

**ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI**  
**FAKULTA STROJNÍ**

**Studijní program:** N0715A270014 - Materiálové inženýrství a výrobní technologie

**Studijní specializace:** Bez specializace

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Antibakteriální nanokompozity připravené pulsní laserovou ablací**

**Autor:** Bc. Martin HOLZMAN

**Vedoucí práce:** Doc. Ing. Tomáš KŘENEK, Ph.D.

Akademický rok 2023/2024

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta strojní

Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Martin HOLZMAN**  
Osobní číslo: **S22N0025P**  
Studijní program: **N0715A270014 Materiálové inženýrství a výrobní technologie**  
Téma práce: **Antibakteriální nanokompozity připravené pulsní laserovou ablací**  
Zadávací katedra: **Katedra materiálu a strojírenské metalurgie**

## Zásady pro vypracování

1. Úvod do problematiky antibakteriálních biomateriálů
2. Popis současného stavu přípravy antibakteriálních biomateriálů
3. Popis pulsní laserové ablace a jejího potenciálu pro funkcionalizaci porézních povrchů
4. Popis vlastního experimentu (laserová příprava koloidních antibakteriálních nanočástic a jejich inkorporace do zubní výplně)
5. Výsledky a diskuze
6. Závěr

Rozsah diplomové práce: **50-70 stran**  
Rozsah grafických prací: **fotodokumentace, obrázky**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

C. Chu et al., Structure optimization and properties of hydroxyapatite-Ti symmetrical functionally graded biomaterial, *Materials Science and Engineering A316* (2001) 205–210.

C. Chenglin et al., Hydroxyapatite–Ti functionally graded biomaterial fabricated by powder metalurgy, *Materials Science and Engineering A271* (1999) 95–100.

T. Hryniewicz et al., Corrosion and surface characterization of titanium biomaterial after magneto-electropolishing, *Surface & Coatings Technology* 203 (2009) 1508–1515.

Q. Bao et al. Pulsed laser deposition and its current research status in preparing hydroxyapatite thin films, *Applied Surface Science* 252 (2005) 1538–1544.

C.F. Koch et al., Pulsed laser deposition of hydroxyapatite thin films *Materials Science and Engineering, C* 27 (2007) 484–494.

Vedoucí diplomové práce: **Doc. Ing. Tomáš Křenek, Ph.D.**  
Nové technologie – výzkumné centrum

Konzultant diplomové práce: **Ing. Štěpán Stehlík, Ph.D.**  
Nové technologie – výzkumné centrum

Datum zadání diplomové práce: **16. října 2023**  
Termín odevzdání diplomové práce: **24. května 2024**

L.S.

---

**Doc. Ing. Vladimír Duchek, Ph.D.**  
děkan

---

**Prof. Ing. Ludmila Kučerová, Ph.D.**  
vedoucí katedry

## **Prohlášení o autorství**

Předkládám tímto k posouzení a obhajobě diplomovou práci zpracovanou na závěr studia na Fakultě strojní Západočeské univerzity v Plzni.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně, s použitím odborné literatury a pramenů uvedených v seznamu, který je součástí této diplomové práce.

V Plzni dne: .....

.....

podpis autora

## **Poděkování**

Chtěl bych vyjádřit své díky především panu doc. Ing. Tomášovi Křenkovi, Ph.D., který v roli vedoucího práce se mnou spolupracoval na nadstandardní úrovni. Dále bych chtěl poděkovat celému týmu z NTC za realizaci celého projektu a Ing. Věře Jandové, Ph.D z AV ČR, v. v. i. za analýzu SEM/EDS.

A v neposlední řadě bych zde vyjádřil upřímnou vděčnost mé rodině za nepřetržitou podporu během mého celého studia.

# ANOTAČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

<b>AUTOR</b>	<b>Příjmení</b> Holzman	<b>Jméno</b> Martin	
<b>STUDIJNÍ PROGRAM</b>	N0715A270014 - Materiálové inženýrství a výrobní technologie		
<b>VEDOUcí PRÁCE</b>	<b>Příjmení (včetně titulů)</b> Doc. Ing. Křenek, Ph.D.	<b>Jméno</b> Tomáš	
<b>PRACOVÍŠTĚ</b>	ZČU - FST - KMM		
<b>DRUH PRÁCE</b>	<b>DIPLOMOVÁ</b>	<b>BAKALÁŘSKÁ</b>	<b>Nehodící se škrtněte</b>
<b>NÁZEV PRÁCE</b>	Antibakteriální nanokompozity připravené pulsní laserovou ablací		

<b>FAKULTA</b>	strojní	<b>KATEDRA</b>	KMM	<b>ROK ODEVZD.</b>	2024
----------------	---------	----------------	-----	--------------------	------

## POČET STRAN (A4 a ekvivalentů A4)

<b>CELKEM</b>	88	<b>TEXTOVÁ ČÁST</b>	63	<b>GRAFICKÁ ČÁST</b>	25
---------------	----	---------------------	----	----------------------	----

<b>STRUČNÝ POPIS (MAX 10 ŘÁDEK)</b> <b>ZAMĚŘENÍ, TÉMA, CÍL POZNATKY A PŘÍNOSY</b>	Diplomová práce je zaměřena na tvorbu antibakteriálních nanočástic Cu a Ag, které následně slouží k funkcionalizaci hladkého a texturovaného Ti povrchu. Cu a Ag koloidní nanočástice jsou připraveny dvěma cestami: a) laserově iniciovanou redukcí Cu/Ag z roztoku jejich solí v přítomnosti disperze hydrogenovaného nanodiamantu, b) pulsní laserovou ablací Cu/Ag terče v ethanolu. Úspěšně získané nanočástice byly charakterizovány pomocí dynamického a elektroforetického rozptylu světla, UV-Vis spektroskopie, Ramanovy spektroskopie, skenovacího elektronového mikroskopu a energiově disperzní rentgenové spektroskopie.
<b>KLÍČOVÁ SLOVA</b> <b>ZPRAVIDLA JEDNOSLOVNÉ POJMY, KTERÉ VYSTIHUJÍ PODSTATU PRÁCE</b>	biomateriály, antibakteriální nanokompozity, pulsní laserová ablace, koloidní nanočástice, nanodiamanty, povrchová chemie

## SUMMARY OF DIPLOMA SHEET

<b>AUTHOR</b>	Surname Holzman	Name Martin		
<b>STUDY PROGRAMME</b>	N0715A270014 - Materials Science and Manufacturing Technology			
<b>SUPERVISOR</b>	Surname (Inclusive of Degrees) Doc. Ing. Křenek, Ph.D.	Name Tomáš		
<b>INSTITUTION</b>	ZČU - FST - KMM			
<b>TYPE OF WORK</b>	<b>DIPLOMA</b>	<b>BACHELOR</b>	<b>Delete when not applicable</b>	
<b>TITLE OF THE WORK</b>	Antibacterial nanocomposites prepared via pulsed laser ablation			

<b>FACULTY</b>	Mechanical Engineering	<b>DEPARTMENT</b>	KMM	<b>SUBMITTED IN</b>	2024
----------------	------------------------	-------------------	-----	---------------------	------

### NUMBER OF PAGES (A4 and eq. A4)

<b>TOTALLY</b>	88	<b>TEXT PART</b>	63	<b>GRAPHICAL PART</b>	25
----------------	----	------------------	----	-----------------------	----

<b>BRIEF DESCRIPTION TOPIC, GOAL, RESULTS AND CONTRIBUTIONS</b>	<p>The diploma thesis is focused on the formation of antibacterial Cu and Ag nanoparticles, which subsequently serve to functionalize the smooth and textured Ti surface. Cu and Ag colloidal nanoparticles are prepared in two ways: a) laser-initiated reduction of Cu/Ag from their salts solution in the presence of hydrogenated nanodiamond dispersion, b) pulsed laser ablation of Cu/Ag target in ethanol. The successfully obtained nanoparticles were characterized by dynamic and electrophoretic light scattering, UV-Vis spectroscopy, Raman spectroscopy, scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy.</p>
<b>KEY WORDS</b>	<p>biomaterials, antibacterial nanocomposites, pulsed laser ablation, colloidal nanoparticles, nanodiamonds, surface chemistry</p>

## Obsah

Přehled použitých zkratk a symbolů.....	10
Seznam obrázků .....	12
Seznam tabulek .....	16
Úvod.....	17
Teoretická část.....	18
1 Bioaktivní nanočástice .....	18
1.1 Rozdělení nanočástic.....	18
1.1.1 Dle vzniku .....	18
1.1.2 Dle interakce s lidskou tkání .....	19
1.2 Syntéza a vlastnosti nanočástic .....	20
1.2.1 Syntéza a vlastnosti nanočástic na bázi uhlíku.....	20
1.2.2 Syntéza a vlastnosti keramických nanočástic.....	20
1.2.3 Syntéza a vlastnosti kovových nanočástic .....	20
1.2.4 Syntéza a vlastnosti polovodičových nanočástic .....	21
1.2.5 Syntéza a vlastnosti polymerních nanočástic .....	21
1.2.6 Syntéza a vlastnosti nanočástic na bázi lipidů .....	21
2 Antibakteriální nanočástice .....	22
2.1 Antibakteriální mechanismy nanočástic.....	22
2.1.1 Oxidační stres.....	22
2.1.2 Uvolňování iontů kovů.....	23
2.1.3 Neoxidační mechanismy .....	23
2.2 Toxický účinek nanočástic .....	23
2.3 Antibakteriální nanočástice obsahující měď .....	24
2.3.1 Metody přípravy nanočástic Cu .....	26
2.3.2 Nanočástice oxidů Cu.....	27
2.3.3 Nanočástice sulfidů Cu.....	27
2.4 Využití antibakteriálních nanočástic obsahující měď .....	28
2.4.1 Hydrogelové obvazy .....	28
2.4.2 Textil .....	28
2.4.3 Stomatologie.....	28
2.4.4 Balení potravin .....	28
2.4.5 Keramika a sklo.....	29
2.5 Antibakteriální nanočástice obsahující stříbro – vlastnosti, příprava, využití .....	29
3 Detonační nanodiamanty (DND) .....	31



3.1	Obecný úvod .....	31
3.2	H-terminace .....	31
3.3	O-terminace .....	32
3.4	Fotokatalytické vlastnosti DND .....	33
4	Návrh experimentu .....	34
4.1	Princip použitých metod.....	34
4.2	Laserem asistovaná fotoredukce Cu a Ag z roztoku jejich solí v přítomnosti silně redukční disperze DND .....	35
4.3	Pulsní laserová ablace Cu a Ag v kapalině .....	35
4.4	Použité měřicí a pozorovací metody a jejich principy .....	35
4.4.1	DLS .....	35
4.4.2	ELS - Zeta potenciál.....	36
4.4.3	UV-Vis .....	36
4.4.4	Ramanova spektroskopie.....	36
4.4.5	SEM.....	37
4.4.6	EDS .....	37
	Experimentální část .....	38
5	Popis vlastního experimentu .....	38
5.1	Příprava a vlastnosti koloidních disperzí hydrogenovaných a oxidovaných DND..	39
6	Metody charakterizace získaných materiálů (DLS, Měření zeta potenciálu, Raman, UV-Vis, SEM/EDS) .....	42
6.1	Měření DLS koloidních disperzí na bázi Cu .....	42
6.2	Měření DLS koloidních disperzí na bázi Ag.....	44
6.3	Měření zeta potenciálu koloidních disperzí na bázi Cu .....	47
6.4	Měření zeta potenciálu koloidních disperzí na bázi Ag.....	47
6.5	Měření UV-Vis koloidních disperzí na bázi Cu.....	48
6.6	Měření UV-Vis koloidních disperzí na bázi Ag.....	49
6.7	Ramanova spektroskopie sorbovaných částic na bázi Cu .....	51
6.8	Ramanova spektroskopie sorbovaných částic na bázi Ag.....	53
6.9	SEM/EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu .....	54
6.10	SEM/EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag.....	68
7	Diskuse výsledků.....	77
	Závěr.....	79
	Seznam použitých zdrojů .....	80
	PŘÍLOHA č. 1 .....	i

## Přehled použitých zkratk a symbolů

NTC	Nové technologie – výzkumné centrum
AV ČR, v. v. i.	Akademie věd České republiky, veřejná výzkumná instituce
AMR	antimikrobiální rezistence (angl. antimicrobial resistance)
DND	detonační nanodiamant (angl. detonation nanodiamond)
NNPs	přírodní nanočástice (angl. natural nanoparticles)
ANPs	antropogenní nanočástice (angl. anthropogenic nanoparticles)
INPs	náhodně uvolněné nanočástice (angl. incidentally released nanoparticles)
ENPs	uměle vytvořené nanočástice (angl. engineered nanoparticles)
ŽP	životní prostředí
CVD	chemická depozice z parní fáze (angl. chemical vapor deposition)
SLN	pevné lipidové nanočástice (angl. solid lipid nanoparticles)
NLC	nanostrukturované lipidové nosiče (angl. nanostructured lipid carriers)
ROS	reaktivní forma kyslíku (angl. reactive oxygen species)
EDS	energieově disperzní spektroskopie (angl. energy-dispersive X-ray spectroscopy)
E. coli	Escherichia coli
FCC	krychlová plošně centrovaná mřížka (angl. face-centered cubic lattice)
PLA	pulsní laserová ablace (angl. pulsed laser ablation)
Nd:YAG	neodymem dopovaný yttrium hliníkový granát (angl. neodymium-doped yttrium aluminum garnet; Nd:Y <sub>3</sub> Al <sub>5</sub> O <sub>12</sub> )
E. aerogenes	Enterobacter aerogenes
S. aureus	Staphylococcus aureus
C. difficile	Clostridium difficile
VRE	vankomycin rezistentní enterokoky (angl. vancomycin-resistant enterococci)
L. acidophilus	Lactobacillus acidophilus
S. mutans	Streptococcus mutans
HPHT	za pomoci vysokého tlaku a vysoké teploty (angl. high-pressure high-temperature)
UHV	ultravysoké vakuum (angl. ultra high vacuum)
DI	deionizovaná (voda)
EtOH	ethanol
DLS	dynamický rozptyl světla (angl. dynamic light scattering)
UV	ultrafialové záření (angl. ultraviolet)
Vis	viditelné záření (angl. visible)

SEM	skenovací elektronový mikroskop (angl. scanning electron microscope)
EDS	energieově disperzní spektrometrie (angl. energy-dispersive X-ray spectroscopy)
ELS	elektroforetický rozptyl světla (angl. electrophoretic light scattering)
LDV	laserová Dopplerova velocimetrie (angl. laser Doppler velocimetry)
ČSN	Česká technická norma
EN	Evropská norma (angl. European Standard)
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci (angl. International Organization for Standardization)
TEM	transmisní elektronový mikroskop (angl. transmission electron microscope)
SAXS	malouhlový rozptyl rentgenového záření (angl. small-angle X-ray scattering)

## Seznam obrázků

Obr. 1: Schéma koloběhu a vzniku nanočástic v životním prostředí [2] .....	19
Obr. 2: Schéma znázornění klasifikace biomateriálů na příkladu kostního šroubu [4] .....	20
Obr. 3: Různé procesy, které jsou základem antimikrobiálního mechanismu [11] .....	22
Obr. 4: Fotografie a absorpční spektra čistých (a), oxidovaných (b) a agregovaných (c) nanočástic Cu [18].....	25
Obr. 5: Reprezentativní snímky z elektronové mikroskopie syntetizovaných Cu nanostruktur. (a - d) Cu nanosféry, (e, f) Cu nanokrystaly, (g) Cu nanohvězdice, (h, i) Cu nanokolonie [21] .....	26
Obr. 6: A. Metoda mikroemulze B. Metoda pulsní laserové ablace C. Biosyntéza Cu nanočástic [20, 22–24] .....	27
Obr. 7: Schéma účinku antibakteriální aktivity pomocí fototermální terapie [30] .....	28
Obr. 8: Reprezentativní snímky z elektronové mikroskopie syntetizovaných Ag nanostruktur. (A) Ag nanosféry, (B) Ag nanořetízky, (C - E) Ag nanohranoly, (F) Ag nanotetraedry, (G) Ag nanohvězdice, (H) Ag nanodráty, (I) Ag nanočástice zapuštěná do částice oxidu křemičitého SiO <sub>2</sub> [34].....	29
Obr. 9: Znázornění dipólu vytvořeného na povrchu (100) s H-terminací diamantu, který vzniká při působení rozdílem elektronegativity mezi C a H [36].....	31
Obr. 10: (a) Vývoj plynného H <sub>2</sub> , CO a CH <sub>4</sub> z hydrogenovaných ND v deionizované vodě v závislosti na čase při ozařování 532 nm Nd:YAG laserovými pulzy (b) Histogram zobrazující rychlost vývinu H <sub>2</sub> , CO a CH <sub>4</sub> se změnou rychlosti vývinu při pročištění O <sub>2</sub> [37] .....	33
Obr. 11: Schémata pro přímou fotoredukci a fotosenzibilizační redukci roztoků solí kovů nebo kapalných prekurzorů [42] .....	35
Obr. 12: Fotodokumentace zařízení pro funkcionalizaci Ti povrchů nanočásticemi pomocí pulsní laserové ablace (1 - Nd:YAG laser, 2 - reaktorová komora, 3 - optické komponenty: fokusační čočky, těsnění, příruby, vstupní okénka) [43] .....	38
Obr. 13: Schéma fotoredukce Cu nebo Ag z jejich solí v připraveném koloidu s DND [20]..	39
Obr. 14: Schéma pulsní laserové ablace Cu nebo Ag tuhého terče v EtOH [20].....	39
Obr. 15: DLS velikostní distribuce hydrogenovaných DND v DI H <sub>2</sub> O dle intenzity .....	40
Obr. 16: DLS velikostní distribuce oxidovaných DND v DI H <sub>2</sub> O dle intenzity .....	40
Obr. 17: Distribuce zeta potenciálu hydrogenovaných DND v DI H <sub>2</sub> O .....	41
Obr. 18: Distribuce zeta potenciálu oxidovaných DND v DI H <sub>2</sub> O .....	41
Obr. 19: DLS koloidu na bázi Cu DND před fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	42
Obr. 20: DLS koloidu na bázi Cu DND po 5 minutách fotoredukce laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	42
Obr. 21: DLS koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm, vlevo), kyveta měřeného koloidu se sedimentem (vpravo) .....	43
Obr. 22: DLS koloidu na bázi Cu DND před fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	43

Obr. 23: DLS koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	43
Obr. 24: DLS koloidu na bázi Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	44
Obr. 25: DLS koloidu na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), měření po 1 týdnu.....	44
Obr. 26: DLS koloidu na bázi Ag DND před fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	45
Obr. 27: DLS koloidu na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	45
Obr. 28: DLS koloidu na bázi Ag DND před fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	45
Obr. 29: DLS koloidu na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	45
Obr. 30: DLS koloidu na bázi Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	46
Obr. 31: DLS koloidu na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm), měření po 1 týdnu.....	46
Obr. 32: UV-Vis koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	48
Obr. 33: UV-Vis koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	49
Obr. 34: UV-Vis koloidu na bázi Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	49
Obr. 35: UV-Vis koloidu na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	50
Obr. 36: UV-Vis koloidu na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	50
Obr. 37: UV-Vis koloidu na bázi Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	51
Obr. 38: Raman sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	51
Obr. 39: Raman sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	52
Obr. 40: Raman sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	52
Obr. 41: Raman sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	53
Obr. 42: Raman sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	53
Obr. 43: Raman sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	54

Obr. 44: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm; a - d).....	55
Obr. 45: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm).....	56
Obr. 46: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	57
Obr. 47: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), měření jedné z částic tvaru „rýže“ .....	57
Obr. 48: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm; a, b).....	58
Obr. 49: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm).....	58
Obr. 50: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	59
Obr. 51: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm).....	59
Obr. 52: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm; a - d) .....	60
Obr. 53: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm) .....	61
Obr. 54: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a - d).....	62
Obr. 55: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti.....	63
Obr. 56: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b).....	64
Obr. 57: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti.....	64
Obr. 58: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti.....	65
Obr. 59: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti.....	66
Obr. 60: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b) .....	67
Obr. 61: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti.....	67
Obr. 62: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm; a, b) .....	68
Obr. 63: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm).....	69
Obr. 64: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	70

Obr. 65: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm).....	70
Obr. 66: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm; a - d) .....	71
Obr. 67: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm).....	72
Obr. 68: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	72
Obr. 69: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm).....	73
Obr. 70: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm; a, b) .....	74
Obr. 71: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm) .....	74
Obr. 72: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b).....	75
Obr. 73: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b).....	75
Obr. 74: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b) .....	76

## Seznam tabulek

Tab. 1: Potenciální mechanismy s genotoxicitou částic [16] .....	24
Tab. 2: Rozmezí hodnot zeta potenciálu pro určení stability koloidu [41] .....	34
Tab. 3: Parametry Nd:YAG laseru .....	38
Tab. 4: Zeta potenciály koloidních disperzí na bázi Cu DND a Cu v EtOH .....	47
Tab. 5: Zeta potenciály koloidních disperzí na bázi Ag DND a Ag v EtOH .....	47
Tab. 6: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	56
Tab. 7: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), měření jedné z částic tvaru „rýže“ .....	57
Tab. 8: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	59
Tab. 9: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	60
Tab. 10: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm) .....	61
Tab. 11: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti .....	63
Tab. 12: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti .....	65
Tab. 13: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti .....	66
Tab. 14: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti .....	68
Tab. 15: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	69
Tab. 16: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm) .....	70
Tab. 17: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	72
Tab. 18: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) .....	73
Tab. 19: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm) .....	74
Tab. 20: Shrnutí výsledků získaných nanočástic na bázi Cu z fotoredukce v přítomnosti disperze DND .....	77
Tab. 21: Shrnutí výsledků získaných nanočástic na bázi Ag z fotoredukce v přítomnosti disperze DND .....	78
Tab. 22: Shrnutí výsledků získaných nanočástic na bázi Cu nebo Ag .....	78



## Úvod

Intenzivní a používání širokospektrálních antibiotik v současném a minulém století vedlo ke vzniku antimikrobiální rezistence (AMR) vůči nim. Zvýšení rezistence mikrobiálních kmenů vůči stávajícím antibiotikům v případě intenzivní péče a dalších lékařských zákroků je v současné době obrovským problémem. Významným problémem AMR jsou evoluční procesy mikrobů, které probíhají během léčby antibiotiky a vedou k dědičné rezistenci. Proto v současnosti roste zájem o výzkum v oblasti nanočástic, které mají potenciál bojovat proti AMR. Antimikrobiální látky (např. Ag) jsou ve skutečnosti známé již od starověku. V současnosti došlo k obrovskému pokroku ve vývoji nanočástic s různou morfologií, jako jsou nanokvěty, nanotyčinky, nanopruty, nanosféry, nanodestičky, protože představují příslib pro potenciální biomedicínské aplikace. Díky tomuto nanorozměru jsou vytvořeny nové vlastnosti a je jim umožněno pronikat do buněk. Proto se teoretická část bude věnovat obecně bioaktivním nanočásticím, dále pak antibakteriálním nanočásticím obsahující Cu a Ag s obecnými mechanismy účinku. Závěrem rešerše budou diskutovány detonační nanodiamanty (DND) jako možný nosič redukčního činidla pro následný experiment.

