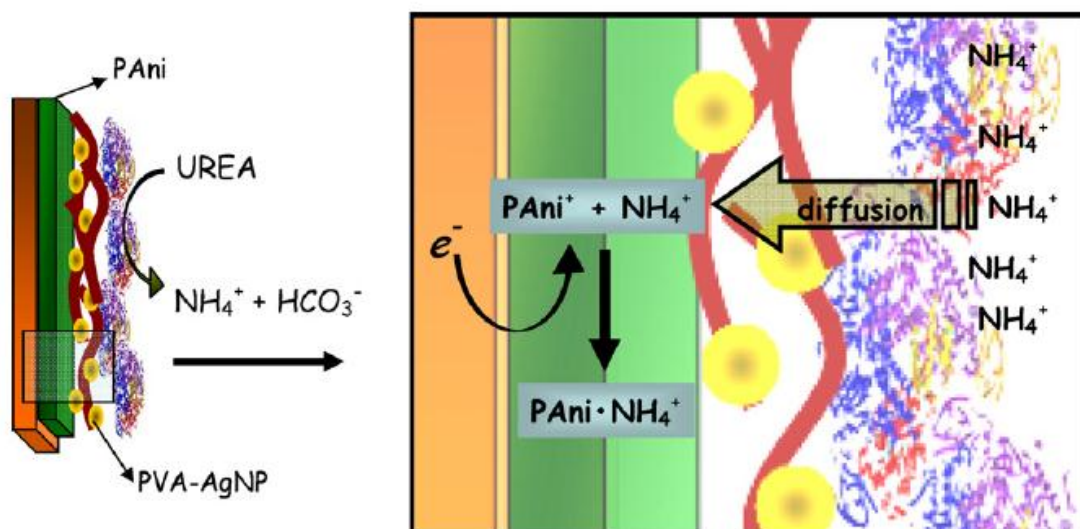
Hlavní charakteristikou nanomateriálů je jejich velikost, tvar, povrch v přechodové zóně atomů a molekul. A právě to může vést k modifikaci fyzikálně-chemickým vlastnostem a odlišným interakcím s biologickými tkáněmi. Proto je potřeba provést řadu dalších testů pro pochopení chování nanočástic stříbra v *in vivo* systémech (Arora, Rajwade, Panknikar, 2011).

### 3.2.4 PANI-Ag kompozity

Polyanilin (PANI) jak už bylo zmíněno, je jedním z nevýznamnějších vodivých polymerů. Existuje ve třech oxidačních stavech, jako leukoemeraldin (redukovaná forma), emeraldin (stabilní forma meziprojektu) a pernigranilin (oxidovaná forma). Emeraldin a pernigranilinová báze mohou reagovat s kyselinami na odpovídající soli. Jeho schopnost působit jako oxidační nebo redukční činidlo vedlo k použití v konstrukci chemických, biologických senzorů, baterií, katalyzátorů, mikroelektronických zařízení a mnoho dalších aplikací (Stejskal, Prokeš, Sapurina, 2008).

Zavedení kovových částic do polymerních materiálů zůstává tématem intenzivního výzkumu mnoha vědeckých skupin po celém světě. Kombinace organických a anorganických materiálů v rozměrech mikro/nano mají velký potenciál pro pokročilé aplikace, jako jsou anorganická nebo biologická čidla, v oblasti elektrokatalýzy, elektromagnetického stínění a dále například v oblasti ochrany proti korozi. Mnohé studie byly věnovány kovovým částicím jako je platina, palladium, částicím rhodia ve formě tenkého filmu ať už na

elektronevodivých nebo vodivých polymerech. Z vodivých polymerů se stal právě polyanilin hlavním zástupcem. Mnoho publikací se zabývá PANI filmy, do kterých jsou začleněny kovové částice v mikro a nano měřítku (tj. Pt, Pd, Au, Cu, Ag). Ovšem publikace zaměřené na zabudování do PANI prášku jsou v literatuře velmi omezené, ikdyž je prášek více vhodný pro prodej a využití. V posledních letech se objevilo v literatuře velké množství publikací na syntézu nanostrukturovaných částic PANI-Ag kompozitů, ale je potřeba provést řadu výzkumů pro zlepšení začlenění částic do vodivé matrice a prozkoumání jejich elektrochemického chování (Bouazza et al., 2008). Zavedení stříbra do kompozitů vedlo výzkumníky především díky nízké ceně a snadné dostupnosti. Stříbro také patří mezi nejvíce vodivé kovy s hodnotou konduktivity  $6,3 \cdot 10^5 \text{ Scm}^{-1}$  při  $20^\circ\text{C}$  okolního prostředí (Stejskal, Prokeš, Sapurina, 2008). V posledních letech vývoj kompozitů PANI/nanočástic kovů získal velkou pozornost jak z vědeckého, tak průmyslového hlediska. Zabudování nanočástic kovů výrazně zlepšuje elektrické, optické a dielektrické vlastnosti PANI kompozitů. Tyto vlastnosti jsou velmi citlivé na malé změny v obsahu kovu, velikosti a tvaru nanočástic. Bylo prokázáno, že samotné nanočástice by mohly působit jako vodivý spoj mezi PANI řetězci, které by vedlo ke zvýšení elektrické vodivosti kompozitů. Elektrická vodivost těchto kompozitů může také záviset na molekulové struktuře vodivé polymerní matrice. Vzhledem k tomu, že stříbro vykazuje nejvyšší elektrickou a tepelnou vodivost ze všech kovů, kombinace s PANI by mohla přinést funkční materiály se zlepšenými elektrickými vlastnostmi (Choudhury, 2009). Manipulace nanostrukturovaných materiálů ve spojení s biologickými molekulami vedla k vývoji nové třídy hybridních modifikovaných elektrod, kterými se zabývá ve své práci Crespilho et al., 2009. Úsilí bylo zaměřeno na kontrolu enzymatické aktivity, která je závislá na rozhraní nanokompozit/enzym. Přenos náboje může být optimalizován pomocí kovové částice na povrchu elektrody s biologickou molekulou. V této práci bylo představeno jednoduché, bio-elektrotechnické zařízení, ve kterém byla ureáza imobilizována na ITO (indium oxid cínu) elektrodu. Tyto elektrody byly modifikované polyanilinem a stříbrnými nanočásticemi stabilizované polyvinylalkoholem (PANI/PVA-AgNP). Po enzymové reakci došlo k rychlé difúzi amonných iontů přes vysoce propustnou vrstvu PVA-AgNP, jak je zobrazeno na obrázku č. 19, a elektrody ukázaly účinnou reakci vedoucí k detekci močoviny.



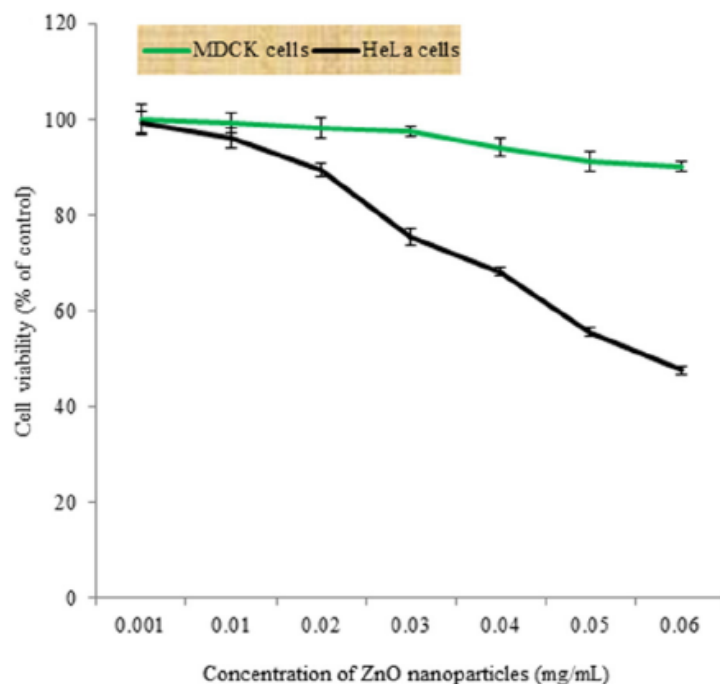
Obrázek 19 – schéma elektrody ITO/PVA-AgNP/ureáza pro detekci močoviny (Crespilho et al., 2009)

### 3.3 Oxid zinečnatý jako aditivum

Dalším materiálem, který se hojně využívá jako plnivo s antibakteriálními účinky, se stal oxid zinečnatý. Je to bílý prášek, který je nerozpustný ve vodě a je široce používán jako přísada do mnoha materiálů a výrobků, včetně pryže, plastů, keramiky, skla, cementů, mazadel, barev, mastí, lepidel, tmelů. Vyskytuje se jako minerál zinkit, ale většina oxidu zinečnatého se vyrábí synteticky (Onodera a Takes, 2013). Oxid zinečnatý byl poprvé pravděpodobně použit 2000 let př. n. l. jako složka léčivých mastí pro vředy a kožní vyrážky. O něco později byla ZnO ruda využívána jako zdroj zinku pro mosaz. Mosaz byla produkována přetavením směsi práškové rudy zinku, uhlí a granulí mědi. ZnO vznikal jako vedlejší produkt a shromažďoval se na stěnách tavících pecí. Využití ZnO pleťových vod přetrvává do dnešních dob ve formě suspenze zinku a oxidu železa známých jako „calamine solution“. Hlavní využití v průběhu devatenáctého století bylo pro zkrácení doby vulkanizace v gumárenství, později ZnO nahradily saze. S objevem prvních organických urychlovačů pro vulkanizaci, ZnO nalezl nové uplatnění jako aktivátor. Dnes gumárenská technologie spotřebovává značnou část vyrobeného ZnO (Moezzi et al., 2012).

### 3.3.1 Využití nanočástic ZnO

Mnoho materiálů, které jsou syntetizované jako komerční produkty, jsou zavedeny do každodenního života. Například nanočástice oxidu zinečnatého jsou jedním z nejčastěji používaných materiálů pro průmyslové a obchodní aplikace, včetně péče o pleť, vlasové produkty, ochrany proti slunečnímu záření, barviva, povlaky, keramické výrobky a další (Fu et al., 2014). Vzhledem k řadě aplikací, studií týkající se syntézy, charakterizace a vlastností, získaly nanočástice ZnO velkou pozornost. Je to materiál s velkou excitační vazebnou energií 60 MeV, vysokou propustností a dobrou elektrickou vodivostí. Odolnost ZnO radiačnímu záření bylo užitečné například v aplikacích pro vesmírné účely. Mezi další aplikace patří využití jako biosenzory, senzory plynu, solární články, fotodetektory, katalyzátory, UV absorbéry, optické materiály, dále například nacházejí využití u elektronických a optoelektronických procesů a v kosmetice (Srivastava, Gusain, Sharma, 2013).

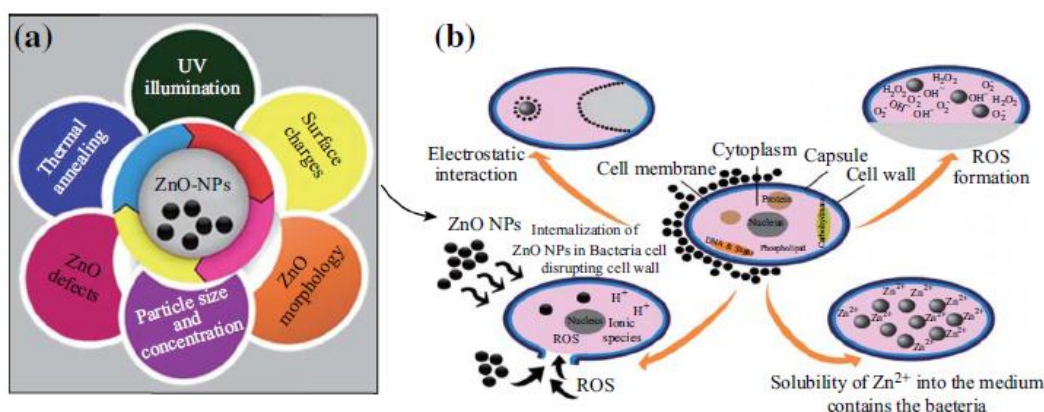


Obrázek 20 – cytotoxický účinek ZnO nanočástic MDCK a HeLa (Pandurangan et al., 2015)

Obecně se nanomateriály staly široce využívaným materiálem v lékařství, biologii a nacházejí uplatnění například při vývoji léčiv a nosičů léčiv. Práce Pandurangan et al., 2015 je zaměřena na prozkoumání cytotoxicity ZnO nanočástic proti lidským buňkám karcinomu děložního čípku. Bylo prokázáno, že nanočástice ZnO vykazovaly výrazný cytotoxický účinek na buňky karcinomu. ZnO částice vyvolaly proces apoptózy prostřednictvím zvýšené hladiny ROS. Můžeme proto dojít k závěru, že ZnO nanočástice působí cytotoxicky, což znamená nalezení užitečné cesty při léčbě a terapii rakoviny. Na obr. č. 20 vidíme cytotoxický účinek ZnO nanočástic u MDCK a HeLa buněk, jako závislost buněčné viability na koncentraci nanočástic ZnO.

### 3.3.2 Antibakteriální aktivita

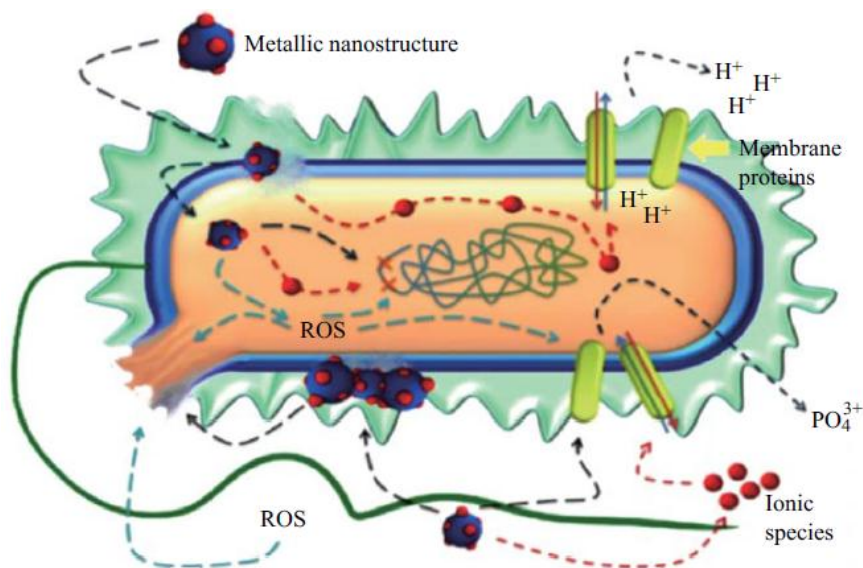
Antibakteriální aktivita nanočástic oxidu zinečnatého (ZnO-NP) obdržela značný zájem po celém světě zejména v souvislosti s prováděnými technologiemi syntézy nanočástic. Mnoho druhů mikroorganismů v rozmezí stovek nanometrů až desítek mikrometrů vykazuje zajímavé antibakteriální vlastnosti v důsledku zvýšeného specifického povrchu částic, což má za následek zvýšenou reaktivitu. Zkoumání mechanismu antibakteriální aktivity je kladeno především na baktericidní a bakteriostatické účinky s důrazem na tvorbu reaktivních forem kyslíku (ROS). ROS je hlavním faktorem pro mechanismus poškození buněčné stěny v důsledku ZnO interakce, která vede ke zvýšení propustnosti membrán. Dále toxické ionty zinku vedou k poškození mitochondrií, oxidačnímu stresu, inhibici růstu, kdy dojde až k buněčné smrti (Sirelkhatim et al., 2015).



Obrázek 21 – a) faktory ovlivňující antibakteriální aktivitu, b) mechanismy ZnO-NP (Sirelkhatim et al., 2015)

Existuje celá řada faktorů, které ovlivňují antibakteriální aktivitu ZnO-NP, patří mezi ně především povrch nanočástic, morfologie, UV záření a další. Veškeré aspekty můžeme vidět na obrázku č. 21 a). Obrázek 21 b) zobrazuje možné mechanismy ZnO-NP včetně účinků ROS, uvolňování  $Zn^{2+}$  iontů, začlenění Zn-NP do bakterie a dále například elektrostatické interakce. Toxicita bakterií způsobená ROS je připisována vysoké reaktivitě a oxidačním vlastnostem. Mnoho studií potvrzuje, že ROS formy jsou hlavní příčinou nanotoxicity (Sirelkhatim, 2015). Raghkupathi et al., 2011 prokázali, že zvýšená antibakteriální aktivita ZnO byla docílena v důsledku zvýšené produkce ROS pod UV zářením. Mezi tyto hlavní formy ROS můžeme zařadit anion  $O_2^{\cdot-}$ , peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ) a hydroxidový anion  $OH^-$ . Toxicita těchto druhů zahrnuje destrukci buněčných složek, jako jsou lipidy, DNA, bílkoviny v důsledku jejich včlenění do buněčné membrány bakterií. Nicméně role ROS se stala velkým předmětem diskuze mezi mnoha výzkumníky. Celá řada studií ukázala, že mechanismus probíhá pouze za světla, jak už bylo zmíněno. Zatímco ve studii Hirota et al., 2010 byla testována antibakteriální aktivita u bakterie *E. coli* a byla zjištěna produkce ROS i za tmy. Proto bude třeba provést další studie pro vysvětlení těchto tvrzení. Mechanismus interakce NPs s bakteriemi je vysvětlen několika způsoby, a to například nadměrnou tvorbou ROS anebo srážkou NP způsobenou na bakteriálním povrchu.

