

**Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

Katedra farmaceutické technologie

**Vliv redukčního činidla na granulometrické  
parametry nanočástic stříbra**

The influence of the reducing agent on silver  
nanoparticles granulometric parameters

**Diplomová práce**

**V Hradci Králové 2011**

**Iva Šomodíková**

Prohlašuji, že jsem prezentované výsledky získala samostatně pod vedením školitele. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou řádně citovány a uvedeny v kapitole Literatura.

.....

Školitel: Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.

# Obsah

<b>Abstrakt</b> .....	<b>6</b> -
<b>Abstract</b> .....	<b>6</b> -
<b>Seznam zkratk</b> .....	<b>7</b> -
<b>Úvod</b> .....	<b>8</b> -
<b>1 Teoretická část</b> .....	<b>9</b> -
<b>1.1 Mechanismus antimikrobního působení různých forem stříbra</b> .....	<b>9</b> -
1.1.1 Mechanismus působení stříbra .....	9 -
1.1.2 Mechanismus působení stříbrných iontů .....	9 -
1.1.3 Mechanismus působení nanočástic stříbra .....	9 -
<b>1.2 Historie využití stříbra jako antimikrobního činidla</b> .....	<b>10</b> -
<b>1.3 Vlastnosti nanočástic stříbra</b> .....	<b>11</b> -
<b>1.4 Syntéza nanočástic stříbra</b> .....	<b>12</b> -
1.4.1 Polysacharidová metoda.....	13 -
1.4.2 Tollensova metoda .....	14 -
<b>1.5 Aplikace nanočástic v medicíně</b> .....	<b>16</b> -
1.5.1 Kardiovaskulární implantáty .....	16 -
1.5.2 Centrální žilní katétry .....	17 -
1.5.3 Neurochirurgické katétry.....	17 -
1.5.4 Kostní cement.....	18 -
1.5.5 Krytí ran .....	19 -
<b>1.6 Princip měření velikosti nanočástic</b> .....	<b>20</b> -
1.6.1 Dynamický rozptyl světla.....	20 -
1.6.2 Korelační funkce .....	20 -
1.6.3 Intenzitní, objemová a číselná distribuce .....	21 -
1.6.4 Měření velikosti částic pomocí zetasizeru .....	21 -
<b>2 Cíl diplomové práce</b> .....	<b>23</b> -
<b>3 Experimentální část</b> .....	<b>24</b> -
<b>3.1 Použité chemikálie</b> .....	<b>24</b> -
<b>3.2 Použité nástroje</b> .....	<b>24</b> -
<b>3.3 Seznam pomůcek</b> .....	<b>25</b> -

<b>3.4</b>	<b>Obecný postup přípravy koloidních částic stříbra.....</b>	<b>26 -</b>
<b>3.5</b>	<b>Úprava kádinek pro přípravu disperzí .....</b>	<b>27 -</b>
<b>3.6</b>	<b>Příprava zásobních roztoků pro přípravu koloidního stříbra .....</b>	<b>27 -</b>
<b>3.7</b>	<b>Měření velikostí částic.....</b>	<b>28 -</b>
<b>3.8</b>	<b>Změny v obecném postupu přípravy koloidních částic stříbra.....</b>	<b>28 -</b>
3.8.1	Sušená šťáva z Paulinia Cupana jako redukční činidlo.....	28 -
3.8.2	Redukce extrakty některých flavonoidních drog.....	29 -
3.8.3	Redukce amarantovým škrobem v kombinaci s maltózou.....	30 -
3.8.4	Redukce amarantovým škrobem v kombinaci s glukózou nebo acerolou .....	31 -
3.8.5	Škroby jako redukční činidla samostatně a v kombinaci s acerolou.....	31 -
3.8.6	Acerola v koncentraci 0,05 % v kombinaci s amarantovým škrobem v různých koncentracích jako redukční činidlo .....	32 -
3.8.7	Hydrolyzovaný amarantový škrob a acerola jako redukční činidla a vliv teploty a MV záření na velikost nanočástic .....	33 -
<b>3.9</b>	<b>Měření a výpočet viskozity hydrolyzovaných škrobů .....</b>	<b>34 -</b>
3.9.1	Měření na rotačním viskozimetru.....	34 -
3.9.2	Měření na kapilárním viskozimetru .....	35 -
<b>4</b>	<b>Tabulky a grafy .....</b>	<b>36 -</b>
<b>4.1</b>	<b>Celkový přehled disperzí nanočástic stříbra .....</b>	<b>36 -</b>
<b>4.2</b>	<b>Měření viskozity .....</b>	<b>38 -</b>
<b>4.3</b>	<b>Charakteristiky jednotlivých disperzí.....</b>	<b>38 -</b>
<b>5</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>70 -</b>
<b>5.1</b>	<b>K tématu práce .....</b>	<b>70 -</b>
<b>5.2</b>	<b>K vlivu extraktu z Paulinia cupana a extraktů jiných flavonoidních drog na velikost nanočástic stříbra .....</b>	<b>71 -</b>
<b>5.3</b>	<b>K vlivu škrobu různého původu a jeho směsi s extraktem z Paulinia cupana na velikost nanočástic stříbra .....</b>	<b>72 -</b>
<b>5.4</b>	<b>K vlivu amarantového škrobu a jeho směsi s glukózou a maltózou na velikost nanočástic stříbra .....</b>	<b>72 -</b>
<b>5.5</b>	<b>K vlivu amarantového škrobu a jeho směsi s extraktem z Paulinia cupana na velikost nanočástic stříbra .....</b>	<b>73 -</b>
<b>5.6</b>	<b>K vlivu předem zbobtnalého amarantového škrobu a jeho směsi s extraktem z Paulinia cupana na velikost nanočástic stříbra .....</b>	<b>75 -</b>

<b>6</b>	<b>Závěry.....</b>	<b>- 76 -</b>
<b>7</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>- 77 -</b>

## **Abstrakt**

Jsou předloženy výsledky experimentů o přípravě částic stříbra Tollensovou metodou redukce. Jako redukující agens byly využity netoxické přírodní látky, jako jsou škroby a extrakty z rostliny obsahující flavonoidy. Jako neúčinnější redukční látky byly pro další studium vybrány amarantový škrob a extrakt z rostliny *Paulinia cupana*. Samotný škrob vede k tvorbě vysoce polydisperzního systému. Mísením škrobů s extraktem z rostliny *Paulinia cupana* byly získány nanočástice stříbra s dobrými parametry střední velikosti a distribuce hodnot velikostních parametrů. Fáze nukleace a růstu v procesu přípravy částic byla zlepšena ozářením mikrovlnami. Byla tak využita synergie intenzivního pohybu molekul ve vodné fázi a podobně zesíleného více termicky výrazného procesu v nově vznikajících kovových částicích. Produkty mohou být využity jako biokompatibilní protimikrobní agens a konzervační přísady.

## **Abstract**

We report an experimental evidence of a process of silver particles preparation by the Tollens reduction method. Natural non toxic reducing agents, such as various starches and flavonoid plant extracts were used. As the most efficient reducing agents amaranth starch and *Paulinia cupana* extract were chosen for the following study. The use of starches alone leads to highly polydisperse systems. The mixing of starches with *Paulinia cupana* extract results in silver nanoparticles with good size-mean and size-distribution parameters. The nucleation and growth phase of the particle preparation process were improved by the microwave irradiation. The synergy of intensified molecular movement in the water phase and the similar and more thermal accented process in the newly formed metal nanoparticles were exploited. This preparation method evidently leads to the higher quality systems usable as biocompatible antimicrobials and preservatives.

## Seznam zkratek

A1	0,05 % hydrolyzovaná suspenze amarantového škrobu
A2	0,50 % hydrolyzovaná suspenze amarantového škrobu
AŠ	amarantový škrob
Acerola	sušená šťáva z <i>Paulinia cupana</i>
CSF	mozkomíšní mok (cerebrospinal fluid)
DLS	dynamický rozptyl světla (dynamic light scattering)
EGCG	epigalokatechin galát
INT	intenzita
MV	mikrovlnění, mikrovlny
NS	nanočástice stříbra, nanostříbro
P1, P2, P3	píky v grafech
PdI	polydisperzní index
RCT	randomizovaná kontrolovaná studie (randomized control trial)
$t_1, t_2, t_3$	čas
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
UV	ultrafialové záření
$V, V_1, V_2, V_3$	viskozita
VOL	objem
VZ	vzorek
Z-Ave	průměrná velikost částic

## Úvod

Rezistence virů, bakterií a plísní představuje stále větší problém. Běžná antibiotika jsou stále více nadužívána a neracionálně předepisována, což vede k tomu, že se s rezistencí patogenů setkáváme stále častěji. Neustává tedy hledání nových preparátů a léků pro boj s nemocemi, které tyto patogeny způsobují. Jedním z těchto preparátů může být i stříbro v různých formách, které bylo známé již v dávných dobách jako tzv. přírodní antibiotikum.<sup>1</sup> Použití stříbra bylo limitováno toxicitou stříbrných iontů. Nyní však nanotechnologie napomáhá produkci menších stříbrných částic s mnohem větším povrchem, s vyšší účinností proti bakteriím<sup>2</sup> a hlavně s nižší toxicitou pro člověka.<sup>3</sup> Nanočástice stříbra jsou využívány v mnoha oblastech. Textilní výroba včlenila nanočástice stříbra do materiálů na výrobu ponožek a jiných produktů. Jsou integrovány do různých materiálů přicházejících do kontaktu s jídlem, jako jsou obaly potravin, povrchy ledniček, sáčky a kuchyňská prkénka.<sup>4</sup> Využívány jsou také jako stavební díly nanotechnologie a nanosenzory v elektronice. V medicíně získává stříbro stále nová uplatnění. Používá se při výrobě kardiovaskulárních implantátů, žilních a neurochirurgických katétrů, krytí ran a mnoha dalších. Kromě antibakteriálního působení mají nanočástice stříbra také silný protizánětlivý efekt a urychlují tak hojení ran.<sup>5</sup> Stříbro se využívá také v některých detekčních a zobrazovacích metodách. Zesiluje signál v soustavě studované Ramanovou spektroskopií, tzv. povrchově zesílený Ramanův rozptyl. Jedná se o citlivou spektroskopickou metodu umožňující studovat jedinou molekulu adsorbovanou na nanočástici stříbra.<sup>6</sup> Nanočástice koloidního stříbra patří pro své specifické vlastnosti a široké využití v mnoha oblastech mezi jedny z nejstudovanějších.



# 1 Teoretická část

## 1.1 Mechanismus antimikrobního působení různých forem stříbra

Přesný mechanismus působení stříbra na mikroby není dosud znám, ale možný mechanismus působení kovového stříbra, stříbrných iontů a stříbrných nanočástic byl odvozen z morfoloických a strukturních změn nalezených v bakteriální stěně.

### 1.1.1 Mechanismus působení stříbra

Mechanismus působení stříbra je spojený s jeho interakcí s thiolovou skupinou sloučenin nacházejících se v dýchacích enzymech bakteriálních buněk. Stříbro se váže na stěnu bakteriální buňky a buněčnou membránu a zastavuje dýchací proces.<sup>7</sup> V případě *Escherichia coli* stříbro působí inhibicí příjmu fosfátu a inhibicí uvolňování fosfátu, manitolu, sukcinátu, prolinu a glutaminu z buněk *E. coli*.<sup>8</sup>

### 1.1.2 Mechanismus působení stříbrných iontů

Mechanismu antimikrobního působení stříbrných iontů není zcela porozuměno, nicméně efekt stříbrných iontů na bakterie může být pozorován na strukturních a morfoloických změnách. Domníváme se, že když jsou molekuly DNA v relaxovaném stavu, replikace DNA může být efektivně vedena. Ale když je DNA v kondenzované formě, ztrácí schopnost replikace. Proto když stříbrné ionty prostoupí dovnitř bakteriální buňky, molekula DNA se stočí do kondenzované formy a ztrácí svoji schopnost replikace, což vede k buněčné smrti. Je také známo, že těžké kovy reagují s thiolovými skupinami proteinů a tyto proteiny jsou tímto inaktivovány.<sup>9</sup>

### 1.1.3 Mechanismus působení nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra vykazují účinnou antimikrobiální vlastnost srovnatelnou s jinými formami kvůli jejich extrémně velkému povrchu, který poskytuje lepší kontakt s mikroorganismy. Nanočástice se nejen přichytí k buněčné membráně, ale také prostoupí dovnitř bakterie. Bakteriální membrána je mimo jiné složena z proteinů obsahujících síru.

Stříbrné nanočástice interagují s těmito proteiny v buňce právě tak, jako se sloučeninami obsahujícími fosfor, jako je například DNA. Nanočástice napadají dýchací řetězec a nakonec i buněčné dělení, což vede ke smrti buňky. Nanočástice uvolňují do bakterií stříbrné ionty, což zvyšuje jejich baktericidní aktivitu.<sup>10,11</sup>

## 1.2 Historie využití stříbra jako antimikrobního činidla

Po staletí bylo stříbro používáno na léčbu popálenin a chronických ran. Již 1000 před n. l. se stříbro používalo k úpravě pitné vody.<sup>12,13</sup> Dusičnan stříbrný se využíval v pevné formě a byl znám pod různými názvy: jako „Lunar caustic“ v angličtině, „Lapis infernale“ v latině a „Pierre infernale“ ve francouzštině. V roce 1700 se začal dusičnan stříbrný používat k léčbě pohlavních nemocí, píštěle slinné žlázy a kostních a perianálních abscesů.<sup>7,14</sup>

V 19. století byly granulační tkáně odstraňovány dusičnanem stříbrným, aby se umožnila epitelizace a podpořila se tvorba strupu na povrchu rány. Různé koncentrace dusičnanu stříbrného byly používány k léčbě popálenin.<sup>7,13</sup> V roce 1881 Carl S. F. Crede léčil zánět spojivek novorozenců očními kapkami, které obsahovaly dusičnan stříbrný. Prakticky takto vymýtil výskyt slepoty u novorozenců, která byla způsobena kapavkou. Jeho syn, B. Crede, navrhl stříbrem impregnované obvazy pro transplantace kůže.<sup>7,14</sup>

Ve čtyřicátých letech, poté co byl dán do oběhu penicilin, se použití stříbra pro léčbu bakteriálních infekcí minimalizovalo.<sup>15</sup> Stříbro se vrátilo zpět v šedesátých letech, když Moyer představil použití 0,5 % roztoku dusičnanu stříbrného k léčbě popálenin. Tvrdil, že tento roztok nezasahuje do epidermální proliferace a má antibakteriální aktivitu proti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli*.<sup>16</sup>

V roce 1968 bakteriolog Dr. Charles L. Fox Jr. sloučil dvě antibakteriálně účinné látky, dusičnan stříbrný a sulfadiazin. Takto vzniklý sulfadiazin stříbrný byl obsažen v krému, který sloužil jako širokospektré antibakteriální činidlo a byl používán pro léčbu popálenin. Sulfadiazin stříbrný je účinný proti bakteriím jako je *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. Má také některé antifungální a antivirotické účinky.<sup>17</sup>

V současné době, kvůli objevení se bakterií rezistentních na antibiotika a tudíž omezení použití antibiotik, se klinici vrátili ke krytí ran obsahujících různé formy stříbra.<sup>15</sup>

Antimikrobiální vlastnost stříbra je závislá na jeho množství a rychlosti jeho uvolnění. Stříbro v kovovém stavu je inertní, ale reaguje s vlhkostí kůže a tekutinou v ráně a tím se

ionizuje. Ionizované stříbro je vysoce reaktivní, jelikož se váže na tkáňové proteiny a přináší strukturní změny v bakteriální stěně a jaderné membráně vedoucí k deformaci buňky a její smrti. Stříbro se také váže na DNA a RNA bakterií a denaturuje je, čímž zastavuje jejich replikaci.<sup>13,14</sup>

### 1.3 Vlastnosti nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra (NS) zahrnují struktury o velikosti nanometrů tvořené ze stříbrných atomů, které jsou vázány dohromady kovovou vazbou. Částice mají různé fyzikální, optické a chemické vlastnosti. Tyto jedinečné vlastnosti jsou využívány v biomedicínských zobrazovacích a snímacích aplikacích, jako je rozšířená povrchová Ramanova spektroskopie nebo monostabilní protilátky.<sup>18</sup>

Antibakteriální aktivita stříbra je dobře známa, důkazem je jeho současné užívání v léčbě ran. Akceptuje se, že stříbro a NS ve vodném roztoku uvolní stříbrné ionty, které jsou biologicky aktivní a zprostředkovávají baktericidní efekt.<sup>19,20</sup> Tento mechanismus není plně objasněn, ale věří se, že stříbrné ionty interagují se třemi součástmi bakteriální buňky na vytvoření baktericidního efektu. Těmito součástmi jsou:

- 1) peptidoglykanová buněčná stěna<sup>8</sup> a plasmatická membrána<sup>21</sup>;
- 2) bakteriální (cytoplazmatická) DNA<sup>22</sup>;
- 3) bakteriální proteiny<sup>8,22</sup>, zejména enzymy zapojené do životních funkcí buňky, jako je transportní řetězec elektronů.

Srovnávací studie nanočástic stříbra, dusičnanu stříbrného a chloridu stříbrného odhalila, že nanočástice mají vyšší antibakteriální účinnost než volné stříbrné ionty.<sup>2</sup> To naznačuje, že NS mají vlastní antibakteriální vlastnosti, které nezávisí na eluci  $\text{Ag}^+$ . NS rozsáhle interagují s bakteriální buněčnou stěnou, což způsobuje lýzu buňky.<sup>8,10</sup> Toto je podstatný důkaz, že NS produkují volné kyslíkové radikály<sup>23</sup>, které mohou být základem a vysvětlovat jak antibakteriální aktivitu, tak i potenciální toxicitu pro lidský organismus.

NS mají antibakteriální účinky proti velkému počtu bakteriálních druhů. V literatuře existuje mnoho rozporů, které se týkají hlavního antimikrobního efektu NS. Ale věří se, že je to kombinovaný efekt, kterým všechny mechanismy (interakce se stěnou buňky nebo plasmatickou membránou, bakteriální DNA a bakteriálními proteiny) přispívají k rozšíření

antibakteriálního spektra. Mimo to je resistance bakterií k elementárnímu stříbru extrémně vzácná<sup>24</sup>, což podporuje teorii přítomnosti rozmanitých baktericidních mechanismů působících v spolupráci.

## 1.4 Syntéza nanočástic stříbra

Nanotechnologie a moderní chemie syntézy zveřejnily mnoho dobře charakterizovaných metod na syntézu nanočástic stříbra (NS). Každá metoda má své výhody a nevýhody.

Parametry, které jsou ovlivněny výběrem metody syntézy:

- průměr a velikost nanočástic
- velikostní distribuce
- tvar nanočástic
- stabilita, zahrnující činidla chránící jádro NS
- chemický výnos reakce
- přítomnost nečistot

V literatuře bylo publikováno mnoho způsobů přípravy NS, ale pouze několik se skutečně využívá. Existují dvě hlavní metody: kondenzační a disperzní. Při kondenzační metodě se v homogenním systému z jednotlivých atomů nebo molekul vytváří nanočástice nebo submikročástice. Disperzní metodou rozptylu jsou rozrušovány velké částice, tato metoda je však používána mnohem méně.<sup>25</sup>

Nejčastěji jsou NS získávány redukcí dusičnanu stříbrného použitím buď redukčního činidla (např. borohydrát sodný, hydrazin, peroxid vodíku, vodík, formaldehyd), nebo UV světla (fotoredukce).<sup>26</sup> Nicméně bylo vyvinuto velké množství cest alternativní „zelené“ chemické syntézy. Ochranná činidla, jako například citrát, jsou používány k předejití agregace a aglomerace nanočástic. Během chemické redukce redukční činidlo předá elektrony stříbrným iontům ( $\text{Ag}^+$ ), což umožňuje stříbru přejít zpět do elementární podoby ( $\text{Ag}^0$ ). Kontrolou podmínek experimentu (např. teplota, přístup energie, přítomnost ochranného činidla) může být měněna reakční kinetika tak, že nahromaděné atomy stříbra utvoří částice stříbra o nanorozměrech.<sup>27</sup>

Výsledný produkt je nutno uchovávat v tmavých lahvích chráněných před světlem. Důvodem je vliv slunečního UV záření, které může snižovat kvalitu koloidního stříbra tím, že způsobuje shlukování částic.

Bylo již dosaženo i biosyntézy NS a mnoho publikací uvedlo použití různých druhů bakterií a hub k tomuto účelu. Tyto metody postupují podle obvyklé metodologie, kdy je roztok dusičnanu stříbrného přidáván k živné půdě mikroorganismů. Redukční činidla, jako jsou např. hydrochinony, přítomné v mikrobiálním supernatantu, redukují  $\text{Ag}^+$  na NS za konstantních podmínek (např. teplota). Zřejmou nevýhodou této metody je potřeba vysoké čistoty vzorku a extrakce NS, protože patogenní bakterie mohou kontaminovat NS, které se dále požívají v medicínských aplikacích.<sup>28,29</sup>

#### 1.4.1 Polysacharidová metoda

V této metodě jsou nanočástice stříbra připravovány za použití vody jakožto přírodě příznivého rozpouštědla a polysacharidů jako ochranného činidla. V některých případech polysacharidy slouží jako redukční i jako ochranné činidlo zároveň. Například syntéza škrobových-NS byla provedena se škrobem jako ochranným činidlem a  $\beta$ -D-glukózou jako redukčním činidlem v mírně zahřátém systému.<sup>30</sup> Vazebné interakce mezi škrobem a nanočásticemi stříbra jsou slabé a mohou být za vyšších teplot reversibilní, což dovoluje separaci syntetizovaných částic.

V případě dvojité funkce polysacharidů byly NS syntetizovány redukcí  $\text{Ag}^+$  uvnitř nanoskopických šablon škrobu. Rozsáhlá síť vodíkových vazeb poskytuje pasivaci povrchu a ochranu proti shlukování nanočástic.<sup>30</sup> NS jsou také syntetizovány použitím negativně nabitého heparinu jako redukčně-stabilizačního činidla. Vznikají zahříváním roztoku  $\text{AgNO}_3$  a heparinu při teplotě 70 °C po asi 8 hodin. Záznamy transmisní elektronové mikroskopie (TEM) těchto nanočástic stříbra odhalily růst velikosti částic se vzrůstající koncentrací obou složek,  $\text{AgNO}_3$  i heparinu. Kromě toho změny v koncentraci heparinu měnily velikost i morfologii NS, což naznačuje, že heparin se musí chovat jako nukleační regulátor a stabilizátor. Nanočástice stříbra byly vysoce stabilní a nevykazovaly žádné známky agregace po dva měsíce.<sup>31</sup>

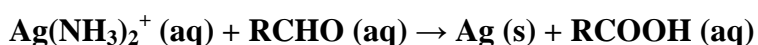
V jiné studii byly stabilní nanočástice stříbra (10-34 nm) syntetizovány autoklávováním roztoku  $\text{AgNO}_3$  a škrobu (ochranné i redukční činidlo) při tlaku 101,5 kPa, teplotě 121 °C po dobu 5 minut.<sup>32</sup> NS byly stabilní v roztoku po tři měsíce při 25 °C. Důležité

je, že škrobem chráněné nanočástice mohou být snadněji integrovány do systémů pro biologické a farmaceutické aplikace.

### 1.4.2 Tollensova metoda

Tollensova metoda syntézy přináší nanočástice stříbra s řízenou velikostí v jedнокrokovém procesu.<sup>33,34</sup> Základ Tollensovy reakce tvoří redukce  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$  (aq), Tollensova činidla, pomocí aldehydu. (obr.1)

Obr. 1 Tollensova reakce

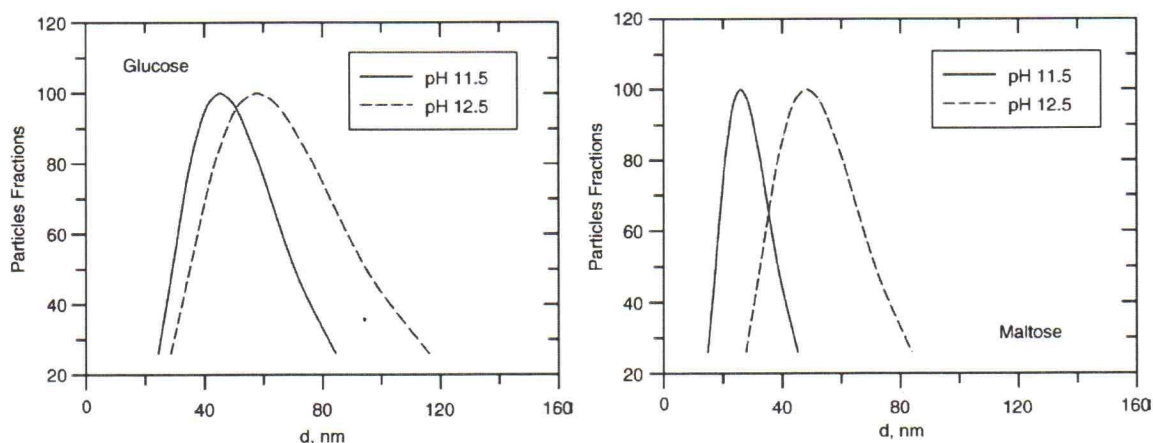


V modifikovaném Tollensově postupu jsou stříbrné ionty redukovány sacharidy za přítomnosti amoniaku, což přináší NS v tenké vrstvě s velikostmi částic 50-200 nm, stříbro koloidně dispergované ve vodě s částicemi o velikosti 20-50 nm a nanočástice jiných tvarů.  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$  je stabilní komplexní ion, což vyplývá ze silné afinity amoniaku k  $\text{Ag}^+$ . Proto koncentrace amoniaku a povaha redukčního činidla hraje hlavní roli v regulaci velikosti NS.<sup>33,34</sup>

Pro lepší pochopení procesu syntézy uvažme tento příklad. Výzkumná studie sacharidové redukce stříbrných iontů modifikovaným Tollensovým postupem odhalila, že nejmenší částice byly vytvořeny při nejnižší koncentraci amoniaku.<sup>33</sup> Konkrétně glukóza a nejnižší koncentrace amoniaku,  $0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , měly za následek nejmenší průměrnou velikost částic a to 57 nm. Mimoto současný vzrůst velikosti částic a polydisperzity byl detekován se vzrůstem koncentrace amoniaku z  $0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  na  $0,2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .<sup>33</sup>

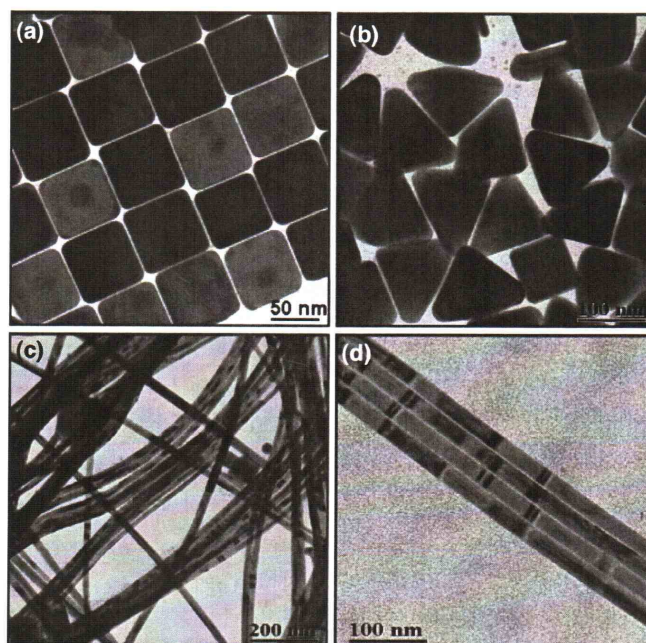
Nanočástice stříbra s řízenou velikostí byly také syntetizovány redukcí  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  se dvěma monosacharidy (glukózou a galaktózou) a se dvěma disacharidy (maltózou a laktózou).<sup>35</sup> Syntéza byla provedena s různými koncentracemi amoniaku ( $0,005 - 0,2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a za různých podmínek pH (11,5 – 13,0). Měla za následek velikosti částic od 25 do 450 nm. Jak se předpokládalo, průměrná velikost částic vzrůstala se vzrůstající koncentrací  $\text{NH}_3$ . Maximální velikost částic byla dosažena při koncentraci  $0,035 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  pro disacharidy a  $0,20$  pro monosacharidy. Rozdíl ve struktuře monosacharidů a disacharidů ovlivňuje velikost částic. Disacharidy dávají při pH 11,5 v průměru menší částice než monosacharidy. Kromě toho v obou případech částice získané při pH 11,5 byly menší než při pH 12,5. Polydisperzita se také snižovala se snižujícím se pH. (obr. 2). Maltóza dala nanočástice stříbra s nejužší velikostní distribucí a nejmenší průměrnou velikostí 25 nm.<sup>35</sup>

Obr. 2: Velikostní distribuce nanočástic stříbra za různého pH prostředí pro glukózu a maltózu v prostředí 0,005 M amoniaku <sup>35</sup>



K prodloužení životnosti skladování byly nanočástice stříbra stabilizovány dvěma surfaktanty, dodecyl sulfátem sodným (SDS) a polyoxyethylensorbitan-monooleátem (Tween 80), a polymerem polyvinylpyrrolidonem (PVP 360).<sup>36</sup>

Modifikovaná „zrcátková“ reakce (Tollensova reakce) je příkladem syntézy, která přináší NS různých tvarů. Nanočástice stříbra různé morfologie s průměrem menším než 10 nm byly syntetizovány ve vodě regulací koncentrací n-hexadecyltrimethylammonium bromidu (HTAB) a Tollensova činidla,  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ , při 120 °C.<sup>37,38</sup> Záznamy TEM nanočástic stříbra získané touto metodou jsou ukázány na obr.3.