Cílem práce v experimentální části bude tvorba nanokompozitů na bázi Cu nebo Ag a detonačních nanodiamantů (DND) pomocí pokročilých technik redukce za asistence laserového ozařování (fotoredukce) a pulsní laserové ablace v kapalině. U těchto nanokompozitů budou charakterizovány velikosti částic, zeta potenciály koloidů, chemická složení, morfologie a následně dojde k diskusi, zda a jakým mechanismem došlo k tvorbě nanokompozitů. Tyto nanokompozity budou vytvořeny s cílem poskytnout vysoce účinnou antibakteriální funkcionalizaci titanových povrchů.

## Teoretická část

### 1 Bioaktivní nanočástice

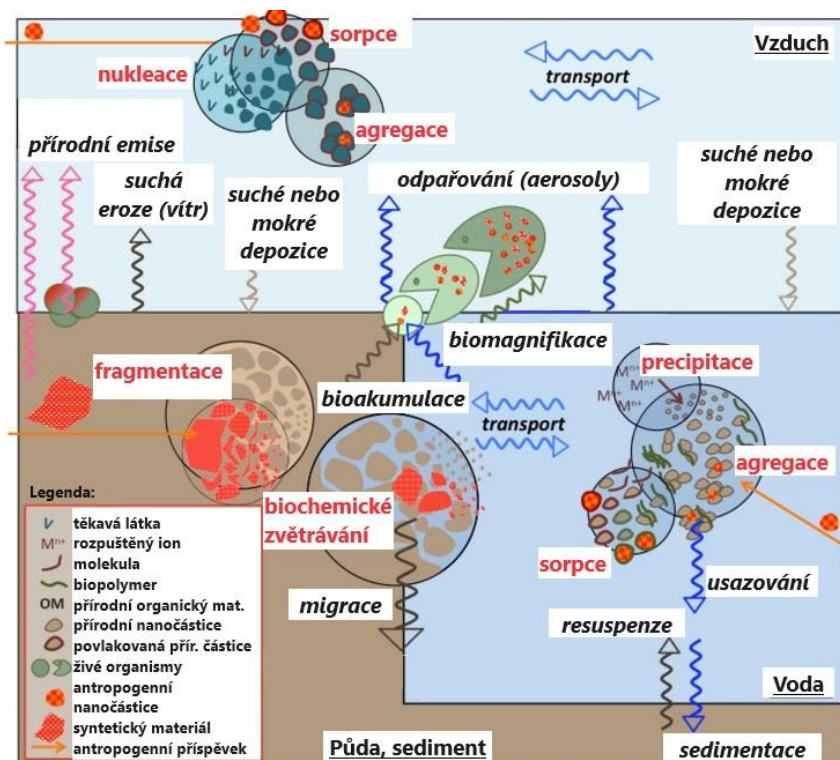
Částice, která má v průměru 1 – 100 nm, se považuje za nanočástici. Díky takto malým rozměrům a vysokému měrnému povrchu mají nanočástice unikátní fyzikální, chemické a biologické vlastnosti. Dnes je možné syntetizovat nanočástice na bázi uhlíku, keramiky, kovů, polovodičů, polymerů a lipidů. Nejčastěji se nanočástice charakterizují pomocí metod elektronové mikroskopie, mikroskopie atomárních sil, dynamického rozptylu světla, rentgenové difrakce, rozptylu rentgenového záření, měření zeta potenciálu, kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií, infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací a termogravimetrické analýzy. Nanočástice našly využití ve spoustě biomedicínských aplikací, dále pak jako stimulatory růstu rostlin, ochrana povrchů, kosmetiky a ukládání energie. Bohužel nanočástice s sebou přináší i zdravotní negativní účinky např. hepatotoxicitu, genotoxicitu, neurotoxicitu apod. Zároveň mohou mít negativní účinky jako inhibitory růstu rostlin a vodních organismů. [1]

#### 1.1 Rozdělení nanočástic

##### 1.1.1 Dle vzniku

Nanočástice přirozeně vyskytující se na Zemi se pohybují v různých složkách (biosféra, litosféra, atmosféra a hydrosféra) v rámci globálního biogeochemického cyklu. Na Zemi mají důležitou, avšak ne zcela komplexně pochopenou roli. Lidské činnosti však narušily koloběh přírodních nanočástic (NNPs) tím, že ovlivnily jejich emise a uvolňování; změnily environmentální procesy zahrnující nanočástice, tedy antropogenní nanočástice (ANPs). Pod ANPs spadají jak náhodně uvolněné nanočástice (INPs), tak uměle vytvořené nanočástice (ENPs). NNPs vznikají v různých složkách ŽP např. biochemickým zvětráváním minerálů, fotooxidací, redoxní a srážecí reakcí, biomineralizací, fragmentací, nukleací plynů a pevných látek v atmosféře atd. Mezi příklady zdrojů ANPs, které jsou zapříčiněny vlastními lidskými činnostmi, patří např. vznik prachu při těžbě, spalování, obdělávání půdy a stavebních pracích či demolicích. ANPs také vznikají v důsledku životního cyklu výrobků i díky přírodním procesům. Například zvětrávání plastů vede ke vzniku mikroplastů a nanoplastů ve vodách a mořských organismech, což přináší stále nekvantifikované, ale potenciální riziko v ŽP pro všechny formy života. [2, 3]

Na obr. 1 je vyobrazeno schéma koloběhu nanočástic v ŽP. Procesy distribuce mezi složkami ŽP jsou psány kurzívou, vznik a přeměna jsou v kroužcích. ANPs (červeně) pocházející z makroskopických nebo nanomateriálů se po uvolnění do životního prostředí účastní stejných distribučních a transformačních procesů. [2]



Obr. 1: Schéma koloběhu a vzniku nanočástic v životním prostředí [2]

### 1.1.2 Dle interakce s lidskou tkání

Pokud nanočástice interagují s biologickými systémy, pak se jedná o biomateriály. Jedná se o přírodní, syntetické, živé, nebo neživé materiály. Biomateriály lze klasifikovat dle jejich biokompatibility jako bioaktivní, biodegradabilní, bioinertní nebo biotolerantní, viz obr. 2. [4]

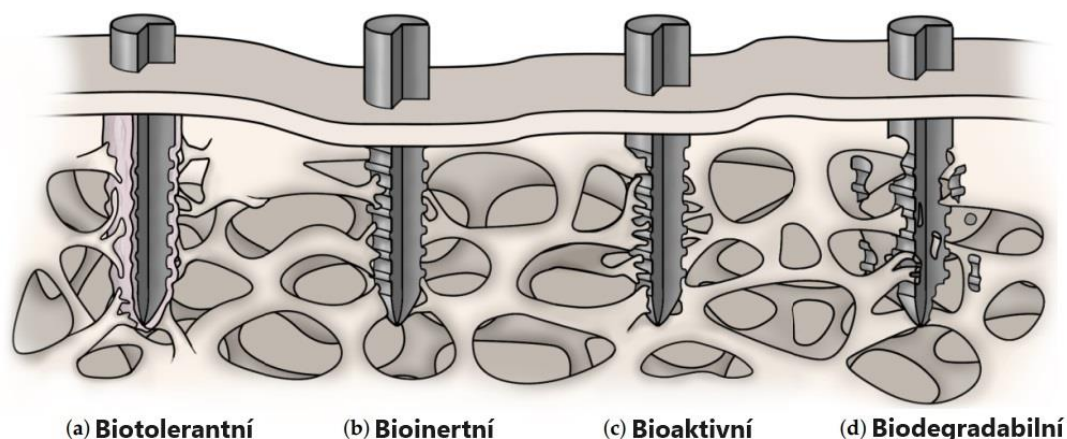
Biotolerantní materiály jsou hostitelem přijímány, ale hostitelova tkáň a implantát jsou odděleny vzniklou vláknitou tkání (jizvou). Vrstva vláknité tkáně vyrostle díky uvolňování iontů, korozních produktů a chemických sloučenin z implantátu. Do této klasifikace spadají téměř všechny syntetické polymery a většina kovů. [4]

Bioinertní materiály jsou stabilní a nereagují s tělesnými tekutinami ani tkáněmi. Obecně platí, že jsou bioinertní materiály podobně jako biotolerantní materiály zapouzdřeny vláknitými tkáněmi. Nicméně, díky změnám určitých podmínek (např. úprava povrchu), bioinertní materiály mohou mít strukturální a funkční spojení s přilehlou kostní tkání, aniž by došlo k zapouzdření vláknitými tkáněmi. Typické bioinertní materiály jsou např. Ti a jeho slitiny. [4]

Bioaktivní materiály se využívají např. při kostních implantátech. Fungují v prostředí kostní tkáně tak, že vytvoří chemické vazby s kostní tkání a tím osteogenezi. Bioaktivní materiály se rozdělují na osteokonduktivní a osteoinduktivní. Osteokonduktivní materiály (např. hydroxyapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  a fosforečnan vápenatý  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) umožňují růst kosti podél povrchu bioaktivního materiálu. Osteoinduktivní materiály stimulují a přímo vyvolávají růst nové kosti. Některé materiály s osteoinduktivními vlastnostmi jsou též nazývány osteoproduktivní materiály, protože mohou podporovat růst kosti směrem od místa implantátu, např. bioaktivní skla. [4]

Biodegradabilní materiály jsou materiály, které se v lidské tkáni rozkládají či rozpouštějí. Vzniklé produkty z rozkladu či rozpuštění se obvykle vylučují ledvinami, aniž by způsobovaly závažné účinky na hostitele a životní prostředí. Typickými biodegradabilními polymery jsou kyselina polyglykolová, polymléčná a jejich kopolymery. Příkladem biodegradabilní keramiky

jsou fosforečnany vápníku, síran vápenatý a biokeramiky na bázi křemičitanů. Příkladem biodegradabilního kovu jsou Mg a jeho slitiny. [4–6]



Obr. 2: Schéma znázornění klasifikace biomateriálů na příkladu kostního šroubu [4]

## 1.2 Syntéza a vlastnosti nanočástic

### 1.2.1 Syntéza a vlastnosti nanočástic na bázi uhlíku

Nanočástice na bázi uhlíku se vyrábí za pomoci dvou typů technik: top-down a bottom-up. Top-down technika znamená, že velké uhlíkové struktury jsou rozloženy na nanočástice. Pro tuto techniku se využívá nejčastěji metoda chemické oxidace. Nevýhodami jsou obtíže kontroly reakce a větší velikost nanočástic. Bottom-up technika spočívá ve vytvoření nanočástic za pomoci menších uhlíkových struktur a rozpouštědel. Typickým příkladem bottom-up techniky je hydrotermální metoda. Nejčastěji využívané metody pro syntézu nanočástic na bázi uhlíku jsou: chemická metoda oxidace, pulsní laserová ablace v kapalině, hydrotermální metoda, metoda obloukového výboje a chemická depozice par (CVD). Vlastnostmi jsou vysoká anizotropní tepelná vodivost, dobrá elektrická vodivost, vysoká povrchová plocha, různé strukturální modifikace, vysoká stabilita, nízká toxicita, šetrnost k životnímu prostředí a biokompatibilita. [1]

### 1.2.2 Syntéza a vlastnosti keramických nanočástic

Keramické nanočástice se syntetizují pomocí laserové pyrolýzy, metody sol gel, elektrodepozice, mikroemulze a mechanickochemické syntézy. Vlastnostmi jsou chemická odolnost a inertnost, vysoká tepelná odolnost, vysoká mechanická pevnost, extrémní odolnost vůči pH, vysoká stabilita, snadná inkorporace do hydrofobních a hydrofilních systémů. Typickými příklady nanočástic jsou SiC, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> a hydroxyapatit Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>. [1, 7]

### 1.2.3 Syntéza a vlastnosti kovových nanočástic

Kovové nanočástice zahrnující techniku top-down využívají metody naprašování iontovým svazkem, mletí kuličkami, laserové ablace a pyrolýzy. Bottom-up techniky využívají metody chemické redukce kovových iontů z roztoku, radiačně indukované syntézy a zelené syntézy. Metoda zelené syntézy spočívá ve využití určitých bakterií, hub, kvasinek, rostlin a enzymů pro bioredukci kovových iontů na nanočástice. Vlastnostmi kovových nanočástic jsou vysoká mechanická pevnost, vysoký poměr povrchu k objemu, nízká teplota tání, optické vlastnosti, magnetické vlastnosti, vysoké povrchové energie, kvantové efekty, excitace plazmonů. [1]

#### 1.2.4 Syntéza a vlastnosti polovodičových nanočástic

Polovodičové nanočástice jsou vyráběny za pomoci zmenšení již vyrobených polovodičů, což vede ke změně fyzikálních i chemických vlastností. Každý druh polovodičových nanočástic má svůj specifický způsob výroby, přičemž jedním z nejobvyklejších způsobů je použití organokovových látek, při kterém jsou tyto látky podávány do horkého rozpouštědla ke zlepšení tvorby monodispersních nanočástic během nukleace (produktem jsou nanočástice CdSe). Zelená syntéza se využívá pro výrobu PbSe a využívá houby rodu trichoderma. Polovodičové nanočástice mají unikátní optoelektronické, magnetické vlastnosti, často extrémně malé velikosti (1 – 20 nm) a vykazují kvantové efekty jako rozšiřování pásu zakázaných energií s klesající velikostí, čímž lze například ladit vlnovou délku jejich fluorescence. V současnosti se již využívají v zobrazovacích technologiích. [1]

#### 1.2.5 Syntéza a vlastnosti polymerních nanočástic

Odpařování rozpouštědla byla první metoda vyvinutá pro přípravu polymerních nanočástic z předem připraveného polymeru. Technika spočívá v přípravě organické fáze z polárního organického rozpouštědla, v němž se rozpustí polymer. Následně se účinná látka (např. léčivo) do této fáze rozpustí nebo disperguje. Organický roztok se emulguje ve vodné fázi s povrchově aktivní látkou (např. polyvinylacetát; PVA), a poté se obvykle zpracovává pomocí vysokorychlostní homogenizace nebo ultrazvuku, čímž vzniká nanodisperze. Po odpaření rozpouštědla lze ztuhlé nanočástice promýt a purifikovat centrifugací. Další metoda zvaná emulgace s difuzí rozpouštědla spočívá ve vytvoření emulze mezi částečně vodou mísitelným rozpouštědlem obsahujícím polymer a vodným roztokem s povrchově aktivní látkou. Modifikace této metody zvaná emulgace s reverzním vysolováním spočívá v tom, že vodný roztok obsahuje navíc gel ze salting-out činidla a koloidního stabilizátoru. Poslední známou metodou je nanoprecipitace. Princip spočívá v mezifázovém usazování polymeru po vytěsnění organického rozpouštědla z lipofilního roztoku do vodné fáze. Nanočástice polymerů jsou často uzavřeny ve větším polymeru. Přední výhodou nanočástic polymerů je jako u polymerů velký počet opakujících se jednotek (merů) vytvářejících řetězcové struktury. Díky tomu je možné vytvářet rozmanité složení, struktury a vlastnosti. Dalšími vlastnostmi jsou biodegradabilita, biokompatibilita a funkcionalizace. [1, 8]

#### 1.2.6 Syntéza a vlastnosti nanočástic na bázi lipidů

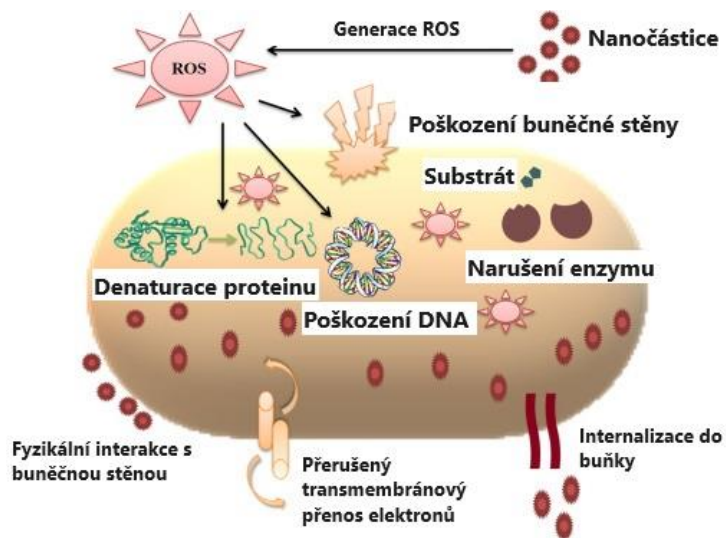
V případě nanočástic na bázi lipidů jsou nanočástice (léčiv) uzavřeny uvnitř lipidové vrstvy či dvojvrstvy. Rozlišují se pevné lipidické nanočástice (SLN) a nanostrukturované lipidové nosiče (NLC). SLN (např. komplexní směsi glyceridů, vysoce čisté triglyceridy nebo vosky) jsou součástí koloidu ve vodném roztoku s tenzidy. Tak jako pro všechny nanočástice i zde platí, že odpudivé síly společně s Brownovým pohybem působící na nanočástice vyvažují gravitační sílu, což vede ke vzniku koloidního systému. NLC jsou modifikací SLN, obsahují navíc lipid, který se nachází při aplikaci v lidském těle v tekuté fázi (např. monoglyceridy, skvalen, sójový lecitin). Syntéza SLN i NLC probíhá nejčastěji za pomoci techniky vysokotlaké homogenizace. Ohřátý tenzid se přidá do smíšené směsi lipidů obsahujících nanočástice léčiva (zhruba 10 °C nad teplotou tání). Výsledná mikroemulze se následně homogenizuje za vysokého tlaku, čímž se získá horká nanoemulze. Obvykle se před homogenizací provádí krok předemulgace. Vlastnosti nanočástic na bázi lipidů jsou vysoký poměr povrchu a objemu, vysoká reaktivita a účinnost absorpce v těle. Lipidové nanočástice jsou vysoce biokompatibilní a biodegradabilní, velmi se hodí např. na doručování léčiv. [1, 9, 10]

## 2 Antibakteriální nanočástice

Antibakteriální nanočástice mají díky svému nanorozměru nové vlastnosti a je jim umožněno pronikat do buněk. Dominantní výhodou je, že mají velký poměr povrchu k objemu, a proto mohou být účinné antimikrobiální interakce s bakteriemi a biofilmy. Principy antimikrobiálního působení nejsou dosud dobře známy a ovlivňují je složení, tvar, velikost, zeta potenciál a povrch. Změny těchto vlastností umožňují vyladit jejich antimikrobiální aktivitu pro specifické aplikace. Základem antimikrobiální aktivity jsou fyzikální, chemické a toxikologické principy. Anorganické nanočástice (především kovy a oxidy kovů) jsou považovány za jedno z řešení proti antimikrobiální rezistenci. Z oxidů kovů jsou v současnosti nejvíce zkoumány nanočástice ZnO, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, TiO<sub>2</sub>, MgO, CuO, CeO<sub>2</sub> a Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Nejstudovanější kovové nanočástice z ušlechtilých kovů jsou Ag, Au, Cu, Pd, Pt a z jiných kovů Ga, Ni, W. [11]

### 2.1 Antibakteriální mechanismy nanočástic

Pro dosažení antibakteriální funkce musí být nanočástice v kontaktu s bakteriálními buňkami. Formy kontaktu jsou především: elektrostatická přitažlivost, van der Waalsovy síly, vazba typu receptor-ligand a hydrofobní interakce. Nanočástice procházejí bakteriální membránou a ovlivňují tak průběh metabolické dráhy, čímž mění tvar a funkci buněčné membrány. Následně nanočástice interagují se základními složkami bakteriální buňky (DNA, lysozomy, ribozomy a enzymy), což vede k oxidačnímu stresu, heterogenním změnám, změnám propustnosti buněčné membrány, elektrolytové nerovnováze, inhibici enzymů, deaktivaci proteinů a změnám genové exprese. Nejčastějšími mechanismy v současnosti v oblasti výzkumu jsou oxidační stres, uvolňování iontů kovů a neoxidační mechanismy. Procesy antibakteriálních mechanismů jsou zobrazeny na obr. 3. [12]



Obr. 3: Různé procesy, které jsou základem antimikrobiálního mechanismu [11]

#### 2.1.1 Oxidační stres

Základním antibakteriálním mechanismem je oxidační stres vyvolaný reaktivní formou kyslíku (ROS). ROS je typem nestabilní molekuly či reaktivní meziprodukt obsahující kyslík, který snadno reaguje s jinými molekulami v buňce díky silnému kladnému redoxnímu potenciálu. Různé typy nanočástic produkují různé ROS redukcí molekul kyslíku. Rozdělují se čtyři typy ROS: superoxidový radikál ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), hydroxylový radikál ( $\cdot\text{OH}$ ), peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a singletový kyslík ( $\text{O}_2$ ). Kupříkladu nanočástice CaO a MgO mohou tvořit  $\cdot\text{O}_2^-$ ,

zatímco ZnO ne (ZnO tvoří  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\cdot\text{OH}$ ). Naproti tomu oxidy Cu mohou generovat všechny typy ROS. Dnes je díky studiím dokázáno, že  $\cdot\text{OH}$  a  $\text{O}_2$  mohou vést k akutní smrti mikrobů, kdežto  $\cdot\text{O}_2^-$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$  způsobují méně akutní stresové reakce a mohou být neutralizovány endogenními antioxidanty, jako jsou superoxidové enzymy a kataláza. Hlavními faktory, které ovlivňují produkci ROS jsou krystalická struktura, vady mřížky a kyslíkové vakance v krystalu. Za normálních okolností by měla být produkce a eliminace ROS v bakteriálních buňkách vyvážená. Při nadměrné produkci ROS díky zmíněným faktorům redoxní rovnováha buňky upřednostňuje oxidaci. Oxidace, jakožto projev nevyváženého stavu vyvolá oxidační stres, který přispívá ke změně propustnosti buněčné membrány a poškozuje jednotlivé složky bakteriálních buněk. Nanočástice produkují ROS různými mechanismy. Současným převládajícím postojem je fotokatalytická hypotéza. Když nanočástice oxidů kovů přijmou světelné záření s energií větší nebo energií rovnou zakázanému pásmu, elektrony ( $e^-$ ) ve valenčním pásmu jsou stimulovány a přejdou do vodivostního pásmu. Následkem je vznik díry ve valenčním pásmu ( $h^+$ ) a produkce vysoce reaktivních reaktantů (elektronů a děr) na povrchu a uvnitř katalytického materiálu.  $\text{H}^+$  interaguje s  $\text{H}_2\text{O}$  nebo  $\text{OH}^-$  a ulpívá na povrchu nanočástice, následně se pak zoxiduje na hydroxylový radikál ( $\cdot\text{OH}$ ). Podobně se hydroxylový radikál díky elektronovým interakcím s  $\text{O}_2$  a přilnutím k povrchu redukuje na superoxidový radikál ( $\text{O}_2^-$ ). Dále se předpokládá, že antimikrobiální aktivita nevyžaduje specifické umělé UV zařízení, ale že antimikrobiální aktivace je dosaženo i při běžném osvětlení. Dokonce existuje studie, která prokázala antimikrobiální aktivitu ZnO i ve tmě. [11–14]