Stoimenov et al., 2002 navrhl elektrostatické interakce mezi povrchem NP a bakterií, jako příčinu inhibice růstu. Výsledkem těchto interakcí je poškození buněčné membrány. Na obr. č. 22 vidíme mechanismy antibakteriální aktivity, které zahrnují kroky, kdy se ionty ZnO-NPs dostávají do buňky, následuje oxidativní poškozování buněčných struktur, vedoucích k narušení replikace DNA. V buňce také dochází k tvorbě ROS, kdy molekuly  $H_2O_2$  jsou schopné projít přes bakteriální buněčnou stěnu, což má za následek poškození a spuštění buněčné smrti (Sirelkhatim et al., 2015).



Obrázek 22 – mechanismy antibakteriální aktivity v buňce a na povrchu (Sirelkhatim, 2015)

### 3.3.3 Mechanismus cytotoxicity oxidu zinečnatého

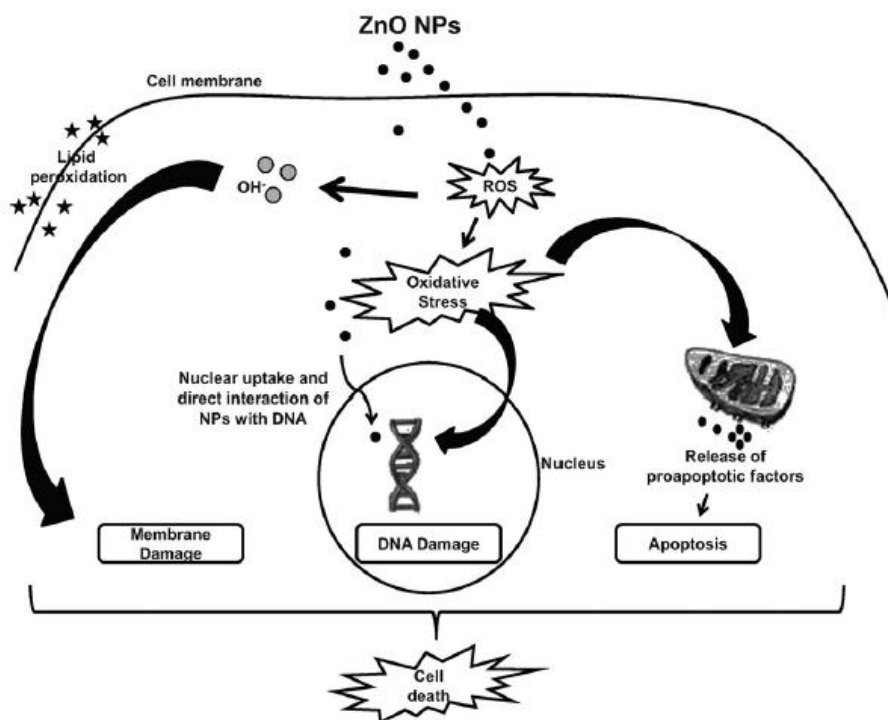
Potenciální škodlivý vliv nano-ZnO na lidské zdraví přitahuje pozornost celé veřejnosti. Je proto pochopitelné, že otázka toxicity nanomateriálu a interakce s biologickými systémy se stala předmětem zájmu široké veřejnosti (Hackenberg et al., 2011). I když přesný mechanismus není zcela objasněn, mnohé studie ukázaly, že oxidační stres a peroxidace lipidů (LPO) hraje důležitou roli a vyvolává poškození DNA, narušuje buněčnou membránu a způsobuje následnou buněčnou smrt (obr. č. 23). Existuje ovšem jen velmi málo studií hodnotících toxicitu ZnO-NPs v savcích a v lidských buňkách a tkáních. Například studie Gojová et al., 2007 popisuje vystavení ZnO-NP na buňky lidského aortálního endotelu a poukazuje na výrazné zvýšení hladiny mRNA markerů (interleukin-8) pro vznik zánětu. Další *in vitro* studie (Dufour et al., 2006) odhalila účinky ZnO na buněčnou linii čínského křečka (CHO). Oxid zinečnatý, který je hlavní součástí složek v oblasti kosmetiky a krémů na opalování, byl zkoumán z hlediska odezvy působení Zn-NPs na lidské epidermální buňky (A431). Výsledky ze studie dokazují, že vystavení ZnO na lidské buněčné linie způsobuje cytotoxicitu. Také zde byly vyzorovány účinky poškození DNA buněk, pro které je peroxidace lipidů a oxidační stres hlavní příčinou (Sharma et al., 2009).

Mnoho studií připisuje oxidačnímu stresu hlavní příčinu vzniku cytotoxicity. Ten je generován prostřednictvím volných radikálů a reaktivních forem kyslíku. Je doloženo, že



určité patologické změny, jako je zánět, jsou spojeny se zvýšeným oxidačním stresem. Vzhledem k tomu, že lidský respirační systém je často první v kontaktu se znečišťujícími složkami životního prostředí, mohlo by docházet ke zvýšení oxidačního stresu a tvorbě zánětů dýchacích cest, jako je astma nebo chronické plicní nemoci. Možnými cytotoxickými účinky ZnO-NPs se proto zabývá ve své studii Heng et al., (2010).

Nanomateriály se staly nedílnou součástí našeho života, díky novým výhodným vlastnostem. Toto tvrzení vyplývá především díky jejich malým rozměrům, kdy narůstá poměr mezi povrchovou plochou nanočásticí a jejím objemem. Nečekané efekty se proto promítají i do toxických účinků. Z experimentů vyplývá, že nanočástice ZnO jsou dvakrát toxičtější než částice v rozměru mikrometrů. Závěry studie poukazují na rizika především pro děti. Ovšem skutečnou toxicitu v *in vivo* podmínkách bude třeba ověřit v dalších studiích (Moos et al., 2010).



Obrázek 23 – schematické znázornění představující vyvolanou toxicitu ZnO NPs (Sharma et al., 2009)

### 3.3.4 PANI-ZnO kompozity

Obecnou snahou syntézy polymerních materiálů společně s anorganickými, je získání lepších vlastností a to především elektrických, optických, katalytických, mechanických atd. V posledních desetiletí bylo zaznamenáno několik studií, týkající se syntézy PANI kompozitů s anorganickými materiály v nanoměřítku, jako je  $\text{TiO}_2$ , CdS, silica, Ag, Au,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a další. Tyto způsoby syntézy byly provedeny buď ve vodných roztocích pomocí metody sol-gel nebo disperze nanočástic v roztoku oxidací anilinu s peroxydisíranem amonným (APS), kdy je tento postup znázorněn na obrázku č. 24 (Mostafaei a Zolriasatein, 2012). Dále se například studie Zhao et al., 2011 zabývá přípravou kompozitu PET-ZnO/PANI zahrnující technologie mokré přípravy a oxidační polymerační postupy.



Obrázek 24 – schéma tvorby kompozitu PANI/ZnO  
(Mostafaei a Zolriasatein, 2012)

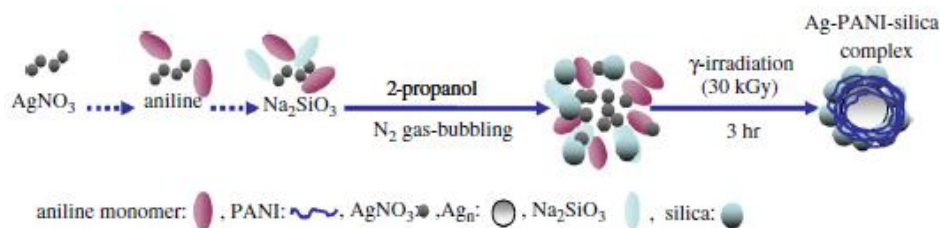
Ve studii Nath et al., 2016 se výzkumníci zabývali tvorbou nanokompozitu, který je složený z části  $\text{ZnO-CeO}_2$  v matici skládající se z celulózy a polyanilinu. Tento biokompozit by mohl mít významnou účinnost pro absorpci rozpuštěného arsenu, jako kontaminující látky v přírodních zdrojích vod. V této práci byla také zjištěna antibakteriální aktivita  $\text{ZnO-CeO}_2$ , která je účinná proti gram-pozitivním i gram-negativním bakteriím. Tyto výsledky poukazují na využití tohoto nanokompozitu, jednak jako absorbentu arsenu a jednak jako antimikrobiální činidlo, které by mohlo najít uplatnění v oblasti nátěrových hmot a hlavně pro efektivní a ekonomické čištění vod.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

#### 4 POSTUP PŘÍPRAVY VZORKŮ

V této praktické části jsou prezentovány jednotlivé postupy přípravy, jak práškových forem, tak PANI filmů pomocí různých modifikací. Dále jsou zde popsány materiálové charakteristiky, jako je povrchová energie a vodivost. Povrchová energie materiálu je měřena na připravených polyanilinových filmech a vodivost na polyanilinovém prášku. Dále jsou zde popsány antibakteriální vlastnosti polyanilinových prášků pomocí difúzního testu na bakteriích *E. coli* a *S. aureus*. Z hlediska buněčné kompatibility je vyhodnocena buněčná adheze a cytotoxicita extraktu u buněčné linie NIH/3T3.

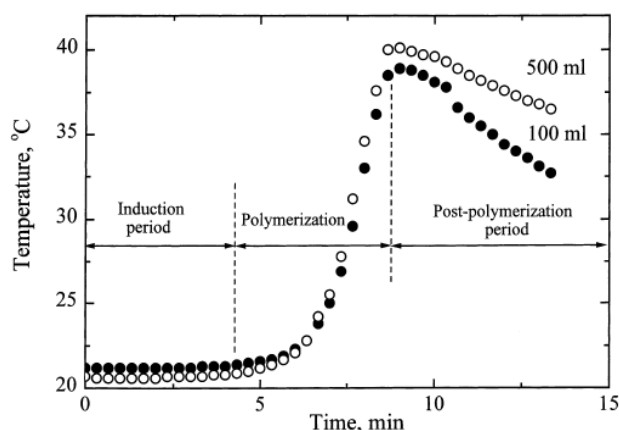
Polymerace polyanilinu byla provedena v přítomnosti dvou složek, a to siliky a dusičnanu stříbrném. Přídavek stříbra byl poté hodnocen hlavně z hlediska antibakteriálních vlastností. Hlavní úloha siliky představuje využití především jako plnivo, a to pro zlepšení povrchových vlastností těchto kompozitů. Jedním typem plniva na bázi oxidu křemičitého je mikroamorfní silika. Mikroamorfní oxidy křemičité mohou být dále děleny na mikročástice, zahrnující pyrogenní oxid křemičitý a dále například oxid křemičitý hydratovaný (Abe et al., 2008). Pyrogenní oxid křemičitý, použitý v experimentální části této diplomové práce, je synteticky připravený, a to především z důvodu čistoty. Syntéza zahrnuje nepřetržitou plamennou hydrolýzu chloridu křemičitého, tím je chlorid převeden do plynné fáze odpařením, kdy posléze reaguje s vodíkem a kyslíkem (Gun'ko et al., 2001). Vědecké poznatky, zabývající se kompozity polyanilinu společně se silikou, jsou zatím velmi vzácné. Například práce Wang et al., 2014 podává ucelený přehled o příznivých vlastnostech a možnosti využití nanočástic oxidu křemičitého v biomedicínských aplikacích a v oblasti podání léčiv. Práce Kim et al., 2010 se zabývá přípravou a elektrickými vlastnostmi kompozitu polyanilin-Ag-silika. Tento kompozit byl připraven syntézou pomocí  $\gamma$ -záření při laboratorní teplotě (obr. č. 25) a následně byla vyrobena elektroda pro snímání  $H_2O_2$ . Kompozity vykazovaly vysokou stabilitu a zejména vysoká vodivost by mohla hrát důležitou roli při snímání elektrických odezev v oblasti biofyziologických systémů.



Obrázek 25 – příprava kompozitu PANI-Ag-silika  $\gamma$ -zářením (Kim et al., 2010)

## 4.1 Syntéza práškového polyanilinu

Syntéza práškového polyanilinu byla provedena podle postupu IUPAC, kterou provedla skupina pracovníků v roce 2002 pod vedením Jaroslava Stejskala. Proces polymerace byl navržen tak, aby byl co nejjednodušší a následně byl vyhodnocen pomocí měrné elektrické vodivosti, což bylo hlavním kritériem. Pro syntézu polyanilinu mohou být použity různé anorganické nebo organické kyseliny v různých koncentracích. Odlišná protonace polyanilinu má poté vliv na rozpustnost, vodivost a stabilitu. V práci IUPAC byla zvolena kyselina chlorovodíková. Jako monomer byl vyvinut anilin hydrochlorid a jako okysličovadlo peroxydisíran amonný. Stechiometrický poměr mezi nimi byl stanoven na hodnotu 1,25. Samotný proces polymerace trvá při laboratorní teplotě 10 minut. Ovšem při teplotě 0-2°C se proces prodlouží na 1 hodinu. Polymerace je exotermickou reakcí, proto postup reakce může být monitorován teplotou směsi. Na obrázku č. 26 můžeme vidět teplotní profil polymerace, který byl zaznamenán na Ústavu makromolekulární chemie v Praze (Stejskal a Gilbert, 2002).



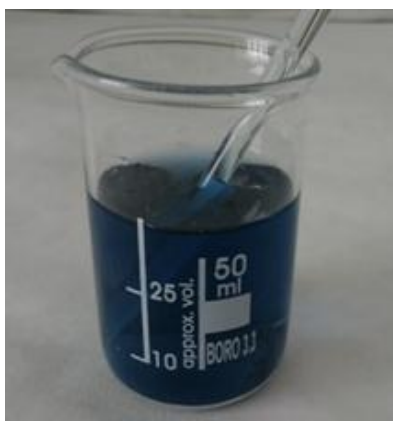
Obrázek 26 – teplotní profil polymerace

(Stejskal a Gilbert, 2002)

### 4.1.1 Postup přípravy prášků

Práškový polyanilin byl syntetizován za účelem vzniku různých modifikací. V prvním kroku byl připraven prášek čistého polyanilinu dle následujícího postupu. Anilin hydrochlorid (Lach-Ner, Česká republika) v množství 2,59 g (20 mmol) byl rozpuštěn v 50 ml deionizované vody. Dále byl připraven roztok 5,71 g (25 mmol) persíranu amonného (Sigma-Aldrich Co., USA) opět v 50 ml deionizované vody. Oba roztoky byly důkladně promíchány do úplného rozpuštění složek, poté smíchány a ponechány při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny, během které došlo ke zreagování složek a vzniku polyanilinové soli

(obr. č. 27). Následujícím krokem bylo oddělení sraženiny polyanilin hydrochloridu filtrací, kdy byla sůl promývána 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou, metanolem a následně sušena při laboratorní teplotě.



Obrázek 27 – reakční směs anilin hydrochloridu a persíranu amonného

V dalším kroku byl připraven kompozit polyanilinu se stříbrem, který je studován především díky antibakteriálním vlastnostem. Stříbro je známo jako jeden z nejslibnějších dezinfekčních prostředků, který má široké spektrum účinků proti bakteriím, plísním a kvasinkám (Sharma, Yngard, Lin, 2009). Mnoho výzkumných skupin potvrzuje zvýšení antibakteriálních vlastností polymerů po začlenění Ag, ať už v podobě nanočástic, solí nebo oxidů. Začlenění Ag do matrice vodivých polymerů může poskytnout kompozitní materiál s vynikajícími vlastnostmi, který kombinuje zesílení vodivosti a zároveň antibakteriální ochranu (Kooti, Kharazi, Motanedi, 2014). Antibakteriální účinek polyanilinu společně se stříbrem proti *E. Coli* a *S. Aureus* byl prokázán skupinou Jia et al., (2012), kteří studovali PANI stříbrné nanokompozity obsahující PANI nanovlákná a nanočástice Ag.

Kompozit polyanilinu se stříbrem byl připraven dvěma postupy, kdy první zahrnoval zamíchání roztoku dusičnanu stříbrného přímo do reakční směsi a v druhém postupu byla nejprve připravena polyanilinová sůl, která byla poté převedena na bázi. Teprve v dalším kroku došlo k reakci s dusičnanem stříbrným. První modifikace kompozitu PANI-Ag (RS) byla připravena dle postupu Stejskal et al., (2008). Anilin hydrochlorid (Lachner, Česká republika) v množství 2,59 g (20 mmol) byl rozpuštěn v 50 ml deionizované vody. Dále byl připraven roztok 5,71 g (25 mmol) persíranu amonného (Sigma-Aldrich

Co., USA) opět v 50 ml deionizované vody. Roztok dusičnanu stříbrného byl připraven rozpuštěním 0,85 g (3 mmol)  $\text{AgNO}_3$  (IPL, Česká republika) v 50 ml deionizované vody. Poté byly roztoky smíchány (obr. č. 28) a ponechány při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny, během které došlo ke zreagování složek a vzniku kompozitu PANI-Ag (RS). Směs byla následně přefiltrována, promývána 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou, metanolem a usušena při laboratorní teplotě. Druhou metodou přípravy tohoto kompozitu bylo vytvoření nejprve polyanilinové soli. Postup byl zvolen podle práce Stejskal et al., (2008). Po vytvoření polyanilin hydrochloridu byla provedena deprotonace pomocí 1 M hydroxidu amonného a převedení zelené polyanilinové soli na modrou nevodivou bázi. Produkt byl přefiltrován, promýván metanolem a poté sušen při laboratorní teplotě. Následujícím krokem bylo připravení roztoku dusičnanu stříbrného, a to rozpuštěním 0,85 g  $\text{AgNO}_3$  v 50 ml deionizované vody. Polyanilinová báze byla smíchána s roztokem dusičnanu stříbrného a ponechána 24 hodin ke zreagování. Následující den byla směs přefiltrována a usušena při laboratorní teplotě.



Obrázek 28 – směs roztoku PANI-Ag (RS)

Další modifikací připravenou v této práci byl kompozit polyanilinu a siliky. Kompozit byl připraven smícháním roztoků anilin hydrochloridu (2,59 g v 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) a persíranu amonného (5,71 g v 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ). V dalším kroku bylo množství 1,15 g (44 hmot. %) siliky řádně rozpuštěno v 50 ml 1M HCl (postup přípravy dle Liu, 2009). Roztoky byly opět smíchány a ponechány k reakci po dobu 1 hodiny. Po reakci byla směs přefiltrována a promyta 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou a metanolem. Výsledný kompozit polyanilin-silika byl poté usušen při laboratorní teplotě. Velmi zajímavým typem kompozitu je struktura složená z polyanilinu, stříbrných nanočástic a siliky (PANI-Ag-silika).