Obr. 3: TEM záznamy nanočástic stříbra: (a) krychle, (b) trojúhelníky, (c) nitky, (d) uspořádané nitky<sup>38</sup>

## 1.5 Aplikace nanočástic v medicíně

Výzkum v medicínských aplikacích nanočástic stříbra je velmi aktivní. Existuje několik komerčně dostupných produktů, které jsou klinicky využívány. Znalost NS je rozšířena do všech oblastí medicíny a jsou navrhovány a hodnoceny stále inovativnější aplikace.

Implantovaná zařízení jsou významný rizikový faktor v nakažení se infekcemi během lékařského zákroku. Existují dva typy implantabilních invazivních zařízení: zařízení, která jsou plně implantována uvnitř těla pacienta, a zařízení umístěná částečně mimo tělo, vystavena vnějšímu prostředí. Plně implantovaná zařízení, jako srdeční chlopně, mohou být kontaminována během implantace a vyžadují profylaktickou antibiotickou léčbu pro první dny po operaci k předejití infekce.<sup>39</sup> Naproti tomu zařízení jako urinární a žilní katétrů jsou náchylné k bakteriální kolonizaci kvůli kontinuálnímu vystavení vnějšímu prostředí. Vzrůstající riziko infekce omezuje použití těchto katétrů v klinické praxi.

Ideální vlastnosti antibiotického krytí jsou: prodloužená aktivita, vysoký stupeň baktericidní a bakteriostatické aktivity, schopnost účinkovat proti širokému spektru bakterií, biokompatibilita a nízká toxicita *in vivo*. Navíc by krytí mělo být levné, schopné reprodukce a dostupné, aby se minimalizovalo zničení prostředí. Pro použití v kardiovaskulárních aplikacích (např. stenty a žilní katetry) musí antibakterální krytí vykazovat vhodnou hemokompatibilitu, aby se předešlo trombóze.<sup>40</sup>

### 1.5.1 Kardiovaskulární implantáty

V roce 1998, urychleno příznivými studiemi *in vitro* a na zvířatech, byla vyrobena náhradní silikonová srdeční chlopně pokrytá elementárním stříbrem (Silzone). Stříbro bylo použito k redukci incidence endokarditidy následující po výměně chlopně. Tato chlopně byla postupně použita v klinických zkouškách (AVERT trial, n = 4400).<sup>41</sup> Odůvodněním použití stříbra bylo předejití bakteriální kolonizace na silikonové chlopni, a tudíž redukce zánětu na srdci. Rozsáhlé testování toxicity této srdeční chlopně ukazovalo slibnou biokompatibilitu. Nicméně, po 4 letech zkoušek, byla srdeční chlopně Silzone stáhnuta kvůli zvýšené rychlosti parachlopněvého prosakování u pacientů. Vyšetřování odhalilo, že inhibice normální funkce fibroblastů a hypersenzitivita<sup>42</sup> vedly k selhání studie. Použití stříbra u krytí kardiovaskulárních implantátů bylo přerušeno. Nyní je NS nabízeno jako schůdná alternativa bezpečného, netoxického antibakteriálního krytí pro medicínské implantáty.



Následně byl syntetizován materiál s novým složením na bázi diamantového uhlíku se 4nm nanočásticemi stříbra vloženými do jeho matrix. Byly studovány hemokompatibilní vlastnosti tohoto materiálu, který byl použit jako povrchové krytí pro kardiovaskulární medicínální implantáty (např. srdeční chlopně a stenty).<sup>43</sup> Studie adheze krevních destiček demonstrovaly sníženou přilnavost krevních destiček na povrchu. A ty, které přilnuly, byly rozmístěny náhodně, což indikovalo, že materiál má antitrombotické vlastnosti. Autoři těchto studií navrhovali, že nanokompozitní materiál také má antibakteriální vlastnosti, ale k potvrzení tohoto tvrzení nebyly poskytnuty žádné údaje.<sup>43</sup>

Byl vyvinut také polymer pro kardiovaskulární aplikace, který je složený z nanočástic mnohostěnného oligomerního silsesquioxanu (POSS) a poly(carbonateurea)urethanu (PCU) (POSS-PCU).<sup>44</sup> V současné době jsou zkoumány antibakteriální, mechanické a hemodynamické vlastnosti POSS-PCU impregnovaného NS *in vitro*.

## 1.5.2 Centrální žilní katétry

Mnoho různých přístupů bylo použito ke zkoumání NS-impregnovaných polymerů jako antibakteriálního materiálu ke zpomalení růstu biofilmu na katétrech.<sup>45</sup> Nejznámější polyuretany, používané jako plastické katétry, jsou modifikovány NS. Plastové hadičky katétrů mohou být snadno pokryty vrstvou NS k vytvoření efektivních antibakteriálních katétrů. Testování *in vitro* odhalilo efektivní inhibici růstu biofilmu a prodloužený efekt na nejméně 72 hodin. Desetidenní *in vivo* studie na myších potvrdily, že NS katétr není toxický.<sup>46</sup>

V současné době probíhá fáze IV klinických studií na Università Cattolica del Sacro Cuore v Itálii, ve které je srovnávána účinnost NS-impregnovaných katétrů s účinností kontrolních katétrů bez NS v prevenci infekce na místech krční a podklíčkové žíly. Doufá se, že pokus podpoří pověst NS-impregnovaných žilních katétrů pro klinické užití. Dalším krokem jsou dlouhodobé studie, které zhodnotí výhody a rizika pro humánní užití.<sup>47</sup>

## 1.5.3 Neurochirurgické katétry

Katétry jsou využívány v neurochirurgii k odtoku nadbytku mozkomíšní tekutiny (CSF), která může způsobit mozkovou hypertenzi a poškození mozku. Neurochirurgické katétry mohou být buď úplně implantovány a použity k odklonění toku CSF nastálo, nebo

mohou být dočasně použity jako externí drenážní prostředek.<sup>48</sup> Obě tyto aplikace jsou náchylné k bakteriální infekci, která se může rychle rozšířit do mozku. Tyto infekce obvykle způsobují *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus epidermidis*.<sup>49</sup>

NS se stávají uznávanějšími v každodenním chirurgickém použití, protože vyšší antibakteriální vlastnosti a nedostatek pozorované toxicity může redukovat výskyt bakteriálních infekcí a komplikací během operace. Například NS-impregnované neurochirurgické katétry byly vyrobeny k redukci infekcí spojených s katétry. *In vitro* studie prokázaly prodloužené uvolňování stříbrných iontů, které trvá po dobu minimálně 6 dnů a navíc značně snížený růst *S. aureus*.<sup>50</sup>

V pilotní klinické studii pacientů s akutním okluzivním hydrocefalem (kdy zablokování ventrikulárního systému způsobí dilataci dutin a vzrůst intrakraniálního tlaku) byly použity NS-impregnované externí ventrikulární odtokové katétry, aby se určilo, zda jsou NS prospěšné v prevenci ventrikulitidy způsobené katétry (CAV). CAV je zánět komor mozku, který se prokazuje pozitivními CSF kulturami. 19 pacientů přijalo NS katétr a byli zpětně srovnáváni s kontrolní skupinou, která přijala normální katétr. Z kontrolní skupiny ( $n=20$ ) bylo pět pozitivních na CAV. Ve skupině s NS katétry se nevyskytl žádný případ CAV a všechny CSF kultury byly negativní. Studie ukázala, že NS jsou potenciálně prospěšné v prevenci CAV s žádnými známkami toxicity a jsou nadějně pro *in vivo* použití u lidí.<sup>51</sup>

#### 1.5.4 Kostní cement

NS je používáno jako antibakteriální přísada do polymethylmethacrylátového (PMMA) kostního cementu. Kostní cement je používán pro zajištění připojení kloubních protéz ke kosti, například kyčelních a kolenních kloubů. Podíl infekcí při totální kloubní výměně je vysoké, v rozmezí 1 - 4 %. Použití kostního cementu obsahujícího antibiotika vysoce redukovalo výskyt infekcí na 0,4 - 1,8 %, ale spolehnout se na antibiotika je nežádoucí, protože se může rychle rozvinout bakteriální rezistence.<sup>52</sup> NS-PMMA kostní cement byl navrhnout jako prostředek ke snížení incidence rezistence díky jeho mnohostrannému mechanismu působení. Dále vykazoval působivou *in vitro* aktivitu a nízkou toxicitu. Bylo pozorováno silné antibakteriální působení proti methicilin-rezistentnímu *S. epidermidis* a *S. aureus* a zpomalení růstu biofilmu. NS kostní cement neprojevil

cytotoxicitu v myších fibroblastech ani lidských osteoblastech, což naznačuje dobrou biokompatibilitu.<sup>53</sup>

### 1.5.5 Krytí ran

Nanokrystalické stříbro ke krytí ran je komerčně dostupné již přes deset let. V současnosti se klinicky užívá pro léčbu různých ran, včetně popálenin,<sup>54</sup> toxických epidermálních nekroz,<sup>55</sup> Steven-Johnsonova syndromu, chronických vředů a puchýřů.<sup>56</sup> Typické obvazy se skládají ze dvou vrstev polyethanové síťoviny tvořící „sendvič“ okolo vrstvy polyesterové gázy. Nanokrystalické povlaky jsou 900nm široké s krystaly o velikosti 10 - 15 nm, a jsou aplikovány do polyethylenové vrstvy.<sup>57</sup>

Randomizované klinické studie (RCTs) zhodnotily, že lepší vlastnosti v hojení ran má krytí s nanokrystalickým stříbrem než již existující krytí se sulfadiazinem stříbrným a gázové krytí. Jedna RCT testovala účinnost nanokrystalického stříbra proti kontrolní skupině sulfadiazinu stříbrného na 166 různých popáleninách u 98 pacientů. Krytí s nanokrystalickým stříbrem jednoznačně snížilo čas hojení rány v průměru na 3,35 dnů a odstranilo více bakterií z infikovaných ran. Žádné nežádoucí účinky tohoto krytí nebyly pozorovány.<sup>58</sup>

Jiná RCT zkoušela NS krytí v léčení popálenin druhého stupně; 191 pacientů bylo rozděleno do skupin léčených NS krytím, krémem 1 % sulfadiazinu stříbrného a prostou vazelínovou gázou. Výsledky jednoznačně ukázaly převahu NS krytí ve zkrácení času hojení povrchních popálenin. Nicméně v hojení hlubokých popálenin ve srovnání s 1 % sulfadiazinem stříbrným nebyl žádný rozdíl. To naznačuje, že NS urychluje reepitelizaci, ale již žádné další fáze hojení ran sdružených s formováním nové tkáně, jako jsou angiogeneze a proliferace.<sup>59</sup>

Jak tento obor výzkumu postupuje vpřed, jsou vyráběny nové typy NS-obsahující krytí s cílem dalšího vzrůstu antibakteriálního účinku a podpory hojení ran. Poslední chitosan-NS krytí ukázalo vyšší rychlost hojení (89 %) ve srovnání s krytím obsahující pouze sulfadiazin stříbrný (68 %) nebo chitosanový povlak (74 %). Navíc chitosan-NS krytí ukládalo mnohem méně stříbra než obvyklý sulfadiazin stříbrný, což demonstruje, že použití NS může být bezpečnější v redukci výskytu argyrie (kožní barevná skvrna) a argyremie (zvýšená koncentrace stříbra v krvi).<sup>60</sup> Jak prokázaly RCTs a systematické přehledy, je použití nanokrystalických NS medicínou využíváno k poskytnutí efektivní léčby řady ran a pro zlepšení léčby popálenin.<sup>61</sup>

## 1.6 Princip měření velikosti nanočástic

### 1.6.1 Dynamický rozptyl světla

Zetasizer provádí měření velikosti částic i jejich zetapotenciálu pomocí dynamického rozptylu světla (DLS = dynamic light scattering). Ten proměřuje Brownův pohyb, jehož rychlost souvisí s velikostí částic. Laserový paprsek prochází vzorkem s částicemi, které rozptylují paprsek všemi směry. Detektor analyzuje dopadající záření, v tomto případě pod úhlem 173°. <sup>62,63</sup> Výsledkem jsou bílé a černé skvrny. Bílé skvrny jsou záznamem pro dopadající záření ve stejné fázi a černé skvrny jsou způsobeny vzájemným vyrušením fází. Detektor je schopen zaznamenávat rychlost pohybu skvrn v čase. Pro přepočítání rychlosti pohybu částic na jejich velikost se využívá korelační funkce a Stokes – Einsteinovy rovnice:

$$r = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D}$$

kde  $\eta$  je viskozita,  $k$  Boltzmanova konstanta,  $T$  teplota a  $D$  difúzní koeficient. <sup>64</sup>

Brownův pohyb je pohyb malých částic způsobený náhodnými srážkami s molekulami kapaliny. Malé částice se pohybují rychleji než větší. Částice jsou v konstantním pohybu, proto skvrna vypadá jako by se pohybovala. Zetasizer měří poměr kolísání intenzity skvrny a počítá velikost částic ze Stokes – Einsteinovy rovnice, která vyjadřuje vztah mezi velikostí částic a rychlostí Brownova pohybu. K porovnání intenzity světelného signálu za časové období slouží korelátor, který je součástí přístroje. <sup>64</sup>

### 1.6.2 Korelační funkce

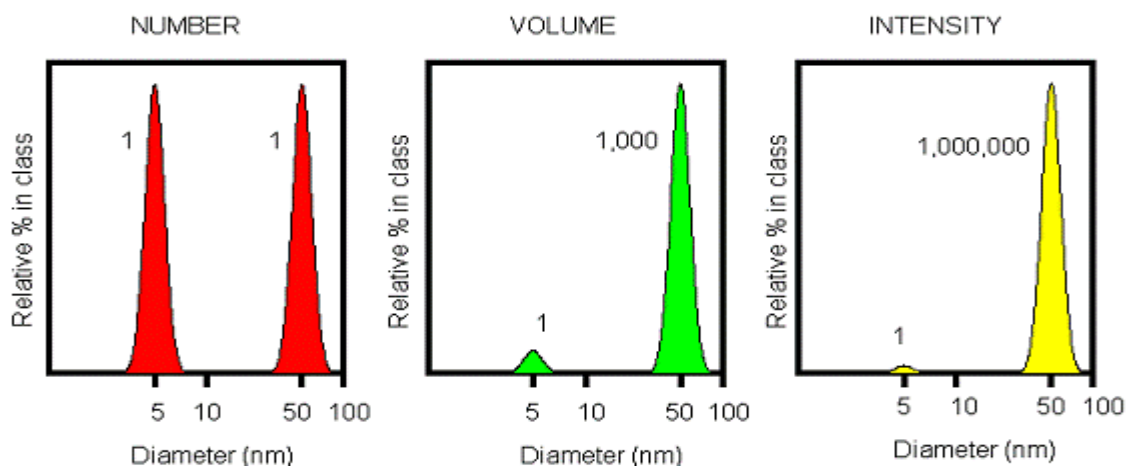
Měříme-li velké částice, které se pohybují pomalu, bude i intenzita porovnávací skvrny kolísat pomalu. U malých částic bude intenzita kolísat rychleji. Korelační funkce pro malé a velké částice je různá. Rychlost poklesu je závislá na velikosti částic, pokles je strmější pro malé částice. Korelační funkci měří přístroj a používá ji pro výpočet distribuce velikosti částic. Zetasizer převádí strmost poklesu korelační funkce na velikostní distribuci a vytváří graf závislosti intenzity na velikostní distribuci. Na ose x tohoto grafu je distribuce skupin částic o stejné velikosti a na ose y relativní intenzita rozptýleného světla v %. Intenzitní distribuce je základní distribuční rozměr, který je vytvořený DLS. Lze jej převést

na distribuci objemovou a dále na číselnou. Ta v sobě násobí chyby intenzitní i objemové distribuce.<sup>63,64</sup>

### 1.6.3 Intenzitní, objemová a číselná distribuce

Rozdíl lze vysvětlit na disperzi obsahující pouze dvě velikosti částic se stejným poměrným zastoupením obou velikostí. V grafu číselné distribuce budou oba píky stejně velké. V grafu objemové distribuce bude pík větších částic větší než pík menších částic, protože objem stejného počtu větších částic je logicky větší. V grafu intenzitní distribuce bude převažovat opět pík větších částic, protože velké částice rozptylují mnohonásobně více světla než malé.<sup>64</sup>

Obr. 4: Grafy číselné (number), objemové (volume) a intenzitní (intensity) distribuce<sup>65</sup>

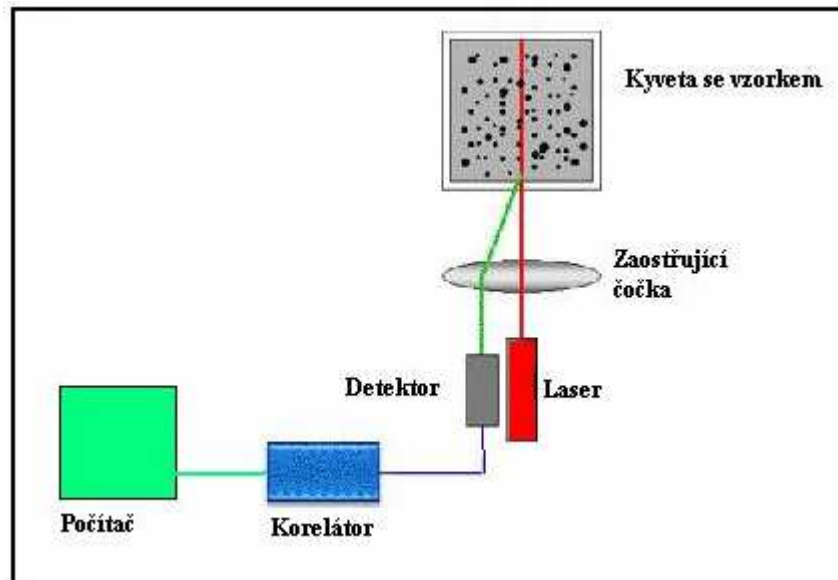


### 1.6.4 Měření velikosti částic pomocí zetasizeru

Zetasizer je složen z několika hlavních částí (obr. 5). Laser je použit jako světelný zdroj k ozařování částic uvnitř kyvety. Většina světelného paprsku prochází vzorkem přímým směrem, ale část je rozptýlena částicemi ve vzorku. Detektor měří intenzitu rozptýleného světla při 173°. Pozice měření v kyvetě je automaticky nastavena, aby vyhověla požadavkům na vysokou senzitivitu nebo vysokou koncentraci. Tato pozice je měněna pohybem zaostřující čočky. Signál z detektoru přechází na digitální signál do korelátoru, který srovnává intenzitu detekovaného paprsku v časových intervalech. Odvozuje tak poměr

kolísající intenzity. Veškeré informace zpracovává počítač, který data analyzuje a vypočítává velikost částic a jejich distribuci.<sup>62,63</sup>

Obr. 5 Schéma zetasizeru Malvern zetasizer ZS<sup>62</sup>



## 2 Cíl diplomové práce

Cíl diplomové práce byl formulován na základě výsledků dosažených na pracovišti školitele v diplomových a rigorózních pracech obhájených v minulých letech zaměřených na přípravu nanočástic stříbra s co nejmenším rozměrem. Důraz byl kladen na biokompatibilitu výsledné nanosuspenze. Při jejich přípravě Tollensovou redukční metodou se kromě monosacharidů a oligosacharidů aldózového typu osvědčily škroby, především amarantový škrob. Dobré výsledky byly dosaženy také při použití extraktu z plodů rostliny *Paulinia cupana* obsahujících kyselinu askorbovou a flavonoidy. Tématem práce bylo na dříve dosažené výsledky navázat a rozšířit je na studium vlivu různých koncentrací amarantového škrobu a extraktu z rostliny *Paulinia cupana* a směsí těchto redukčních agens s glukózou nebo maltózou. Kromě těchto redukčních látek bylo pro srovnání účinnosti zadáno vyzkoušet některé vytipované extrakty z rostlin obsahující flavonoidy nebo některé další škroby. Jako hlavní hodnotící kritérium bylo zadáno měřit velikost nanočástic z hlediska intenzitního a objemového parametru a prezentovat distribuci rozdělení hodnot, celkový index polydisperzity a průměrnou velikost částic stříbra.

## 3 Experimentální část

### 3.1 Použité chemikálie

Dusičnan stříbrný, Safina, ČR, Lachner, ČR

Amoniak p. a., Fluka

Hydroxid sodný p. a., Fluka

Čištěná voda, připravená reverzní osmózou, FaF UK

Hexan, Penta, ČR

Dimetikon, Dow Corning

Kyselina dusičná, Penta, ČR

Sušená šťáva z Paulinia Cupana (acerola)

Epigalokatechol galát z Camellia chinensis (95 %)

Extrakt ze semen vinné révy (grape seed extract)

Prášek z plodů Açaí berry

Amarantový škrob, Sigma

Bramborový škrob, Sigma

Rýžový škrob, Sigma

Kukuřičný škrob, Sigma

Glukóza, Chemopharma Wien

Maltóza p. a., Fluka

### 3.2 Použité nástroje

Analytické váhy Kern ABS, max. 220 g, d = 0,1 mg

Váhy Kern 440-33N, max. 200g, d = 0,01 g

Malvern zetasizer ZS, Malvern Instruments, UK

Magnetická míchačka Heidolph MR 3001, 100-1250 ot/min

Horkovzdušná sušárna Memmert

Mikrovlnná trouba, výkon 700 W

Ultrazvuk Sonorex super 10P, Bandelin

Rotační viskozimetr Rheotest



### **3.3 Seznam pomůcek**

kádinky

magnetická míchadla

skleněné tyčinky

plastové pipety

lžičky

skleněné lahvičky z tmavého skla s víčkem

bralenky 25ml

hliníková fólie

skleněný viskozimetr

kyvety

hliníková fólie

### 3.4 Obecný postup přípravy koloidních částic stříbra

Postup přípravy byl převzat od RNDr. Libora Kvítka, CSc. a kol. z Katedry fyzikální chemie, Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Příprava spočívá v redukci komplexu  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  maltózou či jiným redukčním činidlem v alkalickém prostředí.

#### Seznam reakčních látek a jejich koncentrace v systému:

dusičnan stříbrný ( $\text{AgNO}_3$ ) :  $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$

amoniak ( $\text{NH}_3$ ):  $5\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$

hydroxid sodný ( $\text{NaOH}$ ):  $10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$

maltóza:  $10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$

#### Postup pro přípravu 25 ml disperze koloidního stříbra:

K 5 ml  $5\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  zásobního roztoku dusičnanu stříbrného, který jsem každý den připravovala čerstvý a během dne byl uchováván v temnu, jsem přidala 1,25 ml  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  zásobního roztoku amoniaku. Vzniklý komplex jsem naředila 12,75 ml vody a poté k němu přidala 1 ml  $0,24 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  zásobního roztoku hydroxidu sodného. Následoval nástřik 5 ml  $5\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  zásobního roztoku redukční látky (v tomto případě je to maltóza, popř. jiné redukce schopné činidlo).

Celý systém je nutno intenzivně míchat po celou dobu redukce. Nástřik redukční látky je potřeba provést v co nejkratším čase. Použitá reakční nádoba musí být dokonale čistá, k zamezení vzniku heterogenních nukleací.

Při opakované přípravě koloidu stříbra jsem vymývala reakční nádobu zředěnou kyselinou dusičnou (1:1) přibližně 5 minut a následně opláchla čištěnou vodou.

Jednotlivé disperze v textu označuji zkratkou VZ a číslováním 1 až 60.

### 3.5 Úprava kádinek pro přípravu disperzí

Kádinky je nutné před přípravou disperzí vhodně upravit. Jejich vnitřní povrch se musí hydrofobizovat, aby se zamezilo redukci stříbra na skle. A tím i tvorbě známého „stříbrného zrcátka“.

Vybrala jsem si několik vhodných kádinek, ve kterých probíhala celá příprava i vlastní redukce komplexu stříbra na konečnou disperzi koloidního stříbra. Vnitřní povrch kádinek jsem upravila na hydrofóbní za pomoci dimetikonu a hexanu. Kádinky jsem směsí obou látek vypláchla, nechala odpařit těkavý hexan a poté je sušila v horkovzdušné sušárně při 190 °C 30 - 40 minut. Tím se vytvořila vazba mezi dimetikonem a silikátovými skupinami povrchu skla, který se takto stal hydrofóbním.

Po vysušení jsem kádinky lehce opláchla od nenavázaného dimetikonu a tím byly kádinky připraveny k použití. Vazba dimetikonu na sklo je velice pevná, jednomolekulární a vydrží až 20 umytí.

### 3.6 Příprava zásobních roztoků pro přípravu koloidního stříbra

Základním roztokem byl dusičnan stříbrný, který jsem si připravovala každý den čerstvý, vždy na 6 disperzí, což znamená v množství 30 g. Navážila jsem si 0,026 g  $\text{AgNO}_3$  ( $M_r = 169,87 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) a dovážila do 30 g vodou. Uchovávala jsem ho v tmavé láhvi obalené hliníkovou fólií.

Další roztoky potřebné k přípravě jsem si připravila do zásoby. Uchovávala jsem je v lahvích obalených hliníkovou fólií, které byly uloženy v uzavřené skříní.

Roztok amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) měl koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Připravila jsem si 250 g tohoto roztoku rozpuštěním 1,703 g roztoku  $\text{NH}_3$  o koncentraci  $14,67 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  ve vodě.

Dalším roztokem byl hydroxid sodný ( $\text{NaOH}$ ), který jsem používala v koncentraci  $0,24 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Připravila jsem celkem 250 g rozpuštěním 2,4 g  $\text{NaOH}$  ( $M_r = 40,0 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) ve vodě.

K redukci jsem používala roztoky nebo suspenze látek o různých koncentracích. Jejich příprava je popsána dále v příslušných kapitolách.

### 3.7 Měření velikostí částic

Připravený vzorek koloidního stříbra jsem vložila do speciální kyvety, která je určena pro měření v zetasizeru. V zetasizeru jsem proměřila velikost částic. Základní distribuční velikost vytvořená pomocí DLS je distribuce intenzitní. Ta může být převedena na distribuci objemovou a ta zase na číselnou. Číselná distribuce v sobě násobí chyby objemové, proto nebyla prezentována.

### 3.8 Změny v obecném postupu přípravy koloidních částic stříbra

V obecném postupu přípravy je jako redukční činidlo používána maltóza. Jelikož již byla dříve prověřena, začala jsem rovnou s jinými látkami. Veškeré pokusy jsem prováděla za účelem nalézt jiné vhodné látky k redukci, případně jejich vhodné kombinace a zkoušela jsem reakce provádět za různých podmínek. Při prvních pokusech se nejvíce osvědčilo ozařování vzorku mikrovlnami pomocí mikrovlnné trouby, proto jsem poté za těchto podmínek prováděla většinu pokusů.

#### 3.8.1 Sušená šťáva z Paulinia Cupana jako redukční činidlo

Připravila jsem šest vzorků (tab.3), vždy podle obecného návodu. U všech jsem k redukci použila, místo maltózy či jiného sacharidu, sušenou šťávu z Paulinia Cupana (acerolu). Pro VZ 1, VZ 2 a VZ 3 jsem připravila roztok aceroly o shodné koncentraci 1,8 %. 0,54 g aceroly jsem rozpustila a doplnila vodou na 30 g. Na přípravu vzorků jsem použila 5 ml podle obecného postupu. K charakteristickému zbarvení došlo ihned po nástřiku redukčního činidla (tj. aceroly). Po nástřiku roztoku aceroly jsem vystavila vzorky různým podmínkám.

#### A. Použití mikrovlnění (MV) v kontinuálním režimu

Po nástřiku roztoku aceroly jsem celou soustavu lehce promíchala skleněnou tyčinkou. VZ 1 jsem vložila do mikrovlnné trouby s příkonem 700 W. Vzorek jsem ozařovala kontinuálně až do bodu varu, což jsem ověřovala teploměrem nebo vizuálně, do vzniku charakteristických bublin. K varu byl vzorek přiveden do 10 sekund.

### B. Použití mikrovlnění v pulzním režimu

U VZ 2 byla použita stejná mikrovlnná trouba. Tentokrát jsem vzorek ozařovala pulzně až do bodu varu. Pulzně znamená ozáření po dobu 2 sekund a poté pauza 5 sekund, při které jsem vzorek promíchala. Fáze ozáření a pauzy se střídaly po dobu 2 minut.

### C. Použití ultrazvuku

Jako poslední obměnu jsem u vzorku VZ 3 použila působení ultrazvuku. Po přidání redukčního činidla jsem vzorek promíchala a vystavila působení ultrazvuku po dobu 2 minut.

Po proměření prvních vzorků na zetasizeru jsem zjistila, že se velikostní distribuce částic za jednotlivých podmínek výrazně neliší. Při přípravě dalších vzorků jsem používala téměř výhradně působení mikrovln na vzorek až do bodu varu, jelikož byl tento způsob přípravy nejrychlejší.

Poté jsem zkoušela acerolu použít v různých koncentracích. U všech dále zmíněných vzorků došlo k charakteristickému zbarvení, typickému pro vznik nanočástic, opět ihned po nástřiku roztoku aceroly. Pro přípravu jednotlivých koncentrací jsem použila již připravený 1,8 % roztok aceroly, který jsem naředila vodou v předem vypočítaném poměru.

Použité koncentrace aceroly: VZ 4 – 1,26 % roztok aceroly

VZ 5 – 0,63 % roztok aceroly

VZ 6 – 0,18 % roztok aceroly

### **3.8.2 Redukce extrakty některých flavonoidních drog**

Připravila jsem 4 vzorky (tab.4) podle obecného návodu, ale místo maltózy jsem použila extrakty flavonoidních drog. Pro VZ 7 a VZ 8 jsem použila epigalokatechin galát (EGCG) získaný jako 95 % izolát z *Camellia chinensis*. Na přípravu 1,8 % roztoku jsem navázila 0,54 g EGCG a doplnila vodou do 30 g. Pro VZ 8 jsem odebrala 1 g tohoto roztoku a zředila desetkrát, získala jsem roztok o koncentraci 0,18 %.