### 2.1.2 Uvolňování iontů kovů

Tento princip je založený na tom, že oxidy kovů uvolňují ionty kovů a jsou absorbovány přes buněčnou membránu. V buňce následně dochází k přímé interakci s funkčními skupinami (typicky sulfanylová skupina (-SH), aminoskupina (-NH<sub>2</sub>) a karboxylová skupina (-COOH)) proteinů a nukleových kyselin, což poškozuje aktivitu enzymů, mění strukturu buňky, ovlivňuje fyziologické procesy a ve výsledku dojde k inhibici mikroorganismu. Nicméně, suspenze oxidů kovů má malý vliv kovových iontů na pH uvnitř lipidových vezikul během antibakteriálního procesu a antimikrobiální aktivita je slabá. Rozpuštěné ionty kovů nejsou hlavním antimikrobiálním mechanismem nanočástic oxidů kovů. Ionty těžkých kovů ale mohou nepřímo působit jako nosiče antimikrobiálních látek díky průniku do buněčné membrány, a zasahovat tak do přenosu transmembránových elektronů. [12]

### 2.1.3 Neoxidační mechanismy

Tyto antibakteriální mechanismy nanočástic nesouvisí s peroxidací membránových lipidů jako je tomu u oxidačního stresu. Neoxidační mechanismus byl vyvozen na základě toho, že když je bakteriální buněčná membrána porušena s jasně viditelnými povrchovými póry, nejsou v buňce pozorovány nanočástice. Kromě toho nejsou ve spektrech EDS patrné žádné nadměrné ionty. Inhibiční účinek oxidů kovů tedy poškozuje buněčnou membránu. Dále některé typy nanočástic zároveň negenerují ROS. Posledním důkazem je to, že lipopolysacharid (LPS) a fosfatidylethanolamin (PE, též kefalín) se v buněčné stěně působením některých typů nanočástic výrazně nemění. Toto naznačuje neperoxidaci lipidů a zároveň se nezvyšuje množství proteinů spojených s ROS. Výrazně se snižuje množství kritických buněčných metabolických procesů souvisejících s proteiny. [12]

## 2.2 Toxický účinek nanočástic

Nanočástice oxidů kovů mají sice velký potenciál pro boj s řadou onemocnění a rezistentními kmeny bakterií, ale jejich použití v antimikrobiálních aplikacích je omezené kvůli jejich genotoxicitě. Mechanismy genotoxicity se rozdělují na primární a sekundární, viz

tab. 1. Několika studii bylo prokázáno, že nanočástice oxidů kovů jsou ve vyšších koncentracích toxické pro lidské fibroblasty, makrofágy, ledvinové a jaterní buňky. Díky velmi malým rozměrům se mohou dostat do uvedených míst, která byla dříve pro větší částice nepřístupná. Částice s nízkou reaktivitou v důsledku zvětšeného povrchu její nanoformy může vykazovat zvýšenou aktivitu. Nežádoucí toxicita kovových nanočástic by mohla mít řešení v podobě polymerních povlaků. V experimentálních studiích bylo zjištěno, že u fibroblastů, které byly vystaveny působení samotných nanočástic  $\text{TiO}_2$ , se vážně snižuje objem buněk, jejich proliferace, pohyblivost a schopnost kontrahovat kolagen. Kožní fibroblasty, které byly vystaveny nanočásticím  $\text{TiO}_2$  s polymerními povlaky, dosáhly téměř stejné rychlosti růstu ve srovnání s kontrolními vzorky. Navíc nanočástice  $\text{TiO}_2$  s polymerními povlaky nepřilnuly k buňkám fibroblastů, a tudíž nevstoupily dovnitř na rozdíl od čistých nanočástic  $\text{TiO}_2$ , které pronikly do buněk a provedly morfologické změny. [15–17]

**Tab. 1: Potenciální mechanismy s genotoxicitou částic [16]**

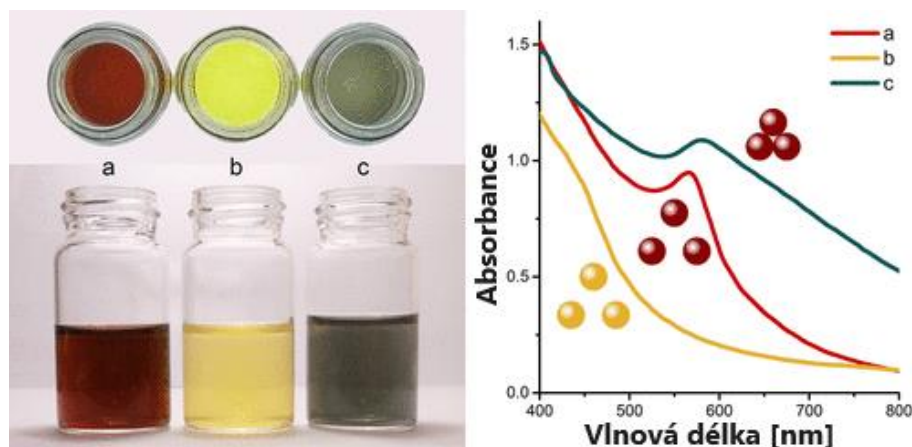
	Primární genotoxicita		Sekundární genotoxicita
Mechanismy	Částice vstupují do jádra a přímo interagují s DNA	Částice vyčerpávají antioxidanty nebo inhibují opravu DNA, takže zvyšují ustálený stav endogenního (oxidačního) poškození DNA, např. v důsledku ROS vznikajících v mitochondriích.	Podněcováno zánětem, např. prostřednictvím oxidantů produkovaných fagocyty.

### 2.3 Antibakteriální nanočástice obsahující měď

Cu má krychlovou plošně centrovanou mřížku (FCC). Obecně se Cu považuje za chemicky stálý kov (stabilizovaný koloid Cu viz obr. 4a), ale to platí pouze pro objemový (bulk) materiál. Díky vysokému měrnému povrchu dochází k poměrně rychlé oxidaci (<30 min pro 5 ml koloidu Cu nanočástic), přičemž dojde ke vzniku jasně žlutého roztoku nanočástic  $\text{Cu}_2\text{O}$ , které absorbují světlo s kratšími vlnovými délkami od fialové po modrou, viz obr. 4b). Sice je oxid  $\text{Cu}_2\text{O}$  obvykle popisován jako červená sloučenina, ale díky své polovodivé povaze má optické vlastnosti závislé na velikosti a mění barvu z červené na žlutou, pokud se velikost částic sníží pod 100 nm. [18]

Koloidní stabilita Cu nanočástic je způsobena odpuzováním mezi nabitými povrchy nanočástic. Umělé snížení této stability (tzv. agregace) koloidu Cu je možné díky přidání kyseliny (např.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Snížení koloidní stability lze pozorovat, když se barva koloidu změní z červené na tmavě zelenou až modrou (obr. 4c) v důsledku aglomerace částic. Barevné změny nesouvisí s chemickou reakcí, ale vysvětlují se rozdílem v optických vlastnostech mezi samostatnými a agregovanými, viz obr. 4 vpravo. [18]

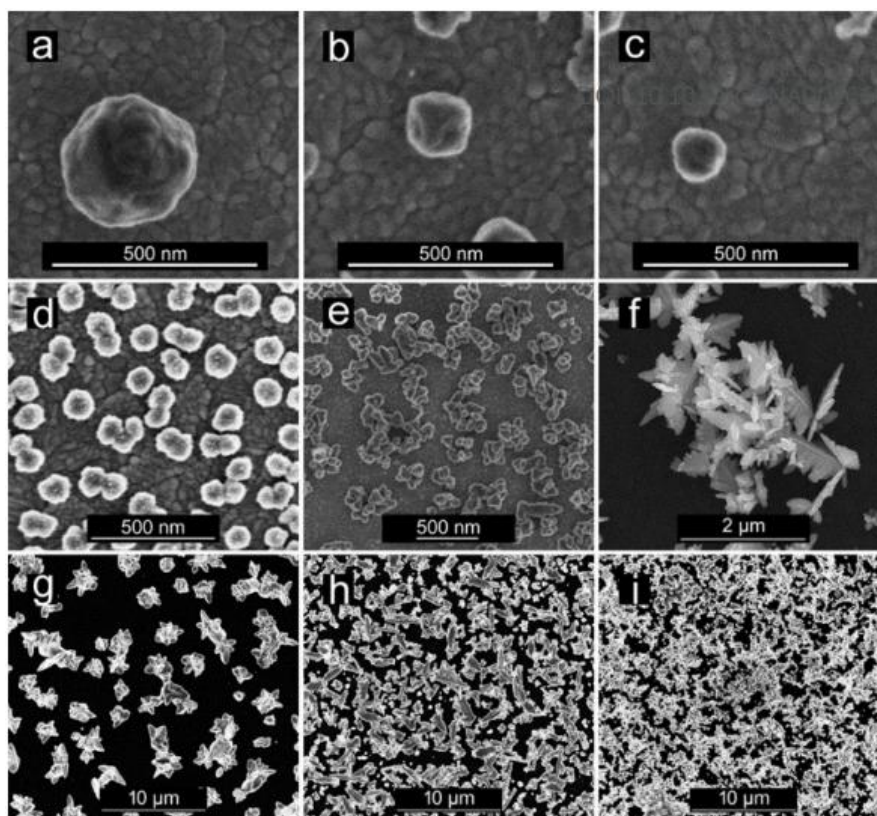




Obr. 4: Fotografie a absorpční spektra čistých (a), oxidovaných (b) a agregovaných (c) nanočástic Cu [18]

Stabilizátory koloidního roztoku Cu nanočástic mohou být např. jodidové ionty. Stabilizace jodidových iontů je založena na vzájemné silové interakci s povrchem Cu, což vede k vytvoření záporného povrchového náboje. V důsledku toho dochází k elektrostatickému odpuzování nabitých povrchů Cu a díky nízké velikosti (10 - 20 nm) přispívá k lepší koloidní stabilitě i Brownův pohyb. Citrátové ionty ( $C_6H_5O_7^{3-}$ ) mohou taktéž zajistit koloidní stabilitu, ale velikosti stabilizovaných Cu jsou však obvykle větší (20 - 40 nm) a jejich optické vlastnosti jsou horší. Ve všech ostatních případech ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $SO_4^{2-}$  a  $B_4O_7^{2-}$ ) jsou Cu nestabilní a sedimentem je černá sraženina. Pro odhad interakcí halogenidových iontů s povrchem Cu lze přibližně použít součinné rozpustnosti pro  $CuCl$  ( $1,72 \times 10^{-7}$ ),  $CuBr$  ( $6,27 \times 10^{-9}$ ) a  $CuI$  ( $1,27 \times 10^{-12}$ ). Čím nižší je tento součinný, tím dojde k silnějším přitažlivějším silám a vytvářejí se silnější vazby. [18]

Nanočástice Cu jsou kladně nabitě a mohou tak snadno reagovat s gramnegativními bakteriemi na základě elektrostatické přitažlivosti. Jejich baktericidní účinek je tudíž větší na gramnegativní bakterie, jako je *E. coli*. Nanočástice Cu mohou snadno proniknout dovnitř bakteriální buňky přes buněčnou membránu. Toxicita zprostředkovaná nanočásticemi Cu v bakteriálních buňkách podporuje degradaci mitochondrií, ribozomů a různých proteinů přítomných v bakteriální buněčné membráně. Karboxylová a aminová skupina, která je přítomná v bakteriální buněčné membráně, pomáhá účinně přitahovat ionty Cu. Toxicita nanočástic Cu se výrazně liší podle velikosti a tvaru částic (vzhled Cu nanostruktur viz obr. 5). Cu má velký redoxní potenciál, který může působit jako donor nebo akceptor elektronů tím, že produkuje ionty Cu. Takto vzniklé ionty jsou pro bakteriální buňky velmi toxické a tvoří pak superoxidy a hydroxylové radikály, což vede k oxidačnímu stresu. [19, 20]



Obr. 5: Reprezentativní snímky z elektronové mikroskopie syntetizovaných Cu nanostruktur. (a - d) Cu nanosféry, (e, f) Cu nanokrystaly, (g) Cu nanohvězdice, (h, i) Cu nanokolonie [21]

### 2.3.1 Metody přípravy nanočástic Cu

Příprava nanočástic Cu je značně ztížena kvůli aglomeraci a rychlé oxidaci. Cu se během přípravy a skladování snadno zoxiduje na CuO a Cu<sub>2</sub>O a poté se přeměňuje na ionty Cu<sup>2+</sup>, takže nelze připravovat tyto nanočástice v běžném prostředí. Optimalizací reakčních podmínek, jako jsou povrchově aktivní látky, prekursorzy, stabilizační činidla a různé typy rozpouštědel, lze řídit při chemické syntéze růst a morfologii nanočástic Cu. [20]

Mikroemulzní metodou za pomoci chemické redukce CuCl<sub>2</sub> lze vyrobit sférické nanočástice Cu o průměru 25 - 50 nm za použití NaBH<sub>4</sub> jako redukčního činidla, 1-hexanolu a cyklohexanu jako stabilizačního činidla a alkylarylpolyetherového alkoholu jako disperzantu (obr. 6A). Nanočástice v kapalině lze poté vysušit proudícím dusíkem. [22]

Stabilní sférické nanočástice Cu o průměru 5 - 20 nm lze také vyrobit za použití destilované vody a acetonu jako rozpouštědla pomocí kapalně pulzní laserové ablace (PLA) měděných terčů Nd:YAG laserem (obr. 6B). Před laserovou ablací byl terč vyčištěn ultrazvukem v acetonu a poté byl ponořen do propanolu. Délka trvání laserového pulzu byla 7 ns a opakovací frekvence 10 Hz při energiích laseru 30, 50 a 70 mJ. Celková doba ablace činila 1 h. [23]

Zajímavou metodou je použití extraktu z fíky (*ficus carica*) jako přírodního redukčního činidla a stabilizačního činidla k redukci CuCl<sub>2</sub> na sférické nanočástice Cu o průměru v rozmezí 60 - 80 nm (obr. 6C). Extrakt z plodů fíků byl připraven důkladným omytím fíků destilovanou vodou a ty následně byly sušeny v sušárně při 40 °C po dobu 6 hodin a rozdrceny. Jedná se o velmi ekologickou metodu vzhledem k nízké spotřebě energie a vyhnutí se chemickým činidlům. [24]



Obr. 6: A. Metoda mikroemulze B. Metoda pulsní laserové ablace C. Biosyntéza Cu nanočástic [20, 22–24]

## 2.3.2 Nanočástice oxidů Cu

$\text{CuO}$  je polovodičová sloučenina krystalizující v monoklinické soustavě. Jako významný polovodič má  $\text{CuO}$  mnoho rozmanitých aplikací např. jako katalyzátor, součásti v plynových senzorech, bateriích, vysokoteplotních supravodičích, solárních článcích. Koloidy s nanočásticemi  $\text{CuO}$  mohou pro přenos energie zlepšit viskozitu kapalin a zvýšit tepelnou vodivost. Krystalové struktury  $\text{CuO}$  mají úzké zakázané pásmo, díky tomu mají fotokatalytické nebo fotovoltaické vlastnosti a jsou relativně stabilní z hlediska chemických i fyzikálních vlastností. Nanočástice  $\text{CuO}$  se také používají ve výzkumu pesticidů díky svým biocidním vlastnostem a antibakteriálnímu působení. Studie ukazují, že nanočástice  $\text{CuO}$  mohou vykazovat antimikrobiální aktivitu proti gramnegativním (*E. aerogenes*) i grampozitivním (*S. aureus*) bakteriím. Dokonce byl prokázán významný cytotoxický účinek na lidskou buněčnou linii rakoviny tlustého střeva. [25, 11, 26]

Biocidní a antibakteriální aktivita úzce souvisí s oxidačním stavem oxidů  $\text{Cu}$ . V případě *E. coli* vykazují nanočástice  $\text{Cu}_2\text{O}$  účinnější antibakteriální aktivitu.  $\text{Cu}_2\text{O}$  mají zároveň vyšší afinitu k bakteriálním buňkám, proto jsou tyto nanočástice jednou z nejpoužívanějších antibakteriálních látek, a to díky svému vysoce účinnému antibakteriálnímu působení proti širokému spektru mikroorganismů. Nanočástice  $\text{Cu}_2\text{O}$  zabíjejí bakterie synergickým efektem především uvolňováním  $\text{Cu}^{2+}$  a produkcí ROS při kontaktu s bakteriemi.  $\text{Cu}^{2+}$  ionty afinitně reagují s aminovými a karboxylovými skupinami na povrchu bakteriálních buněk, což naruší biochemické procesy v buňkách. [27, 20]

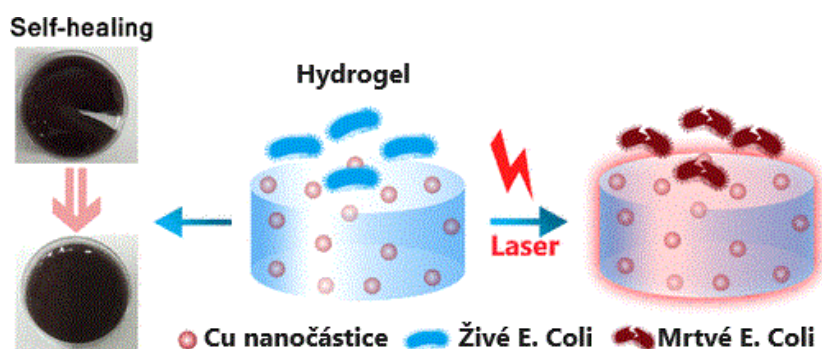
## 2.3.3 Nanočástice sulfidů Cu

Mezi sulfidické nanočástice  $\text{Cu}$  patří sulfidy jako např.  $\text{Cu}_2\text{S}$ ,  $\text{CuS}$ ,  $\text{CuS}_2$  a nestechiometrické sulfidy mědi  $\text{Cu}_{1.12}\text{S}$ ,  $\text{Cu}_{1.75}\text{S}$  atd.  $\text{CuS}$  krystalizuje v šesterečné mřížce a jejich nanočástice mají např. tvar koule či vločky. Nanočástice  $\text{CuS}$  jsou slibným materiálem pro elektrické, optické, environmentální a biomedicínské aplikace. Jsou široce využívány jako antibakteriální látky. Jejich antibakteriální aktivita funguje jako u oxidů na principu uvolnění iontů  $\text{Cu}^{2+}$ , které následně interagují s negativně nabitými proteiny buněčné membrány. Jedna studie dokonce poukázala na lepší antimikrobiální aktivitu a extrémně nízkou cytotoxicitu a vysokou biologickou bezpečnost pro zemědělskou půdu nanočástic  $\text{CuS}$  ve srovnání s tradičními měďnatými sloučeninami. Nanočástice  $\text{CuS}$  by mohly být tudíž výhodné pro syntézu účinného, bezpečného a ekologicky šetrného baktericidu. [20, 28, 29]

## 2.4 Využití antibakteriálních nanočástic obsahující měď

### 2.4.1 Hydrogelové obvazy

Hydrogelové obvazy jsou jedním z důležitých antibakteriálních materiálů. Kvůli AMR a vzniku superbakterií je infekčnost a patogenita tradičních bakterií stále silnější. Byl již vyvinut hydrogelový obvaz s nanočásticemi Cu proti *S. aureus* a *E. coli*. Nanočástice Cu vykazují i fototermální antibakteriální aktivitu (schéma účinku obr. 7). Dále byl vyvinut i antibakteriální hydrogel na bázi škrobu s nanočásticemi křemičitanu měďnatého  $\text{CuSiO}_3$ . [20, 30]



Obr. 7: Schéma účinku antibakteriální aktivity pomocí fototermální terapie [30]

### 2.4.2 Textil

Patogenní mikroorganismy jako jsou *S. aureus*, *C. difficile* a vankomycin rezistentní enterokoky (VRE), se mohou nacházet na textilech v nemocnicích a mohou tak být hlavními zdroji dalších infekcí. Nanočástice Cu a její soli mají významné využití jako antibakteriální látky díky kombinaci nízkých nákladů, snadné přípravě a silnému antibakteriálnímu účinku. Když jsou naneseny na bavlněnou tkaninu, vykazují dobrou stabilitu, čímž zabraňují růstu infekčních agens (choroboplodných zárodků). [20]

### 2.4.3 Stomatologie

S nástupem implantátů jako jedné z hlavních metod léčby pacientů se ztrátou zubů roste počet pacientů s onemocněním v okolí implantátů. Stejně jako parodontitida, je i periimplantitida spojená se zubním plakem. V současnosti jsou Ti a jeho slitiny nejčastěji používanými materiály pro zubní implantáty vzhledem k jejich dobré biologické aktivitě, korozní odolnosti a vynikajícím mechanickým vlastnostem. Jejich povrchy ale nemají žádné antibakteriální či baktericidní vlastnosti. Nicméně, bylo publikováno mnoho studií o tom, že funkcionalizovaný Ti na bázi Cu může s vysokou účinností redukovat počet bakterií usazených či ulpěných na implantátu a potlačit tvorbu bakteriálního biofilmu. Povlak z nanočástic  $\text{CuO}$  a chitosanu může uvolňováním  $\text{Cu}^{2+}$  významně snížit obsah bakterií *L. acidophilus* a *S. mutans* obsažených v ústní dutině. Cu se používá též jako legura pro dentální amalgámy. Tyto amalgámy se obecně označují jako slitiny s nízkým obsahem Cu (5 % nebo méně Cu) a slitiny s vysokým obsahem Cu (13 % až 30 % Cu). Nanočástice Cu je pak možné využít pro dentální polymery, pryskyřice a cementy. [20, 31, 32]

### 2.4.4 Balení potravin

Onemocnění způsobená plísněmi, viry a bakteriemi z potravin jsou příčinou problémů s bezpečností potravin na celém světě důsledkem globalizace. Jednou z neúčinnějších metod snížení rizik onemocnění z potravin je vývoj antibakteriálních obalů. Nanočástice Cu se jako

antibakteriální přísady pro balení potravin připojují k polymerům, jako je karagenan, kyselina polymléčná, polyethylen, škrob, jíly atd. [20]

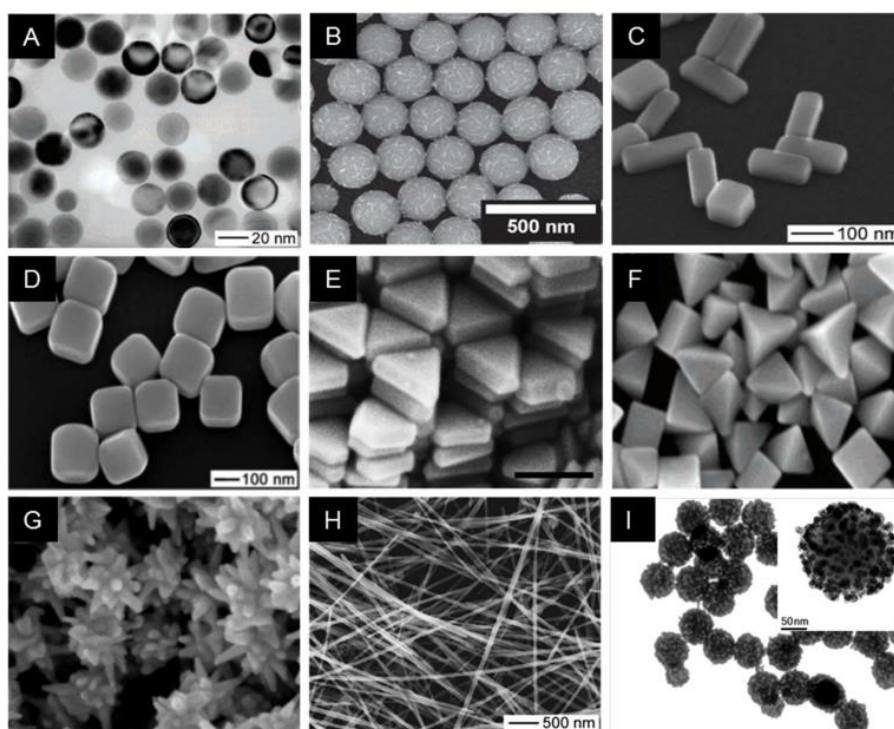
#### 2.4.5 Keramika a sklo

Nanočástice Cu se také hojně používají v antibakteriální keramice, skle a nátěrech. Kromě toho lze nanočástice přidat také do glazury pro výrobu antibakteriální keramiky, aby zajistily antibakteriální vlastnosti povrchu proti *S. aureus* a *E. coli*. [20]

### 2.5 Antibakteriální nanočástice obsahující stříbro – vlastnosti, příprava, využití

V tomto oddílu jsou stručně sumarizovány poznatky o nanočásticích Ag z důvodu významné všeobecné známosti.