Obrázek 29 – reakční směs pro přípravu kompozitu PANI-Ag-silika

V praktické části byla příprava kompozitu PANI-Ag-silika provedena následujícím způsobem. Nejprve byl připraven roztok anilin hydrochloridu (2,59 g v 50 ml H<sub>2</sub>O) a persíranu amonného (5,71 g v 50 ml H<sub>2</sub>O). Poté byl připraven roztok dusičnanu stříbrného (0,85 g v 50 ml H<sub>2</sub>O) a siliky s navázkou 1,15 g. Silika byla opět důkladně rozpuštěna v 50 ml 1M HCl. Roztoky byly poté smíchány (obr. č. 29) a ponechány k reakci po dobu 1 hodiny. Směs byla zfiltrována a promyta 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou, metanolem a ponechána při laboratorní teplotě k důkladnému vysušení.

Polymerací byly připraveny formy práškového polyanilinu. Jednotlivé modifikace zahrnovaly přípravu čistého PANI (S), polyanilinu se stříbrem (PANI-Ag (RS)), dále bázi polyanilinu s následnou reakcí v dusičnanu stříbrném (PANI-Ag (B)), přípravu polyanilinu se silikou (PANI-silika) a v poslední řadě syntézu kompozitu PANI-Ag-silika. Materiál byl rozemlet v třecí misce, pro dosažení jemného prášku, ze kterých byly následně lisovány tablety na ručním lise TRYSTOM H-62 (Trystom, Olomouc). U každého prášku byly vy-lisovány 4 tablety a navážka každého vzorku činila 0,2 g, lisování probíhalo při tlaku 40-50 N. Výsledné tablety, zobrazené na obr. č. 30 byly poté využity pro měření vodivosti a antibakteriálního testování.





Obrázek 30 – práškové formy modifikací PANI a z nich vylisované tablety

## 4.2 Syntéza polyanilinových filmů

MacDiarmid et al., 1989 uvádí jedny z prvních poznatků o polyanilinu, který při polymeraci silně ulpívá jako tenký film na různých typech substrátů. Posléze bylo navrženo, že anilínové oligomery ukotvené na povrchu stimulují růst řetězců přednostně ve směru kolmém k podpoře. Polyanilinové filmy mohou být pěstovány například na povrchu skla, různých polymerů, kovů a dalších. Při přípravě filmů je využito schopnosti vodné reakční směsi vytvářet filmy o tloušťce přibližně 125 nm s globulární strukturou (Stejskal a Sapurina, 2005).

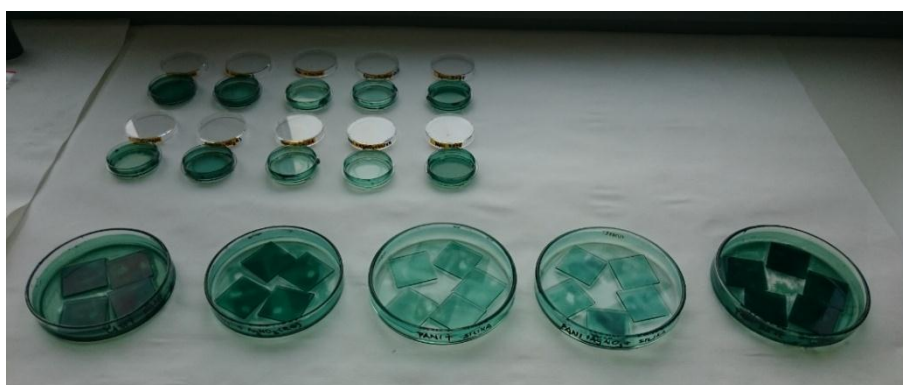
Nejprve bylo potřeba zvolit vhodný substrát, kterým byl film opatřen. Pro buněčnou adhezi byly použity polystyrenové misky o průměru 40 mm s hloubkou 11 mm (obr. č. 31). Pro měření povrchové energie bylo potřeba připravit sklíčka o rozměru 20x20 mm, na kterých přímo probíhala chemická oxidace anilinu podle postupu Stejskal a Sapurina, 2005. Sklíčka byla vložena do skleněných Petriho misek a po reakci došlo k vytvoření tenké vrstvy na vrchní straně těchto sklíček.



Obrázek 31 – reakční směs v polystyrenových sklíčkách pro měření buněčné adheze

Postup přípravy reakčních směsí byl stejný jako u přípravy modifikací polyanilinových prášků s tím rozdílem, že směs byla ihned nalita do polystyrenových misek a na sklíčka. Po polymeraci byla sraženina vylita a povrch byl poté opláchnut 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou. Na závěr byly ještě polystyrenové misky opláchnuty metanolem a sušeny na vzduchu.

První krok v praktické části zahrnoval přípravu, jak polyanilinových prášků, tak filmů. Syntézou byly připraveny čtyři modifikace společně s čistým polyanilinem. Z prášků byly v dalším kroku vylisovány tablety, které byly určeny pro měření vodivosti a dále byly využity pro zjištění bakteriální aktivity pomocí difúzního testu. Polyanilinové filmy byly připraveny jednak na polystyrenových miskách a jednak na povrchu skleněných sklíčků (obr. č. 32). Jednotlivé série sklíčků byly poté využity pro měření povrchové energie pomocí kontaktního úhlu a polystyrenové misky posloužily pro vyhodnocení buněčné adheze.



Obrázek 32 – vzorky PANI filmů připravené pro další testování

## 5 METODIKA

Polyanilinové filmy i prášky mohou být testovány pomocí řady klíčových parametrů. V rámci této diplomové práce byla měřena povrchová energie a elektrická vodivost. Tyto parametry jsou podrobněji popsány níže.

### 5.1 Měření elektrické vodivosti čtyřbodovou metodou

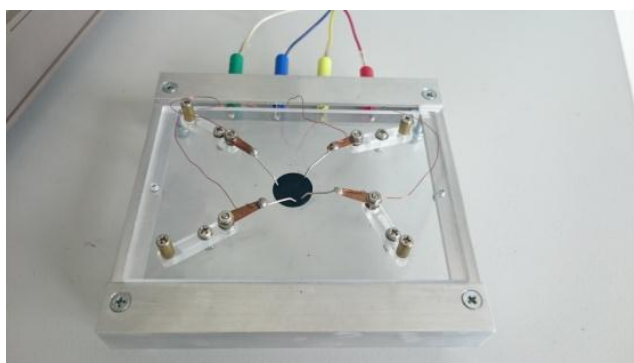
Měrná elektrická vodivost polyanilinových filmů a prášků může být měřena pomocí čtyřbodové metody dle Van der Pauwa. Pro měření práškových struktur je zapotřebí nejprve vytvořit lisované tablety. Van der Pauwova metoda umožňuje měřit rezistivitu tenkého vzorku jakéhokoliv tvaru, kdy metoda vyžaduje, aby byly kontakty co nejbližší okrajům vzorku. Dále aby byly rovnoměrně rozděleny a povrch vzorku byl spojitý a pokud možno, aby měl ve všech místech stejnou tloušťku (Veřtát, 2012).

V této práci byla využita aparatura pro měření rezistivity vzorků pro získání měrné elektrické vodivosti polyanilinových prášků pomocí čtyřbodové metody podle van der Pauwa. Tuto aparaturu můžeme vidět na obrázku č. 33. Nejprve byly z polyanilinových prášků připraveny tablety lisováním pomocí přístroje TRYSTOM H-62. Sestava pro měření rezistivity obsahuje scanner Keithley K 7002 (Keithley Instruments, Inc., USA), digitální elektrometr Keithley K 6517 (Keithley Instruments, Inc., USA), programovatelný napěťový zdroj Keithley K 2410 (Keithley Instruments, Inc., USA), spínací kartu Keithley K 7011 – S (Keithley Instruments, Inc., USA) a osobní počítač, který je vybavený dvěma PCI kartami (GPIB a převodníkovou AD25 PCI kartou).



Obrázek 33 – aparatura pro měření vodivosti PANI prášku

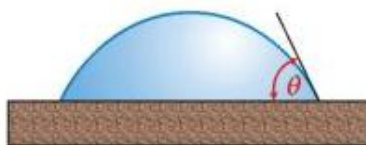
Měření konduktivity polyanilinových tablet probíhá pomocí programu VDP, který provádí cyklické měření rezistivity při konstantní hodnotě proudu. Do programu byly zadány parametry, a to tloušťka vzorku, proud a napětí. Před začátkem měření byla vždy na každé tabletě změřena odpovídající tloušťka pomocí mikrometru a vyskytovala se kolem 1 mm, dále byla zadána hodnota měřicího proudu ( $1 \times 10^{-5}$  A) a hodnota maximálního napětí přiložených elektrod, nastavena na 200 V. Vzorek tablety byl poté vložen na měřící stolek (obr. č. 34) tím způsobem, aby kontakty elektrod sahaly po jeho obvodu, pro zajištění dobrého kontaktu se vzorkem. Nesmělo ovšem dojít ke kontaktu mezi elektrodami. Následně bylo spuštěno měření, kdy vzorkem probíhal proud a zároveň docházelo k měření napětí. Měřením byly získány hodnoty napětí a díky tloušťce vzorku byl vypočten měrný odpor daného typu polyanilinové tablety. Z dat měrného elektrického odporu byla poté získána měrná elektrická vodivost. U každé tablety byly provedeny čtyři odečty hodnot rezistivity, aby byla naměřena vodivost z různých míst vzorků.



Obrázek 34 – vzorek tablety PANI umístěný na měřícím stolku s elektrodami

## 5.2 Měření povrchové energie pomocí kontaktního úhlu

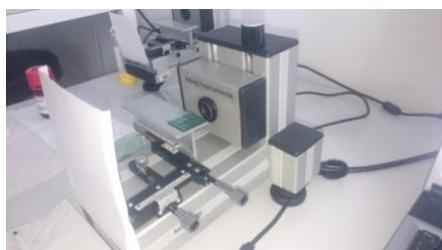
Schopnost buněk se přichytit a růst na povrchu polymerního materiálu je dána především hydrofilitou či hydrofobicitou povrchu. Tento klíčový parametr souvisí s volnou povrchovou energií a charakteristickými funkčními skupinami na povrchu filmů (Humpolíček et al., 2012a). Na základě zjištěného kontaktního úhlu lze vypočítat povrchovou energii daného materiálu a použít tyto informace pro lepší pochopení interakcí mezi materiálem a kapalinou, což hraje klíčovou roli v mnoha průmyslových odvětvích (Kedroňová, 2012). Měření kontaktního úhlu se využívá například u kontaktních čoček, kdy chceme zjistit smáčivost povrchu. Můžeme jej měřit například statickou kapkovou metodou. Tato metoda spočívá v kápnutí roztoku na hladký a čistý pevný povrch a sleduje se, jak se kapka rozprostře po povrchu látky. V oblasti optometrie by se jednalo o kápnutí fyziologického roztoku na povrch kontaktní čočky (Falhar, 2014).



Obrázek 35 – přisedlá kapka k povrchu (Bartovská, Šišková, 2005)

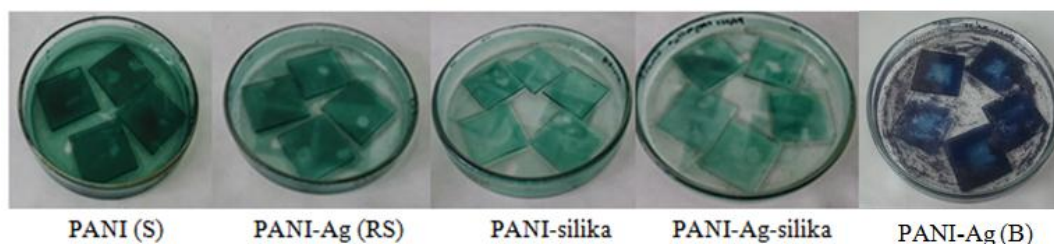
Měření kontaktního úhlu je jednoduše provedeno stanovením úhlu, který svírá tečna k povrchu kapky vedená v bodě styku kapky s rozhraním, jak je ukázáno na obrázku č. 35. Pokud je kontaktní úhel menší než  $90^\circ$ , povrch hodnotíme jako smáčivý a pokud je úhel větší než  $90^\circ$  jedná se o povrch nesmáčivý. Pokud je použita voda jako testovací kapalina, pak povrch hodnotíme jako hydrofilní či hydrofóbní. See Systém (Surface Energy Evaluation Systém) je zkratka pro přístroj a software, který byl vyvinut na Přírodovědecké fakultě Masarykovi Univerzity. Tento přístroj slouží k měření kontaktního úhlu sedící kapky na zkoumaném vzorku. Zařízení je složené z CCD kamery umístěné na posuvném stolku (obr. č. 36), který je připojený pomocí USB portu k počítači. Pro měření je zapotřebí vzorek o velikosti několika čtverečních metrů, který se posadí před čočku kamery. Pomocí mikropipety jsou na vzorek nakápnuty kapky testovací kapaliny. Díky See Systému dojde k okamžitému zobrazení profilu kapky a výpočtu kontaktního úhlu na základě interpolace výšky a šířky oblouku opisující tvar dané kapky. Díky přístroji můžeme zachytit obrázky,

vývoj profilu kapky a například provést výpočet povrchové energie. Tato metoda je velice rychlá, finančně nenáročná a přenosná. Nachází své uplatnění v oblasti charakterizace vlastností polymerů, biokompatibilních materiálů, přes farmaceutický, textilní, chemický průmysl (Kedroňová, 2012).



Obrázek 36 – kamera umístěná na posuvném stolku

Pro měření kontaktního úhlu sedících kapek a jejich následné vyhodnocení povrchové energie byl využit SEE Systém (Advex Instruments, Česká Republika), který je zobrazen na obr. č. 38. Pro vyhodnocení byla použita tzv. acidobazická metoda, která využívá tři kapaliny se standardizovanou hodnotou povrchové energie. Mezi tyto kapaliny patří deionizovaná voda, diiodmethan (158429, Sigma-Aldrich Co.) a etylenglykol (85978, Sigma-Aldrich Co.). Objem kapky, který byl dávkovaný pomocí mikropipety na polyanilinový film, činil 100  $\mu\text{l}$ . Pro vyhodnocení byla použita CCD kamera o rozlišení 1600x1200 pixelů, umístěná na posuvném stolku. Na jednotlivá sklíčka s polyanilinovými filmy byla nakápnuta tekutina. Kapička byla vyfocena a následně pomocí software SEE System 6.2, byl převeden profil kapky na kružnici pomocí tří bodů. Následně byl spočítán kontaktní úhel na daném povrchu. Byly změřeny kontaktní úhly vždy pěti kapek každé měřící kapaliny na jednotlivých typech filmů, které jsou zobrazeny na obr. č. 37. Software zobrazí hodnoty kontaktních úhlů pro každou kapalinu a přepočítá je na celkovou povrchovou energii včetně stanovení chyb měření.



Obrázek 37 – jednotlivé modifikace filmů pro měření kontaktního úhlu



Obrázek 38 – SEE Systém pro měření kontaktního úhlu sedící kapky, který byl využit pro praktickou část

### 5.3 Testy buněčné aktivity

Buněčné kultury můžeme dnes zařadit mezi základní techniky využitelné, jak v základním a aplikovaném výzkumu, tak i ve výrobě. Ve výzkumné oblasti slouží hlavně jako zdroj materiálu pro pokusy. Řadu buněčných linií lze snadno kultivovat a můžeme proto v relativně krátké době získat velké množství materiálu. Ovšem vyskytují se i významná omezení, které využití buněčných kultur limitují. Kultivované buňky rostou za nefyziologických podmínek v umělém kultivačním médiu. Toto složení se výrazně liší od vnitřního prostředí v organismu a také je zde mnohonásobně vyšší tlak oproti tkáním. Práce s buněčnými kulturami vyžaduje rozsáhlé a nákladné vybavení. Hlavním kritériem pro tuto práci je, že prostředí musí být přísně sterilní. Nesmí dojít ke kontaminaci zvenčí, ale také kultur mezi sebou. Problémem také může být kontaminace neviditelnými aerosoly, které vznikají při pipetování. Hlavní podmínkou je práce ve vybavené a čisté laboratoři. Laboratoř by měla podléhat takovým opatřením, aby se zamezilo kontaminace částicemi, které jsou obsažené ve vzduchu a dále je také potřeba zajištění čistoty povrchů (Vejražka, 2008).

### 5.3.1 Informace o použitých buněčných liniích a kultivačním médiu

V rámci této práce byla v praktické části použita buněčná linie NIH/3T3 (ATCC<sup>®</sup> CRL-1658<sup>™</sup>), což je linie myších fibroblastů. Kultivační médium bylo použito Dulbecco's Modified Eagle Medium – DMEM (Biosera, Francie), s vyšším obsahem glukózy a přísadkem 10% telecího séra (Biosera, Francie) a také antibiotika, a to konkrétně Penicilin/Streptomycin (Biosera, Francie) v koncentraci 100 µl/ml. Buňky byly kultivovány v polystyrenových kultivačních nádobách. Ideální podmínky pro kultivaci byly docíleny díky Inkubátoru Heracell 150i (ThermoScientific, USA), kdy kultivace probíhala při teplotě 37°C, při využití atmosféry s 5% příměsí CO<sub>2</sub> za konstantní relativní vlhkosti.