Pro VZ 9 jsem použila extrakt ze semen révy vinné (*Vitis vinifera*), tzv. grape seed extract. Na VZ 10 jsem použila prášek z plodů tropické palmy Açaí berry. Roztoky redukčních látek jsem připravila obdobně jako v předchozím případě, ale pro přípravu disperzí jsem použila pouze roztoky o koncentraci 0,18 %.

Všechny disperze jsem po krátkém promíchání vložila do mikrovlnné trouby a nechala zahřívát do varu. K charakteristickému zbarvení došlo do 30 sekund.

### **3.8.3 Redukce amarantovým škrobem v kombinaci s maltózou**

Škroby nejsou za studena rozpustné ve vodě, tvoří suspenze. Částečně se rozpouští v teplé vodě, kdy se do roztoku dostane amylóza, která je schopná redukce. Pro přípravu vzorků jsem proto opět použila MV záření a zahřívala vzorek k varu. Protože by se špatně zajišťovala homogenita suspenze, připravovala jsem si redukční činidlo pro každý vzorek zvlášť. Amarantový škrob byl v soustavě vždy v 0,5 % koncentraci a maltóza v koncentraci 1,8 %, 0,5 % a 0,18 %.(tab.5)

#### Postup přípravy redukčního činidla:

Navážila jsem si vždy 0,05 g amarantového škrobu (AŠ) a příslušné množství maltózy podle požadované koncentrace. V případě 1,8 % (VZ 11) to bylo 0,18 g maltózy, v případě 0,5 % (VZ 12) to bylo 0,05 g a v nakonec v případě 0,18 % (VZ 13) jsem navážila 0,018 g maltózy. Obě látky jsem smíchala a doplnila vodou do 10 g. Pro nástřik jsem použila 5 ml redukčního činidla podle obecného postupu. Pro srovnání jsem si připravila 0,5 % suspenzi amarantového škrobu bez maltózy, kterou jsem použila k přípravě disperze VZ 14.

Po přidání suspenze redukčního činidla jsem vzorek zamíchala skleněnou tyčinkou a přivedla v MV k varu. K charakteristickému zbarvení došlo za 30 – 40 sekund od přidání redukčního činidla. V případě samotného AŠ byla tato doba delší.

Před změřením velikosti nanočástic na zetasizeru bylo nutné změřit viskozitu hydrolyzovaného amarantového škrobu, protože viskozita je u tohoto měření důležitým parametrem. Měření a výpočet viskozity viz níže (kap. 3.9, 4.2 a tab.2).

### **3.8.4 Redukce amarantovým škrobem v kombinaci s glukózou nebo acerolou**

Pro přípravu vzorků VZ 15 až VZ 35 (tab.7 a tab.8) sem opět použila kombinaci dvou redukce schopných látek. Byl to opět amarantový škrob v různých koncentracích, který jsem kombinovala s glukózou nebo acerolou.

#### Postup přípravy redukčního činidla:

Připravila jsem si základní roztoky glukózy a aceroly o koncentracích 0,18 % a 1,8% v množství 50 g. 1,8 % roztok jsem připravila rozpuštěním 0,9 g glukózy nebo aceroly ve vodě a doplněním do 50 g. 0,18 % roztok jsem připravila smícháním 5 g 1,8 % roztoku a 45 g vody. Amarantový škrob jsem navažovala pro každý vzorek zvlášť podle předem vypočítaného množství, aby byla zachována homogenita suspenze. Navážený amarantový škrob jsem doplnila příslušným roztokem do 5 g a použila pro nástřík.

Po nástříku redukčního činidla jsem vzorek zamíchala skleněnou tyčinkou a přivedla v MV k varu. K charakteristickému zbarvení došlo za 30 – 40 sekund od přidání redukčního činidla obsahujícího jako jednu ze složek glukózu. Po přidání redukčního činidla obsahujícího acerolu došlo ke zbarvení ihned.

### **3.8.5 Škroby jako redukční činidla samostatně a v kombinaci s acerolou**

K redukci vzorků VZ 36, VZ 37 a VZ 38 jsem použila suspenze různých typů škrobů vždy v koncentraci 0,5 %. Pro další 3 vzorky jsem použila kombinaci těchto škrobů o koncentraci 0,5 % s acerolou o koncentraci 0,18 %. Celková koncentrace redukčního činidla byla 0,68 %. Po nástříku redukční látky jsem vzorky vystavila MV záření do varu.(tab.6)

#### Postup přípravy redukčního činidla:

Navážila jsem si vždy 0,025 g příslušného škrobu a v případě vzorků VZ 36 až VZ 38 dovážila vodou do 5 g. Tuto suspenzi jsem nastříkla jako redukční činidlo, podle obecného postupu. Jako obměnu jsem použila kombinaci škrobu s acerolou. Pro další 3 vzorky jsem si připravila 20 g 0,18 % roztoku rozpuštěním 0,036 g aceroly ve vodě. Po navážení 0,025 g

příslušného škrobu jsem ho dovážila 0,18 % roztokem aceroly do 5 g, které jsem použila pro nástřik.

Složení redukčního činidla a doba za jakou vzniklo charakteristické zbarvení:

VZ 36 – bramborový škrob 0,5 %	1,5 min
VZ 37 – rýžový škrob 0,5 %	3 min
VZ 38 – kukuřičný škrob 0,5 %	1 min
VZ 39 – bramborový škrob 0,5 % + acerola 0,18 %	10 s
VZ 40 – rýžový škrob 0,5 % + acerola 0,18 %	10 s
VZ 41 – kukuřičný škrob 0,5 % + acerola 0,18 %	10 s

### **3.8.6 Acerola v koncentraci 0,05 % v kombinaci s amarantovým škrobem v různých koncentracích jako redukční činidlo**

Jelikož roztoky aceroly o nízkých koncentracích vykazovaly velmi dobré výsledky, pro přípravu vzorků VZ 42 až VZ 48 jsem acerolu použila ve velmi nízké koncentraci 0,05 %. Jako druhé redukce schopné činidlo jsem použila amarantový škrob v různých koncentracích.(tab.9)

Příprava redukčního činidla:

Navázila jsem 0,025 g aceroly a doplnila vodou do 50 g. Amarantový škrob jsem si navažovala podle předem vypočítaného množství pro každý vzorek zvlášť. Doplnila jsem ho vždy 0,05 % roztokem aceroly do 5 g, které jsem použila pro přípravu disperzí nanočástic stříbra. Na přípravu disperze VZ 48 jsem použila pouze 0,05 % roztok aceroly bez přidání amarantového škrobu.

Po nástřiku redukčního činidla jsem disperzi promíchala a vystavila MV záření až do bodu varu. Zbarvení charakteristické pro vznik nanočástic se objevilo později než u koncentrovanějších roztoků aceroly, v průměru za 10 – 20 sekund.



### **3.8.7 Hydrolyzovaný amarantový škrob a acerola jako redukční činidla a vliv teploty a MV záření na velikost nanočástic**

Před přípravou dalších disperzí jsem nejdříve hydrolyzovala suspenze amarantového škrobu. Navážila jsem si 0,025 g amarantového škrobu a dovážila vodou do 50 g. Vzniklou 0,05 % suspenzi jsem za občasného míchání přivedla v mikrovlnné troubě k varu, aby došlo k hydrolyze. Takto hydrolyzované redukční činidlo jsem označila A1.

Pro přípravu 0,5 % hydrolyzované suspenze jsem navážila 0,25 g amarantového škrobu a dále jsem pokračovala stejně jako při přípravě suspenze A1. Výsledné 0,5 % redukční činidlo jsem označila A2. Obě zbobtnalé suspenze A1 a A2 jsem nechala vychladit na teplotu místnosti (asi 22 °C).

#### A. hydrolyzovaný AŠ

Při přípravě vzorků VZ 49 a VZ 50 jsem postupovala podle obecného návodu. Po nástřiku 5 ml redukčního činidla A1 jsem disperzi promíchala. VZ 49 jsem pak nechala reagovat při teplotě místnosti (asi 22 °C) a VZ 50 jsem vystavila MV záření do bodu varu. Obdobně jsem pracovala v případě VZ 51 a VZ 52, pouze k nástřiku jsem použila redukční činidlo A2.

#### B. hydrolyzovaný AŠ a acerola současně

Pro vzorky VZ 53 až VZ 56 jsem použila kombinaci hydrolyzovaného amarantového škrobu a aceroly. Navážila jsem 0,018 g aceroly, doplnila suspenzí A1 do 10 g a použila jako redukční činidlo pro VZ 53 a VZ 54. Na přípravu disperzí VZ 55 a VZ 56 jsem místo suspenze A1 použila suspenzi A2. VZ 53 a VZ 55 jsem nechala reagovat asi při 22 °C. VZ 54 a VZ 56 jsem vystavila MV záření do bodu varu.

#### C. hydrolyzovaný AŠ a následné přidání aceroly

U disperzí VZ 57 až VZ 60 jsem jednotlivé redukce schopné látky přidávala postupně. Po nástřiku suspenze amarantového škrobu A1 nebo A2 jsem vzorek promíchala a teprve následně jsem přisypala 0,009 g aceroly a opět promíchala. VZ 57 a VZ 59 jsem nechala dále reagovat při teplotě místnosti a VZ 58 a VZ 60 v mikrovlnné troubě zahřívala do bodu varu.

### 3.9 Měření a výpočet viskozity hydrolyzovaných škrobů

Měření jsem prováděla na dvou typech viskozimetrů – rotačním a kapilárním.

#### 3.9.1 Měření na rotačním viskozimetru

Na rotačním viskozimetru jsem měřila viskozitu pro vzorky, které jako redukční činidlo obsahovaly amarantový škrob v koncentraci 1,8 %, 0,5 % a 0,18 %. Původní celková hmotnost vzorku podle obecného postupu byla 25 g. Pro měření viskozity jsem potřebovala alespoň 200g. Přepočítala jsem si tedy podle obecného postupu hmotnost jednotlivých složek disperze na celkovou hmotnost 200g a připravila jsem si vzorky, které jsem označila jako R1 (AŠ 1,8 %), R2 (AŠ 0,5 %) a R3 (AŠ 0,18 %).

Po nástřiku redukčního činidla jsem vzorek zahřívala v MV do bodu varu. Po vychladnutí jsem vzniklou disperzi nanočástic proměřila na rotačním viskozimetru. Použila jsem vřetenno č. 1 a měřila jsem při 100 otáčkách za minutu.

Odečetla jsem následující hodnoty:

R1 – 11 mPa·s

R2 – 9,6 mPa·s

R3 – 9,5 mPa·s

Jelikož rotační viskozimetr Brookfield má rozsah měření až od 15 mPa·s, naměřené hodnoty jsem nepovažovala za přesné a k určení viskozity jsem použila kapilární viskozimetr.

### 3.9.2 Měření na kapilárním viskozimetru

Měření jsem prováděla na kapilárním viskozimetru typu Ubbelohde o konstantě  $A = 0,010219 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-2}$ . Měřila jsem dobu průchodu ( $t$ ) kapaliny mezi 2 ryskami. Viskozitu jsem vypočítala ze vztahu:

$$V = A \cdot t \quad (\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1})$$

Viskozitu jsem měřila u amarantového škrobu o koncentracích 0,18 %, 0,5 %, 1,0 % a 1,8 % a dále u 0,5 % suspenze bramborového, rýžového a kukuřičného škrobu. Naměřené výsledky jsou v tab.2 (kap. 4.2) Tyto naměřené hodnoty jsem poté zadávala do programu při přeměrování velikosti nanočástic na zetasizeru.

## 4 Tabulky a grafy

### 4.1 Celkový přehled disperzí nanočástic stříbra

Tab. 1 Celkový přehled disperzí

VZ	složení a koncentrace redukčního činidla	podmínky přípravy disperze
1	acerola 1,8%	MV do varu
2	acerola 1,8%	MV pulzně
3	acerola 1,8%	ultrazvuk
4	acecola 1,26%	MV do varu
5	acerola 0,63%	MV do varu
6	acerola 0,18%	MV do varu
7	epigalokatechin galát 1,8%	MV do varu
8	epigalokatechin galát 0,18%	MV do varu
9	extr. ze semen révy vinné 0,18 %	MV do varu
10	prášek z plodů Açaí berry 0,18 %	MV do varu
11	AŠ 0,5% + maltóza 1,8%	MV do varu
12	AŠ 0,5% + maltóza 0,5%	MV do varu
13	AŠ 0,5% + maltóza 0,18%	MV do varu
14	AŠ 0,5%	MV do varu
15	AŠ 0,1 % + glukóza 0,18%	MV do varu
16	AŠ 0,1 % + acerola 0,18%	MV do varu
17	AŠ 0,1 % + glukóza 1,8%	MV do varu
18	opakování VZ 17	MV do varu
19	AŠ 0,1% + acerola 1,8%	MV do varu
20	opakování VZ 19	MV do varu
21	AŠ 0,5% + glukóza 0,18%	MV do varu
22	opakování VZ 21	MV do varu
23	AŠ 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu
24	opakování VZ 23	MV do varu
25	AŠ 0,5% + glukóza 1,8%	MV do varu
26	AŠ 0,5% + acerola 1,8%	MV do varu
27	opakování VZ 26	MV do varu
28	AŠ 1,0% + glukóza 0,18%	MV do varu
29	opakování VZ 28	MV do varu
30	AŠ 1,0% + acerola 0,18%	MV do varu
31	opakování VZ 30	MV do varu
32	AŠ 1,0% + glukóza 1,8%	MV do varu
33	opakování VZ 32	MV do varu
34	AŠ 1,0% + acerola 1,8%	MV do varu
35	opakování VZ 34	MV do varu
36	bramborový škrob 0,5%	MV do varu
37	rýžový škrob 0,5%	MV do varu
38	kukuřičný škob 0,5%	MV do varu

39	bramborový š. 0,5%+ acerola 0,18%	MV do varu
40	rýžový š. 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu
41	kukuřičný š. 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu
42	acerola 0,05% + AŠ 2,0%	MV do varu
43	acerola 0,05% + AŠ 0,2%	MV do varu
44	acerola 0,05% + AŠ 0,05%	MV do varu
45	opakování VZ 44	MV do varu
46	acerola 0,05% + AŠ 0,025%	MV do varu
47	acerola 0,05% + AŠ 0,010%	MV do varu
48	acerola 0,05%	MV do varu
49	hydrolyzovaný AŠ 0,05%	promícháno, t=22°C
50	hydrolyzovaný AŠ 0,05%	MV do varu
51	hydrolyzovaný AŠ 0,5%	promícháno, t=22°C
52	hydrolyzovaný AŠ 0,5%	MV do varu
53	hydrolyzovaný AŠ 0,05% + acerola 0,18%	promícháno, t=22°C
54	hydrolyzovaný AŠ 0,05% + acerola 0,18%	MV do varu
55	hydrolyzovaný AŠ 0,5% + acerola 0,18%	promícháno, t=22°C
56	hydrolyzovaný AŠ 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu
57	hydrolyzovaný AŠ 0,05% + acerola 0,18%	promícháno, t=22°C,acerola nakonec
58	hydrolyzovaný AŠ 0,05% + acerola 0,18%	MV do varu,acerola nakonec
59	hydrolyzovaný AŠ 0,5% + acerola 0,18%	promícháno, t=22°C,acerola nakonec
60	hydrolyzovaný AŠ 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu,acerola nakonec

## 4.2 Měření viskozity

Tab. 2 Viskozita měřená na kapilárním viskozimetru

Měřený vzorek	t <sub>1</sub> (s)	t <sub>2</sub> (s)	t <sub>3</sub> (s)	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>	V(mm <sup>2</sup> ·s <sup>-1</sup> )
AŠ 0,18 %	99,23	97,97	98,45	1,014	1,001	1,006	1,007
AŠ 0,5 %	113,57	114,77	115,36	1,161	1,173	1,179	1,171
AŠ 1,0 %	156,84	159,43	161,30	1,603	1,629	1,648	1,627
AŠ 1,8 %	345,06	336,81	336,98	3,526	3,442	3,444	3,471
Bramborový škrob 0,5 %	173,91	173,33	175,57	1,777	1,771	1,794	1,781
Rýžový škrob 0,5 %	125,60	126,38	127,52	1,284	1,291	1,303	1,293
Kukuřičný škrob 0,5 %	116,99	118,72	120,02	1,196	1,213	1,226	1,212

## 4.3 Charakteristiky jednotlivých disperzí

Následující tabulky a grafy charakterizují jednotlivé disperze nanočástic vytvořené redukcí komplexu stříbra různými redukčními látkami.

Doba vývoje v tabulkách označuje dobu trvání vývoje disperze do konstantního zabarvení, které je charakteristické pro vznik nanočástic.

**Tab. 3 Nanočástice stříbra připravené redukcí roztokem sušené šťávy z *Paulinia cupana* (aceroly) za různých podmínek a v různých koncentracích (kap. 3.8.1)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
1	acerola 1,8%	MV do varu	ihned	61,8	0,219	nm	64,5	5,1	—	4,3	39,0	—
						%	89,7	10,3	—	99,0	1,0	—
2	acerola 1,8%	MV pulzně	ihned	36,89	0,402	nm	49,3	4,1	—	3,7	38,3	—
						%	89,7	10,3	—	99,3	0,7	—
3	acerola 1,8%	ultrazvuk	ihned	130,2	0,237	nm	51,7	3,8	—	3,4	33,6	—
						%	91,0	9,0	—	99,2	0,8	—
4	acerola 1,26%	MV do varu	ihned	34,76	0,456	nm	63,2	7,4	—	6,0	—	—
						%	90,4	9,6	—	100,0	—	—
5	acerola 0,63%	MV do varu	ihned	44,65	0,57	nm	97,7	4,7	—	4,0	32,1	—
						%	91,0	9,0	—	98,9	1,1	—
6	acerola 0,18%	MV do varu	ihned	50,23	0,268	nm	71,1	—	—	15,9	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—

**Tab. 4 Nanočástice stříbra připravené redukcí pomocí extraktů flavonoidních drog (kap.3.8.2)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
7	epigalokatechin galát 1,8%	MV do varu	ihned	104,9	0,749	nm	87,8	1228,0	—	47,9	1503,0	—
						%	55,0	45,0	—	70,9	29,1	—
8	epigalokatechin galát 0,18%	MV do varu	ihned	46,58	0,447	nm	112,7	4013,0	—	21,9	438,9	2228,0
						%	98,0	2,0	—	99,3	0,6	0,1
9	extr. ze semen révy vinné 0,18 %	MV do varu	30s	64,59	0,299	nm	73,9	11,8	—	10,7	56,6	—
						%	94,6	5,4	—	89,2	10,8	—
10	prášek z plodů Açaí berry 0,18 %	MV do varu	20s	40,27	0,489	nm	89,5	15,4	4933,0	12,0	62,3	4931,0
						%	73,1	25,7	1,2	97,8	2,2	0,0

**Tab. 5 Redukce komplexu stříbra pomocí amarantového škrobu v koncentraci 0,5 % a maltózy (kap. 3.8.3)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
11	AŠ 0,5% + maltóza 1,8%	MV do varu	30s	49	0,467	nm	61,4	3030,0	—	31,3	1855,0	4297,0
						%	89,0	11,0	—	97,4	1,9	0,7
12	AŠ 0,5% + maltóza 0,5%	MV do varu	40s	42,7	0,36	nm	59,0	5003,0	—	27,2	4996,0	—
						%	97,0	3,0	—	99,8	0,2	—
13	AŠ 0,5% + maltóza 0,18%	MV do varu	40s	47,03	0,422	nm	47,4	225,5	4883,0	22,3	4884,0	—
						%	72,6	24,1	3,3	99,8	0,2	—
14	AŠ 0,5%	MV do varu	1min	505,4	0,677	nm	337,9	35,1	—	33,8	345,3	—
						%	84,4	15,6	—	81,7	18,3	—

**Tab. 6 Škroby jako redukční činidla samostatně a v kombinaci s acerolou (kap. 3.8.5)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
36	bramborový škrob 0,5%	MV do varu	1,5min	22,72	0,313	nm	33,6	2,4	4013,0	2,1	16,4	—
						%	93,3	5,1	1,6	97,7	2,3	—
37	rýžový škrob 0,5%	MV do varu	3min	348,1	0,563	nm	404,8	25,5	—	24,0	417,8	—
						%	79,3	20,7	—	93,4	6,6	—
38	kukuřičný škob 0,5%	MV do varu	1min	35,96	0,46	nm	51,7	3,5	5214,0	2,9	23,7	—
						%	92,7	5,3	2,0	98,1	1,9	—
39	bramborový škrob 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu	10s	32,72	0,231	nm	43,4	—	—	25,7	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
40	rýžový škrob 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu	10s	43,67	0,26	nm	62,2	9,8	—	8,3	33,6	—
						%	94,2	5,8	—	84,8	15,2	—
41	kukuřičný škrob 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu	10s	54,41	0,251	nm	74,7	12,1	—	10,6	44,8	—
						%	94,9	5,1	—	83,5	16,5	—



**Tab. 7 Redukce komplexu stříbra amarantovým škrobem v kombinaci s glukózou nebo acerolou v různých koncentracích (kap. 3.8.4)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
15	AŠ 0,1% + glukóza 0,18%	MV do varu	40s	72,5	0,632	nm	55,5	517,4	4616,0	39,2	641,6	4628,0
						%	61,2	33,2	5,6	91,7	6,8	1,5
16	AŠ 0,1% + acerola 0,18%	MV do varu	5s	56,72	0,242	nm	77,5	11,7	—	10,7	46,7	—
						%	95,6	4,4	—	82,7	17,3	—
17	AŠ 0,1% + glukóza 1,8%	MV do varu	30s	63,72	0,318	nm	76,9	4589,0	—	50,8	4601,0	—
						%	95,0	5,0	—	98,0	2,0	—
18	opakování VZ 17	MV do varu	30s	69,32	0,266	nm	87,2	17,3	4782,0	15,8	56,3	4791,0
						%	91,9	5,4	2,7	75,5	24,2	0,3
19	AŠ 0,1% + acerola 1,8%	MV do varu	ihned	59,08	0,451	nm	54,1	536,4	5,4	4,5	37,6	—
						%	74,1	17,4	8,5	98,7	1,3	—
20	opakování VZ 19	MV do varu	ihned	71,67	0,662	nm	59,3	569,1	5120,0	41,9	678,9	5107,0
						%	63,9	33,4	2,7	90,5	8,7	0,8
21	AŠ 0,5% + glukóza 0,18%	MV do varu	40s	50,81	0,362	nm	65,5	5372,0	—	20,7	5362,0	—
						%	97,6	2,4	—	99,9	0,1	—
22	opakování VZ 21	MV do varu	40s	65,01	0,609	nm	60,1	354,5	3060,0	2,7	21,0	—
						%	63,0	20,8	15,2	92,0	8,0	—
23	AŠ 0,5% + acerola 0,18%	MV do varu	ihned	60,49	0,259	nm	86,6	—	—	37,1	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
24	opakování VZ 23	MV do varu	5s	57,75	0,268	nm	80,8	—	—	22,0	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
25	AŠ 0,5% + glukóza 1,8%	MV do varu	30s	59	0,345	nm	77,6	4034,0	12,9	11,5	43,3	2232,0
						%	89,7	5,2	5,1	80,3	19,6	0,1
26	AŠ 0,5% + acerola 1,8%	MV do varu	ihned	58,09	0,206	nm	70,6	—	—	45,7	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
27	opakování VZ 26	MV do varu	ihned	69,84	0,448	nm	56,6	442,1	5126,0	39,1	502,2	5112,0
						%	73,8	21,2	5,0	95,8	3,0	1,2

**Tab. 8 Pokračování tab. 7**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
28	AŠ 1,0% + glukóza 0,18%	MV do varu	45s	310,1	0,807	nm	4142,0	241,1	46,0	36,7	253,4	2114,0
						%	41,8	35,1	23,1	86,9	5,4	7,7
29	opakování VZ 28	MV do varu	35s	348,5	0,742	nm	97,5	473,5	22,6	20,4	83,3	503,0
						%	48,9	37,0	14,1	90,5	6,2	3,3
30	AŠ 1,0% + acerola 0,18%	MV do varu	ihned	70,88	0,28	nm	101,4	—	—	27,4	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
31	opakování VZ 30	MV do varu	5s	74,97	0,421	nm	106,0	15,1	4397,0	12,9	62,3	4373,0
						%	86,7	7,5	5,8	90,0	9,6	0,4
32	AŠ 1,0% + glukóza 1,8%	MV do varu	25s	70,64	0,557	nm	68,9	589,4	4533,0	39,5	741,4	4531,0
						%	73,7	16,8	7,5	82,8	16,7	0,5
33	opakování VZ 32	MV do varu	30s	104	0,784	nm	764,0	54,1	4795,0	40,3	974,1	4803,0
						%	47,5	46,8	5,7	78,8	19,4	1,8
34	AŠ 1,0% + acerola 1,8%	MV do varu	ihned	79,66	0,261	nm	83,7	4744,0	—	61,7	4754,0	—
						%	94,9	5,1	—	97,0	3,0	—
35	opakování VZ 34	MV do varu	ihned	88,9	0,314	nm	99,1	4315,0	—	51,3	4238,0	—
						%	92,8	7,2	—	96,5	3,5	—

**Tab. 9 Acerola v koncentraci 0,05 % a amarantový škrob v různých koncentracích použité k redukci stříbrného komplexu (kap. 3.8.6)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
42	acerola 0,05% + AŠ 2,0 %	MV do varu	20s	106,6	0,383	nm	127,5	30,3	5560,0	4,0	19,0	—
						%	62,5	35,5	2,0	85,2	14,8	—
43	acerola 0,05% + AŠ 0,2%	MV do varu	10s	47,06	0,385	nm	65,3	4076,0	—	31,6	—	—
						%	95,2	4,8	—	100,0	—	—
44	acerola 0,05% + AŠ 0,05%	MV do varu	15s	61,67	0,309	nm	97,7	—	—	21,9	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
45	opakování VZ 44	MV do varu	20s	52,93	0,279	nm	75,2	—	—	20,2	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
46	acerola 0,05% + AŠ 0,025%	MV do varu	20s	80,93	0,417	nm	125,5	4771,0	—	30,3	4780,0	—
						%	98,4	1,6	—	99,7	0,3	—
47	acerola 0,05% + AŠ 0,010%	MV do varu	20s	49,91	0,338	nm	66,6	5170,0	—	19,0	5155,0	—
						%	98,8	1,2	—	99,9	0,1	—
48	acerola 0,05%	MV do varu	15s	52,32	0,374	nm	74,5	—	—	22,4	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—

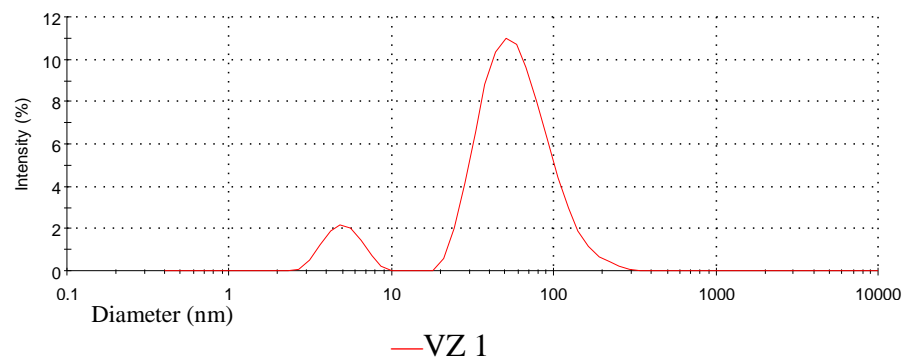
**Tab. 10 Předem hydrolyzovaný amarantový škrob a acerola jako redukční činidla a vliv teploty a MV záření na velikost nanočástic (kap. 3.8.7)**

VZ	Složení a koncentrace redukčního činidla	Podmínky přípravy disperze	Doba vývoje	Z-Ave	Pdl		intensity			volume		
							P1	P2	P3	P1	P2	P3
49	AŠ 0,05% hydrolyzovaný	promícháno, t=22°C	—	474,3	0,08	nm	515,5	—	—	574,0	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
50	AŠ 0,05% hydrolyzovaný	MV do varu	3min	279,8	0,451	nm	364,8	34,1	—	29,7	402,7	—
						%	93,6	6,4	—	66,9	33,1	—
51	AŠ 0,5% hydrolyzovaný	promícháno, t=22°C	—	427,2	0,203	nm	451,3	5263,0	—	513,0	5248,0	—
						%	98,5	1,5	—	97,7	2,3	—
52	AŠ 0,5% hydrolyzovaný	MV do varu	10min	340,9	0,243	nm	356,3	5079,0	—	406,8	5068,0	—
						%	96,7	3,3	—	93,5	6,5	—
53	AŠ 0,05% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	promícháno, t=22°C	10s	63,37	0,273	nm	92,5	11,5	—	9,9	48,3	—
						%	96,0	4,0	—	85,6	14,4	—
54	AŠ 0,05% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	MV do varu	10s	47,07	0,296	nm	64,8	4134,0	—	36,4	3927,0	—
						%	97,5	2,5	—	99,5	0,5	—
55	AŠ 0,5% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	promícháno, t=22°C	30s	74,32	0,237	nm	100,0	—	—	57,3	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
56	AŠ 0,5% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	MV do varu	20s	58,17	0,248	nm	80,2	13,5	—	11,4	48,6	—
						%	94,6	5,4	—	84,0	16,0	—
57	AŠ 0,05% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	t=22°C, promícháno, acerola nakonec	15s	45,86	0,293	nm	67,2	4032,0	—	32,8	—	—
						%	98,9	1,1	—	100,0	—	—
58	AŠ 0,05% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	MV do varu, acerola nakonec	15s	62,86	0,278	nm	88,6	—	—	36,9	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
59	AŠ 0,5% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	t=22°C, promícháno, acerola nakonec	35s	76,65	0,184	nm	94,3	—	—	66,4	—	—
						%	100,0	—	—	100,0	—	—
60	AŠ 0,5% hydrolyzovaný + acerola 0,18%	MV do varu, acerola nakonec	25s	62,62	0,272	nm	89,3	13,4	—	12,2	48,0	—
						%	95,8	4,2	—	80,3	19,7	—