Ionty Ag a sloučeniny na jejich bázi mají velkou schopnost zabíjet mikroorganismy. Nanočástice Ag mají tu výhodu, že jejich větší povrch zvyšuje expozici mikrobů. Dostupný povrch nanočástic Ag navíc umožňuje koordinaci mnoha ligandů, což umožňuje obrovské možnosti, pokud jde o funkcionalizaci povrchu. V oblasti nanomedicíny jsou nanočástice Ag důležité díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem a biologické aktivitě, včetně vysoké antimikrobiální účinnosti, relativní netoxičnosti, širokému spektru baktericidních vlastností a protinádorovým vlastnostem. Mají jedinečné schopnosti vytvářet rozličné nanostruktury s relativně nízkými výrobními náklady (příklady nanostruktur viz obr. 8). [33]



Obr. 8: Repräsentativní snímky z elektronové mikroskopie syntetizovaných Ag nanostruktur. (A) Ag nanosféry, (B) Ag nanořetízky, (C - E) Ag nanohranoly, (F) Ag nanotetraedry, (G) Ag nanohvězdice, (H) Ag nanodráty, (I) Ag nanočástice zapuštěná do částice oxidu křemičitého  $\text{SiO}_2$  [34]

Pro účinnou syntézu nanočástic stříbra se vyvinulo mnoho přístupů a metod, včetně fyzikálních, chemických a biologických technik. Fyzikální a chemické metody jsou komerčně výhodnější, biologické metody jsou relativně méně náročné na životní prostředí. [33]

Antibakteriální vlastnosti Ag znali již ve starověku Peršané, Féničané, Řekové, Římané, Egypťané a další, kdy byla voda přepravována a uchovávána ve stříbrných nádobách a zůstala tak déle čerstvá. Vývoj technologií a hlubší poznatky mechanismu působení stříbra, které významně přispěly k usmrcování mikroorganismů, pomohly v nanomedicině v prevenci nemocí. Nanočástice Ag jsou využívány v různých oblastech biomedicíny jako např. podávání léčiv, obvazy na rány, tkáňové scaffoldy a aplikace ochranných povlaků. Mimo biomedicínu nacházejí své uplatnění v dalších odvětvích, např. ve zpracování potravin, zemědělském průmyslu, dále pak ve filtrech jako protinádorová látka. Ag se běžně používá i ve formě dusičnanu stříbrného ( $\text{AgNO}_3$ ) pro antimikrobiální aktivitu. [33, 35]

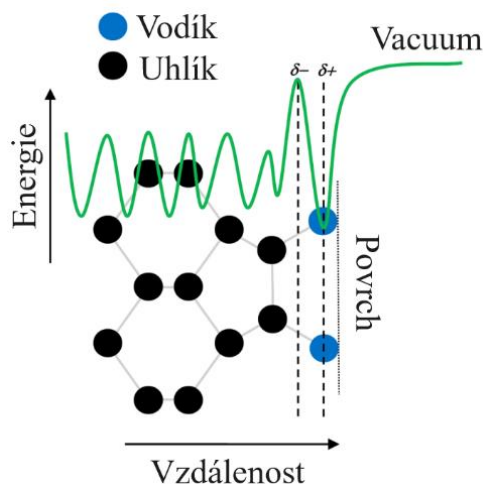
### 3 Detonační nanodiamanty (DND)

#### 3.1 Obecný úvod

Diamanty jsou alotropická modifikace uhlíku a mají mimořádnou kombinaci vlastností, které z nich činí velmi atraktivní materiál pro širokou škálu aplikací. Nízká toxicita umožňuje biomedicínské aplikace. Diamanty jsou především známy svým postavením na vrcholu Mohsovy stupnice tvrdosti. Mají extrémně vysokou tepelnou vodivost až  $22 \text{ Wcm}^{-1}\text{K}^{-1}$  a zároveň jsou díky širokému zakázanému pásmu 5,5 eV elektrickým izolantem. Každý atom C ve struktuře diamantu je tvořen čtyřmi  $sp^3$ -hybridizovanými atomovými orbitaly, které se překrývají se sousedními atomy a vytvářejí sigma ( $\sigma$ ) vazby, čímž vzniká krátká délka kovalentní vazby C - C 0,154 nm a vysoká vazebná energie 711 kJ/mol. Tyto kovalentní vazby umožňují efektivní šíření tepla prostřednictvím mřížkových vibrací, což je původem mimořádné vnitřní tepelné vodivosti diamantu navzdory jeho velkému elektricky izolačnímu chování. Kombinace vysoké tepelné vodivosti a nízké elektrické vodivosti je mezi ostatními materiály neobvyklá. Pevnost vazby C - C také činí diamant chemicky inertním a odolným vůči účinkům ozařování. Nástup syntetického diamantu pomocí např. vysokoteplotních a vysokotlakých technik (HPHT), chemické depozice z plynné fáze (CVD) nebo detonací výbušnin obsahující uhlík (DND) dnes umožnil výrobu materiálu s kontrolovatelnými vlastnostmi. Pokud je jiný zakončující (terminační) atom na povrchu diamantu než C, vzniká dipól v důsledku rozdílu elektronegativity mezi atomem uhlíku a zakončujícím atomem. Nejčastěji studované jsou H- nebo O-terminace, což zapříčiní snížení celkové povrchové energie. Terminace je umožněna díky chemicky aktivnímu povrchu nanodiamantu. [36, 37]

#### 3.2 H-terminace

H-terminace má přímý vliv na povrchovou vodivost diamantu. Diamanty s H-terminací mají zvýšenou emisi elektronů na jeden adsorbovaný foton a tento efekt je přisuzován negativní elektronové afinitě povrchu  $\sim\chi = -1,3 \text{ eV}$ , generované rozdílem elektronegativit vazby C - H. S polárním kovalentním charakterem vazby  $C^{\delta-} - H^{\delta+}$  (znázornění dipólu obr. 9) je spojen pokles elektrického potenciálu kolmo k povrchu diamantu, přičemž elektrické pole se rozšiřuje podél délky vazby C - H. Ionizační potenciál 4,2 eV pro H-terminaci diamantu je nižší než u většiny polovodičů a je umožněn již nízkou elektronovou afinitou vlastního diamantu. Například Si má ionizační potenciál  $\sim 5 \text{ eV}$ , přestože má mnohem menší zakázané pásmo než diamant. [36]



Obr. 9: Znázornění dipólu vytvořeného na povrchu (100) s H-terminací diamantu, který vzniká při působení rozdílem elektronegativity mezi C a H [36]

Pro hydrogenaci diamantových povrchů existuje několik metod. V roce 1873 byla vyvinuta technika leštění diamantového povrchu pomocí olivového oleje a diamantové drti, v které olivový olej údajně působil jako zdroj vodíku a touto metodou bylo dosaženo částečně hydrogenovaného diamantu. Technika plazmou zesíleného CVD (PECVD) pro výrobu diamantu vede obvykle k hydrogenaci již při jeho růstu díky přítomnosti vodíkových radikálů přímo v růstové komoře. V současné době se k výrobě CVD hydrogenovaného diamantu i nanodiamantu používají optimalizované iterace mikrovlnných PCVD (MPCVD) metod. [36, 38]

Pro optimální poměr uhlíku, vodíku a kyslíku v růstové komoře se používá třísloužkového diagramu, který definuje ideální fáze pro nízkotlakou syntézu diamantu, viz [39].

Ex-situ mikrovlnná plazmová H-terminace spočívá v působení vysoce výkonného vodíkového plazmatu při zvýšených teplotách (typicky 600 - 800 °C) na O-terminovaný povrch diamantu. Při této technice dojde k různému zdrsnění povrchu v závislosti na různých faktorech, jako je doba expozice, hustota výkonu plazmatu, kvalita krystalů a leštění. Dalším osvědčeným způsobem je tepelná hydrogenace, která je alternativou k působení plazmatu. Tento přístup využívá dávkování atomárního H za pomoci horkých vláken. Pod UHV lze generovat atomární H pomocí zahřátého wolframového vlákna (~1800 °C) umístěného v blízkosti diamantového povrchu. Pro dosažení hydrogenovaných nanodiamantů je dnes běžnou metodou žíhání DND za proudění vodíku při teplotách nad 600 °C po dobu několika hodin. [36, 38]

### 3.3 O-terminace

Na rozdíl od H-terminace má diamantový povrch s O-terminací kladnou elektronovou afinitu kolem  $\chi = +1,7$  eV. To je díky obrácenému povrchovému dipólu  $C^{\delta+} - O^{\delta-}$ , kde elektronegativita O je větší než C. Chemie O na diamantových površích s nízkým Millerovým indexem C(100) je nicméně více komplikovaná v důsledku koexistence karbonylových, hydroxylových, peroxidových, epoxidových a etherových skupin. [36]

Existují různé možnosti oxidace diamantových povrchů: tepelná oxidace, krakování za tepla, ozonizace, působení plazmatu, chemická oxidace a anodická elektrochemická polarizace. Nejčastější způsoby oxidace nanodiamantů jsou žíhání na vzduchu, chemická oxidace a ozonizace. Způsob oxidace ovlivňuje povrchovou koncentraci O. Ku příkladu metody mokré chemické oxidace vedou k nejvyšší povrchové koncentraci O ~10,2 %, zatímco elektrochemická oxidace vyvolává vysoké pokrytí O  $\geq 18$  %. [36, 38]

Kromě rozdílu elektronové afinity se mohou změny v terminaci povrchu výrazně projevit na tribologických a elektrochemických parametrech a hydrofobicitě. [36]

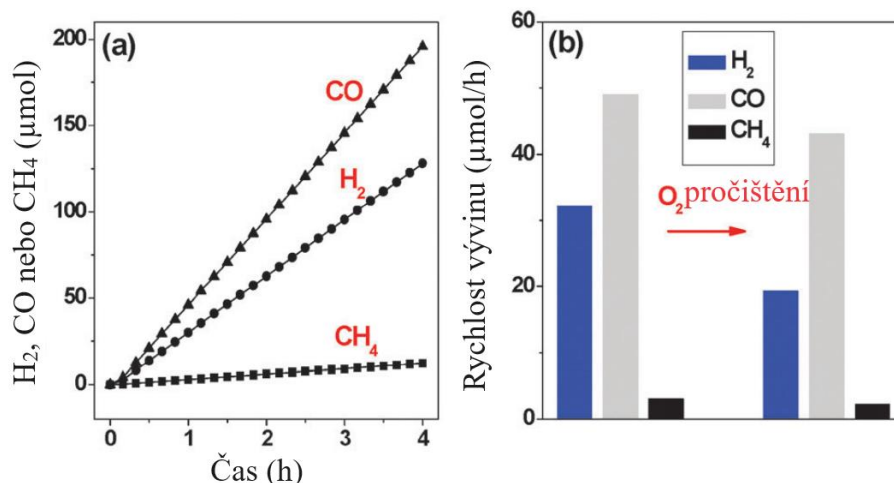


### 3.4 Fotokatalytické vlastnosti DND

Pokud jsou DND upraveny H- nebo O-terminací, dojde k ovlivnění jejich fotoelektrochemických/elektrochemických vlastností. Bylo zjištěno dle několika studií [37, 40], že hydrogenované DND v koloidní disperzi ve vodě rozkládají vodu na H<sub>2</sub> (který se redukuje) a oxid uhelnatý (CO) při ozařování pulzním laserem s vlnovou délkou 532 nm (viz obr. 10 graf a histogram). Dochází ke grafitizaci nanodiamantů do cibulovité uhlíkové struktury. Při této grafitizaci vzniká CO rozkladem grafitických vrstev DND. Jedná se o oxidačně degradační reakci (1), která následně vytvoří laserem indukovanou reakci (2). Minoritní produkt CH<sub>4</sub> (z obr. 10) vznikl pravděpodobně redukcí grafitických vrstev (3):



Nanočástice kovů jako např. Au, Pt, Pd, Ag a Cu na DND zvyšují jak rychlost vývinu plynu, tak grafitizaci. Bylo zjištěno, že Au je z ostatních nanočástic nejúčinnější. Účinek bývá přisuzován účinnému oddělení náboje mezi kovovými nanočásticemi a fotokatalyticky aktivovanými redukčními ND činidly. [37]



Obr. 10: (a) Vývoj plynného H<sub>2</sub>, CO a CH<sub>4</sub> z hydrogenovaných ND v deionizované vodě v závislosti na čase při ozařování 532 nm Nd:YAG laserovými pulzy (b) Histogram zobrazující rychlost vývinu H<sub>2</sub>, CO a CH<sub>4</sub> se změnou rychlosti vývinu při pročištění O<sub>2</sub> [37]

## 4 Návrh experimentu

Cílem experimentu je tvorba Cu a Ag nanočástic a nanokompozitů na bázi DND + Cu nebo Ag, které následně budou sloužit pro funkcionalizaci Ti povrchů. Tyto povrchy s funkcionalizovanými vlastnostmi budou určeny k použití jako implantáty s antibakteriálním účinkem. K tvorbě nanokompozitů budou použity dvě varianty:

- 1) Laserem asistovaná fotoredukce Cu a Ag z roztoku jejich solí v přítomnosti silně redukční disperze hydrogenovaných DND
- 2) Pulsní laserová ablace Cu a Ag v kapalině.

Koloidní roztok, popř. získaný materiál bude pozorován nebo měřen pomocí metod DLS, měření zeta potenciálu, Ramanovy spektroskopie, UV-Vis, SEM/EDS. Součástí vznikajícího Cu/Ag koloidu bude také disperze DND, které budou sloužit jako redukční činidlo a jako činitel ovlivňující zeta potenciál. Nanodiamanty mají totiž nejvyšší známou hodnotu zeta potenciálu (hodnoty až přes  $\pm 60$  mV, vysvětlující tabulka viz tab. 2). Kladný zeta potenciál nanodiamantů je příznivý pro elektrostatické přitahování buněk. V důsledku toho by měly mít Cu nebo Ag nanočástice navázané na DND povrch antibakteriální účinek.

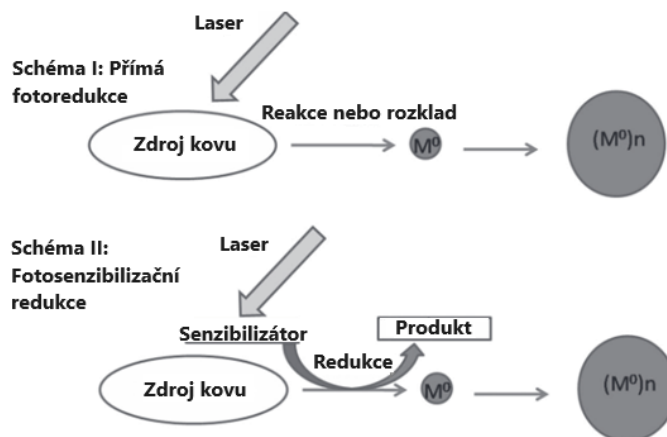
Tab. 2: Rozmezí hodnot zeta potenciálu pro určení stability koloidu [41]

Zeta potenciál mV	Stabilita koloidu
Od 0 do $\pm 5$	Rychlá koagulace nebo flokulace
Od $\pm 10$ do $\pm 30$	Počáteční nestabilita
Od $\pm 30$ do $\pm 40$	Mírná stabilita
Od $\pm 40$ do $\pm 60$	Dobrá stabilita
Více než $\pm 61$	Výborná stabilita

### 4.1 Princip použitých metod

Laserové ozařování pomocí fotoredukce roztoků solí kovů ve vodě nebo kapalných prekurzorů je přístup bottom-up, kterým lze dosáhnout koloidní suspenze nanočástic. Soli kovů v roztoku se nejprve fotochemicky indukují za vzniku neutrálních atomů  $M^0$ , které posléze podléhají shlukování za tvorby nanočástic. Na obr. 11 lze vidět, že  $M^0$  atomy se dají získat buď přímou fotoredukcí kovových iontů pomocí fotochemicky generovaných meziproductů (např. excitované molekuly a radikály) nebo pomocí fotosenzitivního činidla, které fotoredukcí generuje meziproduct. DND navíc mohou fungovat jako substrát (nosič) a reduktant pro výrobu kovových nanokompozitů. Pokud dojde k excitaci nanočástic pomocí fotonů s energií přesahující energii zakázaného pásma, vznikají páry elektronů a děr. Excitované elektrony mohou redukovat ionty kovů adsorbované na povrchu DND za vzniku atomů  $M^0$ . Tyto atomy se spolu shlukují a tvoří samostatné nanočástice, které pak dále mohou vytvářet na povrchu DND vrstvu. Výsledkem je tedy vznik nanokompozitů s DND a kovovým pláštěm. [42]

Princip pulsni laserové ablace je specifikován již v kapitole 2.3.1 [23], dále pak v mé předchozí bakalářské práci [43]. Pulsy laseru dopadají na povrch materiálu (terče), přičemž energie pulsu je absorbována v povrchu materiálu. Doba trvání pulsu je u této metody velice krátká, obvykle v rozmezí nanosekund až femtosekund.



Obr. 11: Schémata pro přímou fotoredukcí a fotosenzibilizační redukcí roztoků solí kovů nebo kapalných prekurzorů [42]

## 4.2 Laserem asistovaná fotoredukcí Cu a Ag z roztoku jejich solí v přítomnosti silně redukční disperze DND

Nejdříve bude proveden experiment pro získání nanočástic Cu tak, že se ve zředěném koloidu DND pomocí deionizované vody (DI) na koncentraci 1 mg/ml nechá rozpustit  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  tak, aby molarita soli byla v koncentraci  $10^{-4}$  M. Poté proběhne pulsní laserové ozařování roztoku  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  v disperzi DND za pomoci Nd:YAG laseru po dobu 30 min. Experiment bude proveden pro druhý (532 nm) a třetí (355 nm) harmonický modul základní vlnové délky laseru, přičemž základní vlnová délka laseru je 1064 nm.

Pro přípravu Ag nanočástic budou platit identické podmínky za použití  $\text{AgNO}_3$  jako výchozí soli.