### 5.3.2 Trypsinizace a kultivace buněk

Před samotným testováním je potřeba provést jednotlivé kroky, jako je trypsinizace a případná prekultivace buněk. To se provádí z důvodu fyziologických parametrů. Buňky byly kultivovány v polystyrenových kultivačních nádobách. Před vlastní prací byl stav buněk zkontrolován pomocí světelného mikroskopu s fázovým kontrastem Olympus IX 81 (Olympus, Japonsko). Buňky byly přesunuty do laminárního boxu s řízenou cirkulací vzduchu HERAsafe KSP (ThermoScientific, USA), kde bylo z nádoby odsáto kultivační médium. Z buněk byly poté opláchnuty zbytky média a séra 15 ml fosfátového pufru PBS (konc. 0,2 ml/cm<sup>2</sup>). Poté bylo opět provedeno odsátí. Do polystyrenových misek bylo přidáno 7,5 ml serinové protézy trypsin (konc. 0,1 ml/cm<sup>2</sup>). Misky byly ponechány v inkubátoru Heracell 150i, ale bylo potřeba průběžně kontrolovat stav buněk. Mezi adherovanými buňkami a kultivačním povrchem došlo k přerušení vazeb, tento proces trval nejdéle však 20 minut. Poté bylo opět do nádoby přidáno stejné množství kultivačního média v množství 7,5 ml. Buňky byly poté pomocí pipety převedeny do centrifugační zkumavky. Při teplotě 37 °C, rychlosti 1100 rpm a doby 3 minut, bylo provedeno odstředění pomocí centrifugy Eppendorf 5702R (Eppendorf, Německo). Po uplynutí této doby bylo patrné, že buňky jsou koncentrovány ve spodní části zkumavky. Médium bylo poté odsáto a počet buněk  $2 \cdot 10^7$ , které se nacházelo ve zkumavkách, bylo možno naředit opět pomocí kultivačního média.



### 5.3.3 Buněčná adheze

Pro měření buněčné adheze byly připraveny filmy s příslušnými modifikacemi polyanilinu na polystyrenových miskách s průměrem 40 mm a misky z tkáňového polystyrenu, které posloužily jako reference. Tyto misky jsou zobrazeny na obr. č. 39, kdy pro každou modifikaci byly připraveny dva vzorky. Misky byly osazeny buňkami a to 2 ml suspenze buněk v médiu o koncentraci  $1 \cdot 10^6$  buněk/ml. Misky společně s buňkami byly vloženy do inkubátoru Heracell 150i, kde byly kultivovány 3 hodiny pro zajištění ideálních podmínek. Poté bylo pomocí mikropipety odsáto z misek médium a následně bylo provedeno opláchnutí povrchu pomocí 2 ml pufovaného fyziologického roztoku PBS (Gibco Life Technologies, USA). Po odsátí přebytečného PBS následovalo focení buněk adherovaných na polystyrenových miskách pomocí mikroskopu Olympus IX 81 (Olympus, Japonsko).



Obrázek 39 – polystyrenové misky připravené pro měření buněčné adheze

### 5.3.4 Testy cytotoxicity práškového extraktu

Samotné vyhodnocení cytotoxicity bylo provedeno podle ČSN EN ISO 10 993-5 „Zkoušky na cytotoxicitu *in vitro*“. V této praktické části byly připraveny extrakty z forem modifikovaného i čistého polyanilinu. Vzorky byly extrahované v kultivačním médiu a to v koncentraci 0,2 g/ml. Připravené suspenze byly extrahovány po dobu 24 hodin na třepačce IKA KS130 basic (Ika, Německo), při teplotě 37 °C. Po této době byla provedena centrifugace pomocí centrifugy Eppendorf 57025R (Eppendorf, Německo) a odebrání supernatantu. Ten byl posléze naředěn na příslušné koncentrace a přidán k buňkám. Před zahájením samostatného experimentu bylo potřeba provést prekulivaci buněk. Postup je stejný jako v kapitole 5.3.2.

Cytotoxicita kompozitu PANI-Ag (B) nebyla změřena, jelikož při přípravě extraktu došlo u tohoto vzorku k nedokonalému vyextrahování pravděpodobně kvůli nestabilitě práškové formy. Pláty osázené buňkami o koncentraci  $1 \cdot 10^5$  buněk/ml byly kultivovány po dobu 24 hodin a poté byly do připravených plátů přidány extrakty jednotlivých modifikací polyanilinu. Nejprve bylo z jednotlivých destiček odsáto médium a poté byl přidán extrakt o koncentracích 100%, 75%, 50%, 25%, 10% a 1%. Takto připravené destičky byly ponechány ke kultivaci po dobu 24 hodin v inkubátoru Heracell (obr. č. 40).



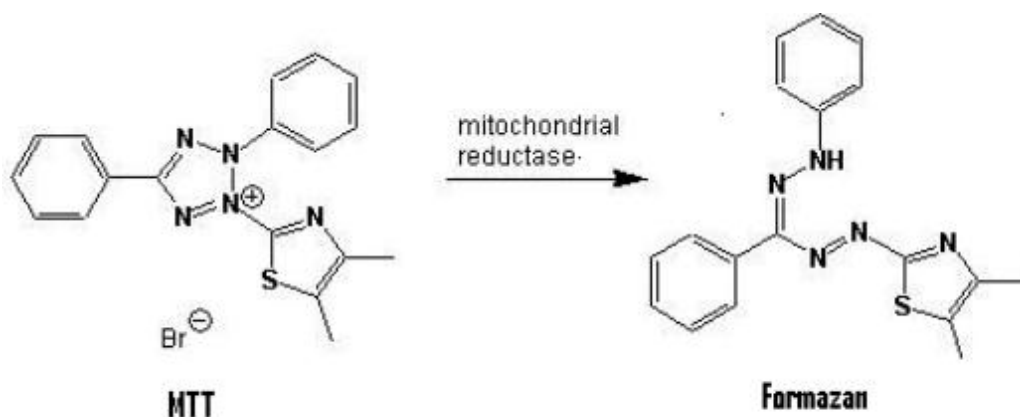
Obrázek 40 – pláty buněk kultivované s extrakty po dobu 24 hodin

#### 5.3.4.1 MTT

Metoda MTT je široce používána pro hodnocení cytotoxicity a životaschopnosti buněk. MTT neboli [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid] vytváří nažloutlý vodný roztok, který je v mitochondriích dehydrogenázou redukován na nerozpustný fialovo-modrý formazan (obrázek č. 41). Zbarvení vzniklého formazanu se vyhodnocuje spektrofotometricky při hodnotě vlnové délky 570 nm. Po vyhodnocení je množství MTT formazanu přímo úměrné počtu životaschopných buněk (Stockert et al., 2012).

Poté co byly buňky 24 hodin kultivovány s extrakty, byl veškerý extrakt odsát a nahrazen čistým médiem. V dalším kroku bylo k buňkám napipetováno MTT (Duchefa Biochemie, Nizozemsko), a to v koncentraci 0,5 mg/ml. Buňky byly poté vloženy do inkubátoru na dobu 4 hodin. Po uplynutí této doby bylo z destiček odsáto 80  $\mu$ l a přidáno 70  $\mu$ l DMSO (Dimethylsulfoxid, >99,9 %, Duchefa Biochemie, Nizozemsko). DMSO bylo na destičkách ponecháno k působení po dobu 15 minut. V posledním kroku byla změřena ab-

sorbance na mikrotitračním měřiči Infinite M200PRO (Tecan, Švýcarsko), a to při vlnové délce 50 nm.



Obrázek 41 – struktura MTT a jeho redukována forma (Brescia et al., 2009)

## 5.4 Antibakteriální testy

V této části byly provedeny testy antibakteriálních vlastností pomocí diskové difúzní metody podle Kirby-Bauera. K tomu byly využity dva druhy bakterií, a to gramnegativní *E. coli* a grampozitivní *S. aureus*. Antibakteriální testování bylo provedeno na tabletách vylisovaných z práškových modifikací polyanilinu.

### 5.4.1 Disková difúzní metoda

Disková difúzní metoda je jedním z nejstarších postupů antimikrobiálního testování citlivosti a zůstává jednou z nejvíce používaných metod. Velkou výhodou je její využití pro testování většiny bakteriálních patogenů (Matushek et al., 2013). Principem testování je naočkování mikroorganismu po celé ploše do agarové půdy. Následně se na povrch aplikují vzorky, jejichž inhibiční účinek je zkoumán. Antimikrobiální látka difunduje ze vzorků do agarové půdy a vytváří okolo viditelné zóny. U každé této zóny klesá koncentrace směrem k vnějšímu okraji. Uvnitř těchto zón dochází díky antimikrobiální látce k potlačení růstu mikroorganismu, zatímco okolní půda, která neobsahuje antimikrobiální látku, je bakteriálním kmenem porostlá. Vzdálenost vzorku a konce inhibiční zóny slouží tedy

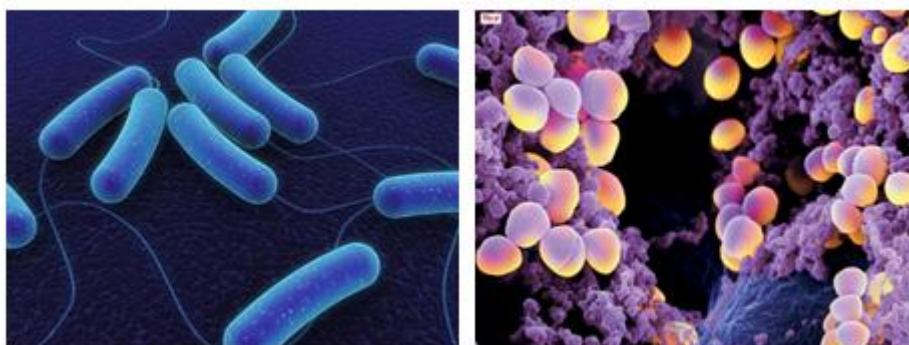
k orientačnímu posouzení citlivosti mikroorganismu vůči antimikrobiálním látkám (Janovská a Slehová, 2015).

Pro testování bylo nejprve nutné připravit Mueller-Hintonův agar (HiMedia Laboratories, India), který byl nalit na misky průměru 90 mm. Agar by měl splňovat určité parametry, například výška půdy by měla být v rozsahu  $4 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$  (přibližně 25 ml na kruhovou plotnu o velikosti 90 mm). Z bakteriálního kmene *E. coli* (CCM 4516) i *S. aureus* (CCM 4517) byla nejprve připravena třením bakteriologickou kličkou o vnitřní stěnu zkumavky suspenze. Suspenze neboli inokulum bylo připraveno ve fyziologickém roztoku o intenzitě 0,5 stupně McFarlandovy stupnice (konc.  $10^7$ - $10^8$  cfu/ml). Následně byl do zhotovené suspenze ponořen sterilní vatový tampón, ze kterého byla třením odstraněna přebytečná tekutina. Na povrch Mueller-Hintonova agaru bylo rovnoměrně rozetřeno inokulum, aby byla pokryta celá plocha agarové půdy. Poté byla na povrch agaru pinzetou vložena připravená vylisovaná tableta. Následně byly půdy se vzorky inkubovány pomocí inkubátoru Memmert INB400 (Memmert, Německo) při  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 24 až 72 hodin dnem dolů. Po provedení inkubace byly změřeny inhibiční zóny jednotlivých vzorků, jak u půd s bakteriemi *E. coli*, tak *S. aureus*.

## 6 VÝSLEDKY

V následující části diplomové práce jsou zobrazeny a vyhodnoceny veškeré naměřené výsledky. Polymerací byly připraveny polyanilinové filmy a prášky, které posloužily pro měření materiálových charakteristik a dále biologických a antibakteriálních vlastností.

Pro cytotoxicitu a buněčnou adhezi byly využity buňky NIH/ 3T3, což je linie myších fibroblastů. Tento typ buněk je široce využíván ve výzkumných laboratořích v oblasti virologie, pro experimenty buněčné a molekulární biologie. Buňky byly poprvé izolovány v roce 1962 na Univerzitě v New Yorku, a to Georgem Todarem a Howardem Greenem (Ray et al., 2015). Pro antibakteriální testy byly použity dva kmeny bakterií, a to *E. coli* a *S. aureus*. *S. aureus* patří mezi grampozitivní bakterie rodu stafylokoků. Nejčastěji způsobuje různé infekce od mírných zánětů až po život ohrožující sepsi (obr. č. 42 pravá část). Patogenita je příčinou produkce toxinů, které zapříčiňují poškození tkáně postiženého (Oeggerli, 2015). *E. coli* můžeme zařadit mezi gramnegativní bakterii, která tvoří tyčinkovité útvary opatřené bičíkem (obr. č. 42 levá část). Zahrnuje mnoho patogenních rodů, které patří ke střevní mikroflóře teplokrevných živočichů, ale i člověka. Můžeme ji zařadit mezi nejlépe prostudované mikroorganismy, protože se stala modelovým organismem pro genové a klinické studie (Nordqvist, 2015).



Obrázek 42 – na levo bakterie *E. coli* (Nordqvist, 2015), napravo *S. aureus* (Oeggerli, 2012)

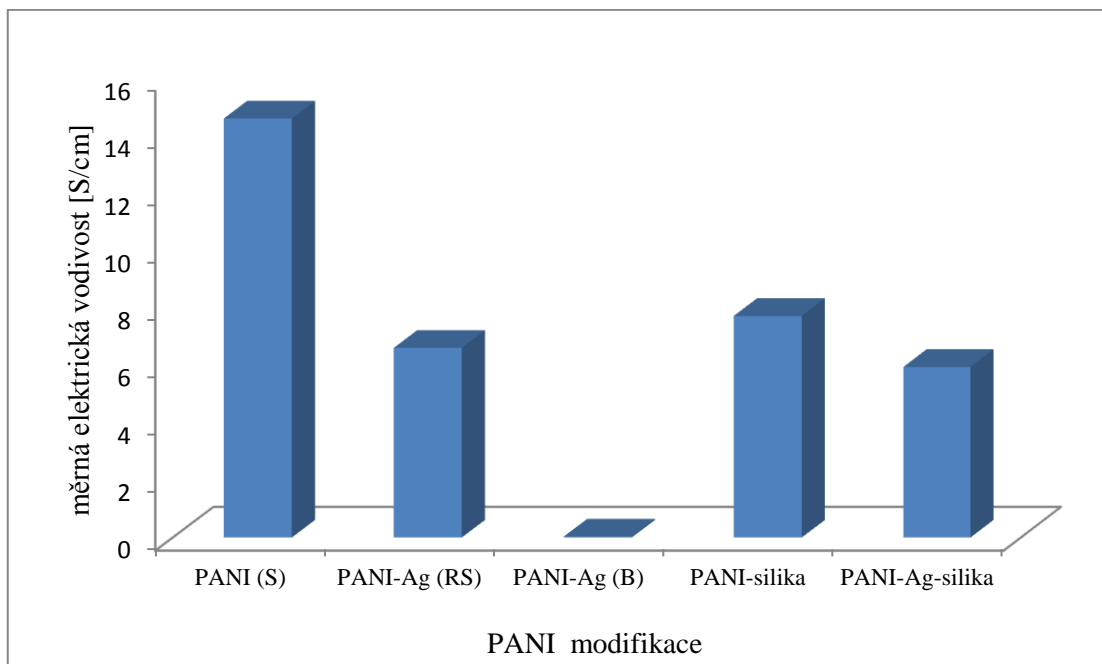
## 6.1 Měrná elektrická vodivost PANI prášků

Měření měrné elektrické vodivosti polyanilinových prášků bylo provedeno pomocí čtyřbodové metody dle van der Pauwa. Veškeré hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 1. Jak už bylo zmíněno, pro každou modifikaci byly vytvořeny čtyři tablety a u každé z nich byla změřena konduktivita na dvou různých místech. Pro každou modifikaci bylo tedy po přepočtu získáno osm hodnot měrné elektrické vodivosti, ze kterých byla posléze spočítána průměrná hodnota společně se směrodatnou odchylkou. Před každým měřením byla zjištěna tloušťka  $d$  tablety, která je také zobrazena v tabulce č. 1.

označení vzorku	$\rho$ [ $\Omega \cdot \text{cm}$ ] $\pm$ SD	$\sigma$ [S/cm] $\pm$ SD	$d \pm$ SD [cm]
PANI (S)	$0,0723 \pm 0,008$	$14,59 \pm 1,58$	$0,124 \pm 0,08$
PANI-Ag (RS)	$0,151 \pm 0,006$	$6,62 \pm 0,23$	$0,099 \pm 0,05$
PANI-Ag (B)	$0,321 \pm 0,03$	$0,034 \pm 2,88$	$0,097 \pm 0,03$
PANI-silika	$0,130 \pm 0,005$	$7,73 \pm 0,33$	$0,110 \pm 0,04$
PANI-Ag-silika	$0,171 \pm 0,006$	$5,957 \pm 0,21$	$0,100 \pm 0,06$

Tabulka 1 – výsledky měření vodivosti pomocí čtyřbodové metody

Z výše uvedených hodnot vyplývá, že největší vodivost vykazuje čistý polyanilin PANI (S) a to hodnotu 14,59 S/cm. Nejmenší hodnota konduktivity 0,034 S/cm byla naměřena u vzorku PANI-Ag (B), což je polyanilinová sůl deprotonovaná hydroxidem amonným, kdy báze následně zreagovala s roztokem dusičnanu stříbrného. Z výsledků je dále zjevné, že kompozity vykazují velmi podobné hodnoty konduktivity, avšak PANI-silika vykazuje nepatrně vyšší vodivost oproti vzorku PANI-Ag (RS). To může být způsobeno malým množstvím stříbra v kompozitu, tudíž stříbro nemá v tomto případě na vodivost zásadní vliv. Pro lepší znázornění byl také vytvořen graf závislosti měrné elektrické vodivosti na jednotlivých modifikacích, který je zobrazen níže (graf. č. 1).