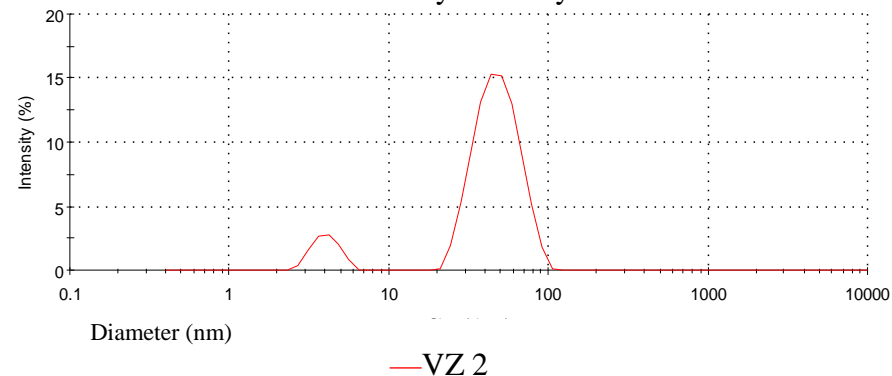
**VZ 1 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí roztokem aceroly 1,8 %, v MV do varu**

**VZ 2 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí roztokem aceroly 1,8 %, v MV pulzně**

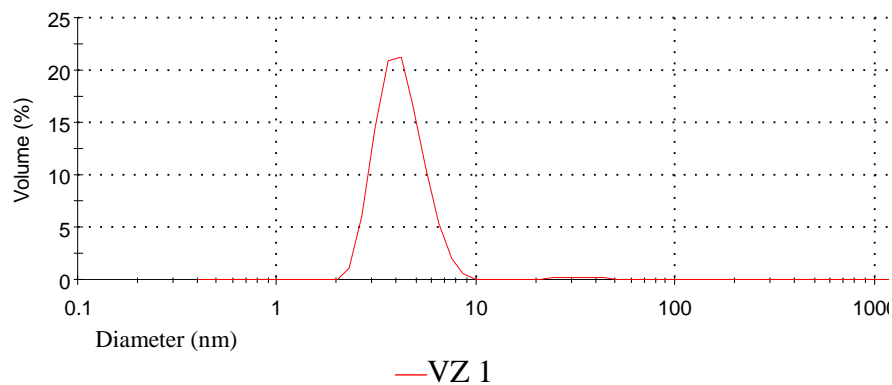
Obr. 6: VZ 1 - Size Distribution by Intensity



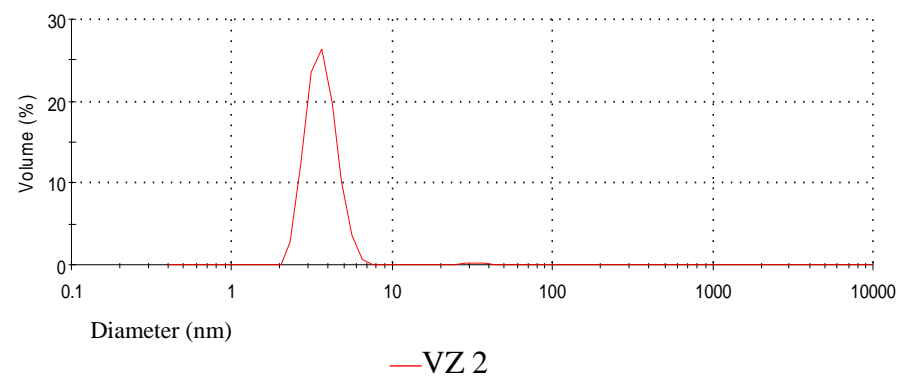
Obr. 8: VZ 2 – Size Distribution by Intensity



Obr. 7: VZ 1 - Size Distribution by Volume



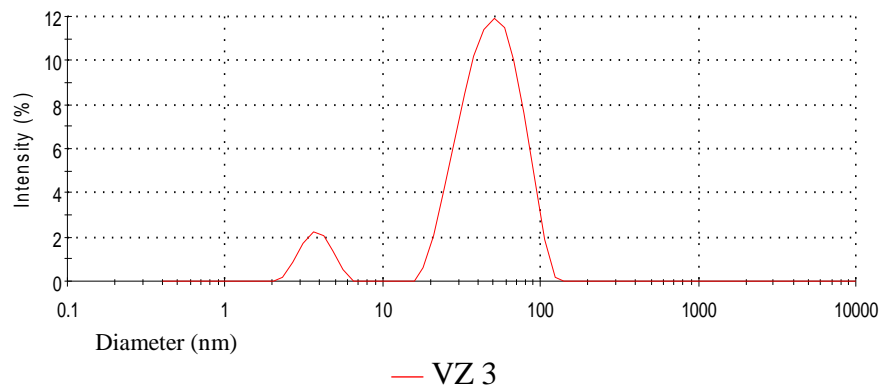
Obr. 9: VZ 2 - Size Distribution by Volume



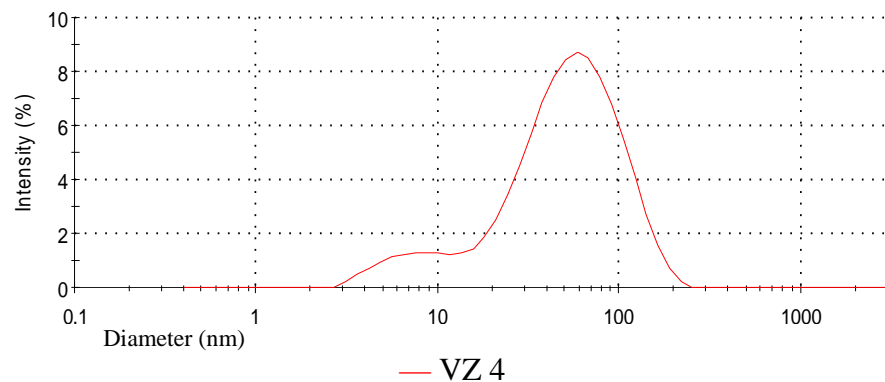
**VZ 3 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí roztokem aceroly 1,8%, za působení ultrazvuku**

**VZ 4 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 1,26 % roztokem aceroly, v MV do varu**

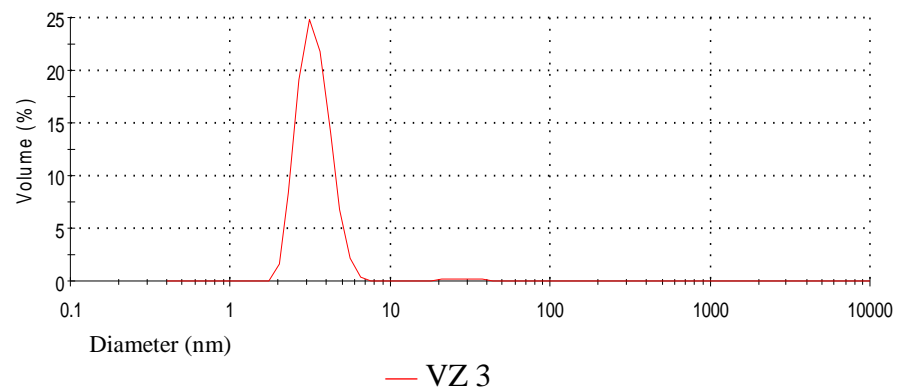
Obr. 10: VZ 3 - Size Distribution by Intensity



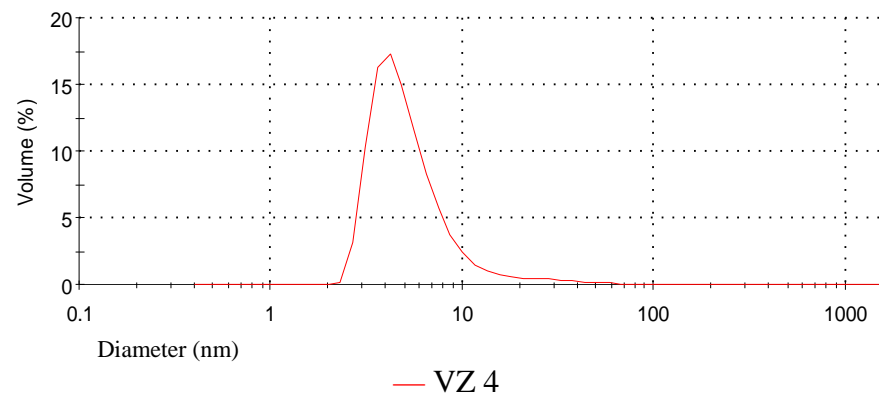
Obr. 12: VZ 4 - Size Distribution by Intensity



Obr. 11: VZ 3 - Size Distribution by Volume

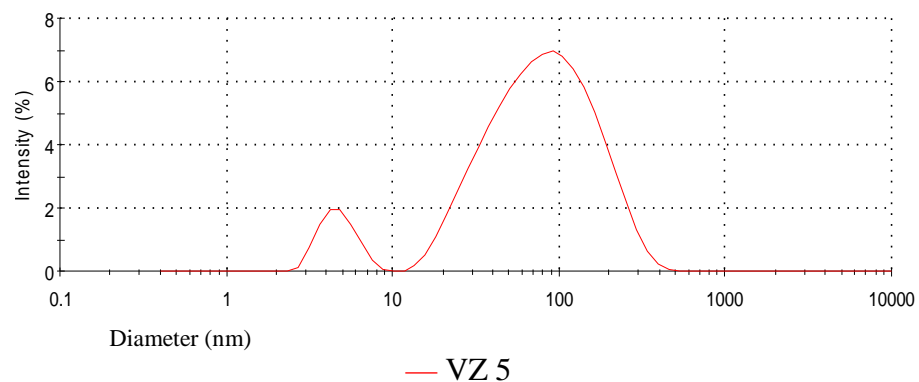


Obr. 13: VZ 4 - Size Distribution by Volume



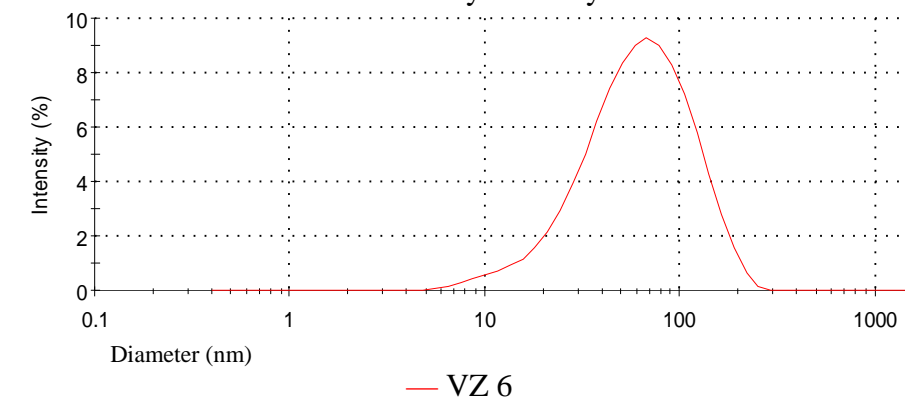
**VZ 5 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,63% roztokem aceroly, v MV do varu**

Obr. 14: VZ 5 - Size Distribution by Intensity

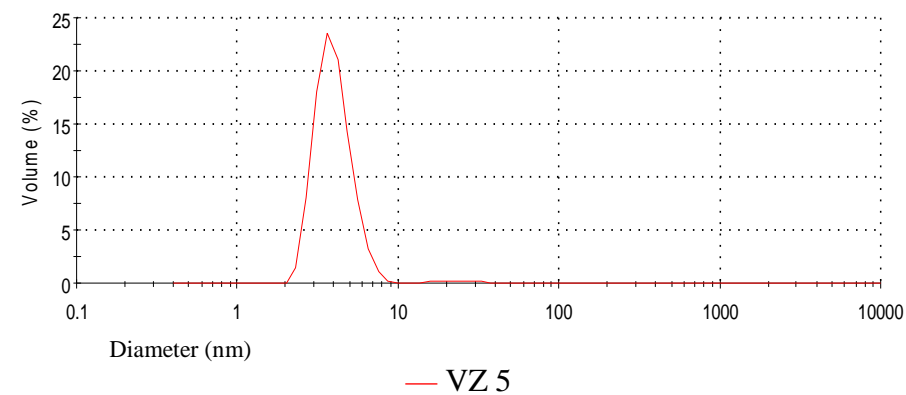


**VZ 6 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,18% roztokem aceroly, v MV do varu**

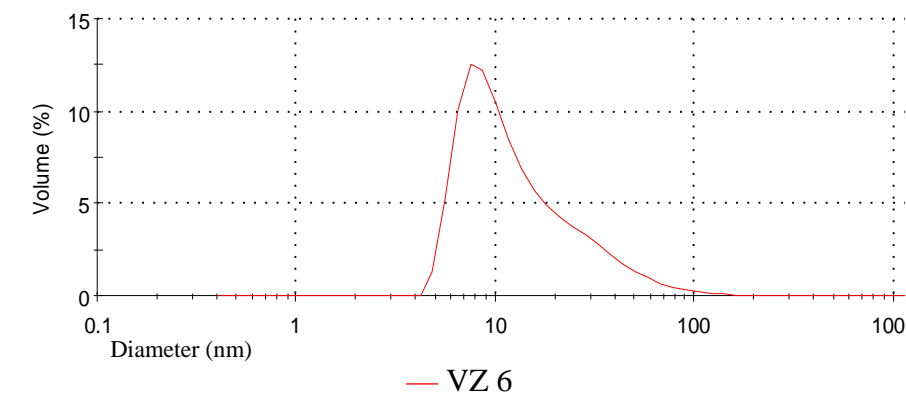
Obr. 16: VZ 6 - Size Distribution by Intensity



Obr. 15: VZ 5 - Size Distribution by Volume

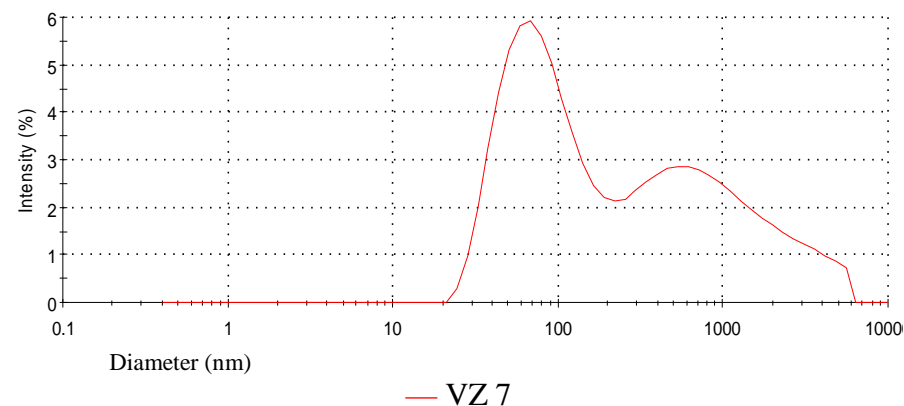


Obr. 17: VZ 6 - Size Distribution by Volume



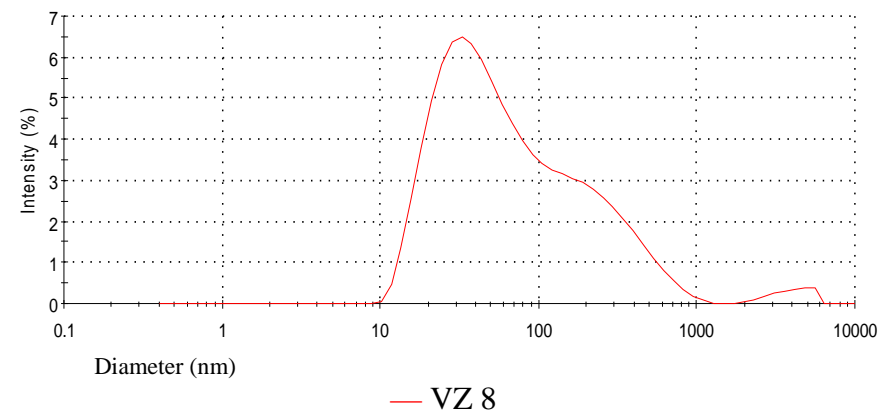
**VZ 7 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 1,8 % suspenzí EGCG , v MV do varu**

Obr. 18: VZ 7 - Size Distribution by Intensity

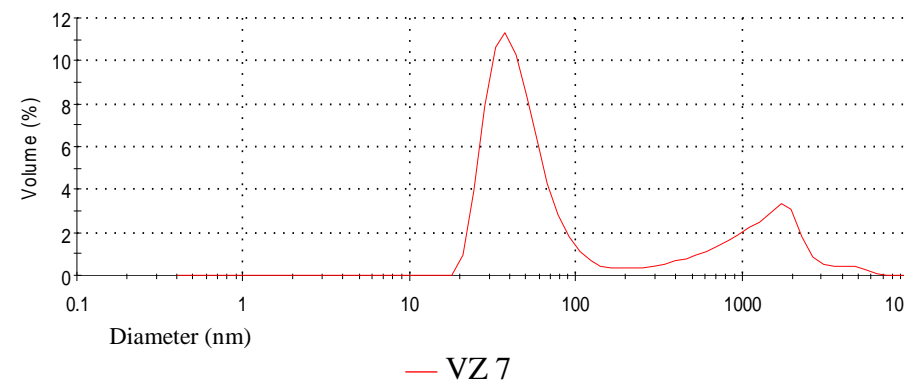


**VZ 8 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,18 % suspenzí EGCG, v MV do varu**

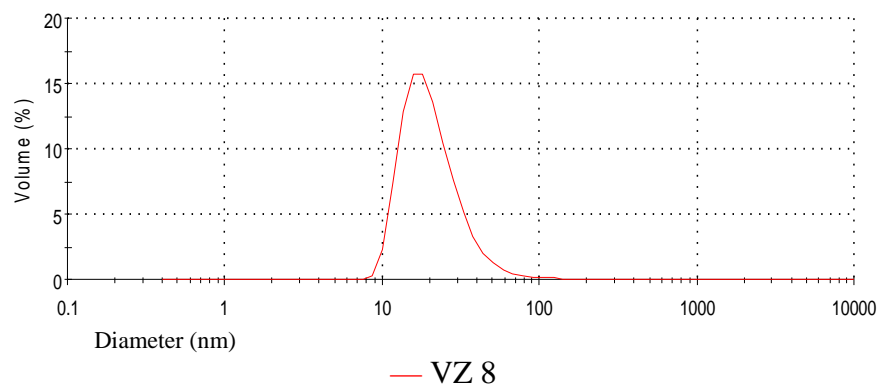
Obr. 20: VZ 8 - Size Distribution by Intensity



Obr. 19: VZ 7 - Size Distribution by Volume



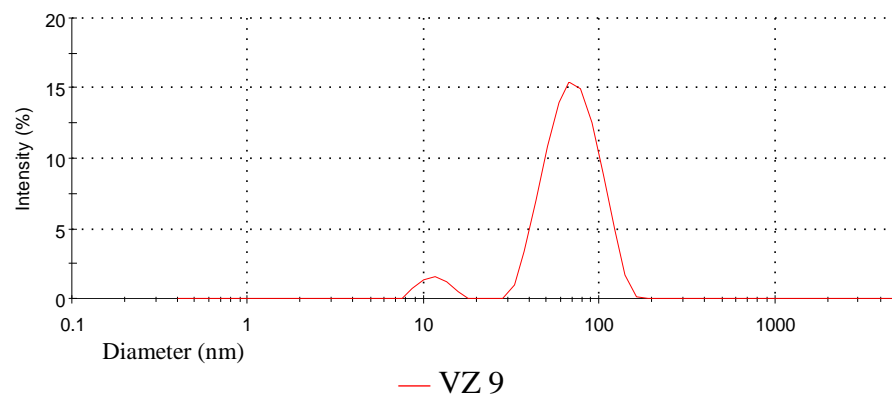
Obr. 21: VZ 8 - Size Distribution by Volume





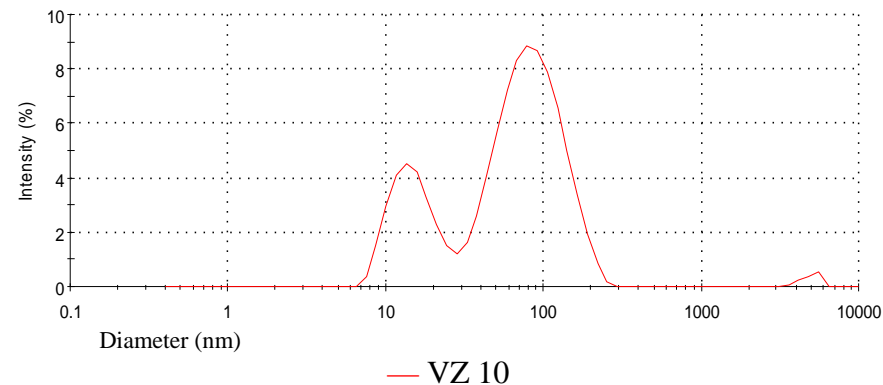
**VZ 9 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,18 % suspenzí extraktu semen Vitis vinifera (grape seed extract) , v MV do varu**

Obr. 22: VZ 9 - Size Distribution by Intensity

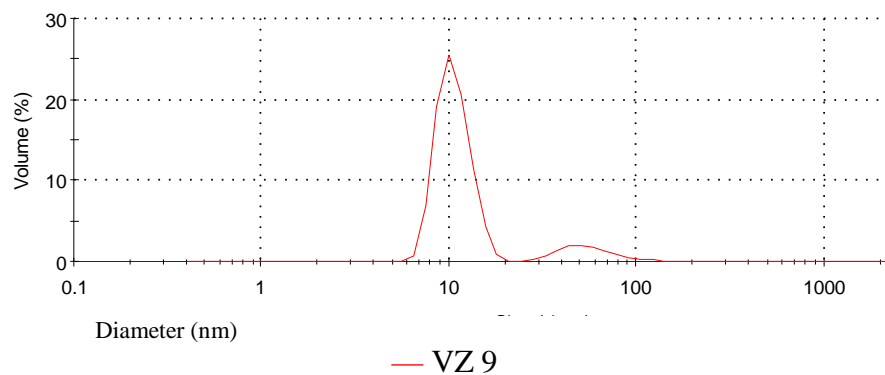


**VZ 10 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,18 % suspenzí prášku z plodů Açaí berry , v MV do varu**

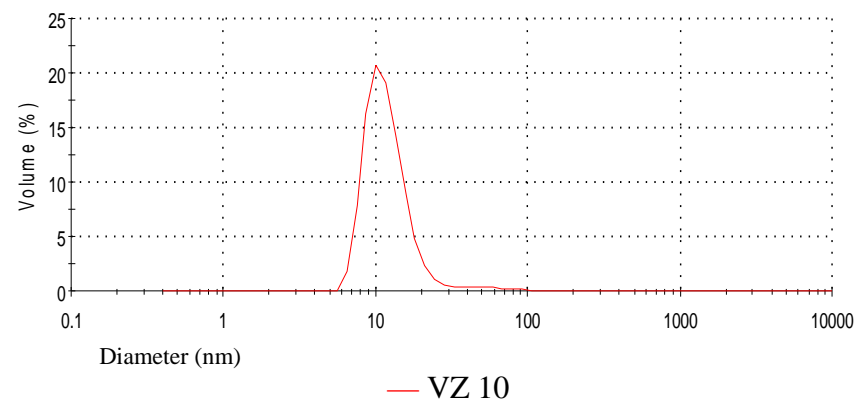
Obr. 24: VZ 10 - Size Distribution by Intensity



Obr. 23: VZ 9 - Size Distribution by Volume

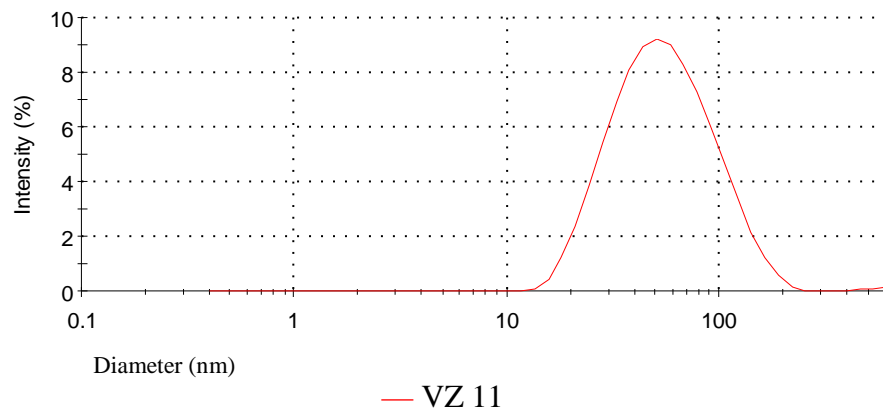


Obr. 25: VZ 10 - Size Distribution by Volume



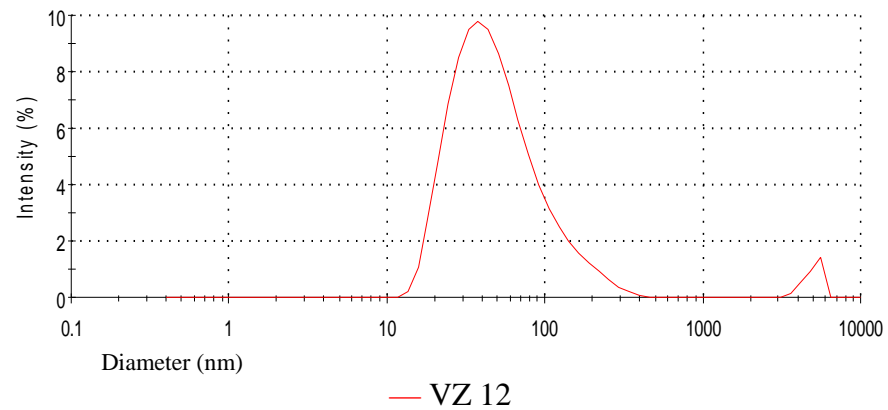
**VZ 11 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí AŠ (0,5 %) a maltózou (1,8 %), v MV do varu**

Obr. 26: VZ 11 - Size Distribution by Intensity

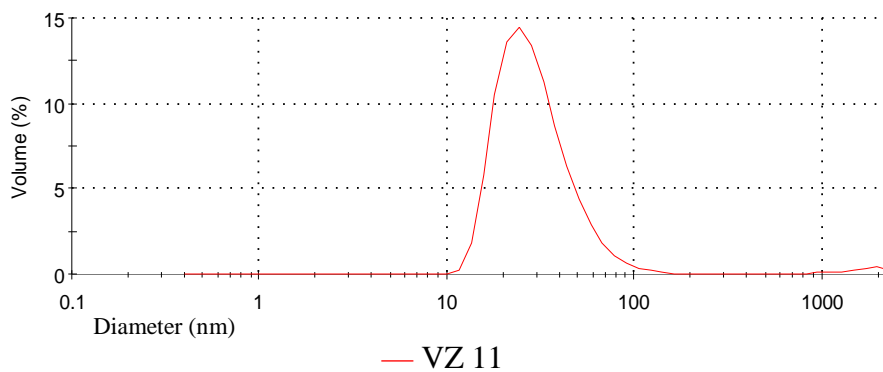


**VZ 12 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí AŠ (0,5 %) a maltózou (0,5 %), v MV do varu**

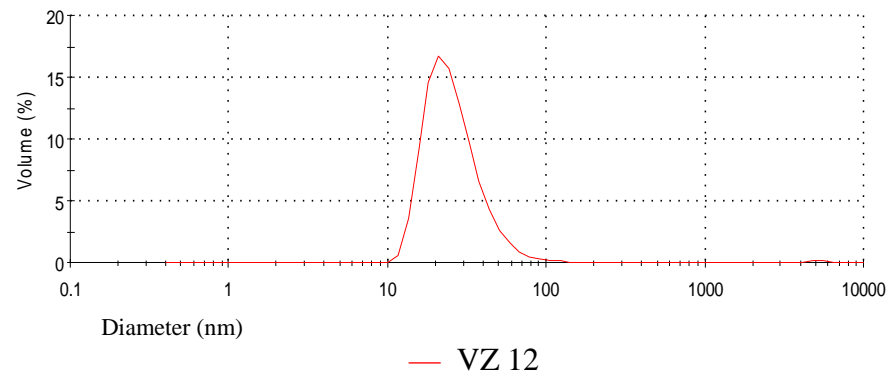
Obr. 28: VZ 12 - Size Distribution by Intensity