## 4.3 Pulsní laserová ablace Cu a Ag v kapalině

Druhým způsobem přípravy nanočástic Cu nebo Ag bude ablace tuhého terče z chemicky čistého Cu nebo Ag čtvercového terče o rozměrech 10x10 mm s tloušťkou 2 mm v ethanolu (EtOH) po dobu 2 h. EtOH byl zvolen jako méně korozivní kapalně médium pro vzniklé nanočástice při ablaci z terče. Koloidní disperze Cu v EtOH mají dobrou stabilitu a po dlouhou dobu nemění své vlastnosti. Vodné disperze se naopak v procesu skladování oxidují na dvojmocný oxid CuO a vysráží se. Experiment byl proveden pouze pro 3. harmonický modul (355 nm) základní vlnové délky. [44]

## 4.4 Použité měřicí a pozorovací metody a jejich principy

### 4.4.1 DLS

Metoda dynamického rozptylu světla (DLS), také známá pod názvem fotonová korelační spektroskopie, spočívá v měření Brownova pohybu, který se uvádí do vztahu s velikostí částic a měření závisí na Rayleighově rozptylu koloidních nanočástic. Jedná se o běžně používanou metodu pro stanovení velikosti částic v koloidním roztoku. Princip spočívá v tom, že laser naráží na nanočástice a dopadající světlo se rozptyluje do všech směrů a intenzita rozptylu je zaznamenána detektorem. Rozptýlené světlo buď vede k vzájemně ničivým fázím vln a vzájemně se zruší, nebo interferuje k vzájemně konstruktivním fázím, které pak vytvoří detekovatelný signál. Následně digitální autokorelátor koreluje fluktuaci intenzity rozptýleného

světla vzhledem k času. Z toho lze určit, jak rychle intenzita fluktuuje, což souvisí s difúzním chováním nanočástic. [45, 46]

#### 4.4.2 ELS - Zeta potenciál

Zeta potenciál  $\zeta$  je míra elektrického náboje, který je vyvíjen při přivedení pevného povrchu do kontaktu s vodným roztokem. Vzniklý elektrický náboj na rozhraní má za důsledek, že místní volné ionty v roztoku se přeuspořádají tak, že v blízkosti rozhraní existuje tenká oblast s nenulovým nábojem. Tato oblast je obvykle označována jako elektrická dvojvrstva. Ta se rozděluje na Sternovu a difúzní vrstvu. Okamžitě vedle nabitého pevného povrchu se nachází Sternova vrstva nehybných iontů kvůli silné elektrostatické přitažlivosti. Za ní je difúzní vrstva s ionty, které jsou více pohyblivé. Měření zeta potenciálu jsou založena na nepřímých odečtech pomocí elektrokinetických efektů. Měření v rámci experimentu diplomové práce využívá efektu elektroforézy, kde se pohybují nabitě částice pod vlivem aplikovaného elektrického pole ve vztahu ke kapalině, ve které jsou suspendovány. Technika využívaná pro měření elektroforetické pohyblivosti se nazývá elektroforetický rozptyl světla (ELS). Lze ji najít i pod názvem laserová Dopplerova velocimetrie (LDV). Stejně jako u metody DLS je koloid osvětlen laserovým paprskem viditelné vlnové délky (400 – 800 nm). Při použití elektrického pole se nabitě částice v nepohyblivém koloidu v kapiláře kyvety přesunují k elektrodám v závislosti na znaménku jejich celkového náboje. Na nabitě částice působí i náhodně směřovaný Brownův pohyb. Tato směřovaná složka pohybu způsobuje Dopplerův posun rozptýleného světla rozptýlenými částicemi, který je zachycen optickým systémem a na jehož základě je měřen pohyb částic. Elektroforetická pohyblivost je převedena prostřednictvím modelu vhodného pro typ vzorku podrobeného analýze na hodnotu zeta potenciálu v mV na hydrodynamické kluzné rovině kolem každé částice. Novodobé přístroje umožňují měřit DLS i zeta potenciál. Zeta potenciál koloidů závisí na řadě faktorech, jako je koncentrace iontů, valence iontů, hodnota pH a teplota. [47, 48]

#### 4.4.3 UV-Vis

UV-Vis spektroskopie je založena na interakci světla s látkou a spočívá v absorpci ultrafialového nebo viditelného světla při průchodu vzorkem. Když elektromagnetické vlnění dopadá na materiál, může docházet k jevům, jako je transmisie, absorpce, odraz a rozptyl. Základním konceptem molekulové spektroskopie je, že při absorpci světla látkou dochází k excitaci atomů, což má za následek vznik spektra. K absorpci dochází, když se frekvence dopadajícího světla rovná rozdílu energií mezi základním a excitovaným stavem molekuly. Charakteristická absorpční spektra umožňují vyhodnocení pro řadu látek. Pomocí UV-Vis spektrofotometru lze změřit absorpci sloučeniny a získat její molekulární strukturu a další související informace jako např. koncentraci látky. Vzhledem k nízkým nákladům a snadné realizaci je tato metoda využívána v široké škále aplikací. [49]

#### 4.4.4 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je metoda založená na rozptylu, tzv. Ramanově jevu. Jev spočívá v tom, že frekvence malé části rozptýleného záření se liší od frekvence monochromatického dopadajícího záření. To je uskutečněno díky nepružnému rozptylu dopadajícího záření prostřednictvím jeho interakce s vibrujícími molekulami. Při Ramanově spektroskopii se vzorek osvětluje monochromatickým laserovým paprskem, který interaguje s molekulami vzorku a vzniká rozptýlené světlo. Rozptýlené světlo s jinou frekvencí, než má dopadající světlo (nepružný rozptyl), se používá ke konstrukci Ramanova spektra. Pouze malá část rozptýleného záření má frekvenci odlišnou od frekvence dopadajícího záření a představuje Ramanův rozptyl. Velká část tohoto rozptýleného záření má frekvenci, která se rovná frekvenci

dopadajícího záření a je označována jako Rayleighův rozptyl. Rozptýlené záření se obvykle měří pod pravým úhlem k dopadajícímu záření. Ramanovo spektrum je znázorněno jako závislost intenzity na posunu vlnové délky. [50]

#### **4.4.5 SEM**

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) je metoda, která skenuje povrch vzorku pomocí fokusovaného svazku elektronů a poskytuje detailní zobrazení topografie, složení a vlastností povrchu vzorku. Při interakci svazku elektronů se vzorkem vznikají různé druhy signálů jako např. sekundární elektrony, zpětně rozptýlené elektrony nebo charakteristické rentgenové záření. Signály jsou pak shromažďovány a zpracovávány za účelem vytvoření snímků povrchu vzorku s vysokým rozlišením, které poskytují detailní zobrazení morfologie povrchu při velkém zvětšení. Připravený vzorek musí být upevněn ve vakuové komoře SEM, kde je vystaven elektronovému paprsku pro zobrazování a analýzu. [51]

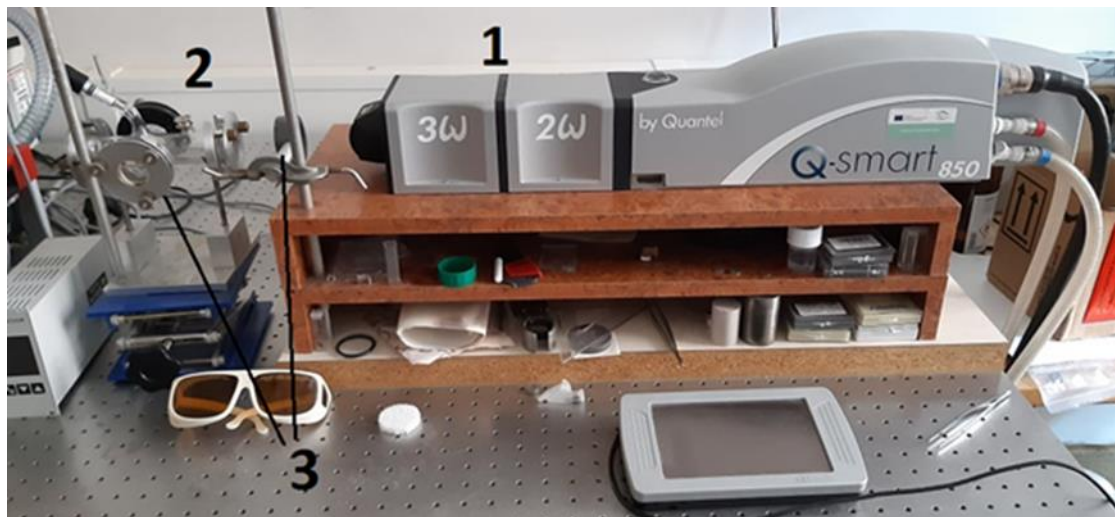
#### **4.4.6 EDS**

SEM často umožňuje provádět prvkovou analýzu pomocí techniky, jako je právě energetická disperzní rentgenová spektroskopie (EDS), která identifikuje prvky a jejich rozložení. EDS funguje na principu detekce charakteristického rentgenového záření při ozáření vzorku svazkem elektronů. Ve vzorku je pro každý prvek vyzařováno rentgenové záření s jednoznačnou energetickou hladinou, což umožňuje prvkovou analýzu. Pro dosažení spolehlivých výsledků je třeba dbát na to, aby byl povrch vzorku čistý. [51]

## Experimentální část

### 5 Popis vlastního experimentu

Na obr. 12 je ukázána experimentální sestava, kterou tvoří samotný laser včetně optických modulů pro změnu vlnové délky, zaostřovací čočka a reaktor. Během laserového ozařování bylo nutné nosit ochranné brýle kvůli ochraně zraku. Pro laserové ozařování byl použit pevnolátkový Nd:YAG laser Q-Smart 850 (parametry laseru v tab. 3).

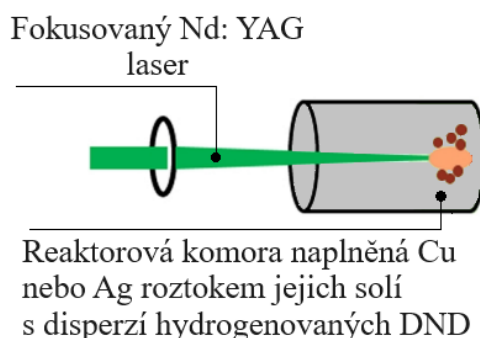


Obr. 12: Fotodokumentace zařízení pro funkcionalizaci Ti povrchů nanočásticemi pomocí pulsní laserové ablace (1 - Nd:YAG laser, 2 - reaktorová komora, 3 - optické komponenty: fokusační čočky, těsnění, příruby, vstupní okénka) [43]

Tab. 3: Parametry Nd:YAG laseru

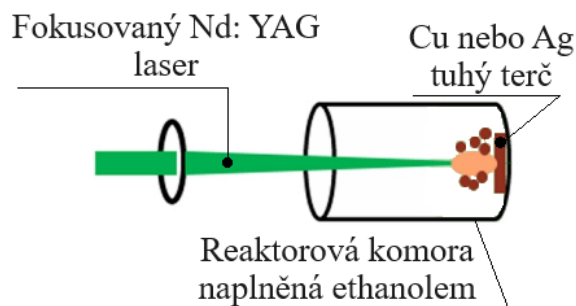
Parametry laseru	
Základní vlnová délka	1064 nm
Doba pulsu	do 10 ns
Frekvence opakování pulzu	10 – 15 Hz
Průměr svazku	5 - 10 mm
Energie pulsu pro 1064 nm	850 mJ
Energie pulsu pro 2. harmonický modul (532 nm) základní vlnové délky	340 mJ
Energie pulsu pro 3. harmonický modul (355 nm) základní vlnové délky	180 mJ
Divergence svazku	max. 0,5 mrad
Stabilita energie pulzu	max. ± 2 %

Varianta s laserem asistovanou fotoredukcí Cu a Ag z roztoku jejich solí spočívala v přípravě koloidu (viz kapitola 4.2) a uzavření do reaktorové komory z pyrexového skla. Uzavření a utěsnění bylo pomocí borosilikátových sklíčků a pryžových kroužků z fluorouhlíkového kaučuku. Následně se nechal nahřát laser. Připravený koloid s roztokem soli byl ozařovaný fokusovaným zářením v pulsním režimu v komoře, přičemž fokusační vzdálenost dvojnásobně čočky byla 75 mm (schéma viz obr. 13)



Obr. 13: Schéma fotoredukce Cu nebo Ag z jejich solí v připraveném koloidu s DND [20]

Druhá varianta, tedy pulsní laserová ablace Cu a Ag v kapalině, spočívala v tom, že laserový paprsek byl fokusován na Cu nebo Ag tuhý terč (viz kapitola 4.3) v reaktorové komoře naplněné EtOH, viz obr. 14. Další postup byl stejný jako u první varianty.



Obr. 14: Schéma pulsní laserové ablace Cu nebo Ag tuhého terče v EtOH [20]

Laserové ozařování trvalo v závislosti na připravované koloidní disperzi a parametrech laseru v rozmezí 30 min – 2 h. Do získaného koloidu po ozařování byla pak umístěna Ti tableta (polotovár čistá Ti kruhová tyč grade 2 ČSN EN ISO 5832-2) s laserově texturovaným nebo hladkým povrchem tak, aby na povrch Ti mohly částice z koloidu sorbovat. Sorpce probíhala při konstantní teplotě v sušárně při 70 °C až do úplného vysušení koloidní disperze.

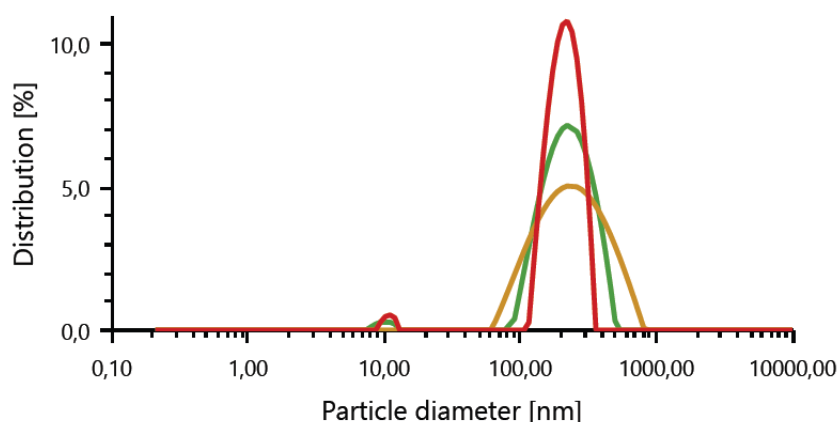
Celkem bylo připraveno 6 typů vzorků koloidních disperzí pomocí PLA v kapalině. Tři typy byly na bázi kovu Cu a další tři na bázi Ag.

## 5.1 Příprava a vlastnosti koloidních disperzí hydrogenovaných a oxidovaných DND

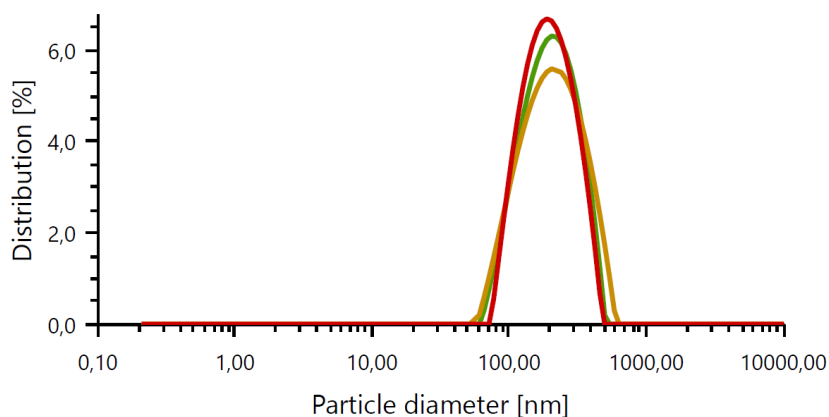
Pro účely experimentu byly vytvořeny koloidy z hydrogenovaných nanodiamantů v DI. Práškový materiál DND byl poskytnut od společnosti OZM Research Ltd., kde nominální velikost byla stanovena na 5 - 6 nm. To bylo určeno na základě měření transmisní elektronovou mikroskopií (TEM) a maloúhlového rozptylu rentgenového záření (SAXS). Prášek DND byl nejprve oxidován žiháním na vzduchu při 450 °C po dobu 30 minut a poté hydrogenován při 700 °C po dobu 6 hodin při průtoku vodíku 5 l/min za atmosférického tlaku. Následně prášek DND byl deagregován a dispergován (100 mg prášku DND v 50 ml DI) v homogenizátoru

Bandelin Sonopuls pomocí ultrazvukové sonotrody (typ MS 73, mat. TiAl6V4) při 120 W po dobu 1 hodiny. Pro laserové ozařování byl koloidní roztok zředěn na pracovní koncentraci 1 mg/ml.

Měření probíhalo na přístroji Litesizer DLS 500 od firmy Anton Paar. Na tomto přístroji probíhalo i měření zeta potenciálů. Počet runů byl 3, kde doba jednoho runu byla 10 s. Měření DLS probíhalo v režimu „intenzity“. Pro měření DLS a zeta potenciálu byl koloid zředěn na pracovní koncentraci 1 mg/ml. Pro porovnání byly vytvořeny i koloidy z oxidovaných nanodiamantů v DI (DND byly pouze při výrobě žíhány), které budou použity později. U hydrogenovaných a oxidovaných DND koloidů byl naměřen pomocí DLS hydrodynamický průměr přibližně 200 nm (viz obr. 15 a 16). Na obr. 15 u hydrogenovaných DND byl navíc naměřen pík v oblasti 10 nm, což potvrzuje přítomnost nanočástic. Zeta potenciály se značně liší. Hydrogenované DND (obr. 17) mají průměrný zeta potenciál + 60 mV, zatímco oxidované mají – 40 mV (obr. 18). Nicméně v obou případech jsou hodnoty zeta potenciálu tak vysoké, že to odpovídá stabilitě koloidu.

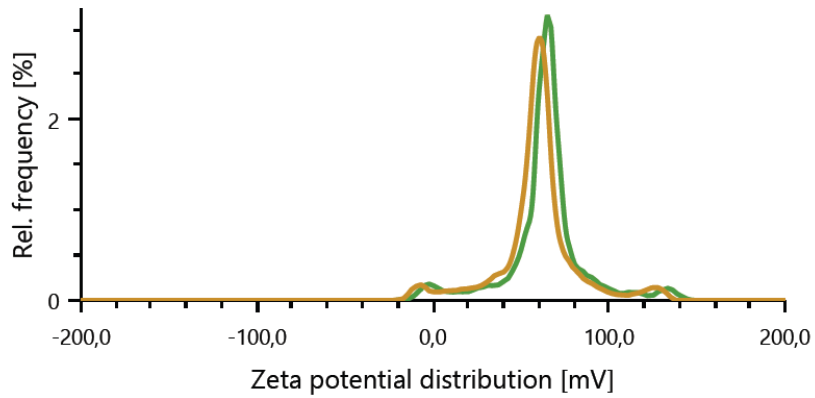


Obr. 15: DLS velikostní distribuce hydrogenovaných DND v DI H<sub>2</sub>O dle intenzity

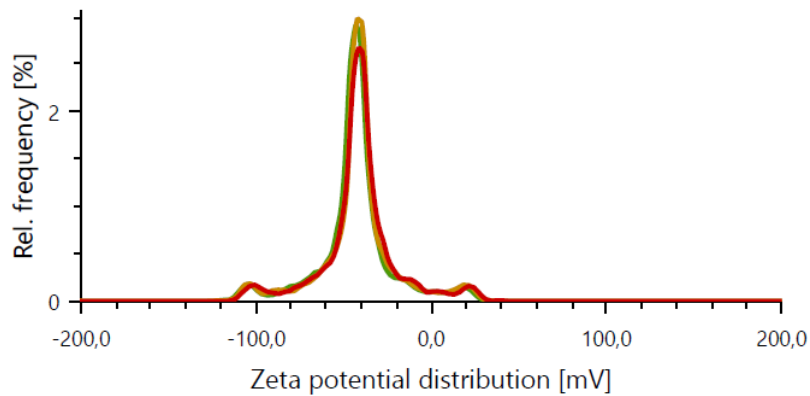


Obr. 16: DLS velikostní distribuce oxidovaných DND v DI H<sub>2</sub>O dle intenzity





**Obr. 17: Distribuce zeta potenciálu hydrogenovaných DND v DI H<sub>2</sub>O**



**Obr. 18: Distribuce zeta potenciálu oxidovaných DND v DI H<sub>2</sub>O**

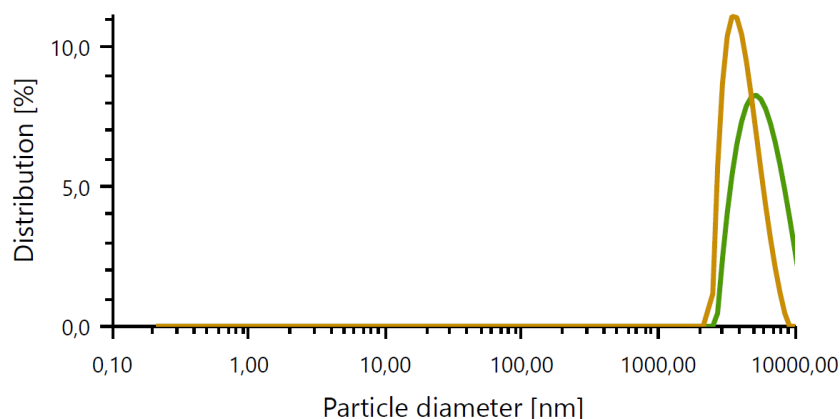
## 6 Metody charakterizace získaných materiálů (DLS, Měření zeta potenciálu, Raman, UV-Vis, SEM/EDS)

Všechny použité metody jsou klíčové pro zkoumání vlastností, struktury a chování materiálů. Jejich kombinací tak byl získán komplexní pohled na vzorky, ať už se jednalo o analýzu koloidu či povrchu s nanočásticemi. Lze říci, že použité metody jsou komplementární, tedy že se navzájem vhodně doplňují. Zároveň platí, že všechny použité metody byly nedestruktivní, a tak se mohlo měření na stejném vzorku opakovat několikrát. Kapitoly s analýzami jsou rozčleněny vždy samostatně pro Cu a Ag z důvodu přehlednosti.

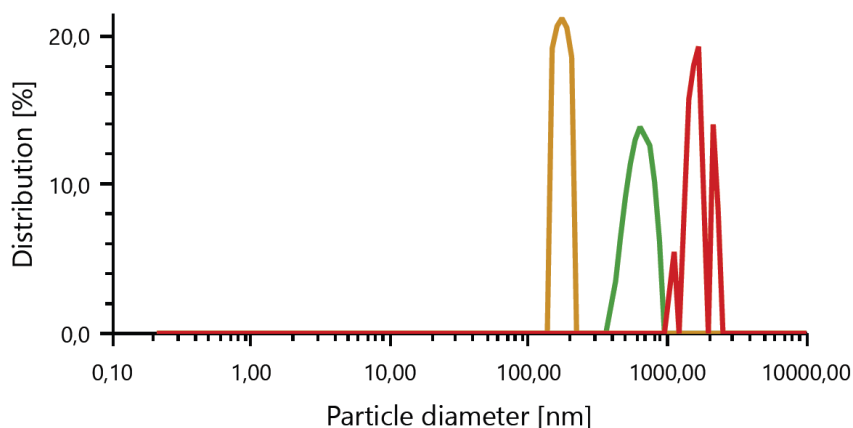
### 6.1 Měření DLS koloidních disperzí na bázi Cu

Měření DLS probíhalo před a po fotoredukci disperze DND + roztoku soli, v případě ablace tuhého terče Cu/Ag bylo DLS měřeno až po ablaci.

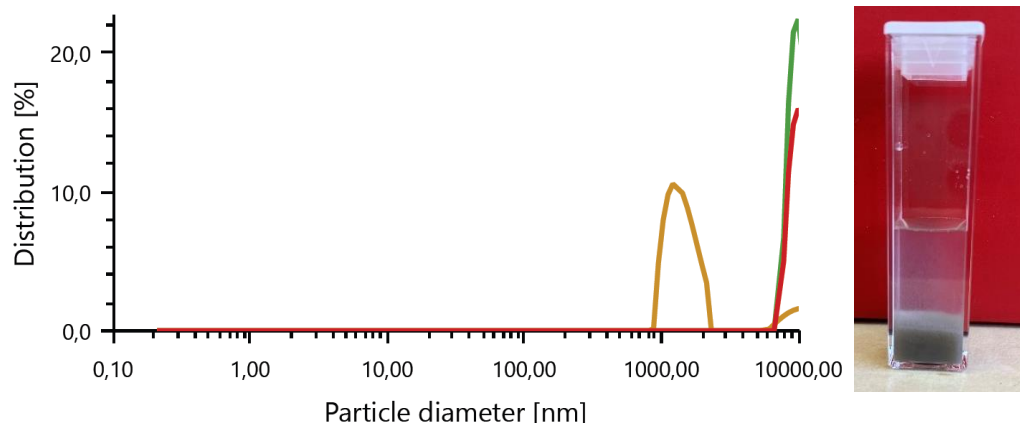
Před samotnou fotoredukci 2. harmonickým modulem (532 nm) základní vlnové délky laseru měl připravený koloid z DND a  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  vysoký průměr částic, viz obr. 19. Takto vysoké hodnoty průměru částic spočívají v tom, že došlo k aglomeraci koloidu, což bylo patrné pouhým okem. Proto byl v experimentu laser namířen na sedimentovanou část koloidu, aby se sediment mohl rozrušit. Po 5 minutách se fotoredukce přerušila z důvodu pozorování chování koloidu a na obr. 20 je vidět, že se podařilo zmenšit velikost částic, což dokazuje oranžová a zelená křivka. Na konci redukce za asistence laserového ozařování byl sediment přítomen stále, viz obr. 21.