Graf 1 – graf závislosti měrné elektrické vodivosti na typu modifikace

## 6.2 Povrchová energie PANI filmů

Pro měření kontaktních úhlů tří různých kapalin byl v této praktické části využit SEE Systém (Advex Instruments, Česká Republika). Pro vyhodnocení byla použita tzv. acidobazická metoda, která využívá standardizované hodnoty povrchových energií tří kapalin, a to deionizované vody, diiodmethanu a etylenglykolu. Jako povrchy pro měření nám posloužily připravené filmy polyanilinu a jeho modifikací. Nejprve byla vyfocena série kapek, které byly následně vyhodnoceny. Na obrázku č. 44 v levé části můžeme vidět profil kapky, který je poté převeden na kružnici pomocí tří bodů (obr. č. 44 pravá část). Pomocí programu je poté vypočítán kontaktní úhel kapky daného povrchu. Veškeré naměřené hodnoty kontaktních úhlů jsou zaznamenány v tabulce č. 2. Vyhodnocením kontaktních úhlů tří kapalin byly poté získány hodnoty celkové povrchové energie modifikace filmů polyanilinu  $\gamma^{\text{TOT}}$ , a to včetně disperzních a polárních složek  $\gamma^{\text{LW}}$  a  $\gamma^{\text{AB}}$ .



Obrázek 43 – příklad chování kapky vody na povrchu filmu modifikace PANI-silika a její vyhodnocení

Z hodnot kontaktních úhlů kapek u deionizované vody můžeme rozlišit povrch hydrofilní či hydrofobní. Pokud je hodnota kontaktního úhlu menší než  $90^\circ$ , povrch můžeme zařadit mezi smáčivý a tedy hydrofilní. Z tabulky č. 2 pozorujeme, že všechny typy filmů můžeme zařadit tedy mezi smáčivé, a to s kontaktním úhlem  $< 90^\circ$ . Největší kontaktní úhel pozorujeme u PANI-Ag (B), kdy je povrch smáčen vodou, tato hodnota činí  $61,28^\circ$ . Oproti tomu nejmenší kontaktní úhel vody byl naměřen u PANI-Ag-silika. Voda tedy nejvíce smáčela povrch filmu PANI-Ag-silika, oproti tomu nejméně byl smáčen PANI-Ag (B).

kontaktní úhel [ $^\circ$ ] $\pm$ SD					
měřící kapalina	PANI (S)	PANI-Ag (RS)	PANI-Ag (B)	PANI-silika	PANI-Ag-silika
voda	$41,1 \pm 7$	$42,55 \pm 18$	$61,28 \pm 32$	$54,8 \pm 13$	$39,34 \pm 8$
ethylenglykol	$9,3 \pm 4$	$10,93 \pm 7$	$14,45 \pm 10$	$18,5 \pm 49$	$21,67 \pm 4$
dijodmethan	$16,28 \pm 6$	$22,91 \pm 1$	$12,94 \pm 5$	$23,79 \pm 24$	$21,25 \pm 8$

Tabulka 2 – hodnoty kontaktních úhlů kapek naměřených na různých typech PANI modifikací



U vzorků PANI-Ag (RS), PANI-Ag (B) a PANI-silika po vyhodnocení pozorujeme velké odchylky u kontaktních úhlů, což může být například způsobeno nesouměrností filmu, kdy mohly vznikat prasklinky nebo došlo k vytvoření příliš tenké vrstvy filmu. Tabulka číslo 3 tedy zobrazuje celkové povrchové energie jednotlivých modifikací filmů. Z výsledků můžeme vyhodnotit, že nejvyšší povrchovou energii vykazuje modifikace PANI-Ag-silika, a to s hodnotou 54,37 mN/m. Poté povrchová energie klesá na hodnotu 53,6, což je povrchová energie kompozitu PANI-Ag (B), následuje pokles v řadě PANI (S), PANI-silika. Nejmenší povrchovou energii můžeme zaznamenat u kompozitu PANI-Ag (RS) s hodnotou 46,94 mN/m. Musíme zde však počítat s chybou měření, která tyto výsledky nepatrně zkresluje.

	PANI (S)	PANI-Ag (RS)	PANI-Ag (B)	PANI-silika	PANI-Ag- silika
$\gamma^{\text{TOT}}$ [mN/m]	50,94 ± 1	46,94 ± 4	53,60 ± 2	49,73 ± 4	54,37 ± 5
$\gamma^{\text{LW}}$ [mN/m]	48,78 ± 0	46,87 ± 0	49,52 ± 0	46,57 ± 2	47,40 ± 1
$\gamma^{\text{AB}}$ [mN/m]	2,15 ± 1	0,07 ± 3	4,08 ± 2	3,16 ± 3	6,96 ± 4

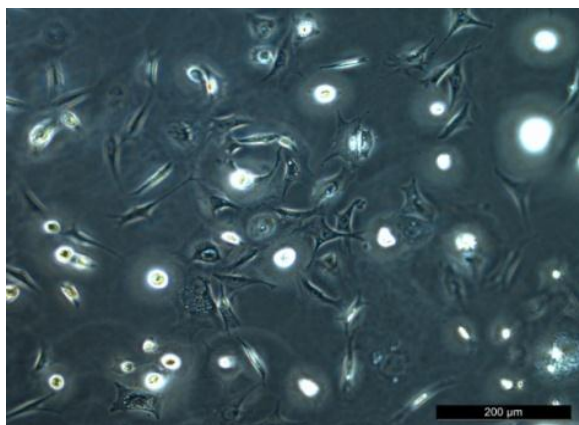
Tabulka 3 – hodnoty povrchových energií jednotlivých filmů, zahrnujících disperzní a polární složky

### 6.3 Buněčná adheze

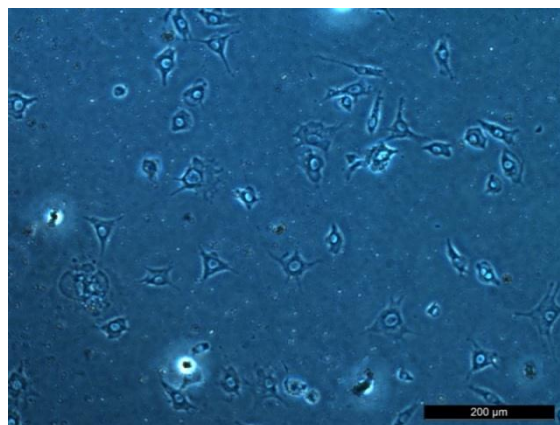
V praktické části byla pro posouzení buněčné adheze použita linie myších fibroblastů NIH/3T3. Filmy s adherovanými buňkami na polystyrenových miskách byly foceny pomocí invertovaného mikroskopu s fázovým kontrastem Olympus IX 81. Tento mikroskop byl opatřen digitálním zrcadlovým fotoaparátem s optikou Leica.

Na uvedených mikrofotografiích je zobrazena schopnost buněk NIH/3T3 adherovat na vytvořených filmech a jejich příslušných polyanilinových modifikacích. Mezi tyto modifikace můžeme zařadit PANI-Ag (RS), PANI-Ag (B), PANI-silika, PANI-Ag-silika a také pro srovnání polyanilinovou sůl (PANI-S). Na jednotlivých obrázcích můžeme také pozorovat rozdíl v morfologii a počtu životaschopných buněk. Buňky, které jsou dobře adherované k povrchu, můžeme na mikrofotografiích pozorovat jako tmavě zbarvené. To je způsobeno především díky plochému tvaru, který buňky na povrchu zaujímají. Světlé místa značí buňky volně se pohybující. Na prvním obrázku (A) vidíme referenční vzorek, kde je velký podíl buněk adherovaných a buňky jsou v dobrém fyziologickém stavu. U těchto buněk také pozorujeme typický tvar fibroblastů. Veškeré hodnocení je vztaženo právě ke vzorku referenčnímu. Další mikrofotografie (B) zobrazuje povrch filmu čistého polyanilinu, kde buňky také adherují a jejich stav je dobrý. Můžeme ovšem pozorovat nepatrnou změnu morfologie buněk oproti vzorku referenčním.

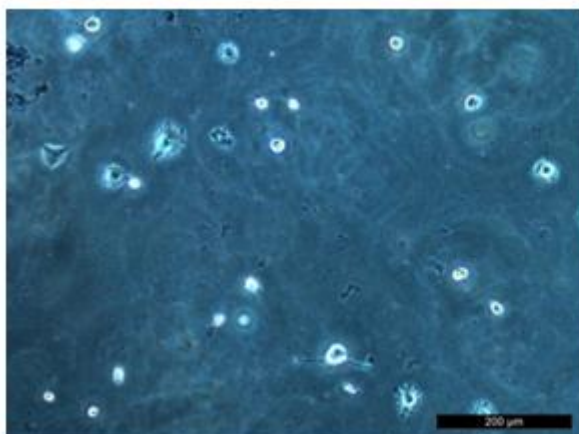
Na dalším obrázku (C) je povrch pokryt filmem PANI-Ag (RS), zde pozorujeme rapidní úbytek adherovaných buněk. U buněk také došlo k výraznému smrštění. Mikrofotografie PANI-Ag (B), (obrázek D) zobrazuje povrch, kde buňky nejsou schopné adherovat. Další dvě mikrofotografie zobrazují kompozity s příměsí siliky a oproti předchozím fotografiím pozorujeme viditelné změny. Na obrázku E je zachycen povrch kompozitu PANI-silika, kde buňky dobře adherují. Buňky vykazují dobrý fyziologický stav, který je srovnatelný se vzorkem referenčním a nedochází k zásadním morfologickým změnám. Na posledním obrázku je zachycen povrch kompozitu PANI-Ag-silika, kde pozorujeme nepatrný úbytek buněk. I přesto buňky dobře adherují a jejich fyziologický stav je dobrý.



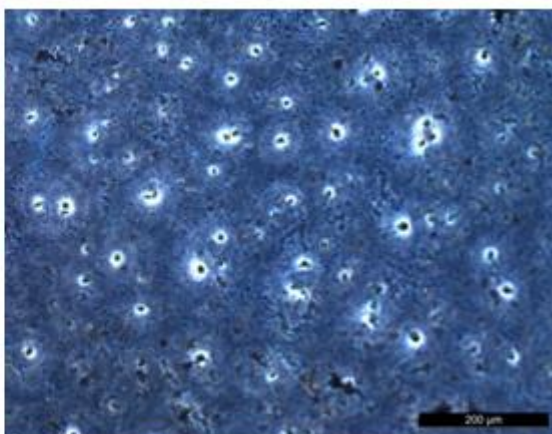
A – reference



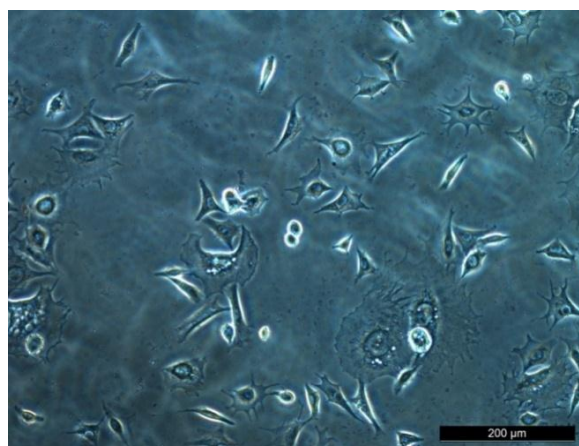
B – PANI (S)



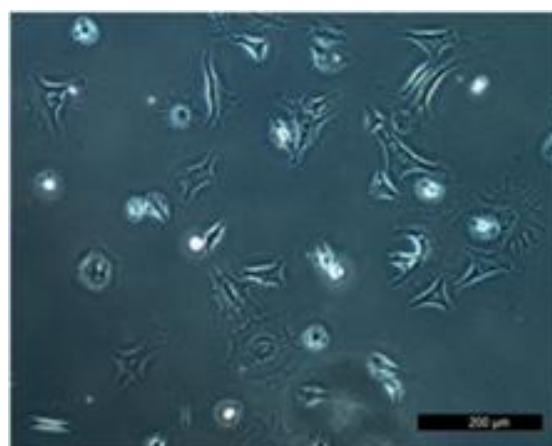
C – PANI-Ag (RS)



D – PANI-Ag (B)



E – PANI-silika



F – PANI-Ag-silika

Obrázek 44 – adheze buněk NIH/3T3 na filmech PANI modifikací (zvětšení 100x)

## 6.4 Cytotoxicita práškového extraktu

V této praktické části byla hodnocena cytotoxicita extraktů práškových forem a to v koncentracích 100%, 75%, 50%, 25%, 10% a 1%. Viabilita buněk, která je hlavním měřítkem pro porovnání cytotoxicity, je vyhodnocena a znázorněna pomocí tabulek, které jsou uvedeny níže. V tabulkách je vždy uvedena průměrná hodnota ze čtyř opakování a jejich směrodatné odchylky. Vyhodnocení bylo provedeno podle normy ISO 10 993-5 „Zkoušky na cytotoxicitu *in vitro*“. Výsledky mohou být posouzeny jednak pomocí průkaznosti mezi průměrnými hodnotami absorbance v porovnání se vzorkem referenčním a jednak pomocí procentuálního znázornění buněčné viability. Pro hodnocení podle ISO normy byl použit následující postup: hodnota rovnající se 100 znamená 100% přežitelnost buněk; >80 vyjadřuje necytotoxický efekt; 60-80 slabou cytotoxicitu; 40-60 střední cytotoxicitu; <40 silnou cytotoxicitu.

vzorek	průměr ± SD	viabilita %
PANI (S) 100%	0,016 ± 0,003	7,81
PANI (S) 75%	0,015 ± 0,004	7,12
PANI (S) 50%	0,013 ± 0,002	6,06
PANI (S) 25%	0,013 ± 0,005	6,27
PANI (S) 10%	0,017 ± 0,004	7,82
PANI (S) 1%	0,158 ± 0,033	74,75
reference	0,2114 ± 0,008	100

Tabulka 4 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI (S)

V tabulce č. 4 jsou zobrazeny koncentrace pro kompozit PANI (S), což je čistá polyanilinová sůl. Můžeme z ní vyčíst, že téměř veškeré koncentrace způsobují silnou cytotoxicitu. Oproti tomu nejnižší koncentrace a to 1% s hodnotou viability 74,75% vykazuje slabou cytotoxicitu.

vzorek	průměr ± SD	viabilita %
PANI-Ag (RS) 100%	0,037 ± 0,003	38,13
PANI-Ag (RS) 75%	0,036 ± 0,004	36,82
PANI-Ag (RS) 50%	0,034 ± 0,005	34,62
PANI-Ag (RS) 25%	0,036 ± 0,008	36,85
PANI-Ag (RS) 10%	0,036 ± 0,001	37,16
PANI-Ag (RS) 1%	0,107 ± 0,026	109,60
reference	0,0975 ± 0,004	100

Tabulka 5 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI-Ag (RS)

vzorek	průměr ± SD	viabilita %
PANI-silika 100%	0,037 ± 0,000	37,59
PANI-silika 75%	0,038 ± 0,003	35,52
PANI-silika 50%	0,037 ± 0,002	37,90
PANI-silika 25%	0,032 ± 0,005	32,57
PANI-silika 10%	0,037 ± 0,001	38,13
PANI-silika 1%	0,105 ± 0,002	108,01
reference	0,0975 ± 0,004	100

Tabulka 6 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI-silika

vzorek	průměr ± SD	viabilita %
PANI-Ag-silika 100%	0,037 ± 0,003	38,13
PANI-Ag-silika 75%	0,038 ± 0,004	39,39
PANI-Ag-silika 50%	0,034 ± 0,005	34,62
PANI-Ag-silika 25%	0,33 ± 0,007	34,29
PANI-Ag-silika 10%	0,036 ± 0,001	37,16
PANI-Ag-silika 1%	0,102 ± 0,003	104,47
reference	0,0975 ± 0,004	100

Tabulka 7 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI-Ag-silika

Další tabulka (č. 5) poukazuje na viabilitu u kompozitu PANI-Ag (RS) a je zde opět vidět, že necytotoxický efekt vykazuje pouze 1% koncentrace a to viabilitu s hodnotou 109,6%. Další dvě tabulky zobrazují viabilitu extraktu modifikací společně se silikou a pozorujeme zde obdobný trend jako v předešlých situacích. Konkrétně můžeme z tabulky č. 6 konstatovat, že necytotoxický účinek vykazuje opět 1% koncentrace extraktu kompozitu PANI-silika, oproti tomu další koncentrace vykazují silnou cytotoxicitu. Nejnižší hodnotu viability pozorujeme u 25% koncentrace extraktu s hodnotou 32,57% přežitelných buněk. U posledního kompozitu, a to PANI-Ag-silika (tabulka č. 7) je opět vidět, že 1% koncentrace extraktu vykazuje necytotoxický efekt oproti dalším koncentracím, které vykazují silnou cytotoxicitu.

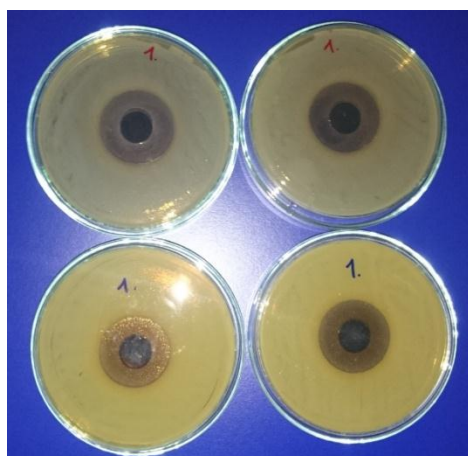
Z výše uvedených výsledků můžeme konstatovat, že za necytotoxické koncentrace můžeme považovat 1% koncentrace extraktu, a to u všech modifikací s výjimkou čistého polyanilinu, které vykazují viabilitu >100%.