Obr. 27: VZ 11 - Size Distribution by Volume

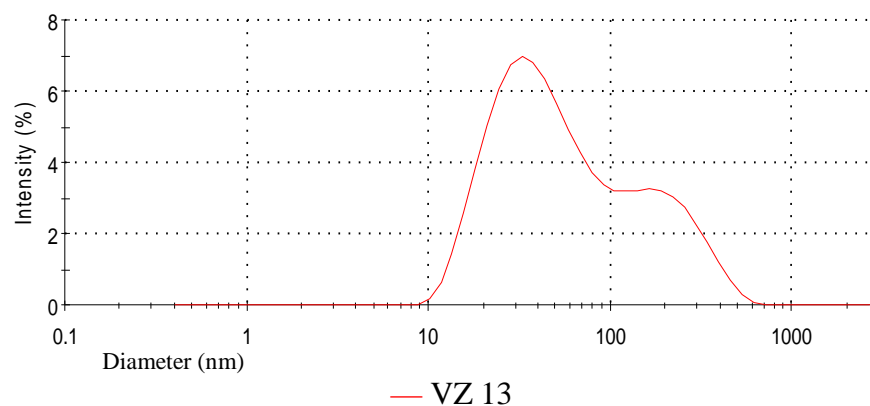


Obr. 29: VZ 12 - Size Distribution by Volume



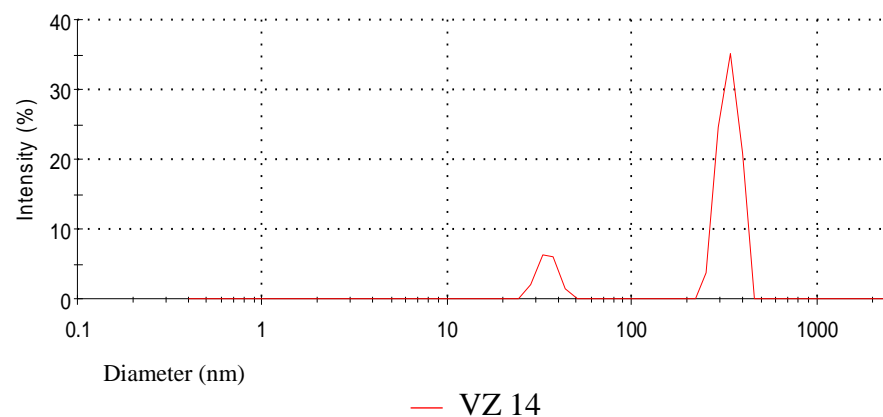
**VZ 13 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí směsí obsahující AŠ o koncentraci 0,5 % a maltózu o koncentraci 0,18 %, v MV do varu**

Obr. 30: VZ 13 - Size Distribution by Intensity

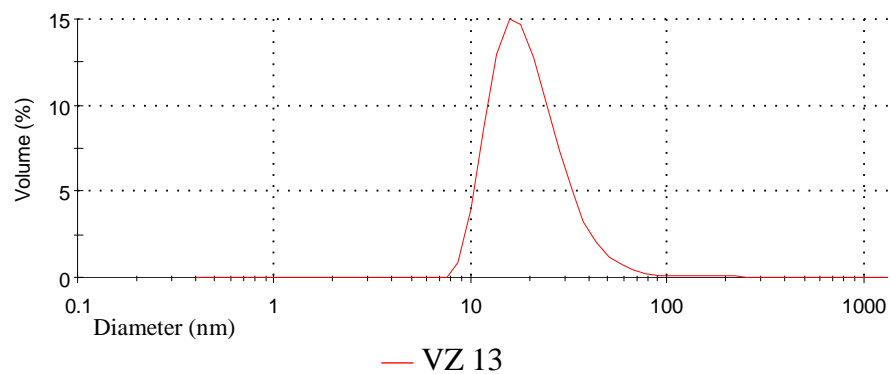


**VZ 14 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,5 % AŠ, v MV do varu**

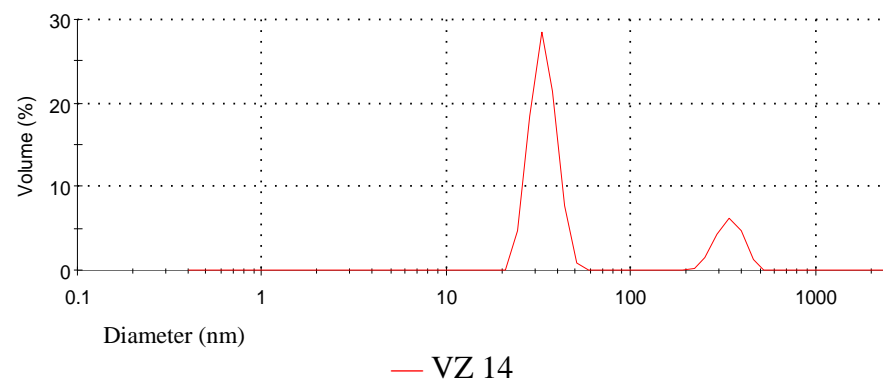
Obr. 32: VZ 14 - Size Distribution by Intensity



Obr. 31: VZ 13 - Size Distribution by Volume



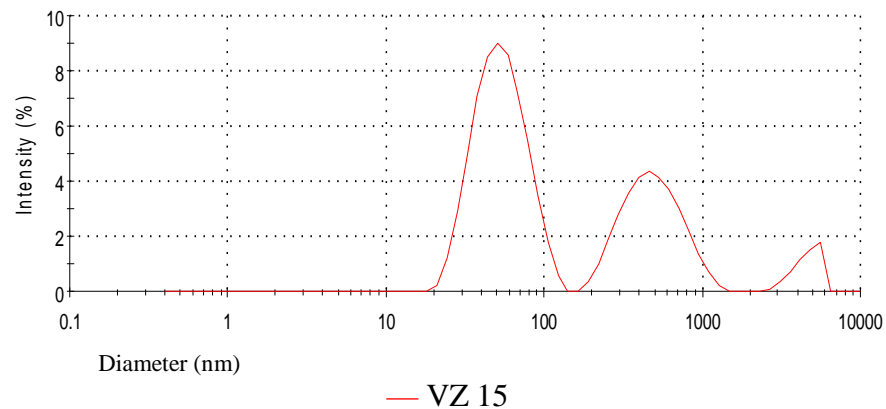
Obr. 33: VZ 14 - Size Distribution by Volume



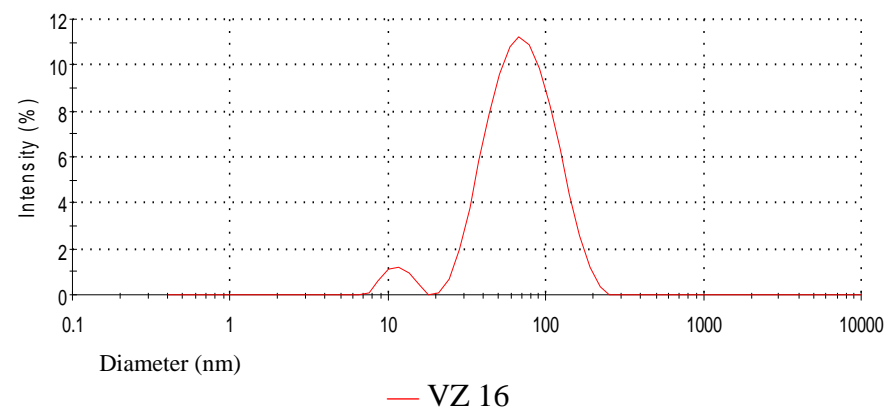
**VZ 15 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí AŠ (0,1 %) a glukózou (0,18 %), v MV do varu**

**VZ 16 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí AŠ (0,1 %) a acerolou (0,18 %), v MV do varu**

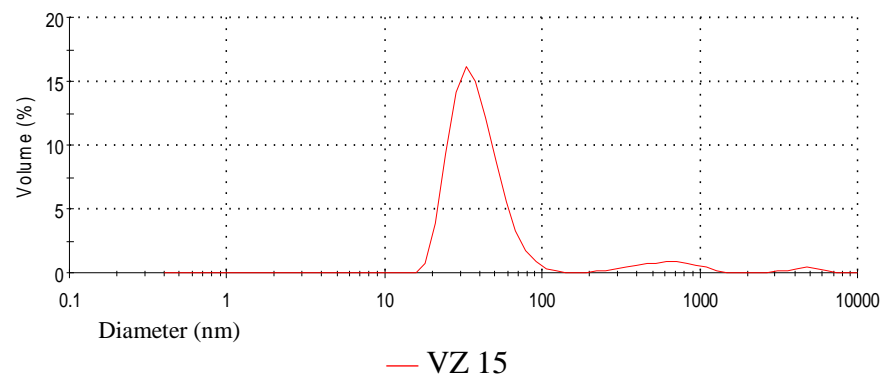
Obr. 34: VZ 15 - Size Distribution by Intensity



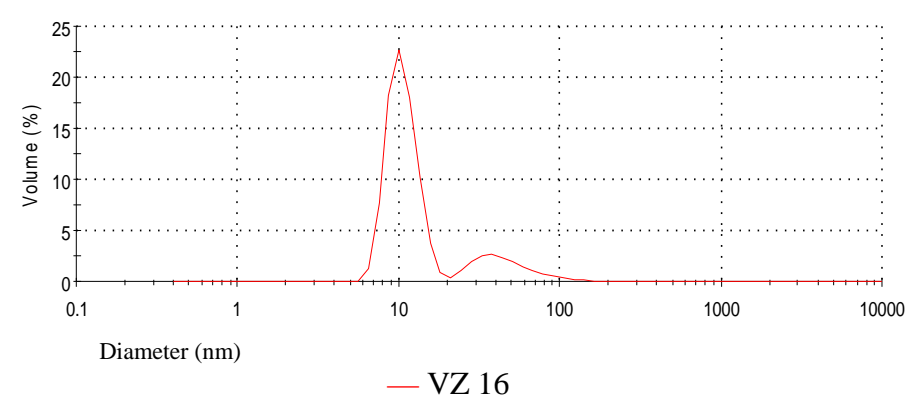
Obr. 36: VZ 16 - Size Distribution by Intensity



Obr. 35: VZ 15 - Size Distribution by Volume

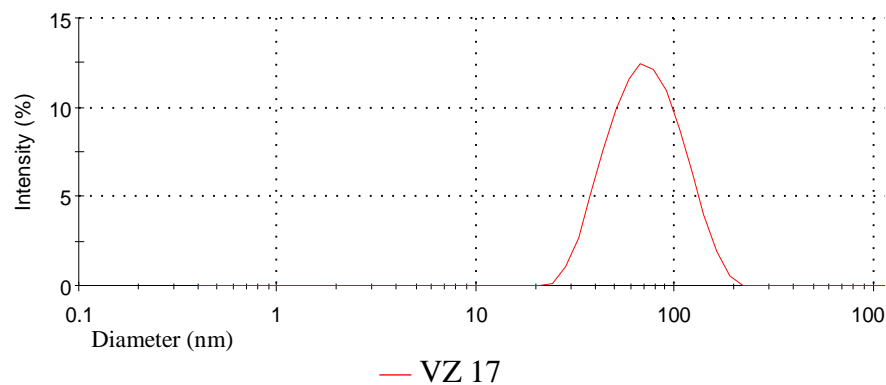


Obr. 37: VZ 16 - Size Distribution by Volume

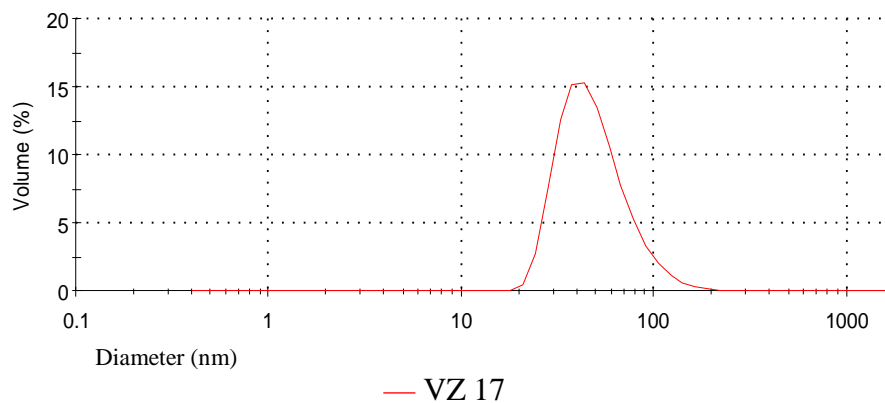


**VZ 17 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí AŠ (0,1 %) a glukózou (1,8 %), v MV do varu**

Obr. 38: VZ 17 - Size Distribution by Intensity

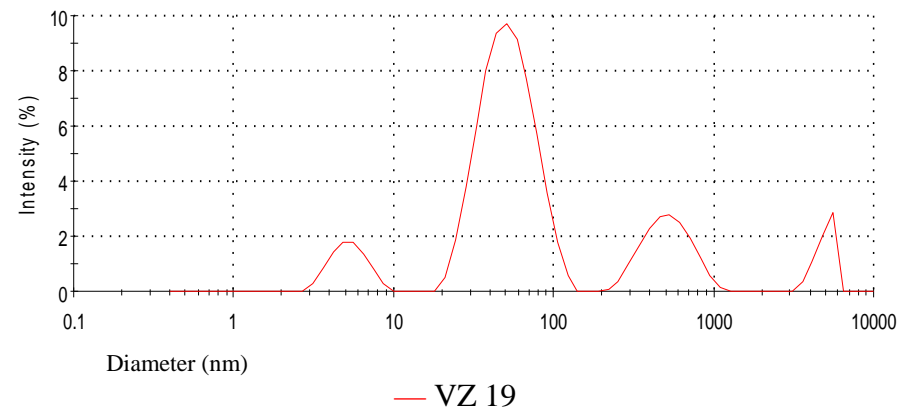


Obr. 39: VZ 17 - Size Distribution by Volume

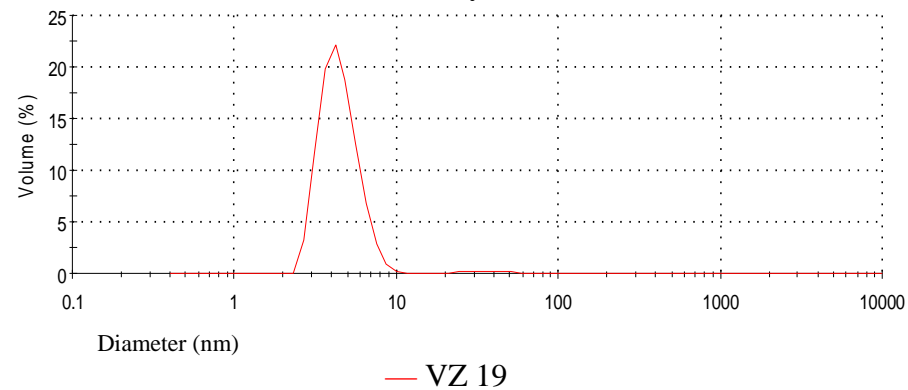


**VZ 19 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí AŠ (0,1 %) a acerolou (1,8 %), v MV do varu**

Obr. 40: VZ 19 - Size Distribution by Intensity



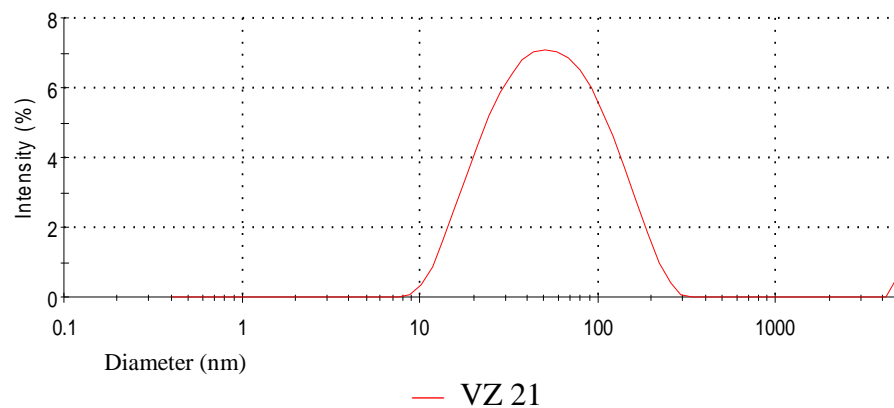
Obr. 41: VZ 19 - Size Distribution by Volume



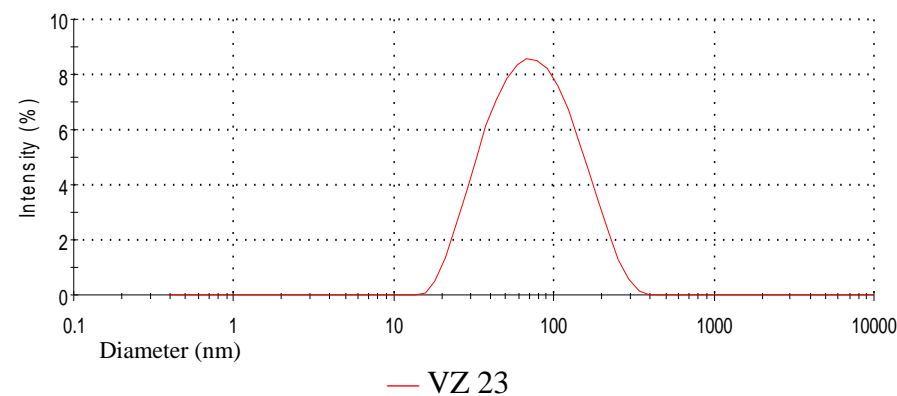
**VZ 21 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (0,5 %) a glukózu (0,18 %), v MV do varu**

**VZ 23 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (0,5 %) a acerolu (0,18 %), v MV do varu**

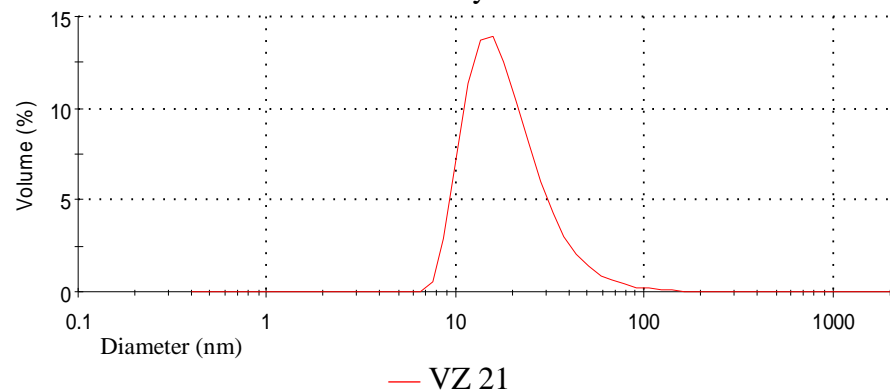
Obr. 42: VZ 21 - Size Distribution by Intensity



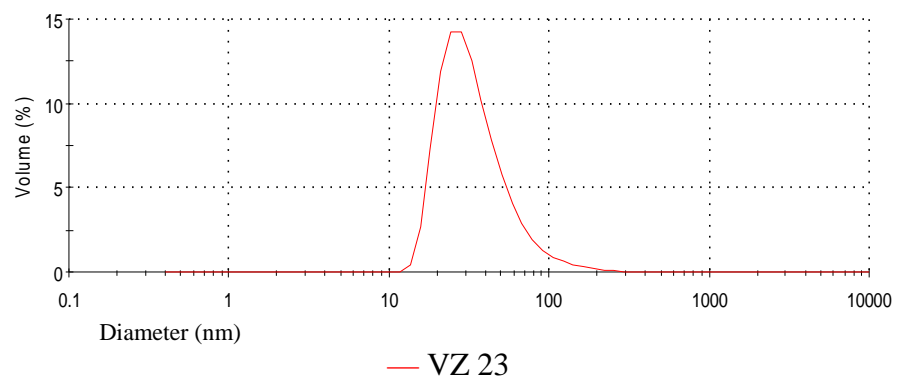
Obr. 44: VZ 23 - Size Distribution by Intensity



Obr. 43: VZ 21 - Size Distribution by Volume



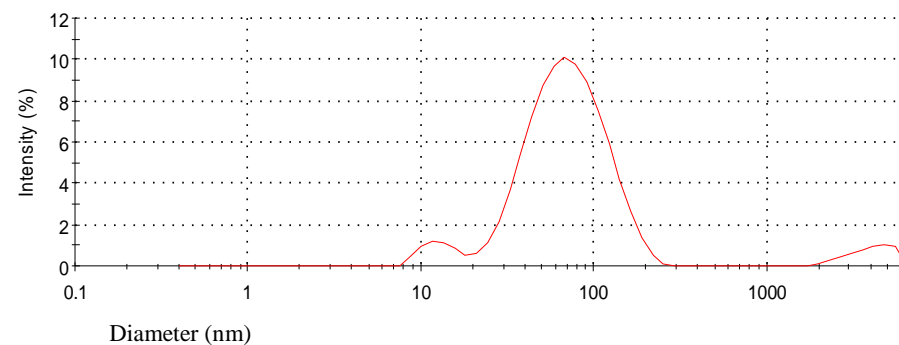
Obr. 45: VZ 23 - Size Distribution by Volume



**VZ 25 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (0,5 %) a glukózu (1,8 %), v MV do varu**

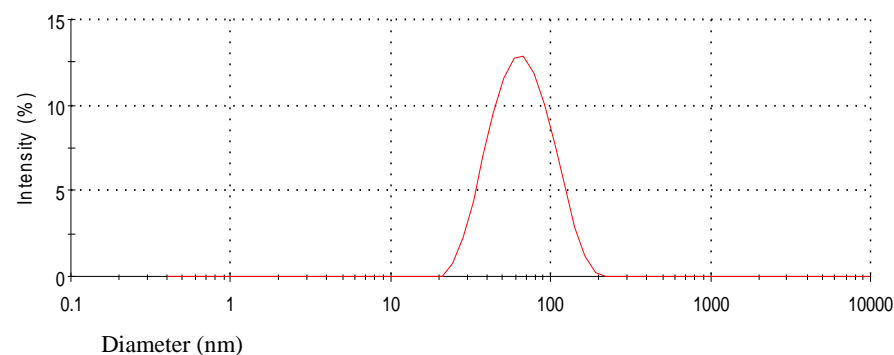
**VZ 26 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (0,5 %) a acerolu (1,8 %), v MV do varu**

Obr. 46: VZ 25 - Size Distribution by Intensity



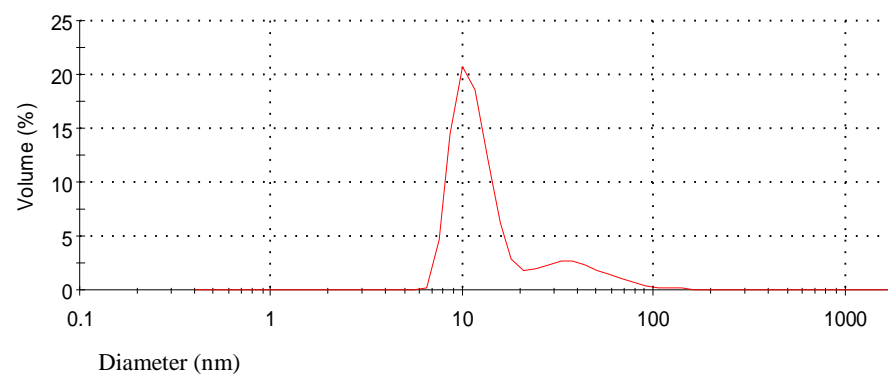
— VZ 25

Obr. 48: VZ 26 - Size Distribution by Intensity



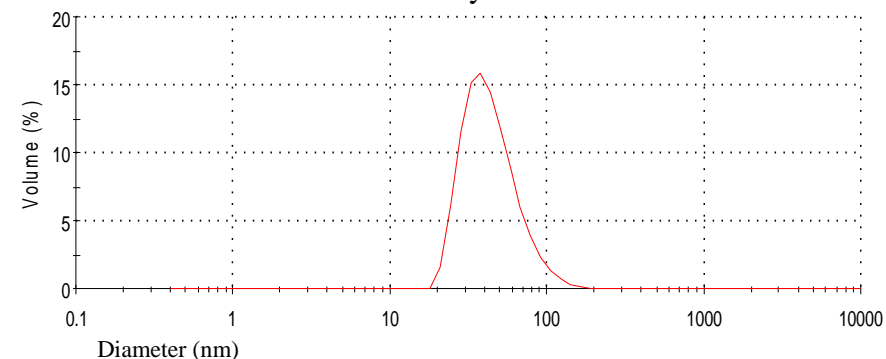
— VZ 26

Obr. 47: VZ 25 - Size Distribution by Volume



— VZ 25

Obr. 49: VZ 26 - Size Distribution by Volume

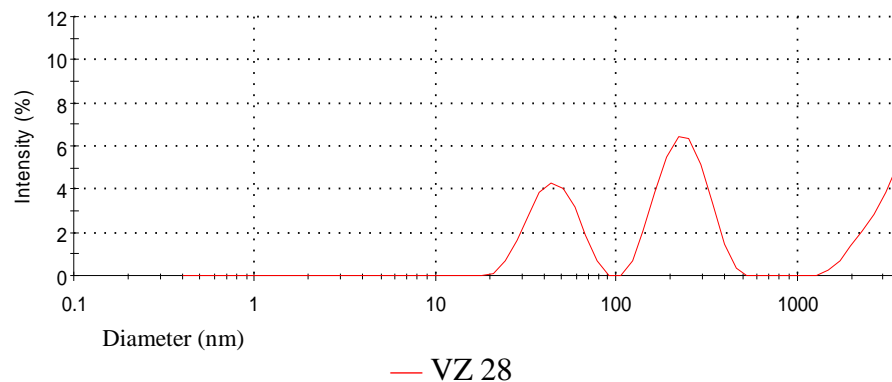


— VZ 26

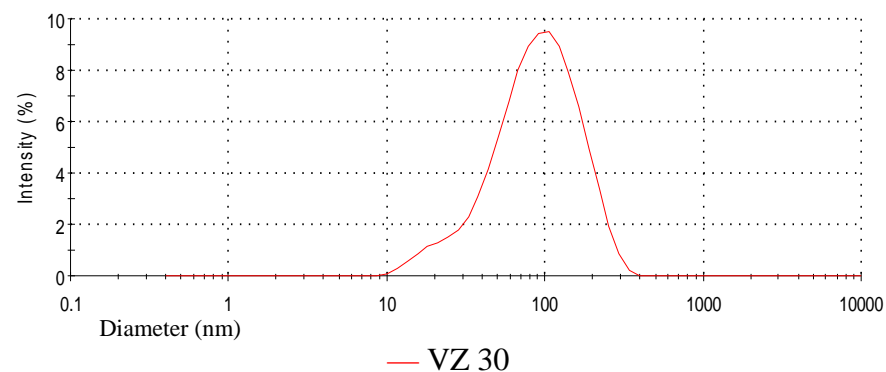
**VZ 28 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (1,0 %) a glukózu (0,18 %), v MV do varu**

**VZ 30 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (1,0 %) a acerolu (0,18 %), v MV do varu**

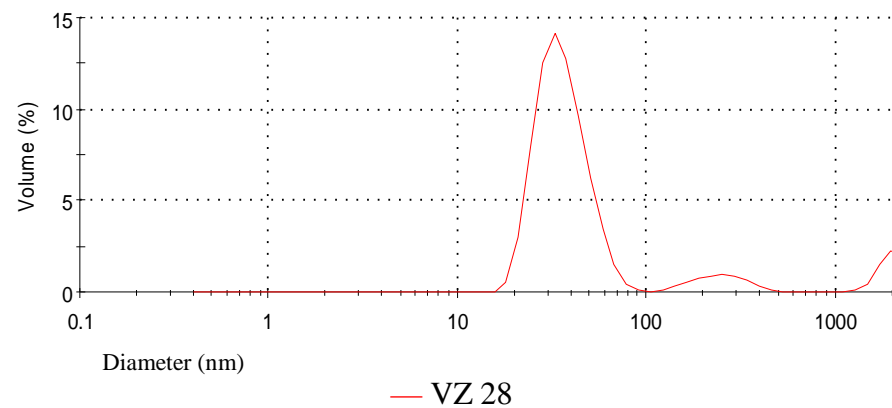
Obr. 50: VZ 28 - Size Distribution by Intensity



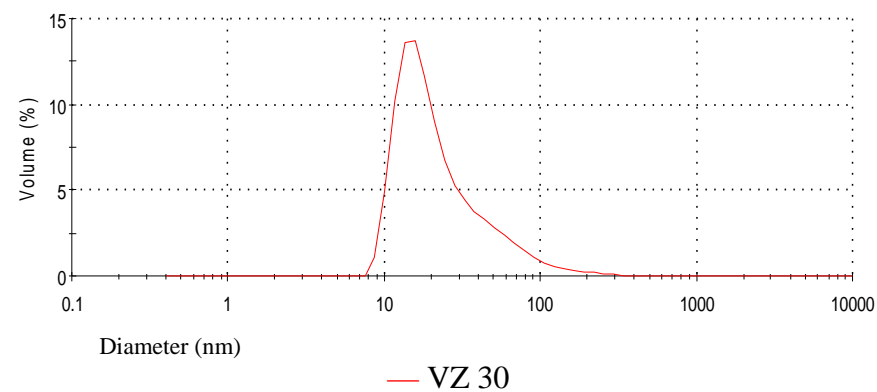
Obr. 52: VZ 30 - Size Distribution by Intensity



Obr. 51: VZ 28 - Size Distribution by Volume



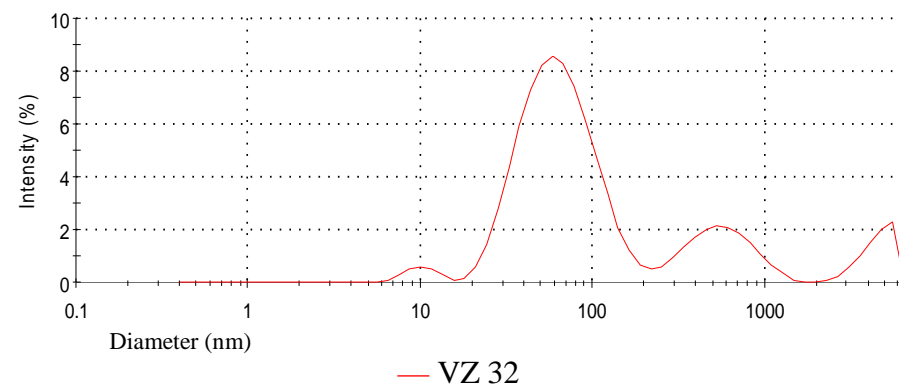
Obr. 53: VZ 30 - Size Distribution by Volume