Obr. 19: DLS koloidu na bázi Cu DND před fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

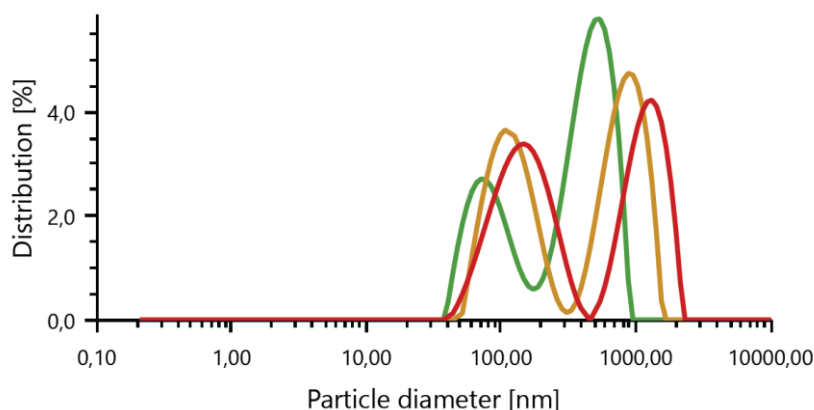


Obr. 20: DLS koloidu na bázi Cu DND po 5 minutách fotoredukce laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

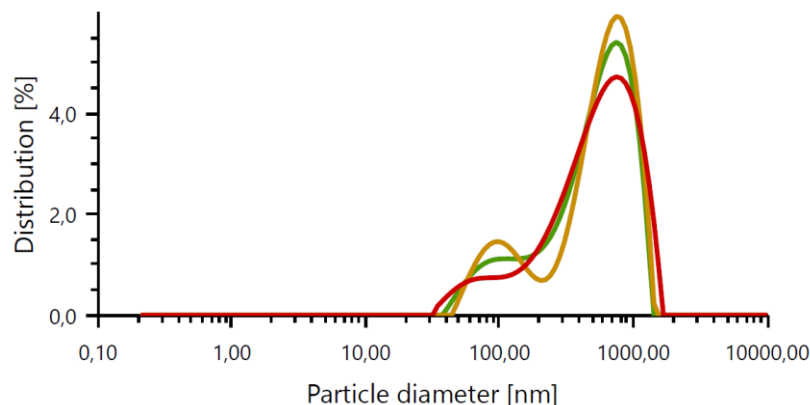


Obr. 21: DLS koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm, vlevo), květa měřeného koloidu se sedimentem (vpravo)

Fotoredukce 2. (532 nm) a 3. (355 nm) harmonickým modulem základní vlnové délky se liší velikostí částic. Připravený koloid, kde byl použit 3. harmonický modul vlnové délky laseru, vykazoval menší hodnoty velikosti částic před fotoredukci (obr. 22) a i po fotoredukci (obr. 23). Bylo dosaženo koloidu pod velikost částic 100 nm. Rozdílné hodnoty v distribuci velikostí částic a zeta potenciálu (viz tab. 4) naznačuje vysokou citlivost koloidní disperze DND vůči přítomnosti roztoku  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Rozdílné naměřené hodnoty mohou být způsobeny nepatrným rozdílem v koncentraci rozpuštěné soli. Tento poznatek vede k potřebě provést důkladné reprodukování experimentu a monitorování vlivu koncentrace soli na koloidní chování DND.

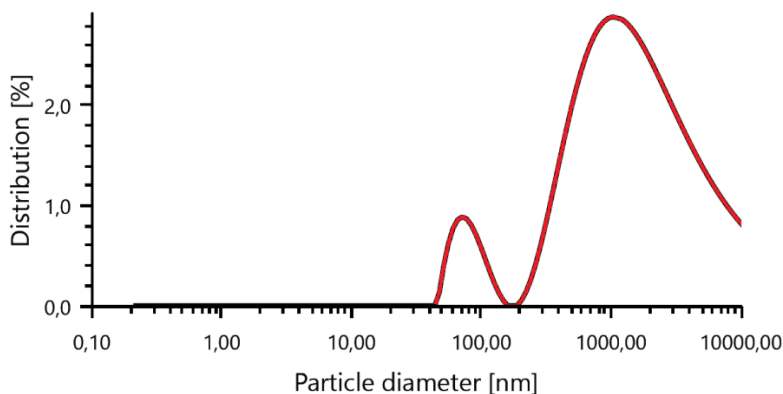


Obr. 22: DLS koloidu na bázi Cu DND před fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

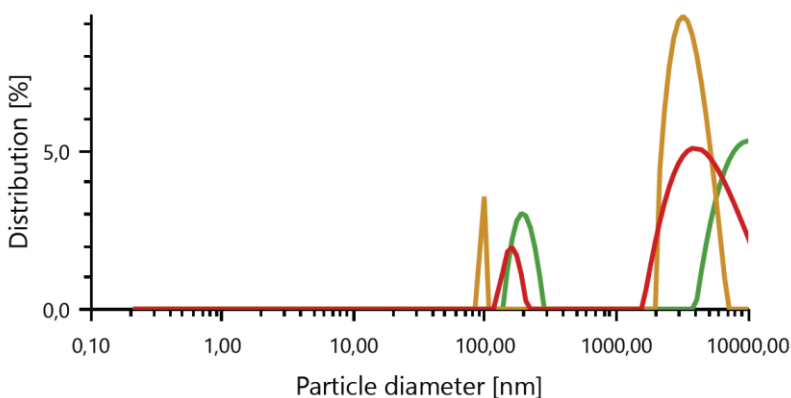


Obr. 23: DLS koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

Na obr. 24 lze vidět, že pomocí ablace Cu terče byly získány částice jak menších velikostí (pík 80 nm), tak vyšších (pík v řádu 1 000 nm). Měření po 1 týdnu získaného koloidu posunulo křivky grafu na obr. 25 k vyšším hodnotám velikosti objektů. Koloid se tedy stabilizoval při agregaci a měl lehce namodralou barvu.



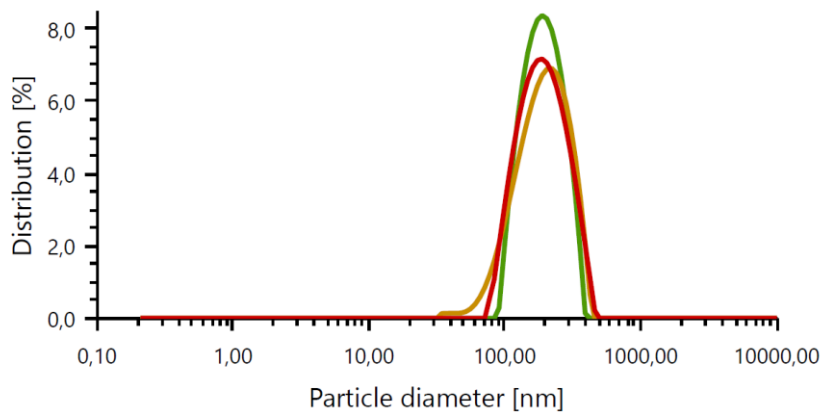
Obr. 24: DLS koloidu na bázi Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)



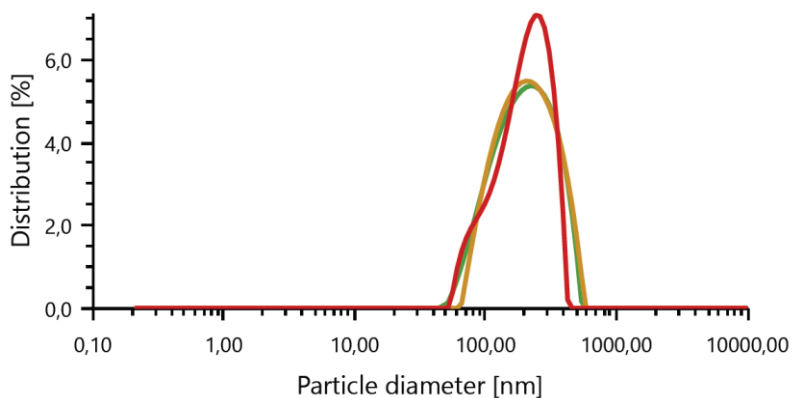
Obr. 25: DLS koloidu na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), měření po 1 týdnu

## 6.2 Měření DLS koloidních disperzí na bázi Ag

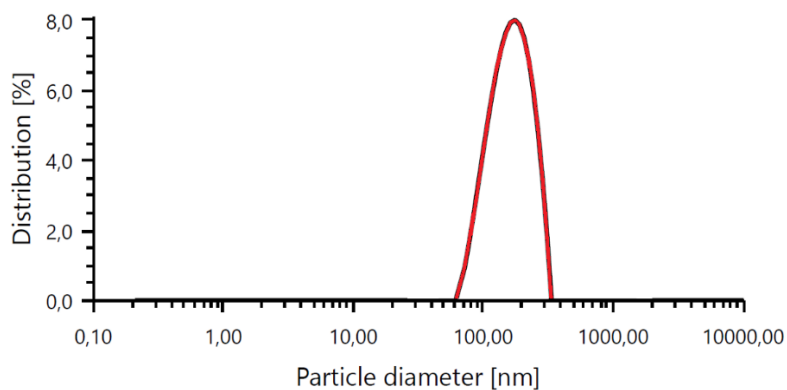
V případě připraveného koloidu DND s  $\text{AgNO}_3$  byla naměřena velikost částic kolem 200 nm před fotoredukcí (obr. 26, 28). Po fotoredukcí 2. harmonickým modulem laseru se křivky měření (obr. 27) rozšířily směrem k menší velikosti částic, a tak lze pozorovat zmenšení určité distribuce částic. Fotoredukcí 3. harmonickým modulem laseru (obr. 29) větší změnu v distribuci částic nepřinesla.



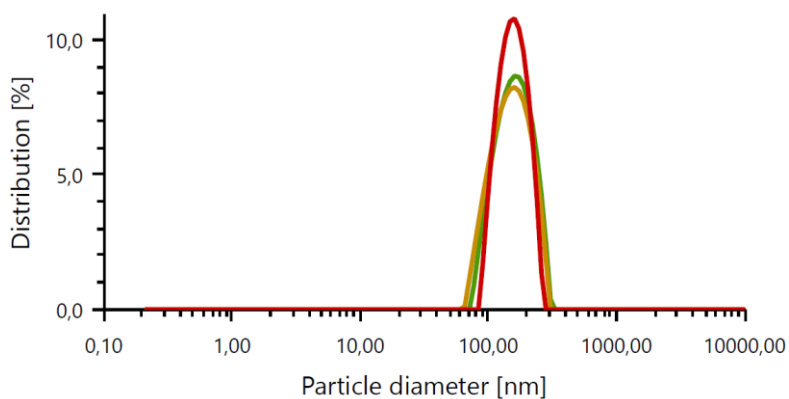
Obr. 26: DLS koloidu na bázi Ag DND před fotoredukcí laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)



Obr. 27: DLS koloidu na bázi Ag DND po fotoredukcí laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

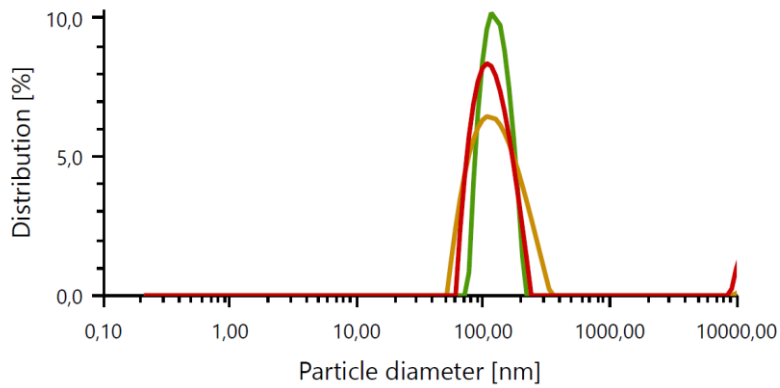


Obr. 28: DLS koloidu na bázi Ag DND před fotoredukcí laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

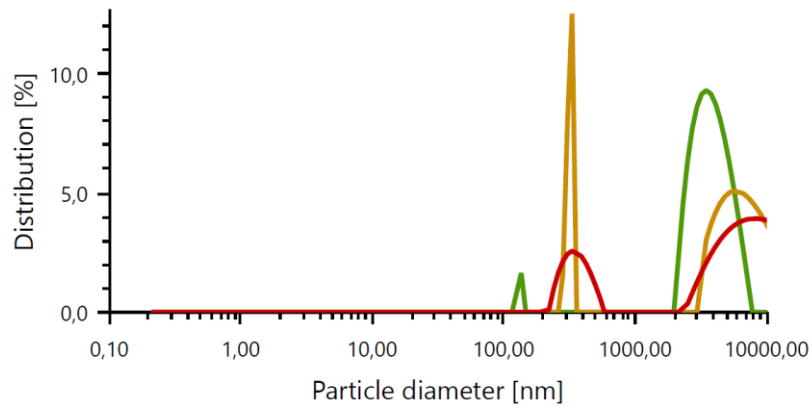


Obr. 29: DLS koloidu na bázi Ag DND po fotoredukcí laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

Pomocí ablace Ag terče bylo dosaženo velikosti částic i pod 100 nm, viz obr. 30. Na obr. 31 po stabilizaci koloidu lze pozorovat výraznou diferenciaci křivek, kde došlo ke změně distribuce částic.



**Obr. 30: DLS koloidu na bázi Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)**



**Obr. 31: DLS koloidu na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm), měření po 1 týdnu**

### 6.3 Měření zeta potenciálu koloidních disperzí na bázi Cu

U fotoredukce koloidů laserem s 2. (532 nm) a 3. (355 nm) harmonickým modulem základní vlnové délky se zeta potenciály snížily, viz tab. 4. V případě ablace Cu terče došlo ke zvýšení zeta potenciálu. To značí navýšení stability koloidu. Hlavním výsledkem z tab. 4 je, že po ozařování se zeta potenciál výrazně nemění.

**Tab. 4:** Zeta potenciály koloidních disperzí na bázi Cu DND a Cu v EtOH

Měřený koloid	Průměrný zeta potenciál [mV]
Cu DND před fotoredukcí laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)	12,5
Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)	12,1
Cu DND před fotoredukcí laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)	21,4
Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)	20,2
Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)	14,8
Cu po ablaci v EtOH (355 nm), po 1 týdnu	17,7

### 6.4 Měření zeta potenciálu koloidních disperzí na bázi Ag

Fotoredukcí koloidu laserem s 2. harmonickým modulem se zeta potenciál snížil, ale v případě použití laseru s 3. harmonickým modulem došlo ke zvýšení zeta potenciálu (tab. 5). Ablace Ag terče přinesla velmi vysokou hodnotu zeta potenciálu koloidu, který byl po 1 týdnu snížen do oblasti počáteční nestability, viz tab. 2.

**Tab. 5:** Zeta potenciály koloidních disperzí na bázi Ag DND a Ag v EtOH

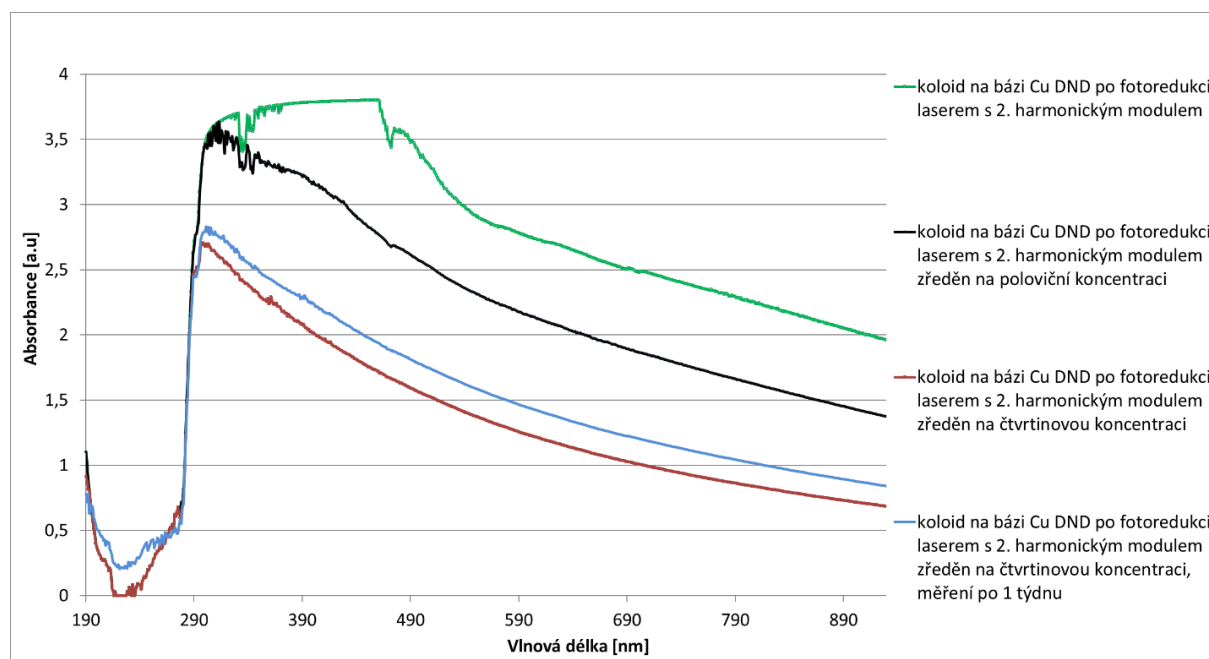
Měřený koloid	Průměrný zeta potenciál [mV]
Ag DND před fotoredukcí laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)	25,5
Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)	20,6
Ag DND před fotoredukcí laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)	27,6
Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)	29,3
Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)	30,0
Ag po ablaci v EtOH (355 nm), po 1 týdnu	16,9

## 6.5 Měření UV-Vis koloidních disperzí na bázi Cu

Měření probíhalo na UV-Vis spektrofotometru DU 730 od firmy Beckman Coulter. UV-Vis spektra byla měřena vždy po fotoredukci (příp. ablaci) a vzorek zůstal ve stejné polystyrenové kyvetě jako pro měření DLS. Pro získání pozorovatelných výsledků musely být koloidy zředěny dle potřeby DI. Na obr. 32 je koloid po fotoredukci s absorpčním píkem při vlnové délce 300 nm. To značí výskyt oxidovaných Cu nanočástic, jelikož vzniklé absorpční píky v pásmu mezi 250 až 350 nm v důsledku povrchové plasmonové rezonance jsou přiřazeny právě k tvorbě nanočástic oxidů Cu. Tento pík se vyskytl až při zředění na poloviční (černá křivka) a čtvrtinovou (hnědá) koncentraci původního koloidu. Měření UV-Vis po 1 týdnu (modrá křivka) je oproti hnědé křivce položeno výše, nicméně polohy absorpčních pásů jsou stejné. Všechny koloidy byly různě ředěny, proto se liší jejich absorbance. [52]

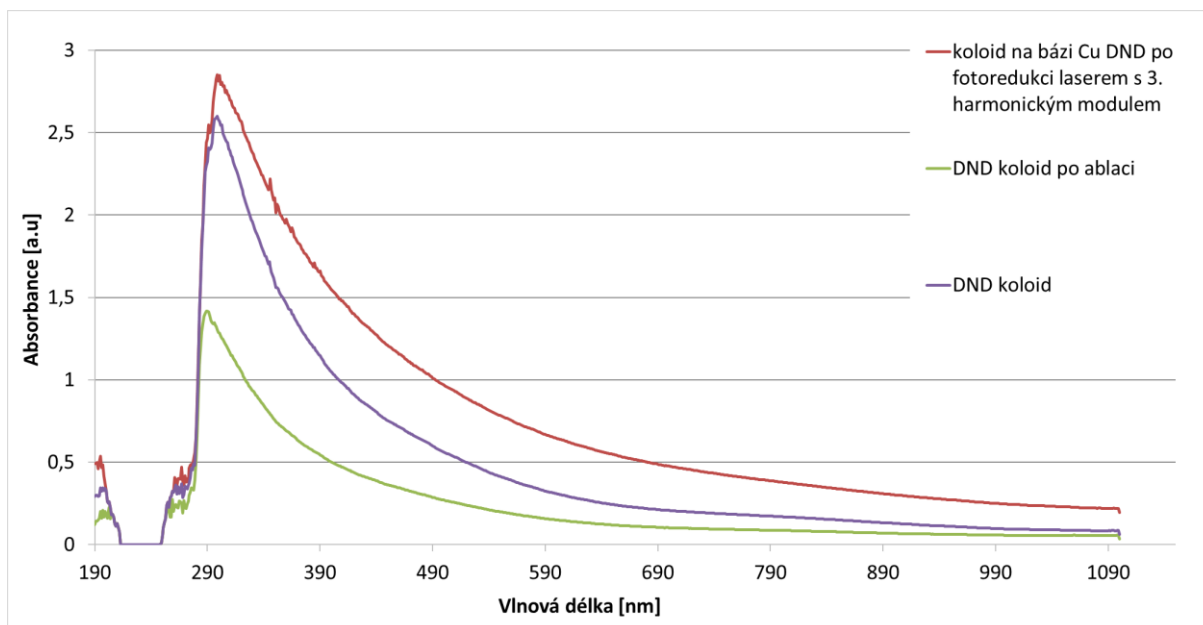
Na obr. 33 představuje absorpční pík při 300 nm u koloidu Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem pík podobně jako u obr. 32. Pro porovnání se v grafu nachází i samotný koloid DND před i po ozařování. Při absorpčním píku 300 nm se nachází nanočástice oxidů Cu a jelikož DND má rovněž absorpční pík 300 nm, tak se píky překrývají. Díky tomu nelze přesně určit, jaká z těchto látek dominuje. Absorpční pík samotného DND koloidu po ozařování se nachází při 290 nm. To by mohlo představovat změnu struktury DND. [52, 53]

Na grafu na obr. 34 dominuje absorpční pík při 285 nm, což odpovídá vzniku nanočástic oxidů Cu. Absorpční pás kolem 700 nm by mohl naznačovat solvataci (rozpuštění) Cu. [52]