## 6.5 Antibakteriální aktivita

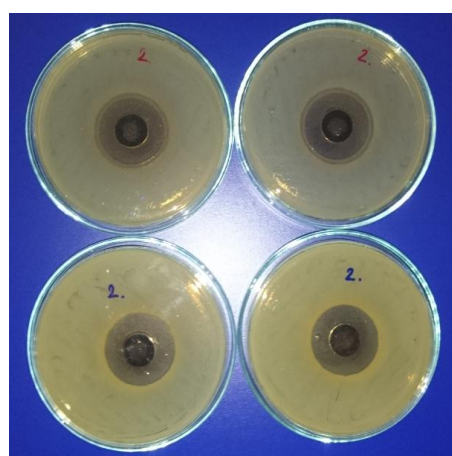
Antibakteriální vlastnosti připravených polyanilinových tablet jsou v této části hodnoceny pomocí diskové difúzní metody. Vzorky byly kultivovány na agarové půdě, kdy byla po 24, 48 a 72 hod. intervalech měřena šířka inhibiční zóny jednotlivých modifikací. Měření bylo provedeno po dvou opakováních, což znamená, že u každé bakterie byly použity dva vzorky příslušné modifikace. Pro každou modifikaci byly tedy vytvořeny čtyři tablety, dvě z nich byly použity pro měření inhibiční zóny u bakterie *E. coli* (červené značení) a dvě další pro *S. aureus* (modré značení). Z výsledků měření inhibičních zón byla vypočtena průměrná hodnota a to v jednotlivých intervalech, jak u bakterie *E. coli*, tak u *S. aureus*. Průměrná hodnota ze dvou opakování pro každou bakterii je zaznamenána v tabulce č. 8.

Fotografie modifikací jsou vytvořeny po 24 hod. kultivaci. Po této době bylo možné u kompozitu PANI-Ag (RS) pozorovat u obou vzorků bakterie *E. coli* zónu projasnění, která vykazovala šířku 2 mm. Z výsledků je také patrné, že největší inhibiční účinek vykazuje PANI-silika pro bakterii *S. aureus* a pro *E. coli* PANI-Ag (RS). Oproti tomu nejmenší inhibiční účinek vykazuje PANI-Ag (B) a to u obou bakterií. U *S. aureus* hodnota inhibiční zóny pro tento kompozit činí 5 mm a pro *E. coli* činí 2,5 mm. Z tabulky č. 8 je také zřejmé, že u bakterie *S. aureus* nedošlo k žádné změně šířky inhibiční zóny v různých intervalech inkubace. Oproti tomu u bakterie *E. coli* můžeme pozorovat například pro PANI (S) klesající šířku inhibiční zóny s delší dobou kultivace, jelikož inhibiční zóna po 24 hod. inkubaci vykazovala hodnotu 8,5 mm, zatímco inkubace po 48 hodinách činila 7,5 mm. To je způsobeno množением bakterií směrem do inhibičního koláče.

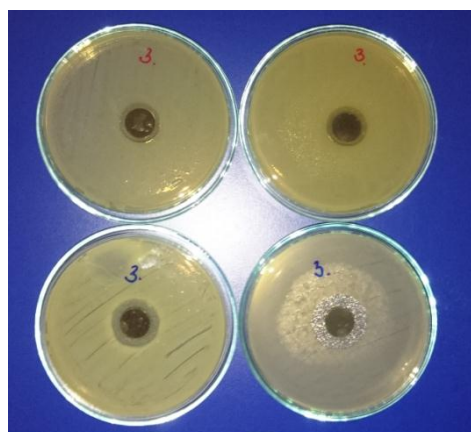
Dalším takovým příkladem je kompozit PANI-silika, kdy opět dochází ke zmenšování inhibiční zóny s delší dobou kultivace. Z tabulky č. 8 můžeme vypožorovat, že zmenšování inhibičního koláče dochází u vzorků PANI (S), PANI-silika, tudíž u vzorků, které neobsahují stříbro.



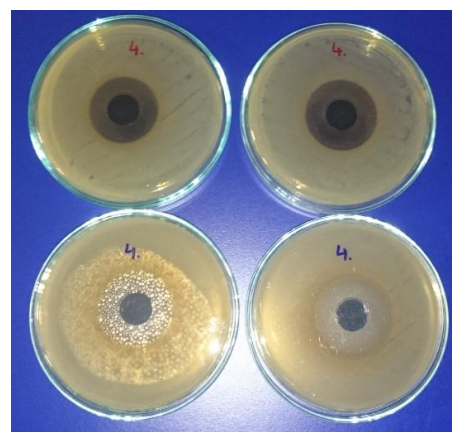
A – PANI (S)



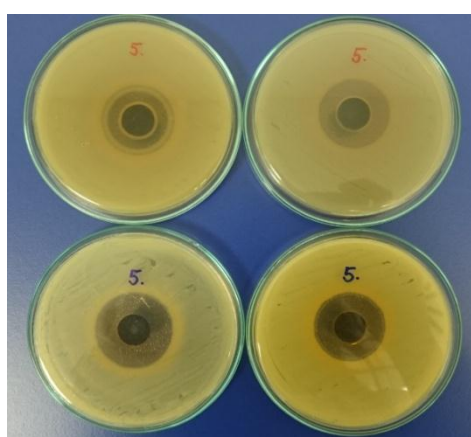
B – PANI-Ag (RS)



C – PANI-Ag (B)



D – PANI-silika



E – PANI-Ag-silika

Obrázek 45 – vzorky po inkubaci 24 hodin



Toto tvrzení můžeme také demonstrovat na fotografiích, které jsou zobrazeny níže. Vidíme zde vzorky po kultivaci 72 hodin pro bakterii *E. coli*, obrázek A zobrazuje inkubační zónu kompozitu PANI (S). Pozorujeme zde množení bakterií směrem do vnitřního koláče. Na další fotografii je zobrazena inkubační zóna pro vzorek PANI-silika (B), zde se začínají objevovat bakterie i v inkubačním koláči. Pro srovnání je zde uvedena fotografie kompozitu PANI-Ag-silika (obr. č. 47 C), kde nedochází k množení bakterií směrem do vnitřního koláče.



Obrázek 46 – zobrazení vzorků po inkubaci po 72 hod.

označení vzorku	průměrná šířka inhibiční zóny [mm]					
	inkubace po 24 hod.		inkubace po 48 hod.		inkubace po 72 hod.	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1. PANI (S)	8	8,5	8	7,5	8	7
2. PANI-Ag (RS)	8,5	9	8,5	10	8,5	10
3. PANI-Ag (B)	5	2,5	5	2,5	5	2,5
4. PANI-silika	9,5	8,5	9,5	7,5	8,5	7
5. PANI-Ag-silika	8,5	7,5	8,5	8	8,5	8

Tabulka 8 – šířka inhibiční zóny u bakterií *E. coli* a *S. aureus* po 24 hod., 48 hod. a 72 hod. inkubace

## 7 DISKUZE

Polyanilin je hlavním předmětem této diplomové práce, která se zabývá syntézou, jak polyanilinových filmů, tak práškových forem. V praktické části byly syntetizovány různé modifikace polyanilinu, a to začleněním složek, jako je silika a nanočástice stříbra. Kompozit polyanilin-Ag byl připraven podle práce Stejskal et al., (2008). Příprava kompozitů společně se silikou zahrnovala postup přípravy dle Liu (2009), kde byla silika smíchána s kyselinou chlorovodíkovou pro zajištění lepší rozpustnosti složek. Zavedení kovových částic do polymerních systémů zůstává tématem intenzivního výzkumu. Právě stříbro se stalo velmi zajímavým prvkem pro syntézu kompozitů polyanilinu a to především díky antibakteriálním, optickým, elektrickým a dielektrickým vlastnostem. Práce Wang et al., (2014) také podává ucelený přehled o možnostech využití nanočástic siliky a to především v biomedicínských aplikacích. Závěrem byly zhodnoceny zajímavé vlastnosti, jako je například velikost pórů, morfologie a dále například povrchové vlastnosti. Veškeré tyto vyjmenované aspekty mají velký potenciál v budoucím využití.

V praktické části byl nejprve připraven kompozit polyanilin-Ag a to dvěma způsoby. První typ přípravy zahrnoval smíchání roztoku dusičnanu stříbrného přímo do reakční směsi. V druhém postupu byla vytvořena polyanilinová báze, která byla poté podrobena reakci s dusičnanem stříbrným za vzniku příslušného kompozitu. Další série zahrnovala přípravu polyanilinu společně se silikou a to kompozit polyanilin-silika a polyanilin-Ag-silika. Pro měření vodivosti byla využita čtyřbodová metoda podle van der Pauwa a byly zde pozorovány odlišnosti jak čistého polyanilinu, tak modifikovaných prášků. Nejvyšší vodivost byla dosažena u čistého polyanilinu a to na hodnotu  $14,59 \pm 1,58$  S/cm, kdy byla také u tohoto kompozitu změřena největší tloušťka a to  $0,124 \pm 0,08$  cm. Oproti tomu nejnížší vodivost byla dosažena u PANI-Ag (B), a to  $0,034 \pm 2,88$  S/cm, což je polyanilinová sůl deprotonovaná hydroxidem amonným, kdy báze následně zreagovala s roztokem dusičnanu stříbrného. U všech modifikovaných kompozitů, s výjimkou polyanilin-Ag (B) můžeme zhodnotit dobrou vodivost těchto materiálů. Další materiálovou charakteristikou byla povrchová energie, která byla zjištěna pomocí kontaktního úhlu sedící kapky. Všechny typy filmů můžeme tedy podle výsledků zařadit mezi smáčivé, a to s kontaktním úhlem  $< 90^\circ$ . Největší kontaktní úhel byl pozorován u PANI-Ag (B), kdy povrch smáčený vodou vykazoval hodnotu kontaktního úhlu  $61,28^\circ$ . Oproti tomu nejmenší kontaktní úhel vody byl naměřen u PANI-Ag-silika. Voda tedy nejvíce smáčela povrch filmu PANI-Ag-silika, oproti tomu nejméně byl smáčen PANI-Ag (B). Největší povrchovou energii tedy vykazoval

vala modifikace PANI-Ag-silika, a to s hodnotou 54,37 mN/m. Oproti tomu nejmenší povrchovou energií bylo možno zaznamenat u kompozitu PANI-Ag (RS) s hodnotou 46,94 mN/m.

V další části byly provedeny testy biologické aktivity pomocí buněčné adheze a testů cytotoxicity práškového extraktu. Buněčná adheze byla vyhodnocena na filmech, které byly vytvořeny na polystyrenových miskách. Veškeré výsledky prezentované v experimentální části prokázaly rozdíly v interakci buněk NIH/3T3 s jednotlivými modifikacemi filmů. Na mikrofotografiích bylo také možno pozorovat rozdíl v morfologii a počtu životaschopných buněk. Povrch čistého polyanilinu umožňoval dobrou adhezi pro tento typ buněk, docházelo zde ovšem k nepatrným morfologickým změnám, oproti vzorku referenčnímu, kde buňky vykazovaly typický tvar fibroblastů. Na povrchu kompozitu PANI-Ag (RS) byl pozorován rapidní úbytek buněk a také povrch PANI-Ag (B) nebyl vhodný pro buněčnou adhezi, jelikož zde nebyly buňky schopné adherovat. U adheze kompozitů syntetizovaných společně se silikou byly pozorovány viditelné změny. U kompozitu PANI-silika buňky vykazovaly dobrou adhezi na povrchu a nedocházelo u nich k zásadním morfologickým změnám. Také u kompozitu PANI-Ag-silika bylo možno pozorovat, že buňky dobře adherovaly a nebyly zaznamenány žádné fyziologické změny. Za nejvhodnější povrch pro buněčnou adhezi můžeme proto považovat kompozity PANI-silika a PANI-Ag-silika. Práce Humpolíček et al., 2015 představuje chování embryonálních buněk na povrchu filmů polyanilinu a jeho modifikací pomocí PAMPSA. Výsledky odhalily, že chování buněk polyanilinové soli a báze je srovnatelné s referencí na tkáňovém polystyrenu. Byla zde také uvedena embryonální diferenciací a dobrá adheze kmenových buněk a nebyl zjištěn žádný negativní vliv na kardiomyogenezi, neurogenezi a embryotoxicitu, která otevírá širokou škálu aplikací pro využití v oblasti biomedicínského inženýrství.

Cytotoxicita práškových forem polyanilinu a jeho modifikací byla hodnocena jednak pomocí průkaznosti mezi průměrnými hodnotami absorbance v porovnání se vzorkem referenčním a jednak pomocí procentuálního znázornění buněčné viability. Vyhodnocení bylo provedeno podle normy ISO 10 993-5 „Zkoušky na cytotoxicitu *in vitro*“. Byly vytvořeny koncentrace práškových forem modifikací a to 100%, 75%, 50%, 25%, 10% a 1%. Cytotoxicita kompozitu PANI-Ag (B) nebyla vyhodnocena, jelikož při přípravě extraktu došlo k nedokonalému vyextrahování pravděpodobně kvůli nestabilitě práškové formy.

Téměř veškeré koncentrace pro kompozit PANI (S), což je čistá polyanilinová sůl vykazovaly silnou cytotoxicitu. U nejnižší koncentrace 1% bylo možno pozorovat slabou cytotoxicitu s hodnotou 74,75% přežitelnosti buněk. U kompozitu PANI-Ag (RS) byl zaznamenán necytotoxický efekt opět pouze u koncentrace 1% a to s hodnotou viability 109,6%. U kompozitů se silikou bylo možno pozorovat obdobný trend jako v předešlých situacích, kdy za necytotoxické byly hodnoceny 1% koncentrace. Ve studii Humpolíček et al., 2012 byla zkoumána cytotoxicita PANI-hydrochloridu a PANI-báze. Výsledky poukazují na vyšší cytotoxicitu u PANI-hydrochloridu ve srovnání s bází. Přечиštění polyanilinu vede k výraznému snížení cytotoxicity, což je také diskutováno v této práci.

V posledním okruhu byly testovány antibakteriální vlastnosti, které byly hodnoceny pomocí dvou bakterií, a to *E. coli* a *S. aureus*. Vlastnosti polyanilinových prášků byly hodnoceny pomocí diskové difúzní metody, kdy vzorky byly podrobeny inkubaci po dobu 24, 48 a 72 hod. V těchto intervalech byla měřena šířka inhibiční zóny jednotlivých modifikací. Po inkubační době 24 hodin bylo z výsledků patrné, že největší inhibiční účinek vykazuje PANI-silika pro bakterii *S. aureus* a pro *E. coli* PANI-Ag (RS). Oproti tomu nejmenší inhibiční účinek byl pozorován u PANI-Ag (B) a to u obou bakterií. Z výsledků je také zřejmé, že u bakterie *S. aureus* nedošlo k žádné změně šířky inhibiční zóny v různých intervalech inkubace. Oproti tomu u bakterie *E. coli* bylo možno pozorovat například pro PANI (S) klesající šířku inhibiční zóny s delší dobou inkubace. To bylo také zaznamenáno u kompozitu PANI-silika, kdy nedocházelo ke zmenšování inhibiční zóny s delší dobou inkubace. Můžeme tedy konstatovat, že zmenšování inhibičního koláče docházelo u vzorků PANI (S), PANI-silika, tudíž u vzorků, které neobsahovaly stříbro. V práci Kuceková et al., (2013) byly hodnoceny antibakteriální vlastnosti polyanilin-Ag filmů, kdy v závěru byla prokázána antibakteriální aktivita těchto materiálů. Dále zde bylo uvedeno, že PANI báze na rozdíl od PANI soli nevykazovala žádný vliv na růst bakterií. Pokud ovšem došlo k obohacení PANI báze nanočásticemi stříbra, došlo ke zlepšení antibakteriálních vlastností. Tyto závěry jsou také potvrzeny z experimentální části, kdy práškové formy čisté soli vykazovaly větší antibakteriální účinek oproti bázi, ale bylo zde také vyhodnoceno, že kompozit PANI-Ag (B) vykazuje po 72 hodinách inkubace lepší antibakteriální vlastnosti oproti čisté soli, jelikož u tohoto kompozitu nedocházelo ke zmenšování inhibičního koláče, jako je tomu u kompozitu PANI (S).

## ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo otestovat, jak práškové formy, tak filmy modifikovaného polyanilinu. Jednotlivé modifikace byly syntetizovány za pomoci dalších dvou složek, a to siliky a stříbra. Práškové formy byly následně charakterizovány z hlediska měrné elektrické vodivosti a z hlediska antibakteriálních vlastností. Dále byla vyhodnocena cytotoxicita extraktů práškového polyanilinu. Připravené filmy byly hodnoceny pomocí povrchové energie a buněčné adheze. Veškeré testy biologické aktivity byly testovány na buněčné linii NIH/3T3, což je linie myších fibroblastů. Testování probíhalo podle kritérií ISO normy 10 993-5.

Z výsledků prezentovaných a diskutovaných v předešlých kapitolách se jeví velmi atraktivní využití siliky v kompozitních materiálech a to především díky zajímavým povrchovým vlastnostem. Z hodnocení buněčné adheze na polyanilinových filmech je patrné, že kompozity společně se silikou vytvářejí vhodný povrch pro přichycení buněk. Velmi zajímavé výsledky také podaly testy antibakteriálních vlastností, ze kterých je patrný značný vliv stříbrných nanočástic. U vzorků, které neobsahovaly stříbro a byly inkubované po dobu 72 hodin, můžeme pozorovat klesající šířku inhibiční zóny u bakterií *E. coli*. Z hlediska cytotoxicity pozorujeme největší procento viability u koncentrace 1% a to u všech kompozitů.