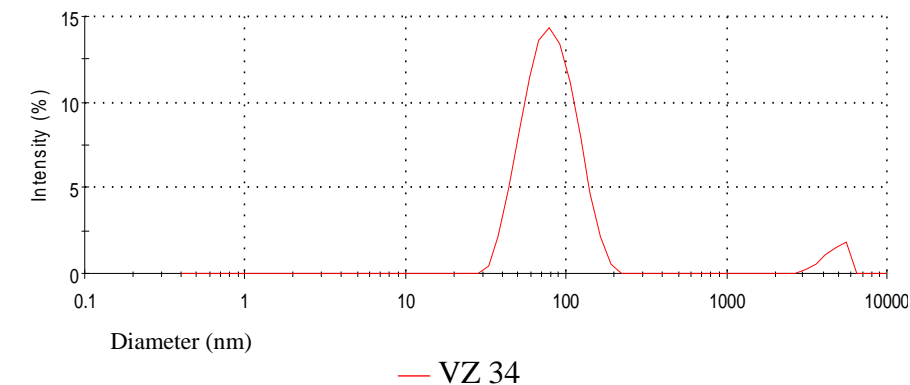
**VZ 32 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (1,0 %) a glukózu (1,8 %), v MV do varu**

Obr. 54: VZ 32 - Size Distribution by Intensity

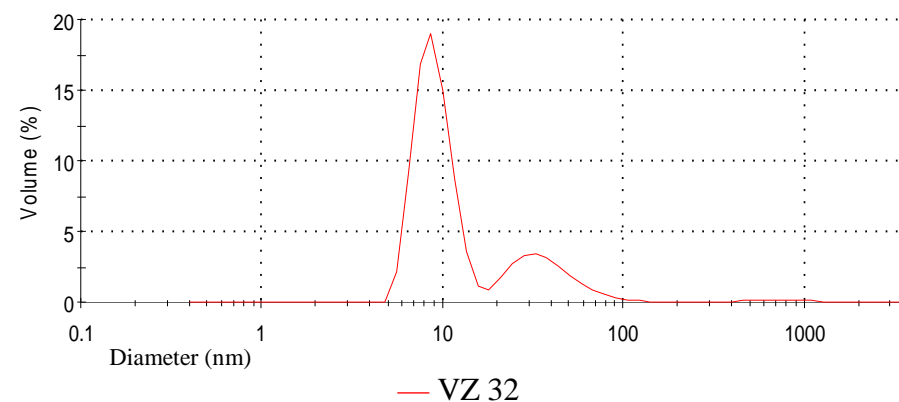


**VZ 34 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí obsahující AŠ (1,0 %) a acerolu (1,8 %), v MV do varu**

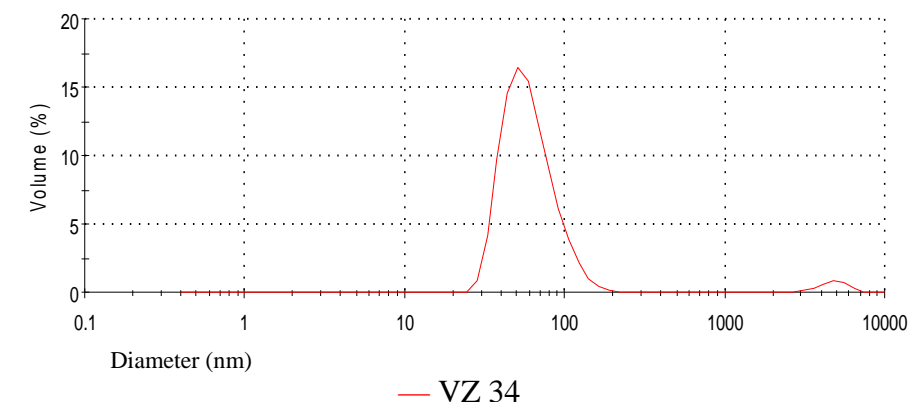
Obr. 56: VZ 34 - Size Distribution by Intensity



Obr. 55: VZ 32 - Size Distribution by Volume

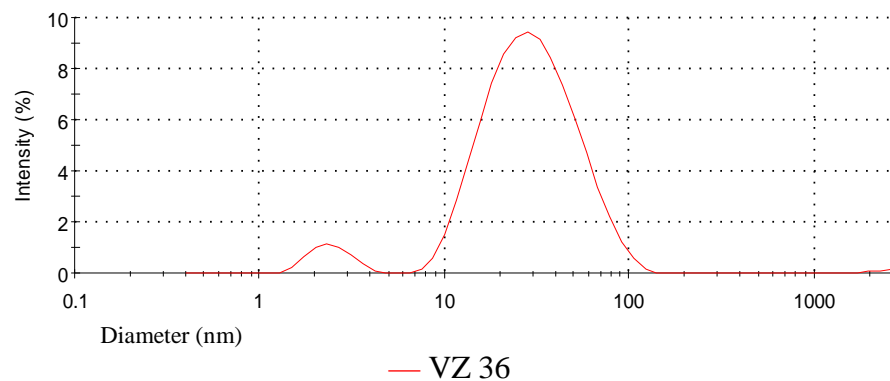


Obr. 57: VZ 34 - Size Distribution by Volume

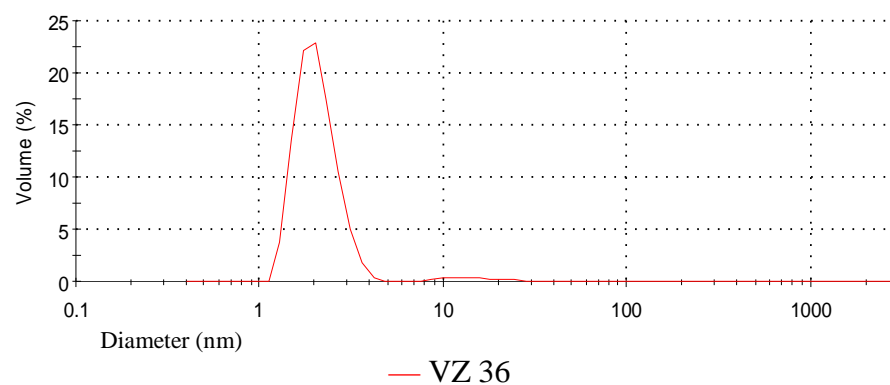


**VZ 36 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,5 %  
bramborovým škrobem, v MV do varu**

Obr. 58: VZ 36 - Size Distribution by Intensity

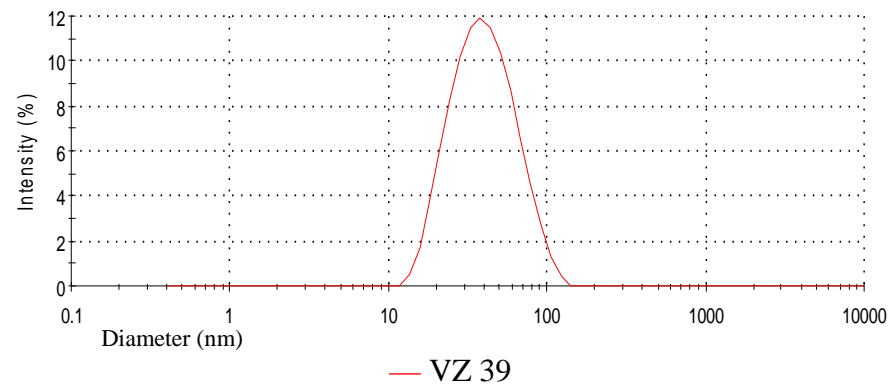


Obr. 59: VZ 36 - Size Distribution by Volume

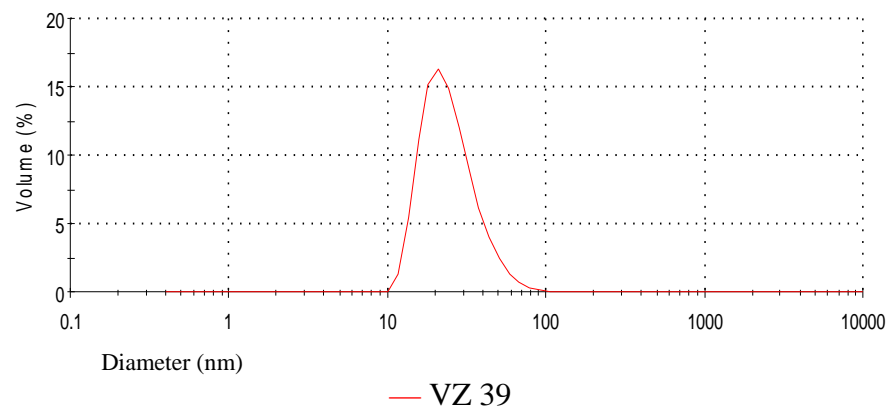


**VZ 39 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí  
bramborového škrobu (0,5 %) a aceroly (0,18 %), v MV do varu**

Obr. 60: VZ 39 - Size Distribution by Intensity

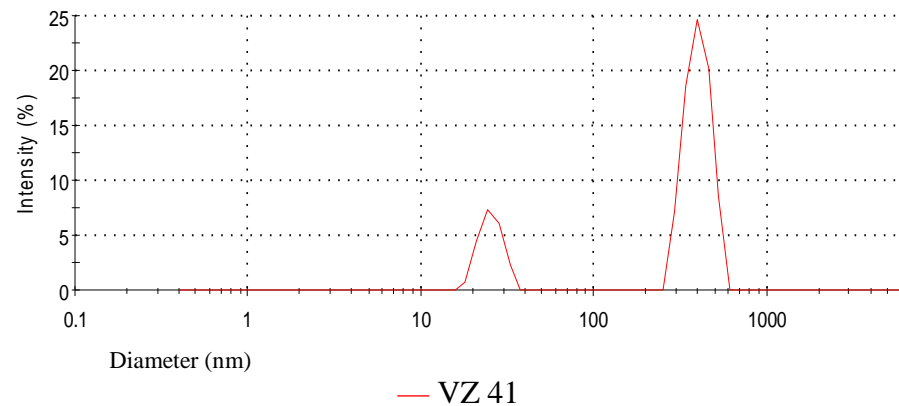


Obr. 61: VZ 39 - Size Distribution by Volume



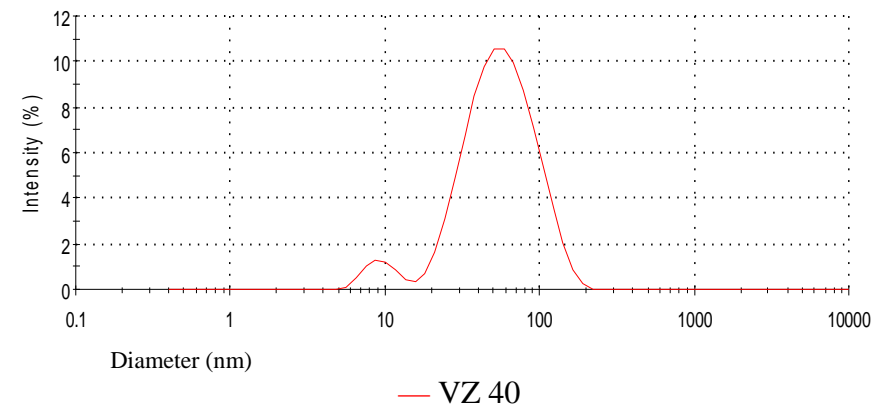
**VZ 37 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,5 %  
rýžovým škrobem, v MV do varu**

Obr. 62: VZ 37 - Size Distribution by Intensity

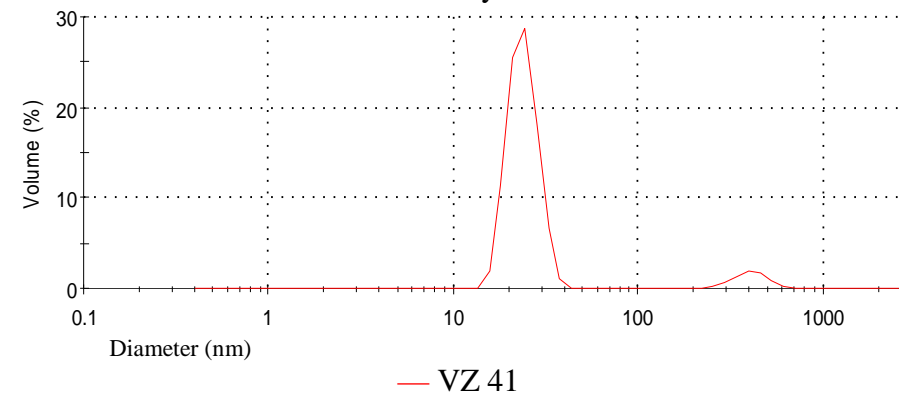


**VZ 40 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí  
rýžového škrobu (0,5 %) a aceroly (0,18 %), v MV do varu**

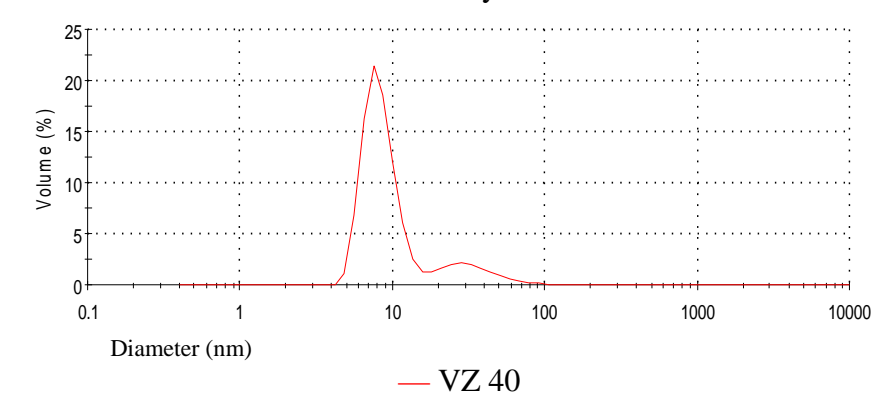
Obr. 64: VZ 40 - Size Distribution by Intensity



Obr. 63: VZ 37 - Size Distribution by Volume



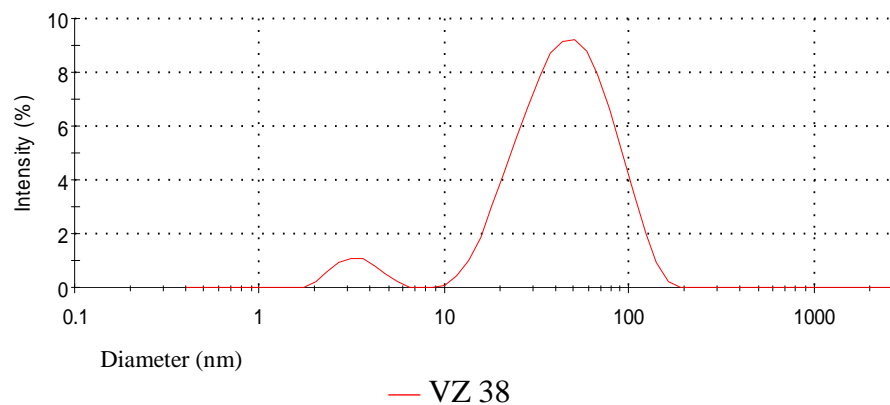
Obr. 65: VZ 40 - Size Distribution by Volume



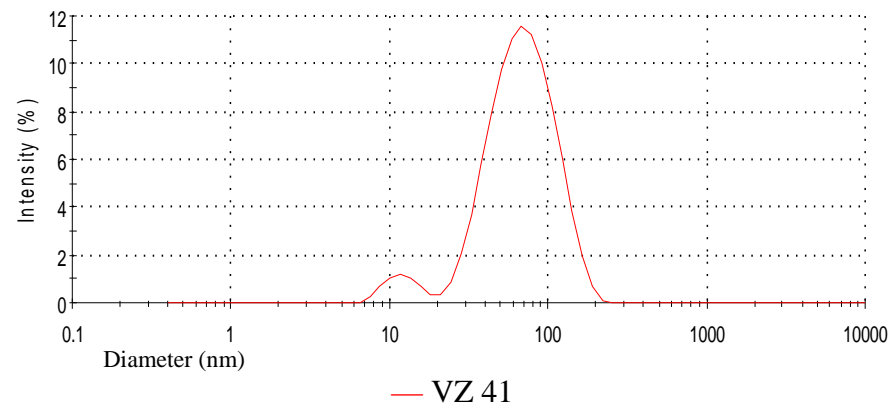
**VZ 38 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,5 %  
kukuřičným škrobem, v MV do varu**

**VZ 41 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí suspenzí  
kukuřičného škorbu (0,5 %) a aceroly (0,18 %), v MV do varu**

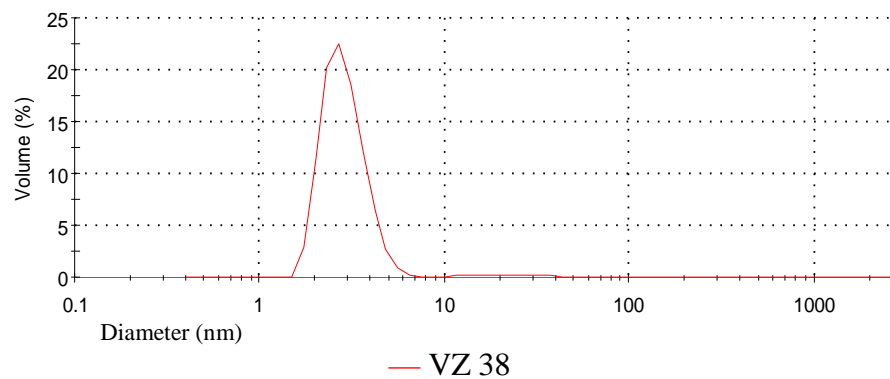
Obr. 66: VZ 38 - Size Distribution by Intensity



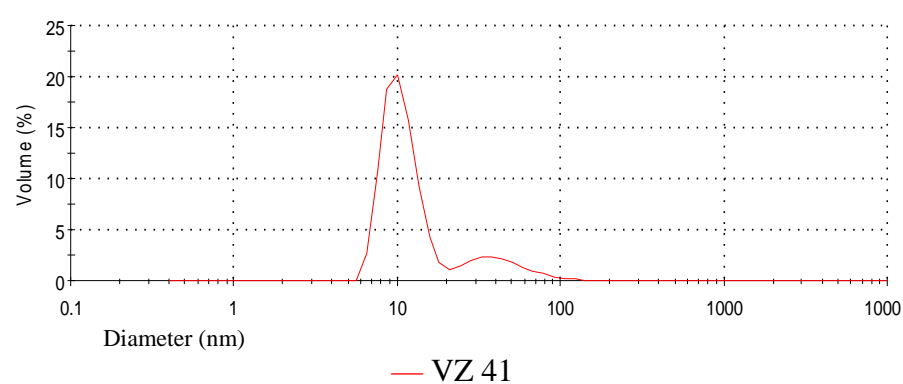
Obr. 68: VZ 41 - Size Distribution by Intensity



Obr. 67: VZ 38 - Size Distribution by Volume

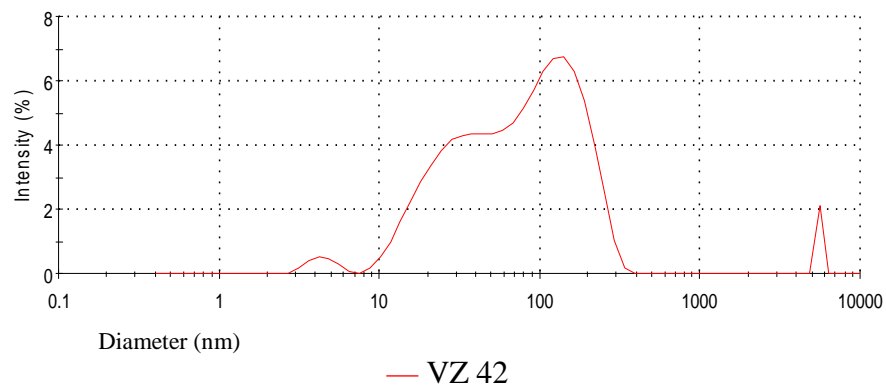


Obr. 69: VZ 41 - Size Distribution by Volume



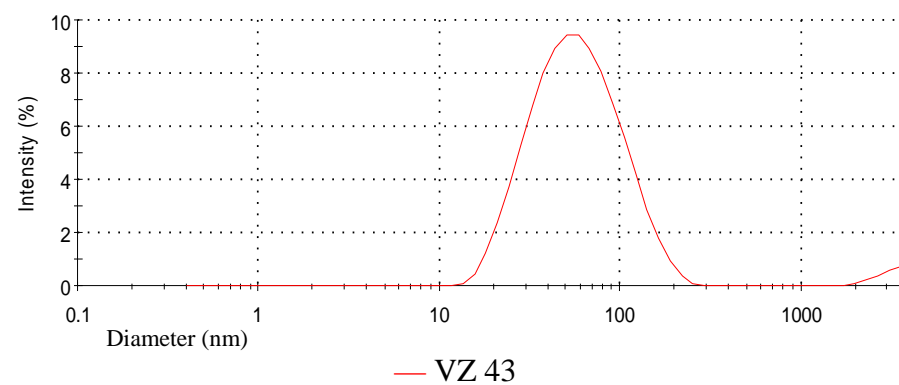
**VZ 42 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí acerolou (0,05 %) a AŠ (2,0 %), v MV do varu**

Obr. 70: VZ 42 - Size Distribution by Intensity

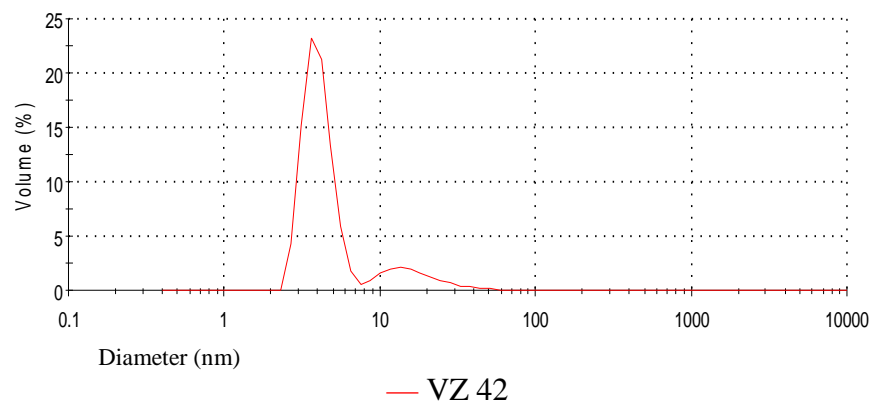


**VZ 43 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí acerolou (0,05 %) a AŠ (0,2%), v MV do varu**

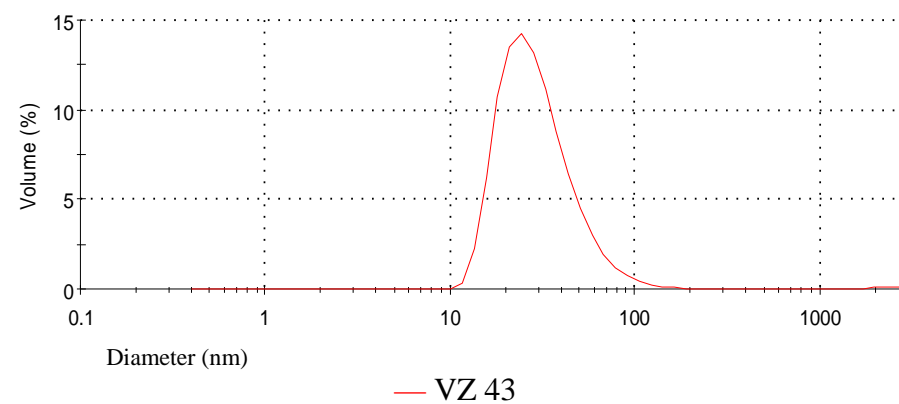
Obr. 72: VZ 43 - Size Distribution by Intensity



Obr. 71: VZ 42 - Size Distribution by Volume



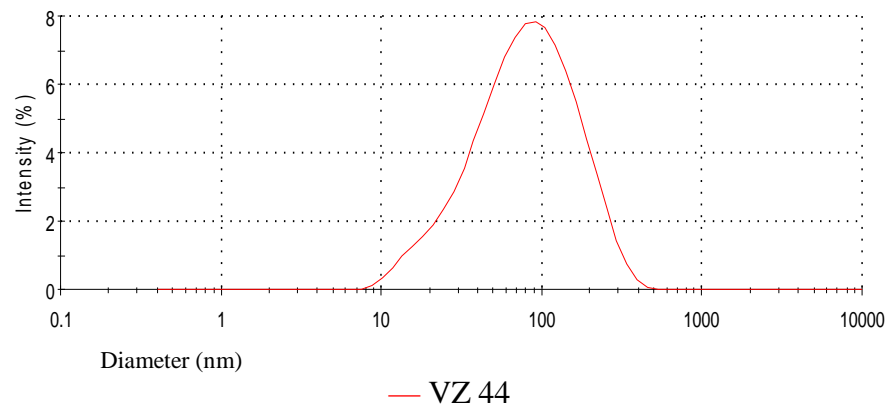
Obr. 73: VZ 43 - Size Distribution by Volume



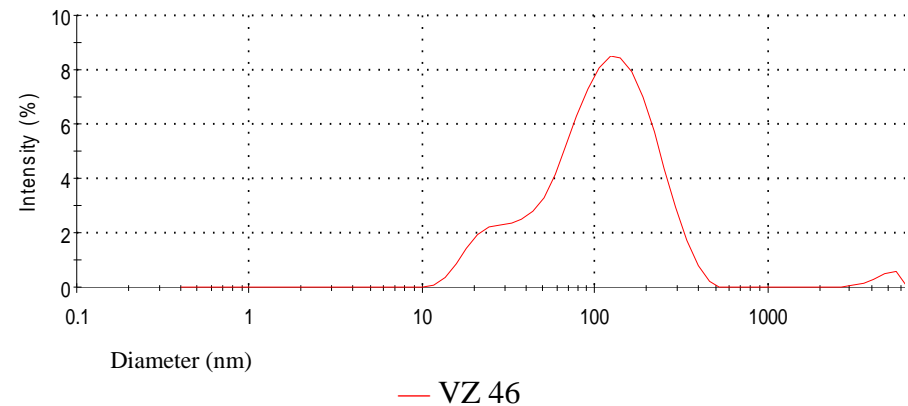
**VZ 44 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí acerolou (0,05 %) a AŠ (0,05 %), v MV do varu**

**VZ 46 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí acerolou (0,05 %) a AŠ (0,025 %), v MV do varu**

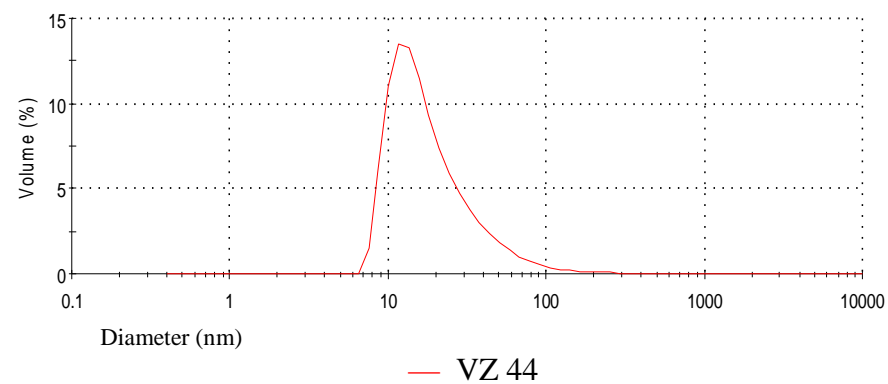
Obr. 74: VZ 44 - Size Distribution by Intensity



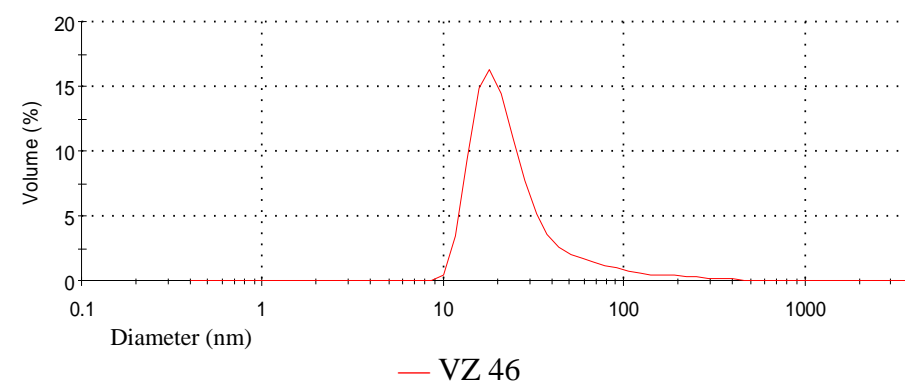
Obr. 76: VZ 46 - Size Distribution by Intensity



Obr. 75: VZ 44 - Size Distribution by Volume



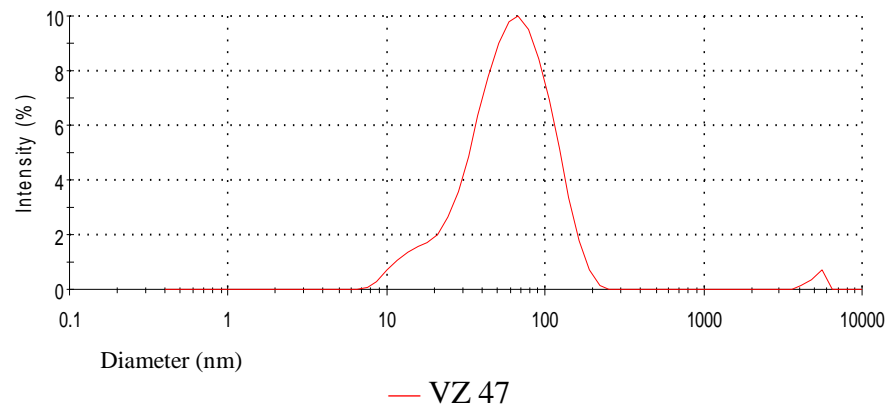
Obr. 77: VZ 46 - Size Distribution by Volume