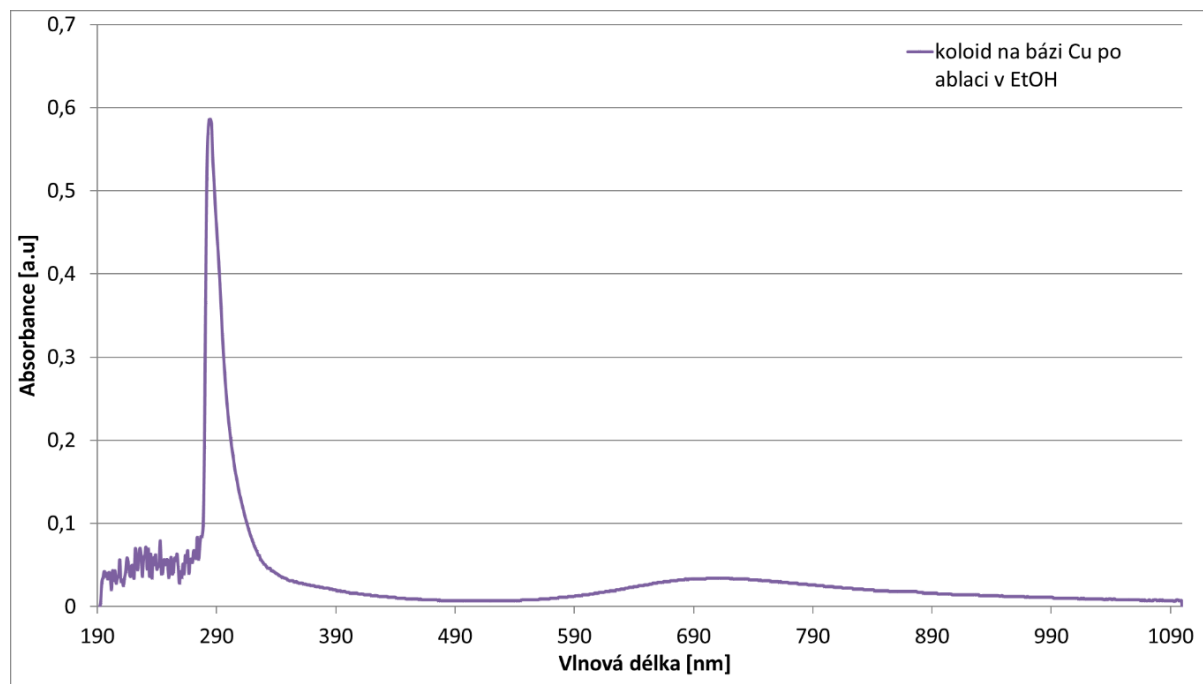


Obr. 32: UV-Vis koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)





Obr. 33: UV-Vis koloidu na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)



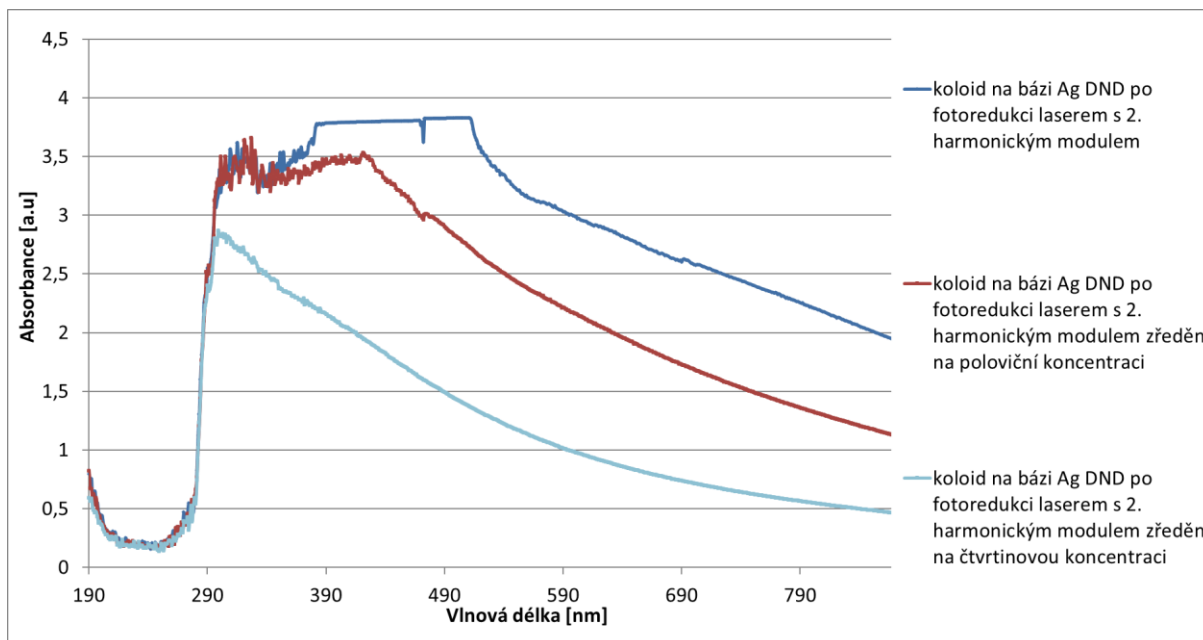
Obr. 34: UV-Vis koloidu na bázi Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

## 6.6 Měření UV-Vis koloidních disperzí na bázi Ag

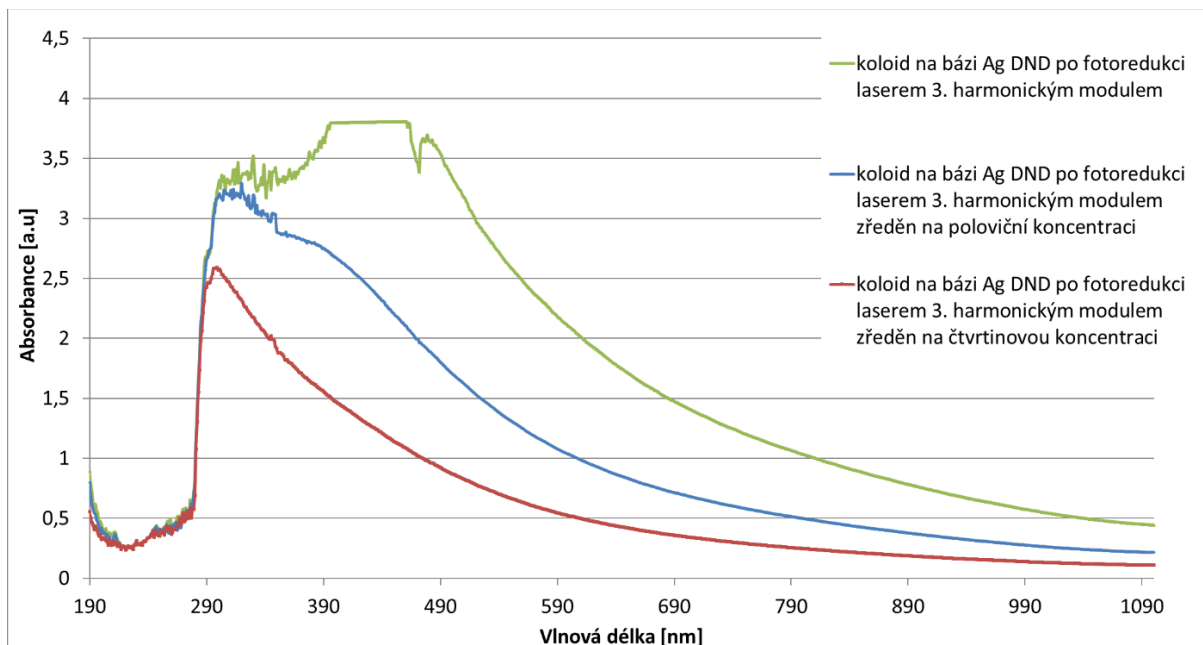
Na obr. 35 je graf UV-Vis vzniklého koloidu Ag s DND po fotoredukci s různými koncentracemi. Řaděno bylo jako v případě koloidů s Cu pomocí DI na polovinu a čtvrtinu původní koncentrace. Absorpční píky při 295 nm (světle modrá křivka) a 330 nm (cihlově červená a tmavě modrá křivka) odpovídají kovovému Ag, jelikož elektronové přechody  $Ag^0$  se nacházejí ve spektrálnímu rozsahu 250 - 330 nm. Nanočástice Ag vykazují charakteristický pás povrchové plasmonové rezonance s centrem v rozmezí 418 až 428 nm, což odpovídá absorpčnímu píku 425 nm (cihlově červená křivka). [54]

Křivky v grafu na obr. 36 představují podobné píky jako u obr. 35. Absorpční píky kolem 300 nm odpovídají kovovému  $Ag^0$ . Absorpční pík 300 nm může zde jako u Cu koloidů opět překrývat vliv DND. [54]

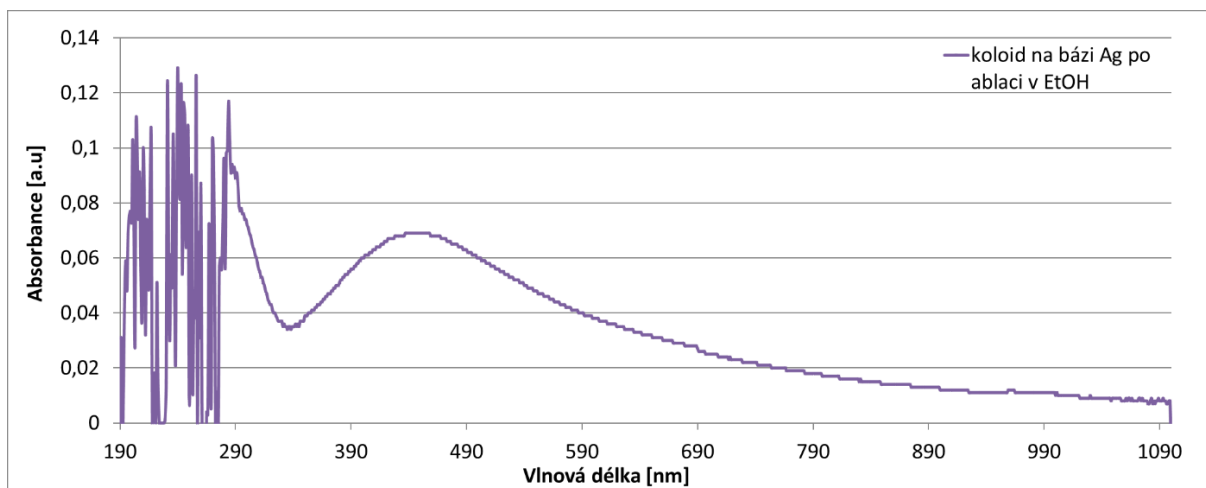
Křivka grafu na obr. 37 obsahuje absorpční pík při 285 nm (opět  $Ag^0$ ) a charakteristický pás povrchové plasmonové rezonance s jasně viditelným absorpčním píkem v oblasti nad 400 nm. [54]



Obr. 35: UV-Vis koloidu na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)



Obr. 36: UV-Vis koloidu na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

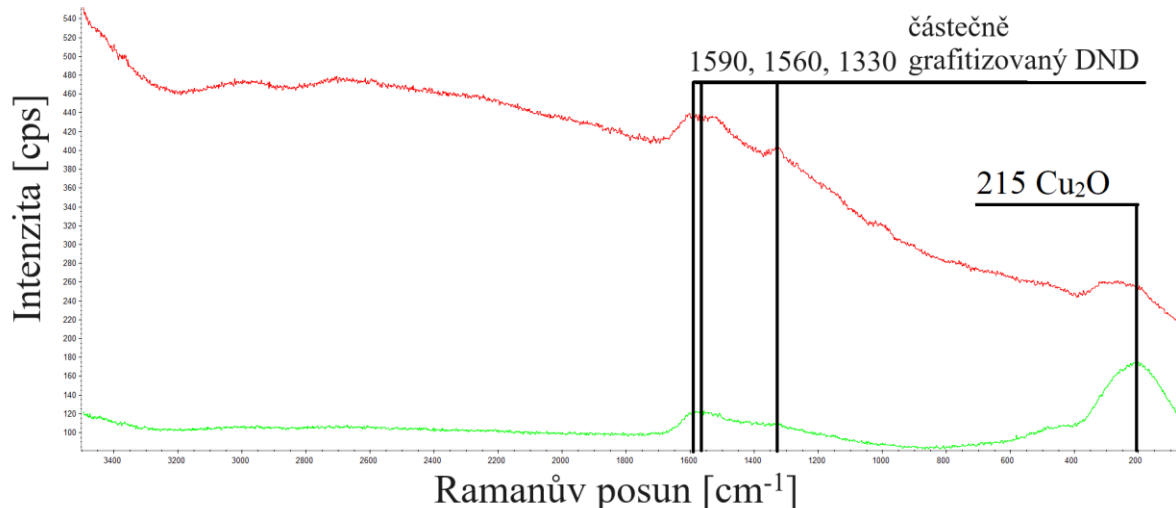


Obr. 37: UV-Vis koloidu na bázi Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

## 6.7 Ramanova spektroskopie sorbovaných částic na bázi Cu

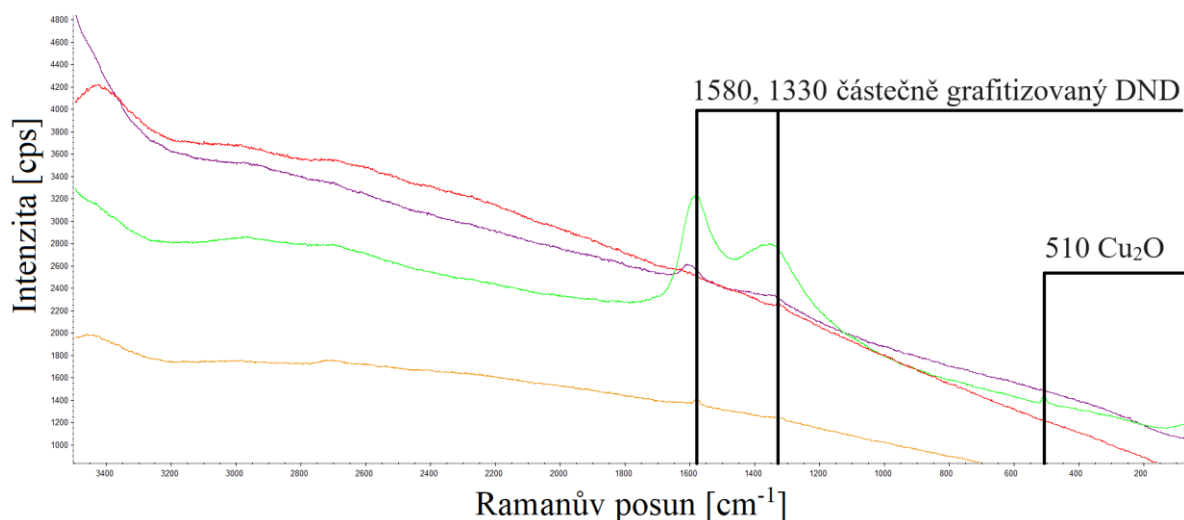
Ramanova spektroskopie byla prováděna na přístroji DXR3xi od firmy Thermo Scientific s pevnolátkovým laserem o vlnové délce 532 nm. Všechny vzorky tuhých residuů koloidů po odpaření kapaliny (na bázi Cu i Ag) byly měřeny na hladkých Ti substrátech, na kterých byly původně jednotlivé koloidy sorbovány a vypařeny v laboratorní sušárně při teplotě 70 °C. Měření pomocí laseru byla bodová.

Na obr. 38 jsou dvě naměřená spektra, která odpovídají dvěma vybraným místům. Naměřené píky 1590, 1560 a 1330  $\text{cm}^{-1}$  by mohly odkazovat na částečně grafitizované DND. Dle literatury je typický pík pro čistý diamant 1332  $\text{cm}^{-1}$  a pro čistý grafit 1580  $\text{cm}^{-1}$ . DND mají oba píky, jelikož se nejedná o čisté diamanty. Měření naznačuje, že během laserového ozařování dochází ke grafitizaci původních DND. Pík 215  $\text{cm}^{-1}$  odpovídá  $\text{Cu}_2\text{O}$  a jeho širší pás naznačuje amorfní fázi. [55–57]



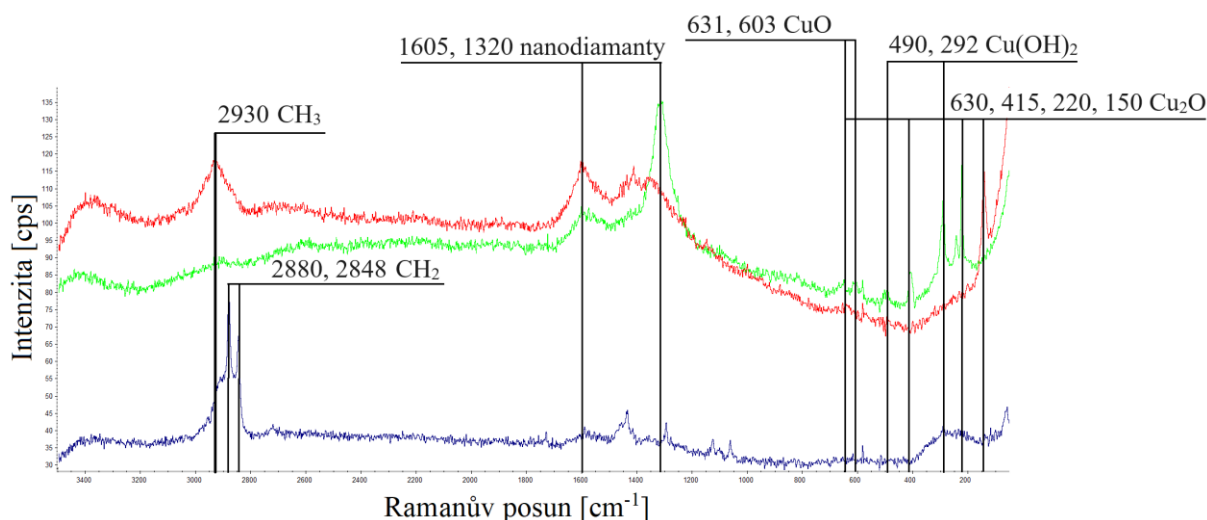
Obr. 38: Raman sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

Obr. 39 představuje s píky 1580 a 1330  $\text{cm}^{-1}$  částečně grafitizované DND (případně převážně grafitický C), podobně jako je tomu na obr. 38. Pík 510  $\text{cm}^{-1}$  byl nalezen pouze v jednom měření a pravděpodobně patří k  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Tento oxid by se ale měl nacházet v oblasti 520 – 528  $\text{cm}^{-1}$ . [55–57]



**Obr. 39:** Raman sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

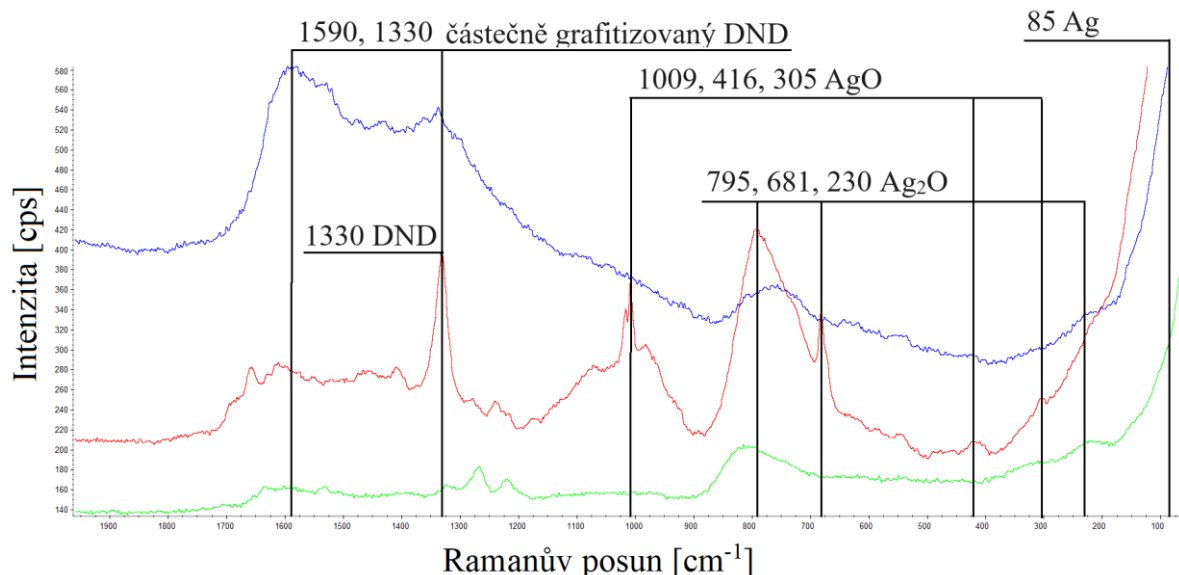
Na obr. 40 je vidět, že během ablace Cu terče vzniklo velké množství látek. Cu se zde vyskytuje v oxidovaných formách CuO a Cu<sub>2</sub>O, dále s píky 490 a 292 cm<sup>-1</sup> jako hydroxid Cu(OH)<sub>2</sub>. Vyskytují se zde i píky nanodiamantů 1605 a 1320 cm<sup>-1</sup>. Objemový diamant má sice 1332 cm<sup>-1</sup>, ale hodnota 1320 cm<sup>-1</sup> může stále odpovídat nanodiamantu, který je buď velmi malý (2 - 3 nm), nebo značně defektní. Některé studie ukazují [58], že ablaci ethanolu založenou na ultrarychlém laserovém ozáření kapalného prekursoru lze vytvořit kontrolované prostředí pro reakce disociace a nukleace, což má za následek vznik nanodiamantů s homogenní distribucí velikosti. Vysoké hodnoty Ramanova posunu (2800 - 3000 cm<sup>-1</sup>) odpovídají vazbám uhlovodíkových zbytků CH<sub>3</sub> a CH<sub>2</sub>. [55–60]