Závěrem je třeba podotknout, že nejvíce vhodným kompozitním materiálem, který by mohl hrát důležitou roli v biomedicínských aplikacích, se jeví příprava modifikace PANI-Ag-silika a to vzhledem k dobré vodivosti. U tohoto kompozitu můžeme také hodnotit dobrou adhezi buněk NIH/3T3, což je patrné z mikrofotografií, kde buňky nevykazují výrazné morfologické změny a pozorujeme zde také typický tvar, který je charakteristický pro fibroblasty. Získané výsledky z antibakteriálního testování také potvrzují příznivý vliv přítomnosti nanočástic stříbra na bakterie *E. coli*. Tento kompozit vykazuje řadu slibných vlastností, ale je ovšem nutné provést další testování, které rozšíří informace například o morfologii, stabilitě těchto materiálů a v neposlední řadě o cytotoxicitě, která hraje důležitou roli v interakci s biologickými systémy.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

1. ABE, Isami et al., 2008. Formation of Porous Fumed Silica Coating on the Surface of Glass Fibers by a Dry Mechanical Processing Technique [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1163/156855208X314976. ISBN 10.1163/156855208X314976.
2. AHAMED, Maqsood, Mohamad S. ALSALHI a M. K. J. SIDDIQUI, 2010. Silver nanoparticle applications and human health [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.cca.2010.08.016. ISBN 10.1016/j.cca.2010.08.016.
3. AHUJA, T et al., 2006. Biomolecular immobilization on conducting polymers for biosensing applications [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.09.046. ISBN 10.1016/j.biomaterials.2006.09.046.
4. AKHTER, US et al., 2012. Preparation and characterization of polyaniline-silica composite material [online]. [cit. 2016-05-08]. DOI: 10.3329/bjsir.v47i3.13055. ISBN 10.3329/bjsir.v47i3.13055.
5. ARORA, Sumit, Jyutika M. RAJWADE a Kishore M. PAKNIKAR, 2011. Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.taap.2011.11.010. ISBN 10.1016/j.taap.2011.11.010.
6. AVRAMOV, I. a V. TONCHEV, 2016. Maximal density, kinetics of deposition and percolation threshold of loose packed lattices [online]. [cit. 2016-03-17]. DOI: 10.1016/j.physleta.2016.03.008. ISBN 10.1016/j.physleta.2016.03.008.
7. BAGHERI, Habib, Zahra AYAZI a Mehrnoush NADERI, 2013. Conductive polymer-based microextraction methods. *A review* [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.013. ISBN 10.1016/j.aca.2012.12.013.
8. BARTOVSKÁ, Lída a Marie ŠIŠKOVÁ, 2005. „Co je co v povrchové a koloidní chemii“. In: *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. [cit. 2016-05-05].
9. BAYRAKTAR, E., 2016. Section 12: Composites Materials and Technologies [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-803581-8.04108-4. ISBN 10.1016/B978-0-12-803581-8.04108-4.
10. BOUAZZA, Sofiane, Véronique ALONZO a Didier HAUCHARD, 2008. Synthesis and characterization of Ag nanoparticles – polyaniline composite powder material [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.synthmet.2009.04.025. ISBN 10.1016/j.synthmet.2009.04.025.

11. BRESCIA, Peter a et al., 2009. Quantifying Cytotoxicity of Thiostrepton on Mesothelioma Cells using MTT Assay and the Epoch™ Microplate Spectrophotometer. *BioTek Instruments* [online]. [cit. 2016-05-05].
12. BUNDE, Armin a Jan W. KANTELHALRDT, 2005. Diffusion and Conduction in Percolation Systems – Theory and Applications [online]. [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <https://www.uni-giessen.de/fbz/fb07/fachgebiete/physik/einrichtungen/theorie/institut-fur-theoretische-physik-iii/pub/paper/2005/papers2005/jwk-springer1-2005>
13. CAMPBELL, F. C., 2010. Structural composite materials. *Ohio: ASM International* [online]. [cit. 2016-05-05]. ISBN 0-61503-037-9.
14. CARROLL, David L., Richard CZERW a Scott WEBSTER, 2005. Polymer – nanotube composites for transparent, conducting thin films [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.synthmet.2005.08.031. ISBN 10.1016/j.synthmet.2005.08.031.
15. CASATI, Riccardo a Maurizio VEDANI, 2014. Metal Matrix Composites Reinforced by Nanoparticles. *A Review* [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.3390/met4010065. ISBN 10.3390/met4010065.
16. CLAUß, Bernd, 2008. Fibers for ceramic matrix composites [online]. [cit. 2016-05-05]. ISBN 978-3-527-31361-7.
17. CLINGERMAN, Matthew Lee, 2001. Development and Modelling of Electrically Conductive Composite Materials [online]. Michigan Technological University, 286 [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://www.chem.mtu.edu/org/ctc/pdf/mlc%20dissertation.pdf>
18. CRESPILOHO, Frank N. et al., 2009. Enzyme immobilization on Ag nanoparticles/polyaniline nanocomposites [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.bios.2009.03.026. ISBN 10.1016/j.bios.2009.03.026.
19. CUCURUZ, Andrei Tiberiu et al., 2016. Synthesis and characterization of new composite materials based on poly (methacrylic acid) and hydroxyapatite with applications in dentistry [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.01.061. ISBN 10.1016/j.ijpharm.2016.01.061.
20. DAVIS, H. E. A J. K. LEACH, 2008. Hybrid and composite biomaterials in tissue engineering. *Multifunctional biomaterials and devices* [online]. [cit. 2016-05-05].
21. DOHNALOVÁ, Lucie a Vlastimil DOHNAL, 2015. Nanočástice a jejich toxicita. *Chem. Listy* [online]. (109), 444-450 [cit. 2016-04-06].

22. DUCHÁČEK, Vratislav, 2006. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití* [online]. Vyd. 2., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 278 s. [cit. 2015-11-12]. ISBN 80-708-0617-6.
23. EHRENSTEIN, Gottfried W., 2009. *Polymerní kompozitní materiály*. V ČR 1. vyd. Praha: Scientia. ISBN 978-80-86960-29-6.
24. EMAMIFAR, Aryou, 2011. Applications of Antimicrobial Polymer Nanocomposites in Food Packaging [online]. [cit. 2016-04-09]. DOI: 10.5772/18343. ISBN 10.5772/18343. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-nanocomposite-technology/applications-of-antimicrobial-polymer-nanocomposites-in-food-packaging>
25. FALHAR, Martin, 2014. Kontaktní úhel - úhel smáčivosti. *Optikarium: Svět oční optiky a optometrie* [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.optikarium.cz/kontakti-cocky-a-roztoky/kontakti-uhel-smacivost>
26. FISCHER, Hans C a Warren CW CHAN, 2007. Nanotoxicity: the growing need for in vivo study [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.11.008. ISBN 10.1016/j.copbio.2007.11.008.
27. FU, Peter P. et al., 2014. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species [online]. [cit. 2016-05-08]. DOI: 10.1016/j.jfda.2014.01.005. ISBN 10.1016/j.jfda.2014.01.005.
28. GAY, Daniel, 2015. Composite Materials: Design and Applications [online]. Third Edition. CRC press [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=uePMAwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?id=uePMAwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
29. GUIMARD, Nathalie K., Natalia GOMEZ a Christine E. SCHMIDT, 2007. Conducting polymers in biomedical engineering: A review. *Progress in Polymer Science* [online]. Roč. 32, č. 8-9, s. 876-921 [cit. 2014-05-11]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012.
30. GUN'KO, V. M. et al., 2001. Fumed Silicas Possessing Different Morphology and Hydrophilicity [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1006/jcis.2001.7736. ISBN 10.1006/jcis.2001.7736.
31. GUO, Liya et al., 2013. Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2012.12.029. ISBN 10.1016/j.colsurfa.2012.12.029



32. GUTERMAN E. et al., 2002. Peptide-modified electroactive polymers for tissue engineering applications. *Polym Preprints (Am Chem Soc, Div Polym Chem)* 2002;43:766 – 7
33. HACKENBERG, Stephan et al., 2011. Cytotoxic, genotoxic and pro-inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles in human nasal mucosa cells in vitro [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.tiv.2011.01.003. ISBN 10.1016/j.tiv.2011.01.003.
34. HENDRICKSON, Olga D. et al., 2015. Toxicity of nanosilver in intragastric studies: Biodistribution and metabolic effects [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.toxlet.2015.11.018. ISBN 10.1016/j.toxlet.2015.11.018.
35. HENG, Boon Chin et al., 2010. Toxicity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) is accentuated by oxidative stress [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.fct.2010.04.023. ISBN 10.1016/j.fct.2010.04.023.
36. HOOSMAND, Saleh, Azadeh SOROUDI a Mikael SKRIFVAR, 2011. Electroconductive composite fibers by melt spinning of polypropylene/polyamide/carbon nanotubes. 161(15-16), 1731–1737. DOI: doi:10.1016/j.synthmet.2011.06.014.
37. HU, Ning, 2012. Composites and Their Applications [online]. s. 438 [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.5772/3353.
38. HUMPOLÍČEK, Petr et al., 2015. Stem cell differentiation on conducting polyaniline [online]. [cit. 2016-05-11]. DOI: 10.1039/c5ra12218j. ISBN 10.1039/C5RA12218J.
39. HUMPOLÍČEK, Petr et al., 2012a. Proliferace buněk na vodivém polymeru, polyanilinu. *Chemické listy* [online]. Č. 106, s. 380-383 [cit. 2014-04-30]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012\\_05\\_380-383.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_05_380-383.pdf)
40. HUMPOLICEK, Petr et al., 2012b. Biocompatibility of polyaniline. *Synthetic metals* [online]. Roč. 162, 7-8, s. 722-727 [cit. 2016-05-11]. DOI: 10.1016/j.synthmet.2012.02.024. ISBN 10.1016/j.synthmet.2012.02.024.
41. CHALOUPKA, Karla, Yogeshkumar MALAM a Alexander M. SEIFALIAN, 2010. Nanosilver as a new generation of nanoprodukt in biomedical applications [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.07.006. ISBN 10.1016/j.tibtech.2010.07.006.

42. CHEN, Q., J. A. ROETHER a A. R. BOCCACCINI, 2008. Tissue engineering scaffolds from bioactive glass and composite materials. *Tissue engineering* [online]. (4) [cit. 2016-05-05].
43. CHEN, X. a H. J. SCHLUESENER, 2007. Nanosilver: A nanoparticle in medical application [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.toxlet.2007.10.004. ISBN 10.1016/j.toxlet.2007.10.004.
44. CHOUDHURY, Arup, 2009. Polyaniline/silver nanocomposites: Dielectric properties and ethanol vapour sensitivity [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.snb.2009.01.019. ISBN 10.1016/j.snb.2009.01.019.
45. CHUNG, D. D. L., 2004. Electrical applications of carbon materials: Journal of materials science [online]. 39, 2645-2661 [cit. 2016-01-25]. Dostupné z: <http://wings.buffalo.edu/academic/departement/eng/mae/cmrl/Electrical%20applications%20of%20carbon%20materials.pdf>
46. IFTEKHAR, Arif, 2004. Standard handbook of biomedical engineering and design: Chapter 12 - Biomedical composites [online]. [cit. 2016-05-05].
47. JANOVSKÁ, Sylva a Eva SLEHOVÁ, 2015. Citlivost a rezistence mikroorganismů k antibiotikům. *Univerzita Pardubice* [online]. [cit. 2016-05-05].
48. JIA, Qingming et al., 2012. Synergistic antimicrobial effects of polyaniline combined with silver nanoparticles [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1002/app.36257. ISBN 10.1002/app.36257.
49. JIA, W. et al., 2003. Electrically conductive composites based on epoxy resin with polyaniline-DBSA fillers. DOI: 10.1016/S0379-6779(02)00460-5. ISBN 10.1016/S0379-6779(02)00460-5.
50. JOSE, Jasmin P. a et al., 2012. Introduction to polymer composites: Advances in polymer composites: Macro- and Microcomposites - State of the Art, New Challenges, and Opportunities [online]. (1) [cit. 2016-05-05].
51. KAINER, Karl Ulrich, 2006. Metal matrix composites. Custom-made materials for automotive and aerospace engineering: Basics of metal matrix composites [online]. [cit. 2016-05-05].
52. KATZ, H. S. a J. V. MILESKI, 1987. Handbook Of Fillers For Plastics [online]. New York [cit. 2016-01-24]. ISBN 0-442-26024-5. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=zKMiAEVWgUIC&hl=cs&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.cz/books?id=zKMiAEVWgUIC&hl=cs&source=gbs_navlinks_s)

53. KEDROŇOVÁ, Eva, 2012. Měření kontaktního úhlu sedící kapky jako metoda charakterizace povrchu. *Masarykova Univerzita* [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/mereni-kontaktneho-uhlu-sedici-kapky-jako-metoda-charakterizace-povrchu>
54. KELLY, A. a A. MORTENSEN, 2015. Composite Materials: Overview [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/B0-08-043152-6/00254-0. ISBN 10.1016/B0-08-043152-6/00254-0.
55. KESTEN, Harry, 2006. What is percolation? [online]. 53(5) [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: <http://www.ams.org/notices/200605/what-is-kesten.pdf>
56. KIM, Hwa-Jung, Sang Hyun PARK a Hae-Jun PARK, 2010. Synthesis of a new electrically conducting nanosized Ag–polyaniline–silica complex using  $\gamma$ -radiolysis and its biosensing application [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2010.02.005. ISBN 10.1016/j.radphyschem.2010.02.005.
57. KIRÁLY, Anett a Ferenc RONKAY., 2015. Temperature dependence of electrical properties in conductive polymer composites [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2015.03.011. ISBN 10.1016/j.polymertesting.2015.03.011.
58. KOOTI, M., P. KHARAZI a H. MOTAMEDI, 2014. Preparation and Antibacterial Activity of Three-component NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PANI@Ag Nanocomposite [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.jmst.2013.12.007. ISBN 10.1016/j.jmst.2013.12.007.
59. KRASOWSKA, Monika a Izabela M. BARSZCZEWSKA-RYBAREK, 2016. The percolation theory in studying the morphology of polymer networks formed by photopolymerization of dental dimethacrylates [online]. [cit. 2016-03-17]. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2016.01.026. ISBN 10.1016/j.eurpolymj.2016.01.026.
60. KUČEKOVÁ, Zdenka et al., 2013. Antibacterial properties of polyaniline-silver films [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.2478/s11696-013-0385-x. ISBN 10.2478/s11696-013-0385-x.
61. KUMAR, D. a R. C. SHARMA, 1998. Advances in conductive polymers. *Pergamon* [online]. Great Britain: Elsevier Science, 34(8), 1053-1060 [cit. 2016-01-26]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/275056483\\_Conducting\\_Polymers\\_and\\_Their\\_Inorganic\\_Composites\\_for\\_Advanced\\_Li-Ion\\_Batteries\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/275056483_Conducting_Polymers_and_Their_Inorganic_Composites_for_Advanced_Li-Ion_Batteries_A_Review)

62. LANGE, Ulrich, Nataliya V. ROZNYATOVSKAYA a Vladimir M. MIRSKY, 2008. Conducting polymers in chemical sensors and arrays [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.aca.2008.02.068. ISBN 10.1016/j.aca.2008.02.068.
63. LAŠ, Vladislav, 2004. Mechanika kompozitních materiálů. Západočeská univerzita v Plzni. ISBN 80-7043-273-X.
64. LENFELD, Petr. Technologie II: Zpracování plastů [online]. Technická Univerzita Liberec. [cit. 2015-10-29]. Dostupné z: [http://www.ksp.tul.cz/cz/kpt/obsah/vyuka/skripta\\_tkp/uvod.htm](http://www.ksp.tul.cz/cz/kpt/obsah/vyuka/skripta_tkp/uvod.htm)
65. LUNG, Christie Ying Kei et al., 2015. Effect of silanization of hydroxyapatite fillers on physical and mechanical properties of a bis-GMA based resin composite [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2015.09.033. ISBN 10.1016/j.jmbbm.2015.09.033.
66. LIU, Peng, 2009. Preparation and characterization of conducting polyaniline/silica nanosheet composites [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.cossms.2009.01.001. ISBN 10.1016/j.cossms.2009.01.001.
67. MATUSCHEK, E., D. F. J. BROWN a G. KAHLMETER, 2013. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1111/1469-0691.12373. ISBN 10.1111/1469-0691.12373.
68. MCSHAN, Danielle, Paresh C. RAY a Hongtao YU, 2014. Molecular toxicity mechanism of nanosilver [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.jfda.2014.01.010. ISBN 10.1016/j.jfda.2014.01.010.
69. MEHROTRA, Parikha, 2015. Biosensors and their applications. *A review* [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.jobcr.2015.12.002. ISBN 10.1016/j.jobcr.2015.12.002.
70. MOEZZI, Amir, Andrew M. MCDONAGH a Michael B. CORTIE, 2012. Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.cej.2012.01.076. ISBN 10.1016/j.cej.2012.01.076.
71. MOOS, Philip J. et al., 2010. ZnO Particulate Matter Requires Cell Contact for Toxicity in Human Colon Cancer Cells [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1021/tx900203v. ISBN 10.1021/tx900203v.
72. MOSTAFAEI, Amir a Ashkan ZOLRIASATEIN, 2012. Synthesis and characterization of conducting polyaniline nanocomposites containing ZnO nanorods [onli-

- ne]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.pnsc.2012.07.002. ISBN 10.1016/j.pnsc.2012.07.002.
73. MOUTSATSOU, Panagiota et al., 2015. Conductive PANI fibers and determining factors for the electrospinning window [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.polymer.2015.08.039. ISBN 10.1016/j.polymer.2015.08.039
74. NATH, B. K. et al., 2016. Synthesis and characterization of ZnO: CeO<sub>2</sub> [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.03.091. ISBN 10.1016/j.carbpol.2016.03.091.
75. NORDQVIST, Christian, 2015. *E. Coli* Infections: Causes, Symptoms and Treatments [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/68511.php>
76. OEGGERLI, Martin, 2014. Discovery yields master regulator of toxin production in staph infections [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <https://health-innovations.org/2014/08/07/discovery-yields-master-regulator-of-toxin-production-in-staph-infections/>
77. OMAR, Fatin Saiha et al., 2016. Conducting polymer and its composite materials based electrochemical sensor for Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.bios.2016.01.013. ISBN 10.1016/j.bios.2016.01.013.
78. ONODERA, Akira a Masaki TAKES, 2013. *Electronic Ferroelectricity in II-VI Semiconductor ZnO* [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.5772/52304. ISBN 10.5772/52304. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-ferroelectrics/electronic-ferroelectricity-in-ii-vi-semiconductor-zno>
79. PANDURANGAN, Muthuraman, Gansukh ENKHTAIVAN a Doo Hwan KIM, 2016. Anticancer studies of synthesized ZnO nanoparticles against human cervical carcinoma cells [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.03.002. ISBN 10.1016/j.jphotobiol.2016.03.002.
80. PANG, Huan et al., 2014. Conductive polymer composites with segregated structures. *Progress in Polymer Science*. 39, 1908-1933. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2014.07.007. ISBN 10.1016/j.progpolymsci.2014.07.007.
81. PANTEA, Dana et al., 2003. Electrical conductivity of conductive carbon blacks: influence of surface chemistry and topology. 217(1-4), 181–193. DOI: doi:10.1016/S0169-4332(03)00550-6.