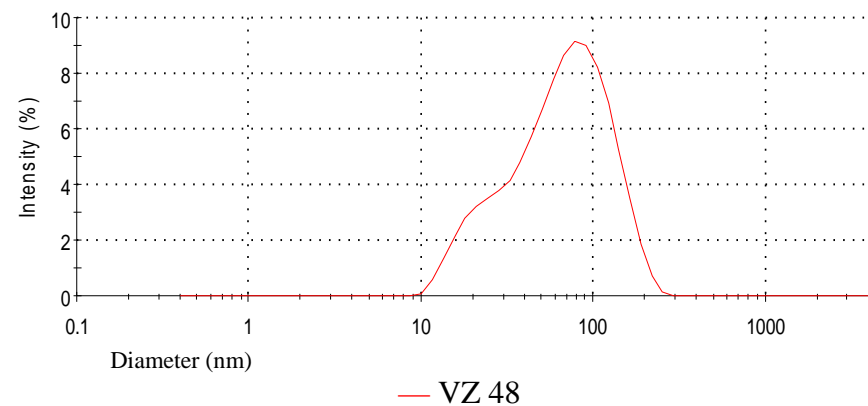
**VZ 47 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí acerolou (0,05 %) a AŠ (0,010 %), v MV do varu**

**VZ 48 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí 0,05 % roztokem aceroly, v MV do varu**

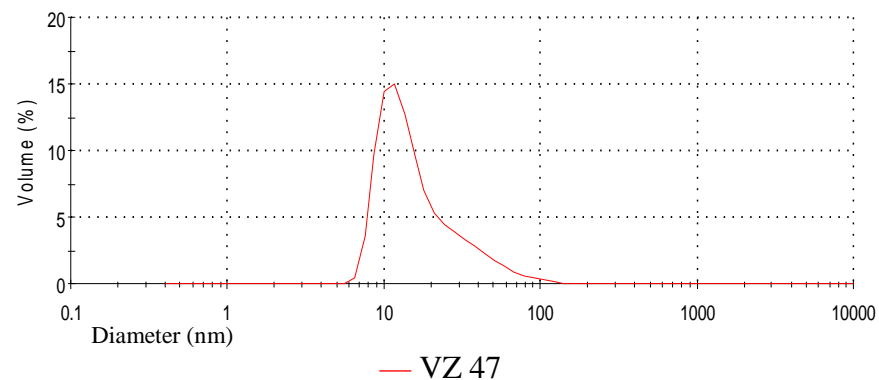
Obr. 78: VZ 47 - Size Distribution by Intensity



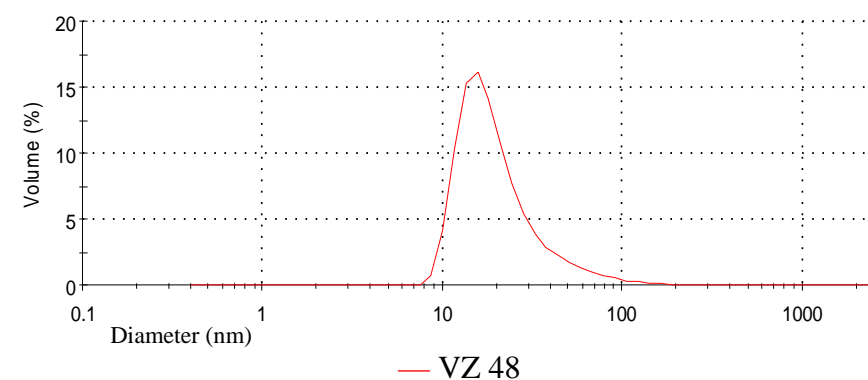
Obr. 80: VZ 48 - Size Distribution by Intensity



Obr. 79: VZ 47 - Size Distribution by Volume



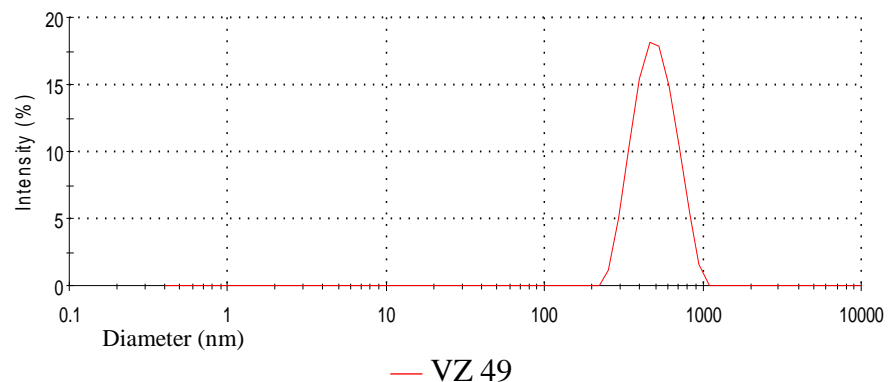
Obr. 81: VZ 48 - Size Distribution by Volume



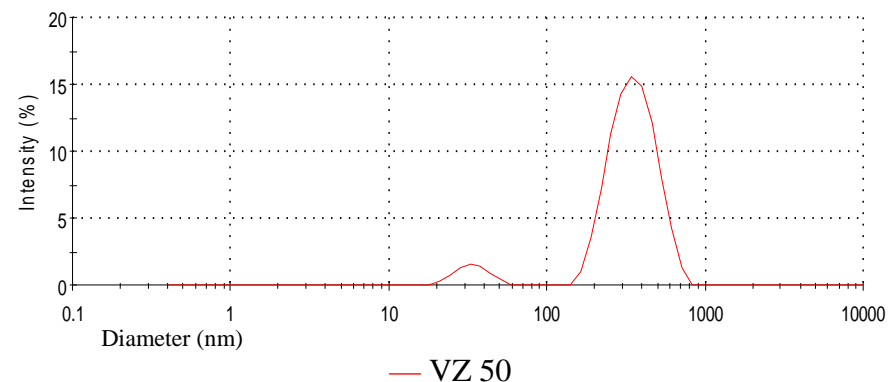
**VZ 49 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,05 %), při teplotě 22°C**

**VZ 50 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,05 %), v MV do varu**

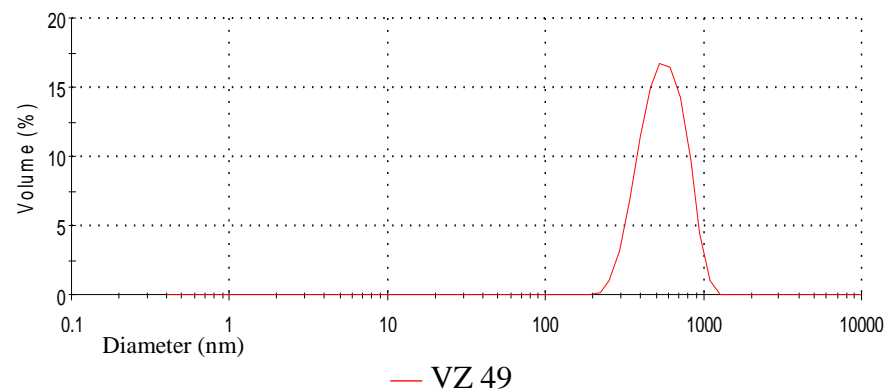
Obr. 82: VZ 49 - Size Distribution by Intensity



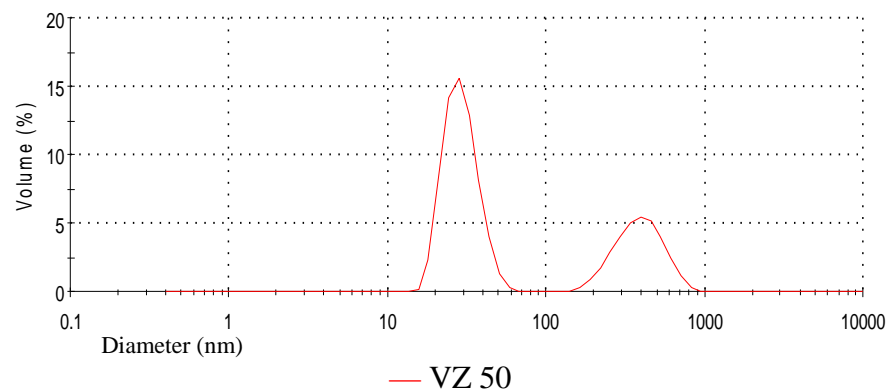
Obr. 84: VZ 50 - Size Distribution by Intensity



Obr. 83: VZ 49 - Size Distribution by Volume



Obr. 85: VZ 50 - Size Distribution by Volume

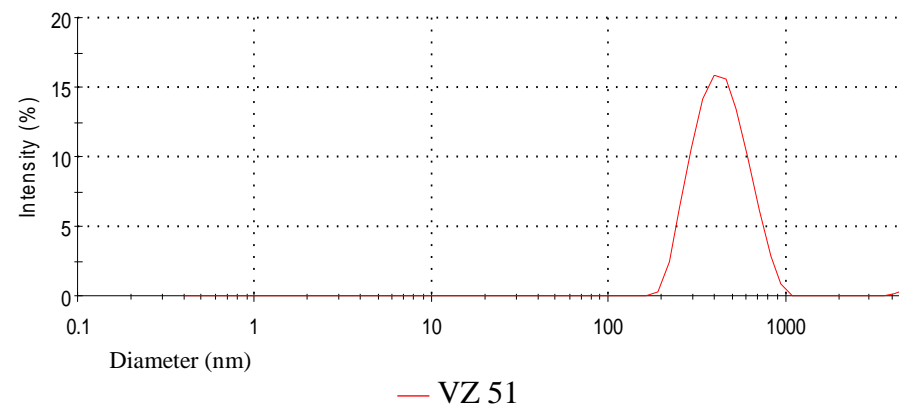




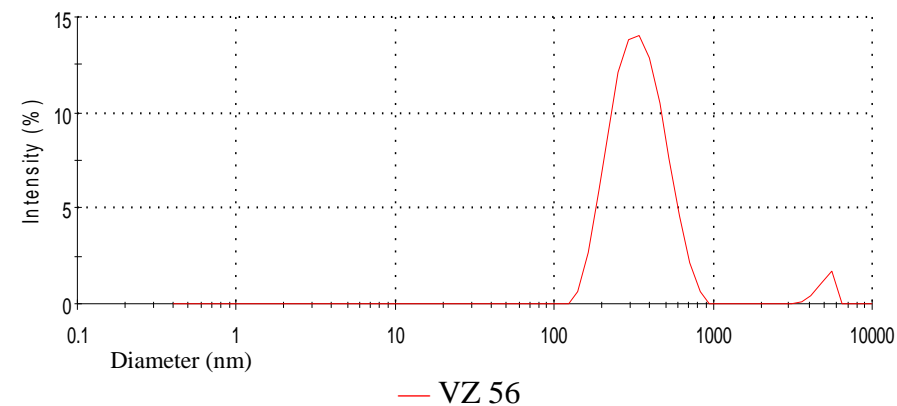
**VZ 51 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,5 %), při teplotě 22°C**

**VZ 52 - Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,5 %), v MV do varu**

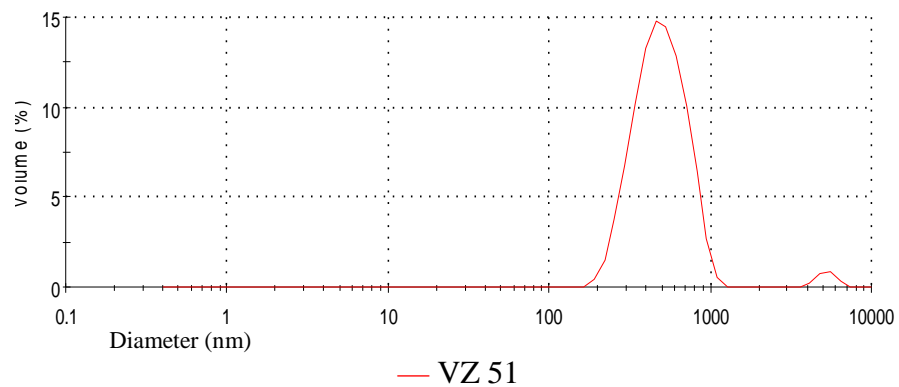
Obr. 86: VZ 51 - Size Distribution by Intensity



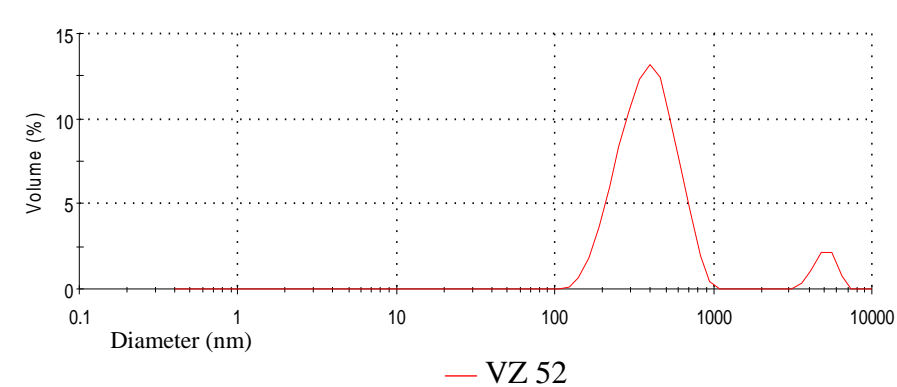
Obr. 88: VZ 52 - Size Distribution by Intensity



Obr. 87: VZ 51 - Size Distribution by Volume

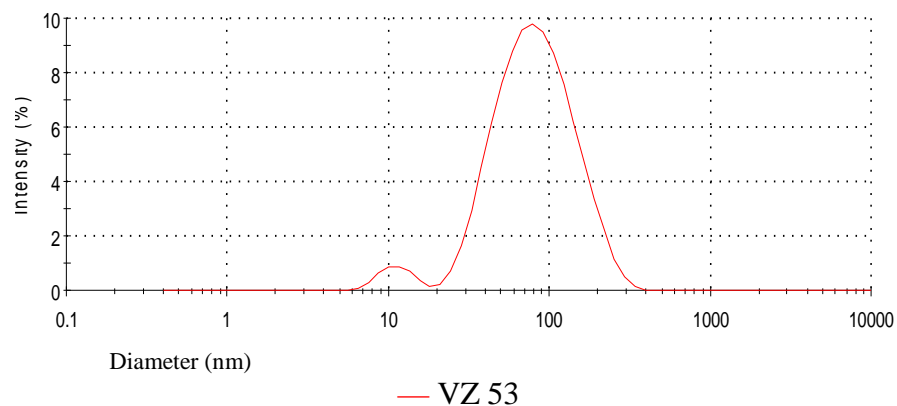


Obr. 89: VZ 52 - Size Distribution by Volume

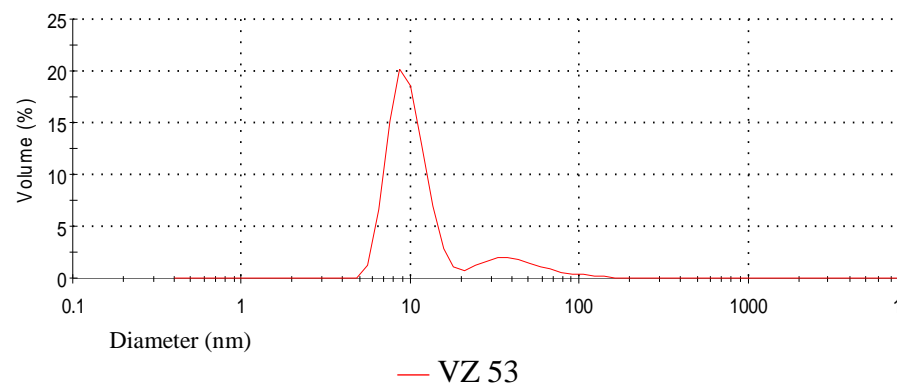


**VZ 53 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,05 %) a acerolou (0,18 %), při teplotě 22°C**

Obr. 90: VZ 53 - Size Distribution by Intensity

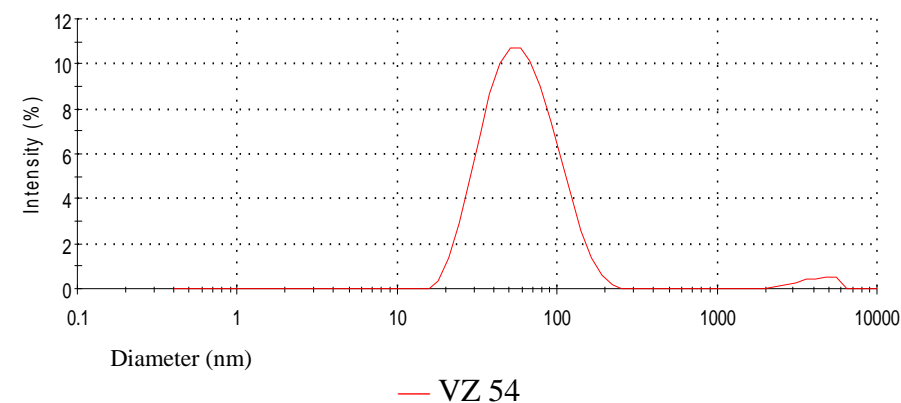


Obr. 91: VZ 53 - Size Distribution by Volume

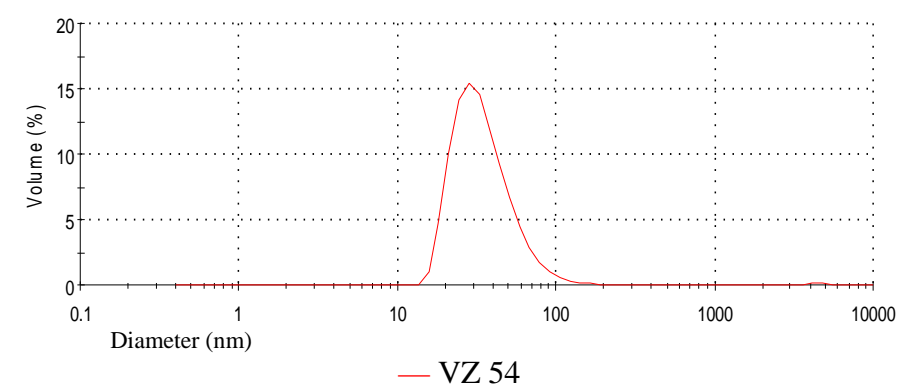


**VZ 54 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,05 %) a acerolou (0,18 %), v MV do varu**

Obr. 92: VZ 54 - Size Distribution by Intensity



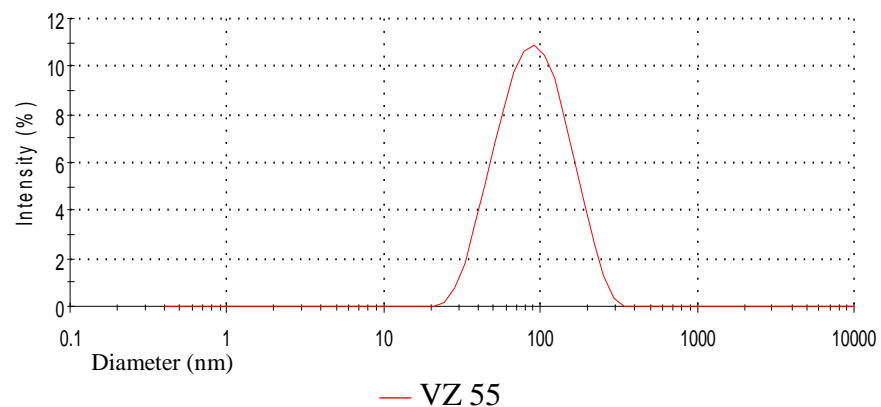
Obr. 93: VZ 54 - Size Distribution by Volume



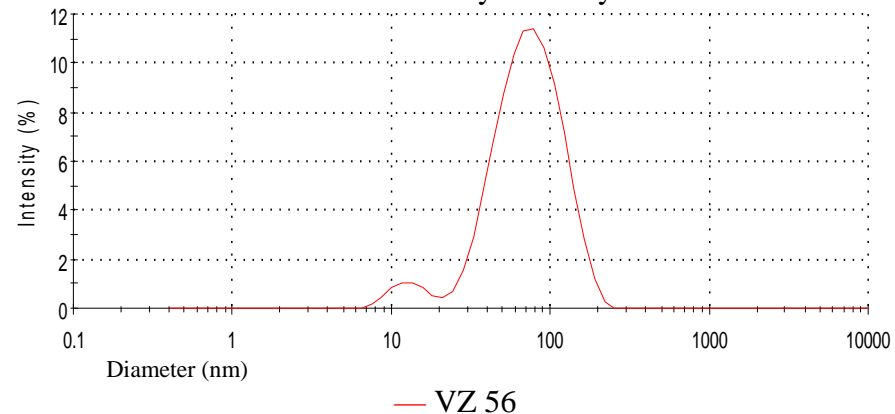
**VZ 55 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,5 %) a acerolou (0,18 %), při teplotě 22°C**

**VZ 56 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,5 %) a acerolou (0,18 %), v MV do varu**

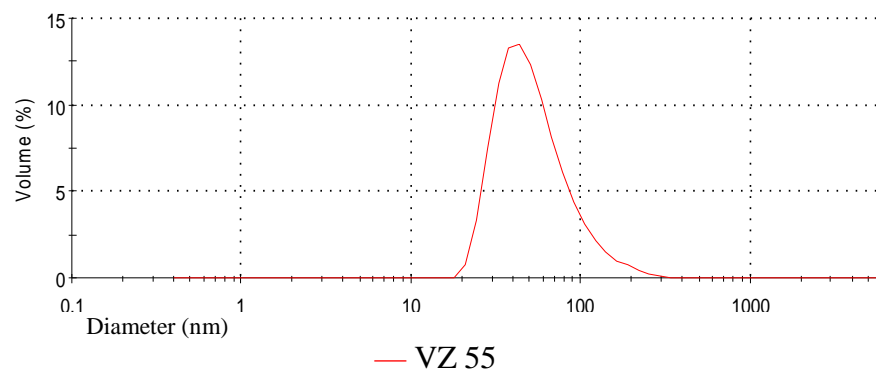
Obr. 94: VZ 55 - Size Distribution by Intensity



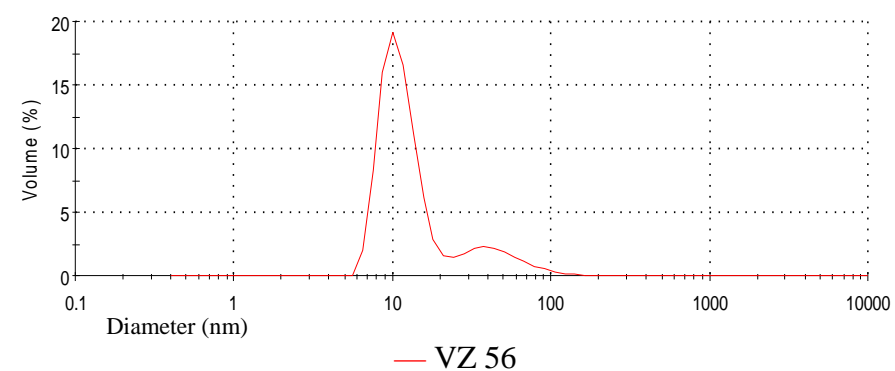
Obr. 96: VZ 56 - Size Distribution by Intensity



Obr. 95: VZ 55 - Size Distribution by Volume



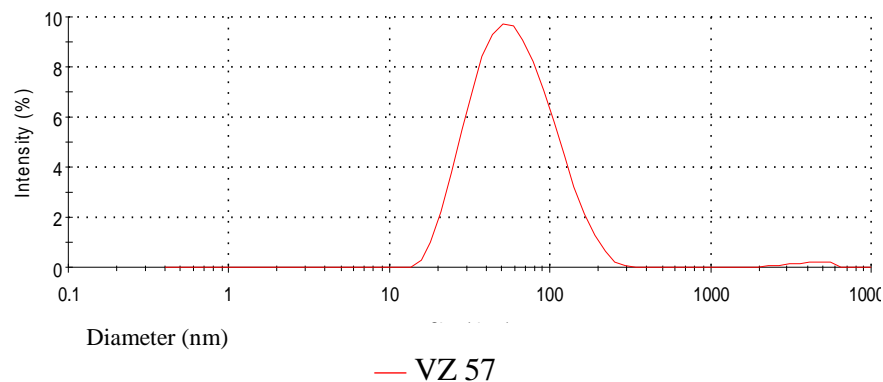
Obr. 97: VZ 56 - Size Distribution by Volume



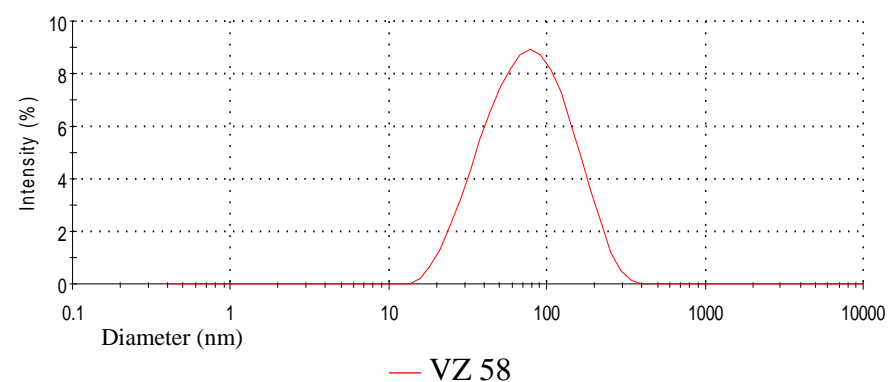
**VZ 57 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,05 %) a následným přidáním aceroly (0,18 %), při teplotě 22°C**

**VZ 58 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,05 %) a následným přidáním aceroly (0,18 %), v MV do varu**

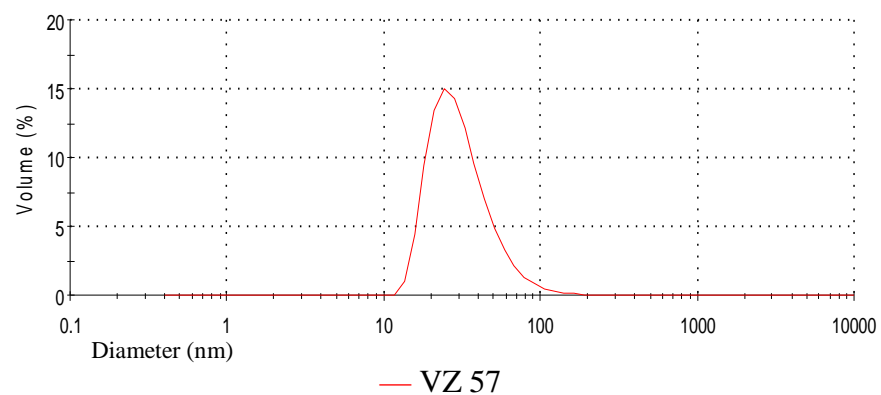
Obr. 98: VZ 57 - Size Distribution by Intensity



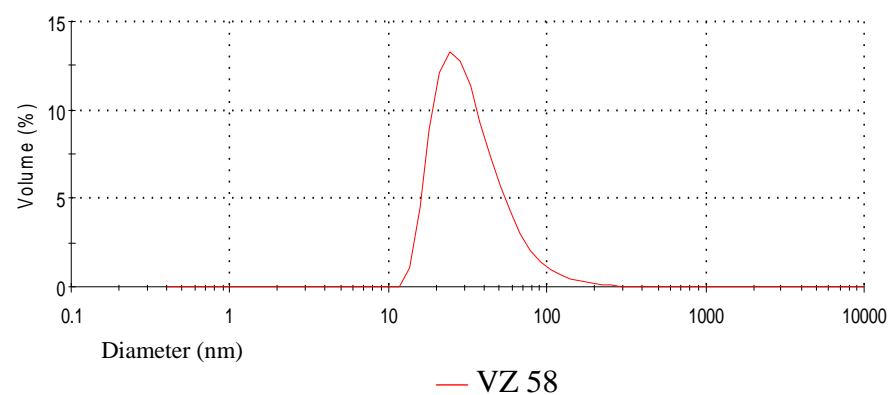
Obr. 100: VZ 58 - Size Distribution by Intensity



Obr. 99: VZ 57 - Size Distribution by Volume



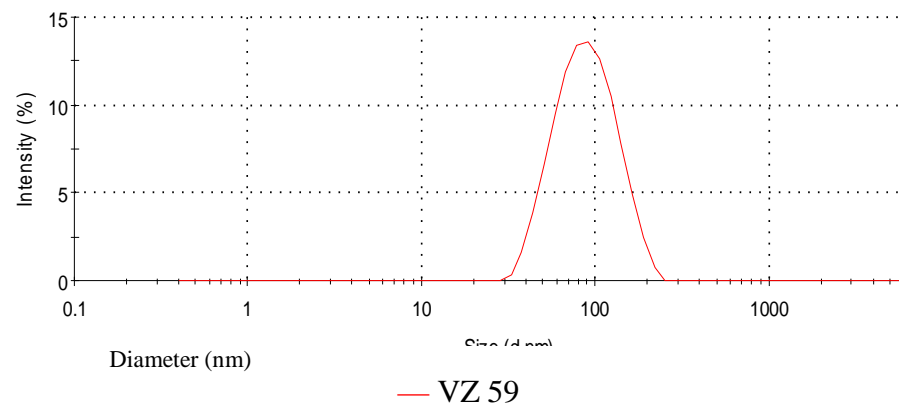
Obr. 101: VZ 58 - Size Distribution by Volume