82. PELÍŠKOVÁ, Michaela a Petr SÁHA, 2012. Vliv lehčené struktury na elektrické vlastnosti polymerních kompozitů s elektrovedivými plnivý. *Chemické listy* [online]. 106, 1104-1109 [cit. 2016-01-22]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012\\_12\\_1104-1109.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_12_1104-1109.pdf)
83. PETRTÝL, Miroslav, 1991. Mechanika kompozitních těles. Praha: Ediční středisko Českého vysokého učení technického.
84. PRAVEEN, Kumar A., Irudhayam S. JACKSON a D. NAVIIN, 2012. A Review on Importance and Recent Applications of Polymer Composites in Orthopedics. *A Review on Importance and Recent Application of Polymer*. [online]. 2(5) [cit. 2016-05-05].
85. PRATT, Colin, 1996. Conducting polymers [online]. [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://homepage.ntlworld.com/colin.pratt/cpoly.pdf>
86. PRIME, R. Bruce. An introduction to thermosets: Thermosetting Materials & Processes: Thermal Characterization, Kinetics [online]. [cit. 2015-10-29]. Dostupné z: <http://www.primethermosets.com/introtothermosets.pdf>
87. PROKEŠ, Jan, J. STEJSKAL a M. OMASTOVÁ, 2001. Polyanilin a polypyrrol - dva představitelé vodivých polymerů. *Chemické listy* [online]. Č. 95, s. 484-492 [cit. 2014-04-05]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2001/08-PDF/484-492.pdf>
88. PROKEŠ, Jan, S. NEŠPŮREK a J. STEJSKAL, 2001. Vodivé polymery, inteligentní materiály pro nové století. *Vesmír* [online]. Č. 80, s. 35-38 [cit. 2014-05-13]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/vodive-polymery>
89. RAETHER, Friedrich, 2013. Ceramic Matrix composites - an Alternative for Challenging Construction Tasks. *Technology insights* [online]. [cit. 2016-05-05].
90. RAI, Mahendra, Alka YADAV a Aniket GADE, 2008. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002. ISBN 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002.
91. RAY, Durwood B. et al., 2015. T24 HRAS transformed NIH/3T3 mouse cells (GhrasT-NIH/3T3) in serial tumorigenic in vitro/in vivo passages give rise to increasingly aggressive tumorigenic cell lines T1-A and T2-A and metastatic cell lines T3-HA and T4-PA [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.yexcr.2015.07.029. ISBN 10.1016/j.yexcr.2015.07.029.

92. RHODES, Susan M., 2007. Electrically conductive polymer composites. *A Dissertation* [online]. [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: [https://etd.ohiolink.edu/rws\\_etd/document/get/akron1194556747/inline](https://etd.ohiolink.edu/rws_etd/document/get/akron1194556747/inline)
93. RUSMEE, Pichai, 2005. High Strength Composites [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.mech.utah.edu/~rusmeea/labNotes/composites.html>
94. SABERI, Abbas Ali, 2015. Recent advances in percolation theory and its applications [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.physrep.2015.03.003. ISBN 10.1016/j.physrep.2015.03.003.
95. SALIH, Omar S. et al., 2015. A review of friction stir welding of aluminium matrix composites [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.matdes.2015.07.071. ISBN 10.1016/j.matdes.2015.07.071.
96. SINGH, Mritunjai et al., 2008. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles: Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures [online]. 3(3), 115-122 [cit. 2016-04-06].
97. SKLÁDAL, Petr, 2002. Biosensory. *Masarykova univerzita* [online]. Brno [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://orion.chemi.muni.cz/pskl/vyuka/Biosensory.pdf>
98. SRIVASTAVA, Varsha, Deepak GUSAIN a Yogesh Chandra SHARMA, 2013. Synthesis, characterization and application of zinc oxide nanoparticles (n-ZnO) [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.ceramint.2013.04.110. ISBN 10.1016/j.ceramint.2013.04.110.
99. STAUFFER, Dietrich a Amnon AHARONY, 1994. Introduction to percolation theory [online]. [cit. 2016-03-17]. ISBN 0-203-26914-4. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=v66pllej5QC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?id=v66pllej5QC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
100. STEJSKAL, Jaroslav a R. G. GILBERT, 2002. Polyaniline. Preparation of a conducting polymer (IUPAC Technical Report). *International Union of Pure and Applied Chemistry* [online]. Roč. 74, č. 5, s. 857-867 [cit. 2014-04-30] DOI: 10.1351/pac200274050857.
101. STEJSKAL, J., J. PROKEŠ a I. SAPURINA, 2008. The reduction of silver ions with polyaniline: The effect of the type of polyaniline and the mole ratio of the reagents [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.matlet.2008.12.026. ISBN 10.1016/j.matlet.2008.12.026.

102. SHARMA, Virender K., Ria A. YNGARD a Yekaterina LIN., 2009. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.cis.2008.09.002. ISBN 10.1016/j.cis.2008.09.002.
103. SHARMA, Vyom et al., 2009. DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.01.008. ISBN 10.1016/j.toxlet.2009.01.008.
104. SIRELKHATIM, Amna et al., 2015. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1007/s40820-015-0040-x. ISBN 10.1007/s40820-015-0040-x.
105. STEJSKAL, J. et al., 2008. The reduction of silver nitrate with various polyaniline salts to polyaniline – silver composites [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2008.11.004. ISBN 10.1016/j.reactfunctpolym.2008.11.004.
106. STEJSKAL, Jaroslav a Irina SAPURINA, 2005. Polyaniline: Thin films and colloidal dispersions (IUPAC Technical Report). *International Union of Pure and Applied Chemistry* [online]. Roč. 77, č. 5, s. 815-826 [cit. 2014-04-30]. DOI: 10.1351/pac200577050815.
107. STENSBERG, M. C., 2011. Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging [online], 879–898 [cit. 2016-04-06].
108. STOCKERT, Juan C. et al., 2012. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.acthis.2012.01.006. ISBN 10.1016/j.acthis.2012.01.006
109. SUH, Won Hyuk et al., 2008. Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience [online]. [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2008.09.009. ISBN 10.1016/j.pneurobio.2008.09.009.
110. TAKPIRE, S. R. a S.A. WAGHULEY, 2015. Investigating the optical and structural properties of PANi/Ti polymer composites for photovoltaic application [online]. [cit. 2016-01-24]. DOI: 10.1016/j.joei.2015.11.001. ISBN 10.1016/j.joei.2015.11.001.
111. TIITU, Mari, 2006. Investigations of functional electroactive polymers. *Doctoral Dissertation* [online]. Helsinky [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://lib.tkk.fi/Diss/2006/isbn9512282240/isbn9512282240.pdf>



112. VEJRAŽKA, Martin, 2008. Buněčné kultury. *Ústav lékařské biochemie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze* [online]. [cit. 2014-05-11]. Dostupné z: <http://bioprojekty.lf1.cuni.cz/3381/sylaby-prednasek/textova-verze-prednasek/bunecne-kultury-vejrazka.pdf>
113. VEŘTÁT, P., 2012. Vodivé polymery. *Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská* [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://fyzsem.fjfi.cvut.cz/2011-2012/Zima11/proc/polymery.pdf>
114. VRBKA, Jan, 2008. Mechanika kompozitů. *Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky, Fakulta strojího inženýrství VUT v Brně*. Brno. Dostupné také z: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/priloha.php?dpid=83340](https://www.vutbr.cz/www_base/priloha.php?dpid=83340)
115. WANG CH. et al., 1999. In vivo tissue response to polyaniline. *Synth Met* 1999;102:1313–4
116. WANG, Ru-Min, Shui-Rong ZHENG a Ya-Ping ZHENG, 2011. Polymer matrix composites and technology [online]. [cit. 2016-05-05].
117. WANG, Ying et al., 2014. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.nano.2014.09.014. ISBN 10.1016/j.nano.2014.09.014.
118. XANTHOS, Marino, 2010. Functional fillers for plastics. 2nd updated and enlarged ed. Weinheim: Wiley-VCH, xxviii, 507 s. ISBN 978-3-527-32361-6.
119. ZANFIR, Andrei Vlad et al., 2016. *New Coll-HA/BT composite materials for hard tissue engineering* [online]. [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.msec.2016.02.041. ISBN 10.1016/j.msec.2016.02.041.
120. ZARRAS, P. et al., 2003. Progress in using conductive polymers as corrosion-inhibiting coatings [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/S0969-806X(03)00189-0. ISBN 10.1016/S0969-806X(03)00189-0
121. ZHAO, Ya-Ping et al., 2011. Fabrication of conductive network formed by polyaniline – ZnO composite on fabric surfaces [online]. [cit. 2016-04-08]. DOI: 10.1016/j.tsf.2011.02.088. ISBN 10.1016/j.tsf.2011.02.088.
122. ZHONG, Qifeng et al., 2013. Preparation of conducting polymer inverse opals and its application as ammonia sensor [online]. [cit. 2016-03-03]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.04.053. ISBN 10.1016/j.colsurfa.2013.04.053.
123. ZIEBOWICZ, Z., D. SZEWIECZEK a L. A. DOBRZANSKI, 2007. New possibilities of application of composite materials with soft magnetic properties, 2007.

*Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering* [online].  
(20) [cit. 2016-05-08]. Dostupné z:  
[http://w.journalamme.org/papers\\_vol20/1511S.pdf](http://w.journalamme.org/papers_vol20/1511S.pdf)

124. ZVEKIĆ, Dušan, 2011. Antimicrobial properties of ZnO nanoparticles incorporated in polyurethane varnish: Processing and Application of Ceramics [online]., 41–45 [cit. 2016-04-06]. Dostupné z: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/1820-6131/2011/1820-61311101041Z.pdf>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AFSC	typ kmenových buněk
AMC	(alumina matrix composite) hliníkové kompozity
APP	(amyloid precursor protein) amyloidní prekursorový protein
APS	peroxidisíran amonný
ATP	adenosintrifosfát
BRL3A	krysí jaterní buňky
C18-4	myší zárodečné buňky
CHO	buněčná linie čínského křečka
CNT	(carbon nanotube) uhlíkové nanotrubičky
CPs	(conductive polymers) vodivé polymery
CPCs	(conductive polymer composites) vodivé polymerní kompozity
DHED	dehydroevodiamine hydrochlorid
DNA	deoxyribonucleic acid
DMSO	dimethylsulfoxid
EMI	(electromagnetic interference) elektromagnetické stínění
eV	elektronVolt
GIT	gastrointestinální trakt
HeLa	lidské epiteliální buňky
HOMO	(highest occupied molecular orbital) nejvýše obsazený molekulový orbital
ICP	(intrinsically conductive polymers) vnitřně vodivé polymery
IMR-90	lidské plicní fibroblasty
ITO	indium oxid cínu
LPO	(lipid peroxidation) peroxidace lipidů
LUMO	(lowest unoccupied molecular orbital) nejnižší neobsazený mol. orbital

---

MDCK	buňky psích ledvin
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid
NADH	nicotinamid adenindinucleotid
NGF	(nerve growth factor) nervový růstový faktor
NIH/3T3	buňky myších fibroblastů
nm	nanometr
NPs	(nanoparticles) nanočástice
PAMPSA	poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid)
PC12	skupina nervových buněk
PDT	(photo dynamic therapy) fotodynamická terapie
PHB	polyhydroxybutyrate
PLLA	poly-L-lactic acid
RNA	ribonucleic acid
ROS	(reactive oxygen species) reaktivní forma kyslíku
rpm	(round per minute) otáčky za minutu
S/cm	siemens na centimetr
STM	(scanning tunneling microscope) skenovací tunelovací mikroskop
THP1	buněčná linie lidských monocytů
U251	lidské buňky glioblastomu
UV	(ultraviolet) ultrafialové

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 – aplikace vyztužených polymerů v USA (Ehrenstein, 2009) .....	14
Obrázek 2 – polymerní kostní ploténky (Praveen, Jackoson, Naviin, 2012).....	15
Obrázek 3 – klasifikace kompozitních materiálů (Laš, 2004). .....	17
Obrázek 4 – schéma procesu vytvrzení reaktoplastu (Prime).....	19
Obrázek 5 – brzdové kotouče z C/SiC (Raether, 2013).....	20
Obrázek 6 – klasifikace materiálů CPC podle jejich měrného elektrického .....	22
Obrázek 7 – aluminum/epoxy .....	24
Obrázek 8 – elektrická vodivost vybraných látek (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2011) .....	25
Obrázek 9 – perkolace ve čtvercové mřížce (Bunde, Kantelhardt, 2005) .....	30
Obrázek 10 – schéma závislosti pravděpodobnosti .....	31
Obrázek 11 – závislost elektrické vodivosti na objemovém podílu plniva (Clingerman, 2001) .....	32
Obrázek 12 – perkolační křivka (Pelíšková a Sába, 2012) .....	33
Obrázek 13 – přehled tříd nanostruktur, aplikace a jejich charakterizace v <i>in vivo</i> systémech (vlastní tvorba, upraveno dle Fisher a Chan, 2007).....	35
Obrázek 14 – srovnání velikostí proteinů, molekuly DHED, nanočástic a savčí buňky (Suh et al., 2008) .....	36
Obrázek 15 – buněčná membrána, kde je včleněná nanočástice o velikosti 10 nm (Suh et al., 2008) .....	37
Obrázek 16 – využití nanočástice stříbra v oblasti medicíny (vlastní tvorba, upraveno dle Chaloupka et al., 2010).....	39
Obrázek 17 – různé mechanismy antibakteriální aktivity nanočástic stříbra (vlastní tvorba, upraveno dle Emamifar, 2011).....	40
Obrázek 18 – mechanismus toxicity nanočástic stříbra (McShan, Ray, Yu, 2014) .....	41
Obrázek 19 – schéma elektrody ITO/PVA-AgNP/ureáza pro detekci močoviny (Crespilho et al., 2009) .....	44
Obrázek 20 – cytotoxický účinek ZnO nanočástic MDCK a HeLa (Pandurangan et al., 2015).....	45
Obrázek 21 – a) faktory ovlivňující antibakteriální aktivitu, b) mechanismy ZnO-NP (Sirelkhatim et al., 2015) .....	46
Obrázek 22 – mechanismy antibakteriální aktivity v buňce a na povrchu (Sirelkhatim, 2015).....	48

Obrázek 23 – schematické znázornění představující vyvolanou toxicitu ZnO NPs (Sharma et al., 2009) .....	49
Obrázek 24 – schéma tvorby kompozitu PANI/ZnO (Mostafaei a Zolriasatein, 2012) .....	50
Obrázek 25 – příprava kompozitu PANI-Ag-silika $\gamma$ -zářením (Kim et al., 2010) .....	52
Obrázek 26 – teplotní profil polymerace (Stejskal a Gilbert, 2002).....	53
Obrázek 27 – reakční směs anilin hydrochloridu a persíranu amonného .....	54
Obrázek 28 – směs roztoku PANI-Ag (RS).....	55
Obrázek 29 – reakční směs pro přípravu kompozitu PANI-Ag-silika.....	56
Obrázek 30 – práškové formy modifikací PANI a z nich vylišené tablety .....	57
Obrázek 31 – reakční směs v polystyrenových sklíčkách pro měření buněčné adheze .....	57
Obrázek 32 – vzorky PANI filmů připravené pro další testování .....	58
Obrázek 33 – aparatura pro měření vodivosti PANI prášku.....	59
Obrázek 34 – vzorek tablety PANI umístěný na měřicím stolku s elektrodami.....	60
Obrázek 35 – přisedlá kapka k povrchu (Bartovská, Šišková, 2005) .....	61
Obrázek 36 – kamera umístěná na posuvném stolku.....	62
Obrázek 37 – jednotlivé modifikace filmů pro měření kontaktního úhlu.....	62
Obrázek 38 – SEE Systém pro měření kontaktního úhlu sedící kapky, který byl využit pro praktickou část .....	63
Obrázek 39 – polystyrenové misky připravené pro měření buněčné adheze .....	65
Obrázek 40 – pláty buněk kultivované s extrakty po dobu 24 hodin .....	66
Obrázek 41 – struktura MTT a jeho redukováná forma (Brescia et al., 2009).....	67
Obrázek 42 – na levo bakterie <i>E. coli</i> (Nordqvist, 2015), napravo <i>S. aureus</i> (Oeggerli, 2012) .....	69
Obrázek 43 – příklad chování kapky vody na povrchu filmu modifikace PANI-silika a její vyhodnocení .....	72
Obrázek 44 – adheze buněk NIH/3T3 na filmech PANI modifikací (zvětšení 100x).....	75
Obrázek 45 – vzorky po inkubaci 24 hodin .....	80
Obrázek 46 – zobrazení vzorků po inkubaci po 72 hod. ....	81

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 – výsledky měření vodivosti pomocí čtyřbodové metody.....	70
Tabulka 2 – hodnoty kontaktních úhlů kapek naměřených na různých typech PANI modifikací.....	72
Tabulka 3 – hodnoty povrchových energií jednotlivých filmů, zahrnujících disperzní a polární složky .....	73
Tabulka 4 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI (S).....	76
Tabulka 5 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI-Ag (RS).....	77
Tabulka 6 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI-silika .....	77
Tabulka 7 – průměrné absorbance, směrodatné odchylky a procentuální viabilita buněk pro kompozit PANI-Ag-silika .....	78
Tabulka 8 – šířka inhibiční zóny u bakterií <i>E. coli</i> a <i>S. aureus</i> po 24 hod., 48 hod. a 72 hod. inkubace.....	81