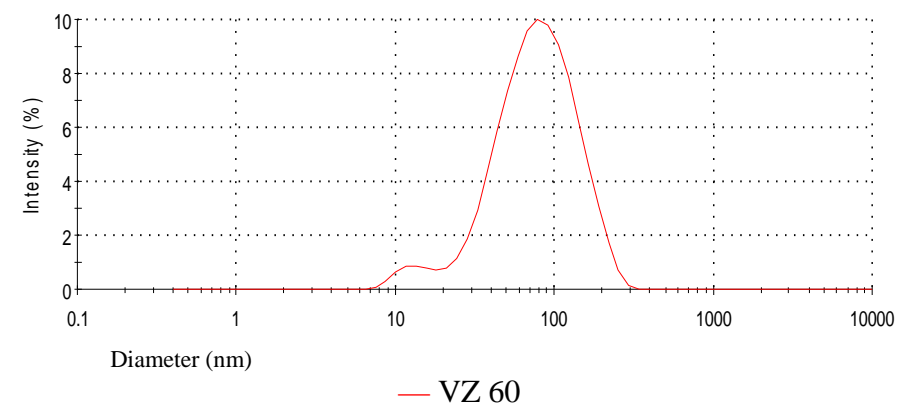
**VZ 59 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,5 %) a následným přidáním aceroly (0,18 %), při teplotě 22°C**

**VZ 60 – Nanodisperze stříbra připravená redukcí hydrolyzovaným AŠ (0,5 %) a následným přidáním aceroly (0,18 %), v MV do varu**

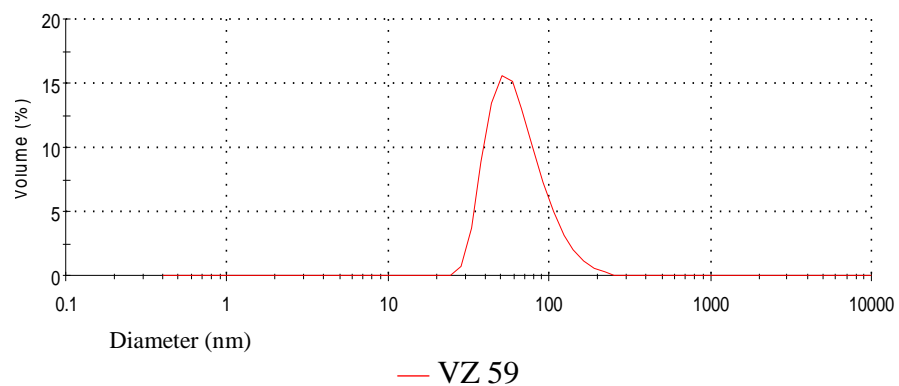
Obr. 102: VZ 59 - Size Distribution by Intensity



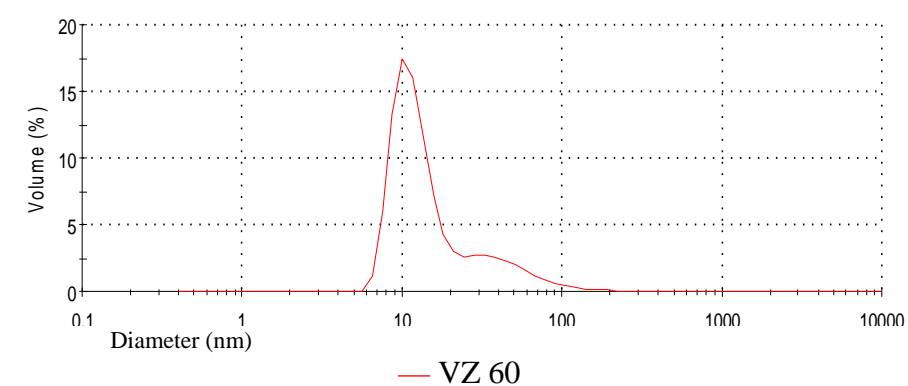
Obr. 104: VZ 60 - Size Distribution by Intensity



Obr. 103: VZ 59 - Size Distribution by Volume



Obr. 105: VZ 60 - Size Distribution by Volume



## 5 Diskuze

### 5.1 K tématu práce

Pro využití takzvaného koloidního stříbra ve formě nanočástic pro účely prevence mikrobiálního napadení tkáně nebo kontaminace přípravku je účelné formulovat přípravky nejen vysoce účinné, ale i biologicky kompatibilní. Účinnost nanočástic stříbra souvisí s velikostí jejich povrchu, tedy s jejich velikostí. Komerčně dostupný přípravek Ag100 Koloidní stříbro firmy Aurum Health Product Ltd. podle našich měření obsahuje nanočástice stříbra střední velikosti kolem 100 nm.

Výzkumný tým soustředěný kolem Doc. L. Kvítka na katedře fyzikální chemie PŘF UP v Olomouci dosáhl za použití maltózy jako redukčního činidla stříbrných iontů středního rozměru 25 nm. Naším cílem bylo hledat cesty, jak co nejvíce snížit hodnotu tohoto parametru. K dosažení tohoto cíle jsou hledány různé metody přípravy využívající různých fyzikálních principů nebo podmínek. Druhou cestou je zkoušení různých redukčních agens v různých koncentracích a kombinacích.

Zajímavé je zkoušet vliv teploty na průběh a výsledek přípravy nanočástic. S tímto faktorem souvisí využití mikrovlnění v různé intenzitě a různém časovém režimu. Při působení mikrovln je možno očekávat odlišný průběh nukleace a růstu nanofáze a také rychlou změnu teploty, především prudký vzrůst teploty této nanofáze kovového charakteru. Využití mikrovlnění se výrazně liší od metody přípravy detailně vypracované kolektivem Doc. L. Kvítka.

Mezi zajímavé redukující látky nebo jejich směsi patří kromě doporučené maltózy jiné oligosacharidy a polysacharidy. Dříve dosažené výsledky nasvědčovaly tomu, že zajímavým a nadějným redukujícím polysacharidem je amarantový škrob. Tento polymer se odlišuje od jiných jednak tím, že obsahuje pouze amylopektin a také tím, že amylopektinová zrna mají velmi malý rozměr kolem jednoho mikrometru. Výhodou tohoto toxikologicky bezproblémového materiálu je, že při aktivních koncentracích pro redukci stříbrných iontů mění viskozitu vody jen v malé míře.

Využití flavonoidních rostlinných drog může mít efekt jednak v jejich redukčním potenciálu, jednak také v jejich protimikrobním působení. Je možno očekávat synergii mezi účinkem koloidního stříbra a flavonoidů. Extrakt z plodů rostliny *Paulinia cupana* je zajímavý

pro dané účely také pro vysoký obsah kyseliny askorbové, která patří mezi významné redukující látky.

Směsi redukujících látek obsažené v přírodním materiálu nebo uměle vytvářené mohou ovlivnit nukleaci v pozitivním i negativním smyslu. Jejich účinek na distribuci velikosti částic může kromě praktického efektu mít význam pro osvětlení vlivu jednotlivých složek binární nebo složitější směsi na mechanismus nukleace a růstu nanočástic stříbra, případně i na jejich stabilitu.

## **5.2 K vlivu extraktu z *Paulinia cupana* a extraktů jiných flavonoidních drog na velikost nanočástic stříbra**

Byly vybrány takové extrakty z rostlin, o kterých je známo, že mají značný redukční potenciál ve funkci zhášečů volných radikálů a které obsahují různé typy flavonoidních sloučenin.

Extrakt z rostliny *Paulinia cupana* (acerola) byl vyzkoušen ve čtyřech různých koncentracích. Při 1,8% koncentraci byly vzorky připraveny za různých podmínek, kromě kontinuálního mikrovlnění pulzním mikrovlněním a také v ultrazvukovém poli.

Výsledky jsou na obrázcích 6 – 11 a v tabulce 3. Je patrné, že využití mikrovlnění je vhodnější než ultrazvuk. Nejmenší nanočástice byly získány při pulzním režimu mikrovlnění. V intenzitním průměru byla dosažena bimodální distribuce velikosti, větší frakce měla hodnotu píku 50 nm pro 90 % nanočástic, menší 4 nm pro 10 % nanočástic. V objemovém vyjádření průměru měly téměř všechny nanočástice hodnotu píku 3,7 nm, pouze zlomek procenta měl 38 nm. Při kontinuálním vlnění byly nanočástice větší, v ultrazvuku ještě větší z hlediska intenzitního průměru. Z hlediska objemového průměru byly rozdíly velmi malé.

Vzorky č. 1, 4, 5 a 6 představují řadu snižující se koncentrace extraktu v rozmezí od 1,8 % do 0,18 %. Byla prokázána jasná tendence ke zvětšování nanočástic z hlediska obou charakteristik.

Vzorky č. 7 až 10 představují nanodisperze stříbra připravené redukcí dalších extraktů z flavonoidních drog. Epigalokatechin galát získaný jako 95 % isolát z *Camellia chinensis* byl pro dané účely zcela nevhodný. Při jeho 1,8 % i 0,18 % koncentraci (vzorky č. 7 a 8) byla

získána trimodální distribuce částic s frakcí nadmikronových. Příčinu je možno hledat ve vlivu derivátů kyseliny galové na agregaci primárních nanočástic.

Extrakt ze semen vinné révy obsahuje oligomerní proantokyany, flavonoidy a kyselinu askorbovou. Produkt redukce tímto extraktem (vzorek č. 9) měl relativně velké nanočástice. Příčinou může být příliš nízká koncentrace redukujících látek. Totéž může platit o extraktu z plodů rostliny Açai berry obsahující antokyany, polyfenoly, nenasycené mastné kyseliny, kyselinu askorbovou a mnoho dalších látek. Ve vzorku č. 10 byly nalezeny nadmikronové částice.

### **5.3 K vlivu škrobu různého původu a jeho směsi s extraktem z Paulinia cupana na velikost nanočástic stříbra**

Škrob zvyšuje svou redukční účinnost se stupněm hydrolýzy. Proto došlo k tvorbě nanočástic stříbra až po určité době, patrně po rozpuštění dostatečného podílu amylozy. Na rychlosti tvorby nanočástic se podílí i viskozita. Její hodnota při 0,5 % koncentraci škrobů je oproti vodě jako rozpouštědla jen o malý stupeň zvýšená. Také rozdíly mezi škroby jsou malé (tab. 2). Nejmenší viskozitu má amarantový škrob, což je v souladu s jeho složením, velikostí nativních zrn a patrně i zbobtnalých gelových částic amylopektinu.

Samotné škroby v 0,5 % koncentraci se pro daný účel neosvědčily, byly získány příliš velké a polydisperzní nanočástice (vzorky č. 36 až 38). Po přidání 0,18 % aceroly se především snížila polydisperzita velikosti (vzorky č 39 až 41). Změna byla nejvýraznější u rýžového škrobu. Celkový velikostní průměr se snížil po přidání 0,18 % aceroly z 348 nm na 44 nm.

### **5.4 K vlivu amarantového škrobu a jeho směsi s glukózou a maltózou na velikost nanočástic stříbra**

Všechny vzorky byly připravené kontinuálním působením mikrovln do dosažení teploty blízké bodu varu. Vzorek č. 14 byl připraven z 0,5 % suspenze amarantového škrobu. Výsledky měření signalizují, že byly získány velké nanočástice (340 nm) ve větší frakci a menší (35 nm) v menší frakci. Doba jejich vzniku byla prodloužena tak, jak tomu bylo u jiných škrobů.



Po přidání maltózy se kvalita vzorků zlepšila, průměrná částice byla značně menší, ve vzorcích se však vyskytovaly v malé frakci částice v nadmikronové velikosti (vzorky č. 11 až 13).

Jako další redukční činidlo byla použita glukóza v koncentracích 0,18 % a 1,8 %. Koncentrace amarantového škrobu byla 0,10 %, 0,50 % a 1,00 %. Také glukóza měla na snížení velikosti nanočástic stříbra významný vliv. Vzorek č. 21 prokazuje, že 0,18 % přísada glukózy do 0,5 % škrobu vede ke snížení hodnoty průměrné velikosti nanočástic na osminu až desetinu – z 505 nm na 51 nm nebo 65 nm při opakované přípravě za stejných podmínek (vzorek č. 22). Nevýhodná je malá frakce nadmikronových částic. Po zvýšení koncentrace glukózy na desetinásobek (1,8 %) byly výsledky měření pozoruhodně podobné (vzorek č. 25).

Při snížení koncentrace amarantového škrobu na 0,1 % se změna koncentrace glukózy z 0,18 % na 1,8 % projevila markantně. Zatímco při nízké koncentraci glukózy byla distribuce velikosti částic trimodální (vzorek č. 15), při její vyšší koncentraci byla téměř unimodální s velmi malým podílem nadmikronových částic.

Když byla koncentrace škrobu zvýšena na 1,0 %, byly při použití přísady 0,18 % glukózy získány velké nanočástice (vzorek č. 28). Při známé velikosti amarantových zrn není vyloučena povrchová sorpce části redukovaného stříbra přímo na těchto zbotnalých zrnech. K témuž jevu by mohlo dojít také po přidání glukózy v 1,8 % koncentraci. V tomto případě byly prokázány čtyři frakce – kolem 10 nm, 60 nm, 600 nm a frakce přesahující rozsah měření (vzorek č. 32). Vyšší koncentrace glukózy ovlivnila vznik nanočástic menších než 10 nm.

## **5.5 K vlivu amarantového škrobu a jeho směsi s extraktem z *Paulinia cupana* na velikost nanočástic stříbra**

Srovnáním distribuce velikosti nanočástic připravených ze samotného amarantového škrobu v 0,5 % koncentraci (vzorek č. 14) a v přítomnosti škrobu o stejné koncentraci s přidavkem aceroly v koncentraci 0,18 % (vzorek č. 23 a 24) se získají značně menší nanočástice s menší polydisperzitou a unimodální distribucí. Tuto změnu je možno pokládat v souvislosti s analogicky pozitivním vlivem glukózy ve stejně nízké koncentraci na parametry za významnou. Nanočástice připravené redukcí glukózou byly sice menší, jejich

polydisperzita však byla značně větší. Po zvýšení koncentrace aceroly na 1,8 % byly připraveny dva vzorky, které se značně lišily polydisperzitou. Jeden měl unimodální distribuci velikosti (vzorek č. 26), druhý trimodální s podílem částic přesahujícím limit měřitelnosti (vzorek č. 27), obdobně jak tomu bylo v případě kombinace 0,5 % amarantového škrobu a 1,8 % glukózy (vzorek č. 25). Jedná se tedy o soustavu, která je značně citlivá k dodržení podmínek přípravy.

Po snížení koncentrace škrobu na 0,1 % a a aceroly na 0,18 % byl získán vzorek č. 16, který měl malou polydisperzitu, značně menší než analogický s glukózou (č. 15), také částice byly v průměru menší. Po zvýšení koncentrace aceroly na 1,8 % (vzorky č. 19 a 20) se polydisperzita značně zvýšila. Opakovaně připravené vzorky se značně lišily, rozdíl byl patrný především z hlediska objemového průměru. Vzorek č. 19 měl píky 4,5 nm a 38 nm, vzorek č. 20 měl píky 42 nm, 679 nm a 5100 nm. Z toho je možno vyvodit závěr o značné citlivosti kombinace amarantového škrobu s redukčním agens použitým v odlišné koncentraci.

Výše uvedené konstatování potvrzuje kombinace 1 % škrobu s 0,18 % acerolou. I když celkový průměr byl u vzorků velmi málo odlišný, distribuce se značně lišila v intenzitní i objemové charakteristice (vzorky č. 30 a 31). Při použití aceroly v 1,8 % koncentraci nebyly získány vzorky s dobrými parametry velikosti ani distribuce velikostí, jako pozitivní rys je možno hodnotit reprodukovatelnost parametrů (vzorky č. 34 a 35).

Vzorky č. 42 až 48 představují řadu s konstantní koncentrací aceroly 0,05 % a klesající koncentrací amarantového škrobu. Při 2 % koncentraci škrobu byl získán vzorek s nepříznivým parametrem velikosti i polydisperzity. Snížením koncentrace škrobu na 0,2 % byly získány menší částice s určitým podílem nadmikronových. Při koncentraci škrobu 0,05 % a nižší až k nulové koncentraci byly vzorky s unimodální distribucí velikosti nebo s velmi malým podílem nadmikronové frakce. Z této závislosti plyne závěr, že pro vznik nanočástic postačí 0,05 % koncentrace aceroly.

## **5.6 K vlivu předem zbobtnalého amarantového škrobu a jeho směsi s extraktem z *Paulinia cupana* na velikost nanočástic stříbra**

Vzorky označené č. 49 až 60 se liší od výše popsaných přidáním amarantového škrobu do soustavy ve zbobtnalém stavu při teplotě místnosti. Ke vzniku nanočástic vlivem polysacharidu tak dochází rychleji, již těsně po jeho přidání.

Byly srovnány granulometrické parametry nanodisperzí připravených (a) při teplotě místnosti a (b) při působení mikrovln a zvyšující se teploty. Amarantový škrob byl použit jednak v 0,05 % koncentraci, jednak v 0,50 % koncentraci. Vzorky č. 50 a 52 připravené v prostředí mikrovln a stoupající teploty měly menší průměrné hodnoty velikostního parametru než vzorky č. 49 a 51, které byly připraveny redukcí stříbrných iontů při obyčejné teplotě prakticky bez míchání. Pozoruhodná je unimodální distribuce intenzitního a objemového průměru. Velký rozměr a velmi malá polydisperzita může mít příčinu v adsorpci stříbra na gelových částicích amylopektinu.

Po smíchání škrobu s acerolou v 0,18 % koncentraci byly získány značně menší nanočástice (vzorky č. 53 až 56). Také v této kombinaci redukčních činidel byly získány nanočástice s větším rozměrem metodou přípravy v mikrovlnné troubě při 0,05 % koncentraci škrobu, opačně tomu bylo při použití 0,50 % koncentrace škrobu, což je patrné formou prezentace objemového průměru. Rychlost vzniku nanočástic nebyla mikrovlněním podstatně ovlivněna.

Vzorky č. 57 až 60 byly připraveny sekvenčním působením škrobu a aceroly. Hydrolyzovaný amarantový škrob byl použit v koncentraci 0,05 % a po několika sekundách byl přidán extrakt z aceroly v 0,18 % koncentraci. Jak je z výsledků patrné, v případě nižší koncentrace škrobu nebyl prokázán vliv teploty, v případě vyšší koncentrace škrobu byla získána 13 % frakce nanočástic s intenzitním průměrem 4 nm nebo 80 % frakce nanočástic s objemovým průměrem 12 nm. Z výsledků plyne, že k přípravě nanočástic menších rozměrů nestačí použít samotný škrob, výhodná je jeho kombinace s další redukující látkou.

## 6 Závěry

1. Bylo ověřeno, že přípravu nanočástic stříbra Tollensovou redukční metodou je možno s úspěchem realizovat pomocí mikrovlnění, které pozitivně ovlivňuje proces nukleace a růstu částic patrně mechanismem zvýšené teploty.
2. Vlivu mikrovln v pulzním režimu bude nutno věnovat další pozornost.
3. Z řady testovaných rostlinných flavonoidních extraktů se nejvíce osvědčil extrakt z rostliny *Paulinia cupana* (acerola) obsahující kromě flavonoidů kyselinu askorbovou.
4. Škroby jsou také využitelné jako redukující látky, pomocí nichž je možno získat vysoce polydisperzní směs několika frakcí nanočástic a mikročástic.
5. Z řady škrobů se jevil jako nejvhodnější amarantový škrob, který byl výhodný v kombinaci s další redukující látkou.
6. Jako redukující složka ve směsi s amarantovým škrobem se lépe než glukóza nebo maltóza osvědčila acerola.
7. Při vyšší koncentraci škrobu nelze vyloučit tvorbu redukovaného stříbra na povrchu amylopektinových zbotnalých zrn.

## 7 Literatura

1. <http://www.laboratorios-argenol.com>
2. Choi, O., Deng, KK., Kim, NJ., Surampalli, RY., Hu, Z.: The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res.*, 2008, 42, s. 3066-3074
3. Foldbjerg, R., Olesena, P., Hougaard, M., Danga, DA., Hoffmann, HJ., Autrup, H.: PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicol. Lett.*, 2009, 190, s. 156-162
4. Chaudhry, Q., Castle, L.: Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Addit. Contam.*, 2008, 25, s. 241-258
5. Sibbald, R.G., Contreras-Ruiz, J., Coutts, P., Fierheller, M., et al.: Bacteriology, inflammation, and healing: a study of nanocrystalline silver dressings in chronic venous leg ulcers. *Adv. Skin Wound. Care*, 2007, 20, s. 549-558
6. Kvítek, L.: Nanotechnologie dneška – koloidní stříbro, Katedra fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, 2007, [www.fch.upol.cz](http://www.fch.upol.cz)
7. Klasen HJ. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. Part I early uses. *Burns*, 2000, 30, s. 1-9
8. Yamanaka, M., Hara, K., Kudo, J.: Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, Studied by Energy-Filtering Transmission Electron Microscopy and Proteomic Analysis. *Appld Env Microbiol*, 2005, 71(11), s. 7589-93
9. Liao, SY., Read, DC., Pugh, WJ., Furr, JR., Russell, AD.: Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Lett Appl Microbiol*, 1997, 27, s. 279-283
10. Morones, JR., Elechiguerra, JL., Camacho, A., Ramirez, JT.: The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 2005, 16, s. 2346-53
11. Song, HY., Ko, KK., Oh, LH., Lee, BT.: Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. *Eur Cells Mater*, 2006, 11, s. 58
12. Richard, JW., Spencer, BA., McCoy, LF., Carina, E., Washington, J., Edgar, P., et al.: Acticoat versus silverlon: the truth. *J Burns Surg Wound Care*, 2002, 1, s. 11-20
13. Castellano, JJ., Shafii, SM., Ko, F., Donate, G., Wright, TE., Mannari, RJ., et al.: Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. *Int Wound J*, 2007, 4(2), s. 114-22

14. Landsdown, ABG.: Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care*, 2002, 11, s. 125-38
15. Chopra I.: The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *J Antimicrob Chemother*, 2007, 59, s. 87-90
16. Moyer, CA., Brentano, L., Gravens, DL., Margraf, HW., Monafó, WW.: Treatment of large human burns with 0,5 % silver nitrate solution. *Arch Surg*, 1965, 90, s. 812-67
17. Fox, CL., Modak, SM.: Mechanism of silver sulfadiazin action on burn wound infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 1974, 5(6), s. 582-8
18. Lochner, N. et al.: Silver nanoparticle enhanced immunoassays: one step real time kinetic assay for insulin in serum. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2003, 56, s. 469-477
19. Sanpui, P., Muruquados, A., Prasad, PV., Ghosh, SS., Chattopadhyay, A.: The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag-nanoparticle composite. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, 124, s. 142-146
20. Morones, JR., Elechiguerra, JL., Camacho, A., et al.: The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 2005, 16, s. 2346-2353
21. Jung, W.K. et al.: Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, 74, s. 2171-8
22. Shrivastava, S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., et al.: Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 2007, 18, s. 225103-225112
23. Park, H.J. et al.: Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. *Water Res.*, 2009, 43, s. 1027-32
24. Silver, S.: Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol.*, 2003, 27, s. 341-353
25. Kvítek, L., Pucek, R.: The preparation and application of silver nanoparticles, published online 2005
26. Sato-Berrú, R., Redón, R., Vázquez-Olmos, A., Saniger, JM.: Silver nanoparticles synthesized by direct photoreduction of metal salts. Application in surface-enhanced Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.*, 2009, 40, s. 376-380
27. Sharma, V.K., Yngard, RA., Lin, Y.: Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2009, 145, s. 83-96

28. Shahverdi, AR., Minaeian, S., Shahverdi, HR., Jamalifar, H., Nohi, AA.: Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochem.*, 2007, 42, s. 919-923
29. Shaligram, N.S. et al.: Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the comactin producing fungal strain. *Process Biochem.*, 2009, 44, s. 939-943
30. Raveendran, P., Fu, J., Wallen, SL.: Completely "Green" Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2003, 125, s.13940
31. Huang, H., Yang, X.: Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: A green method. *Carbohydr Res*, 2004, 339, s. 2627
32. Vigneshwaran N, Nachane RP, Balasubramanya RH, Varadarajan PV. *Carbohydr Res*, 2006, 341, s. 2012
33. Kvítek, L., Pucek, R., Panáček, A., Novotný, R., Hrabác, J., Zbořil, R.: The influence of complexing agent concentration on particle size in the process of SERS active silver colloid synthesis. *J Mater Chem*, 2005, 15, s. 1099
34. Saito, Y., Wang, JJ., Batchelder, DN., Smith, DA.: Simple chemical method for forming silver surfaces with controlled grain sizes for surface plasmon experiments. *Langmuir*, 2003, 19, s. 6857
35. Panáček, A., Kvítek, L., Pucek, R., Kolař, M., Večeřová, R., Pizurová, N, et al.: Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J Phys Chem*, 2006, 110(33), s. 16248
36. Kvítek L., Panáček A., Soukupová J., Kolář M., Večeřová R., Pucek R., et al.: Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). *J. Phys Chem C*, 2008, 112, s. 5825
37. Yu, D., Yam, VW-W.: Controlled Synthesis of Monodisperse Silver Nanocubes in Water. *J Am Chem Soc*, 2004, 126, s.13200
38. Yu, D., Yam, VW-W.: Hydrothermal-induced assembly of colloidal silver spheres into various nanoparticles on the basis of HTAB-modified silver mirror reaction. *J Phys Chem B*, 2005, 109(12), s. 5497
39. Califf, RM., Flower, V., Cabell, ChH., Corey, GR.: Novel approaches to clinical trials: device-related infections. *Am. Heart J.*, 2004, 147, s. 599-604
40. Stevens, KNJ. et al.: The relationship between the antimicrobial effect of catheter coatings containing silver nanoparticles and the coagulation of contacting blood. *Biomaterials*, 2009, 30, s. 3682-90

41. Grunkemeier, G.L., Jin, R., Starr, A.: Prosthetic heart valves: objective performance criteria versus randomized clinical trial. *Ann. Thorac. Surg.*, 2006, 82, s. 776-780
42. Jamieson, W.R.E. et al.: Seven-year results with the St Jude Medial Silzone mechanical prosthesis. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2009, 137, s. 1109-1115
43. Andara, M., Agarwal, A., Scholvin, D. et al.: Hemocompatibility of diamondlike carbon-metal composite thin films. *Diamond Relat. Mater.*, 2006, 15, s. 1941-1948
44. Ghanbari, H. et al.: Polymeric heart valves: new materials, emerging hopes. *Trends Biotechnol.*, 2009, 27, s. 359-367
45. Samuel, U. and Guggenbichler, J.P.: Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2004, 23, s. 75-78
46. Roe, D. et al.: Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, 61, s. 869-876
47. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00337714>
48. Bayston, R. et al.: Prevention of infection in neurosurgery: role of "antimicrobial" catheters. *J. Hosp. Infect.*, 2007, 65, s. 39-42
49. Orsi, GB., Scorzolini, L., Franchi, C. et al.: Hospital-acquired infection surveillance in a neurosurgical intensive care unit. *J. Hosp. infect.*, 2006, 64, s. 23-29
50. Galiano, K. et al.: Silver segregation and bacterial growth of intraventricular catheters impregnated with silver nanoparticles in cerebrospinal fluid drainages. *Neurol. Res.*, 2008, 30, s. 285-287
51. Lackner, P. et al.: Efficacy of silver nanoparticles-impregnated external ventricular drain catheters in patients with acute occlusive hydrocephalus. *Neurocrit. Care*, 2008, 8, s. 360-365
52. Jiranek, WA., Hanssen, AD., Greenwald, AS.: Antibiotic-loaded bone cement for infection prophylaxis in total joint replacement. *J. Bone Jt. Surg. Am.*, 2006, 88, s. 2487-2500
53. Alt, V. et al.: An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*, 2004, 25, s. 4383-4391
54. Vlachou, E., Chipp, E., Shale, E., Wilson, Y.T., Papini, R., Moiemmen, NS.: The safety of nanocrystalline silver dressings on burns: a study of systematic silver absorption. *Burns*, 2007, 33, s. 979-985



55. Asz, J., Asz, D., Moushey, R., Seigel, J., Mallory, SB., Foqlia, FP.: Treatment of toxic epidermal necrolysis in a pediatric patient with a nanocrystalline silver dressing. *J. Pediatr. Surg.*, 2006, 41, s. e9-e12
56. Yang, J.Y. et al.: A clinical experience of treating exfoliative wounds using nanocrystalline silver-containing dressing (Acticoat®). *Burns*, 2007, 33, s.793-797
57. Nadworny, P.L., Wang, JF., Tredqet, EE., Burrell, RE.: Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. *Nanomedicine*, 2008, 4, s. 241-251
58. Huang Y. et al.: A randomized comparative trial between Anticoat and SD-Ag in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. *Burns*, 2007, 33, s. 161-166
59. Chen, J. et al.: Effect of silver nanoparticle dressing on second degree burn wound. *Zhonghua Wai Ke. Za Zhi.*, 2006, 44, s. 50-52
60. Lu, S., Gao, W., Gu, HY.: Construction, application and biosafety of silver nanocrystalline chitosan wound dressing. *Burns*, 2008, 34, s. 623-628
61. Gravante, G. et al.: Nanocrystalline silver: a systematic review of randomized trials conducted on burned patients and an evidence-based assessment of potential advantages over older silver formulations. *Ann. Plast. Surg.*, 2009, 63, s. 201-205
62. <http://www.malvern.com/LabEng/products/zetasizer>
63. Malvern Instruments Ltd. Zeta nano series user manual, NK 2003
64. Bolek, D.: Velikost a povrchový náboj oligosterových nanočástic v průběhu jejich zpracování, rigorózní práce, FaF UK, Hradec Králové, 2007, s. 24-26
65. <http://www.cheminnov.com/Material.htm>