**Obr. 40:** Raman sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

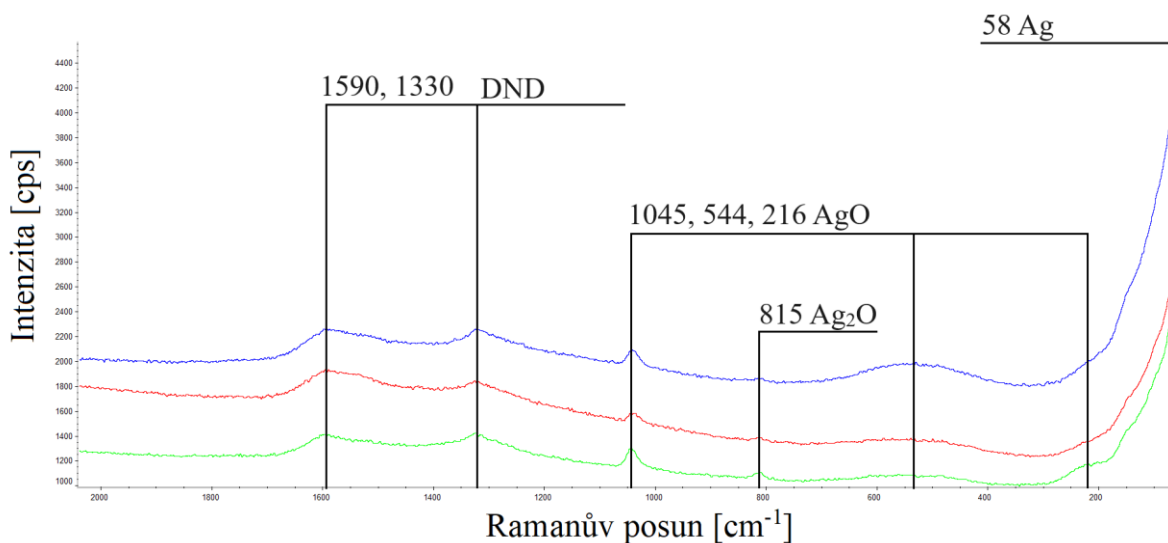
## 6.8 Ramanova spektroskopie sorbovaných částic na bázi Ag

Měření Ramanovy spektroskopie (viz obr. 41) má píky s vlnočty 1590 a 1330  $\text{cm}^{-1}$ , které jako v předchozích případech odpovídají částečně grafitizovaným DND. V případě červené křivky ale pík 1330  $\text{cm}^{-1}$  odpovídá DND, jelikož tento pík je dominantnější než v Ramanově posunu kolem 1590  $\text{cm}^{-1}$ . Dále je zde pík 85  $\text{cm}^{-1}$  odpovídající nanočásticím Ag. Jsou zde dále Ag oxidy, tj. 1009, 416, 305  $\text{cm}^{-1}$  pro AgO a 795, 681 a 230  $\text{cm}^{-1}$  pro Ag<sub>2</sub>O. [55, 57, 59, 61–64]



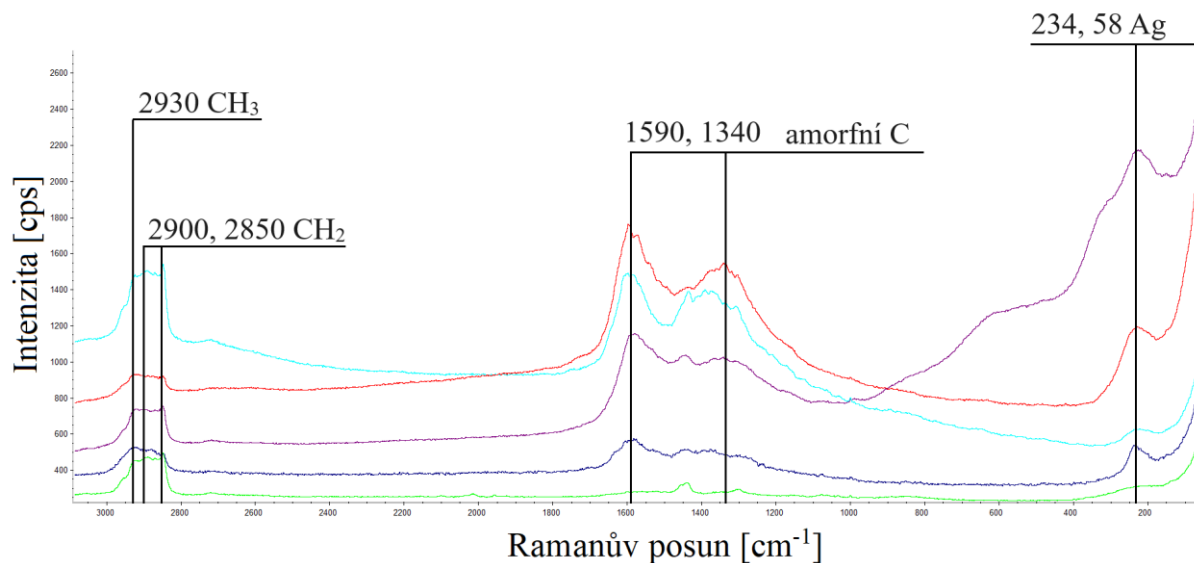
Obr. 41: Raman sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukcí laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

Obr. 42 s Ramanovo spektroskopii po ablaci laserem s 3. harmonickým modulem vykazuje poměrově nižší intenzity píků pro DND (vlnočty 1590 a 1330  $\text{cm}^{-1}$ ). DND jsou zde s vysokou pravděpodobností díky typickému širokému pásu kolem 500  $\text{cm}^{-1}$ . Dále jsou zde oxidy Ag (1045, 544 a 216  $\text{cm}^{-1}$  pro AgO, 815  $\text{cm}^{-1}$  pro Ag<sub>2</sub>O). Ag má intenzitu píku 58  $\text{cm}^{-1}$  poměrně vysokou. [55, 57, 61–64]



Obr. 42: Raman sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukcí laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

Na obr. 43 jsou typické píky pro nanočástice Ag s Ramanovo posunem 234 a 58  $\text{cm}^{-1}$ . Píky 1590 a 1340  $\text{cm}^{-1}$  odpovídají amorfnímu C. Vysoké vlnočty Ramanova posunu (2800-3000  $\text{cm}^{-1}$ ) naznačují přítomnost vazeb uhlovodíkových skupin  $\text{CH}_3$  a  $\text{CH}_2$ . [55, 58, 60, 63]

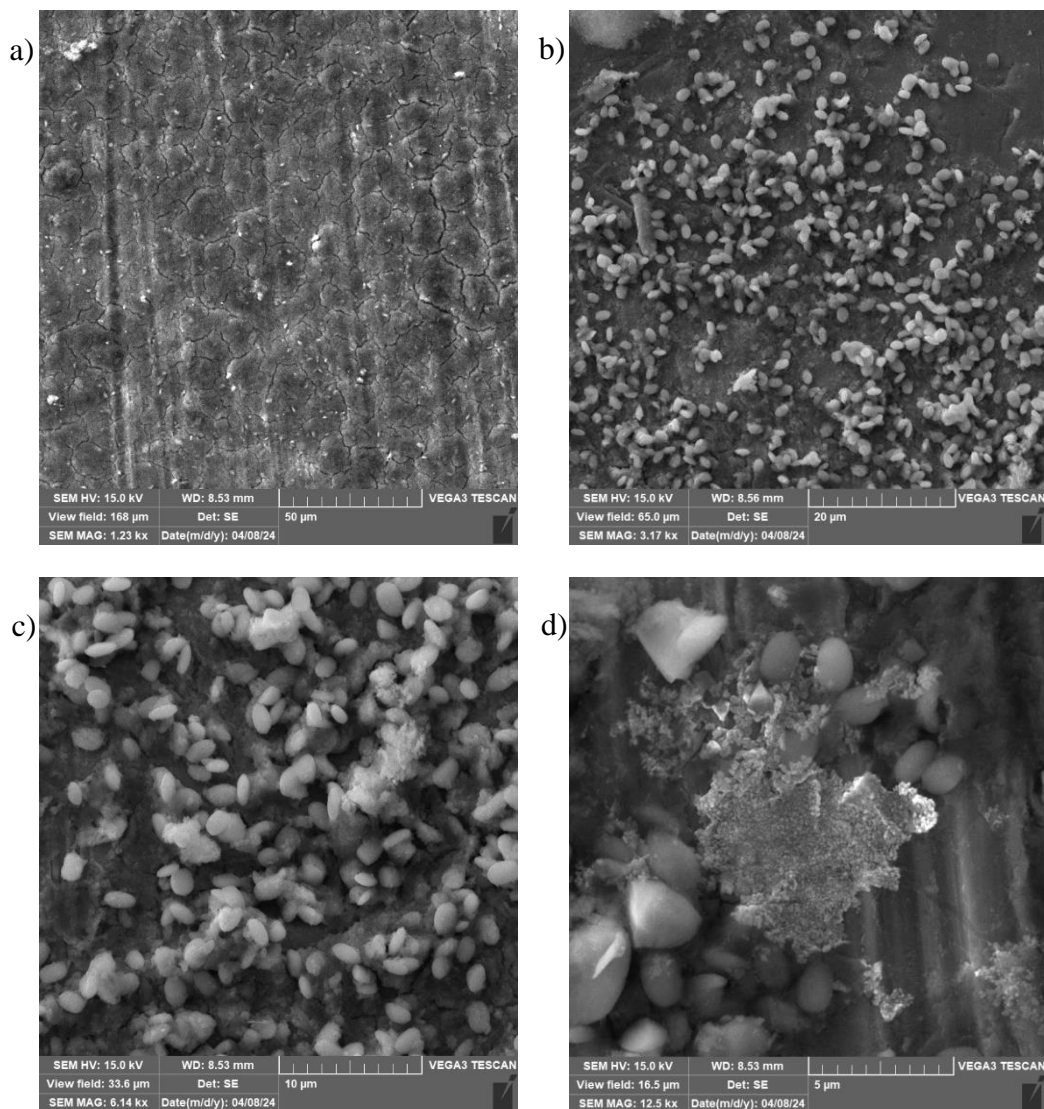


Obr. 43: Raman sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

## 6.9 SEM/EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu

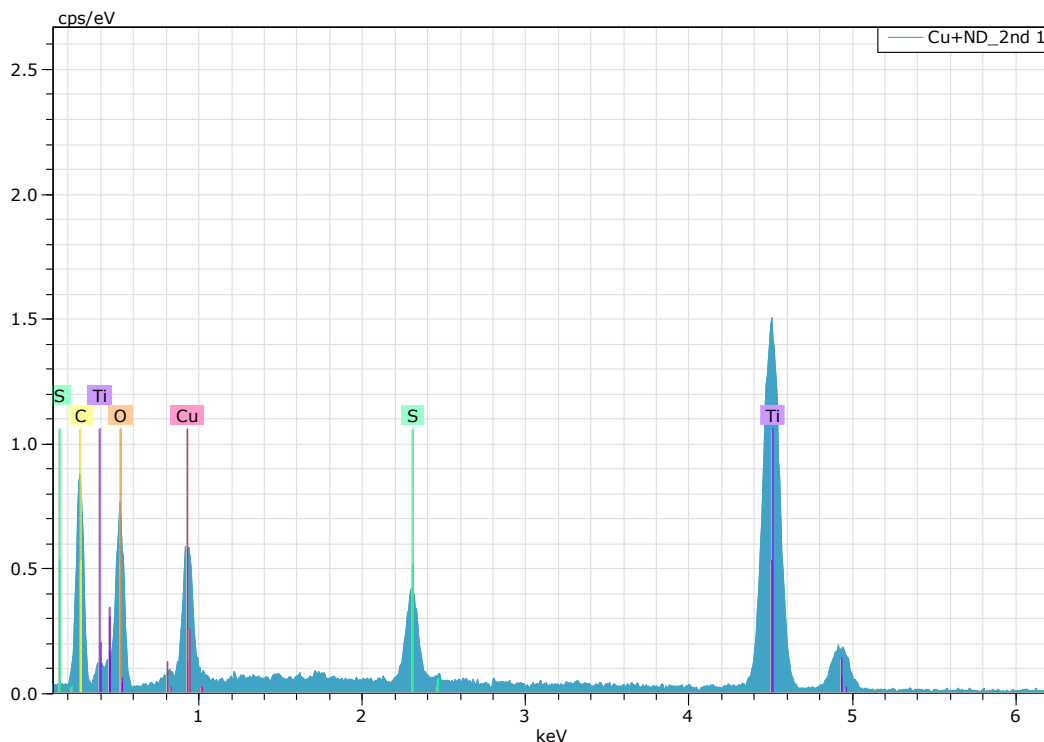
Analýzy SEM/EDS probíhaly na přístroji Tescan Vega3 s urychlovacím napětím 15 kV mimo prostory NTC, tj. na Ústavu chemických procesů AV ČR, v. v. i. díky Ing. Věře Jandové, Ph.D. Analýzy SEM/EDS byly pozorovány zvláště pro hladký a texturovaný povrch Ti.

Obr. 44 ukazuje SEM snímky sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukcí laserem s 2. harmonickým modulem. Při malém zvětšení (obr. 44a) v SEM lze pozorovat vrstvu po sorpci, která je vidět jako popraskaná. Pravděpodobně se jedná o vrstvu DND. Při větším zvětšení jsou pozorovatelné částice s morfológií „rýžového zrna“ o velikostech kolem 1  $\mu\text{m}$  (obr. 44b, c), mezi kterými byly nalezeny kolonie s velikostí zhruba 5  $\mu\text{m}$  obsahující velké množství nanočástic (obr. 44d, pohled na reprezentativní kolonii).



Obr. 44: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm; a - d)

Na obr. 45 je EDS analýza hladkého povrchu Ti po sorpci koloidu na bázi Cu DND, který byl po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem. EDS analýza byla provedena jako plošné měření, v kterém byla vybrána vypovídající měřená plocha. Byly zde nalezeny všechny předpokládané prvky, tj. Cu, S, O, C a Ti. První tři prvky jsou zdrojem soli, která byla redukována, dále pak C jakožto reduktant a Ti jako substrát. Tab. 6 ukazuje atomární procentuální zastoupení jednotlivých nalezených prvků a nejvyšší přítomnost je zde u C a O.



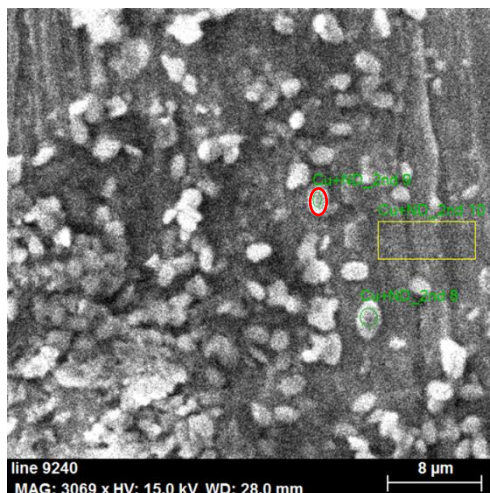
Obr. 45: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

Tab. 6: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

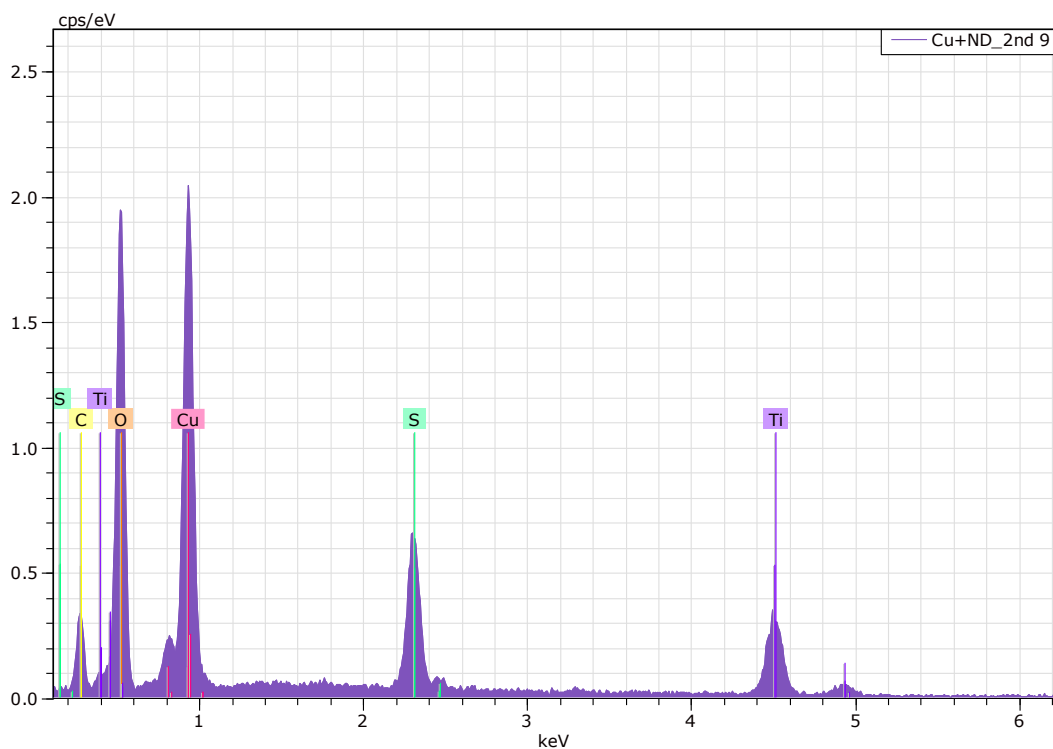
Prvek	Atomární [%]
C	38,28
O	38,82
S	1,90
Ti	18,14
Cu	2,86

Na obr. 46 je SEM analýza stejného vzorku jako na obr. 44. Následná EDS analýza na obr. 47 s tab. 7 jedné částice ve tvaru „rýže“ (značena červeně) ukazuje vyšší atomární procentuální zastoupení O, S a Cu než u plošného měření.





Obr. 46: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

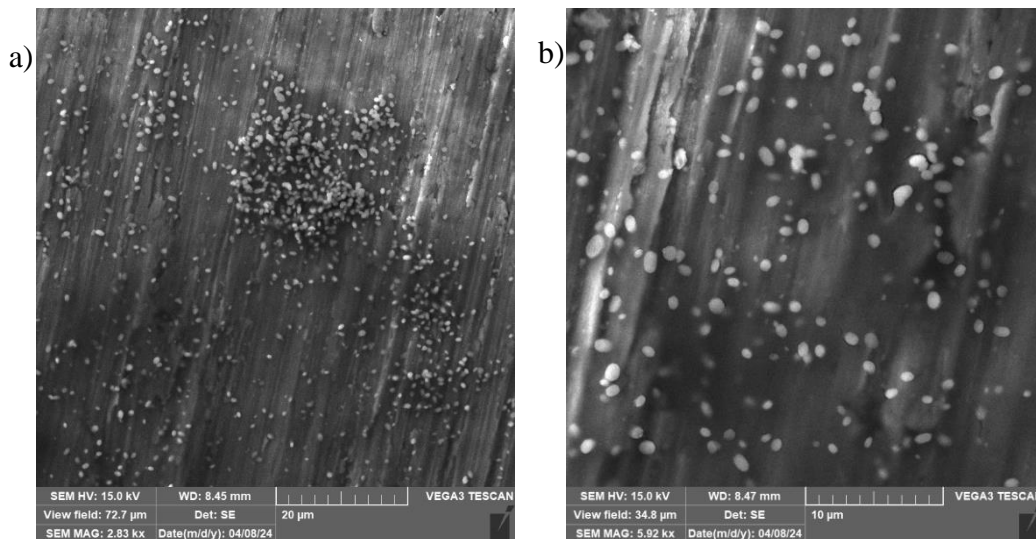


Obr. 47: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), měření jedné z částic tvaru „rýže“

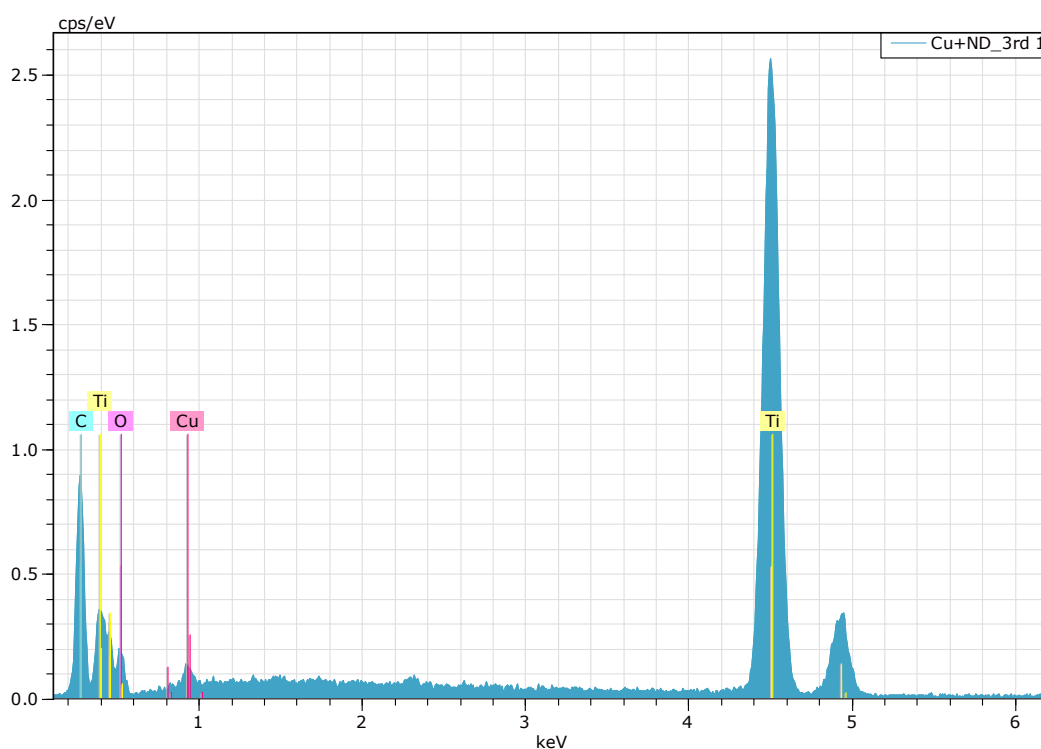
Tab. 7: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), měření jedné z částic tvaru „rýže“

Prvek	Atomární [%]
C	23,03
O	55,85
S	4,13
Ti	4,77
Cu	12,22

Na obr. 48 jsou SEM analýzy a jsou zde sorbované částice na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem. Vzhledově i velikostí jsou částice podobné těm, co vznikly při fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem. Na obr. 49 a v tab. 8 je EDS analýza vybrané vypovídající plochy. Atomárně zde EDS analýza neukázala zastoupení S a atomární procentuální zastoupení Cu je nízké s 0,37 %.



**Obr. 48: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm; a, b)**

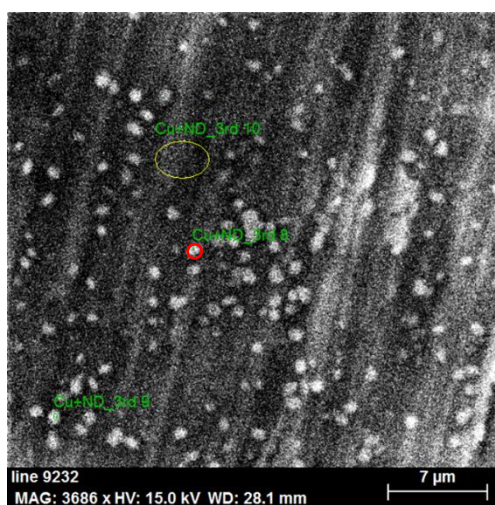


**Obr. 49: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)**

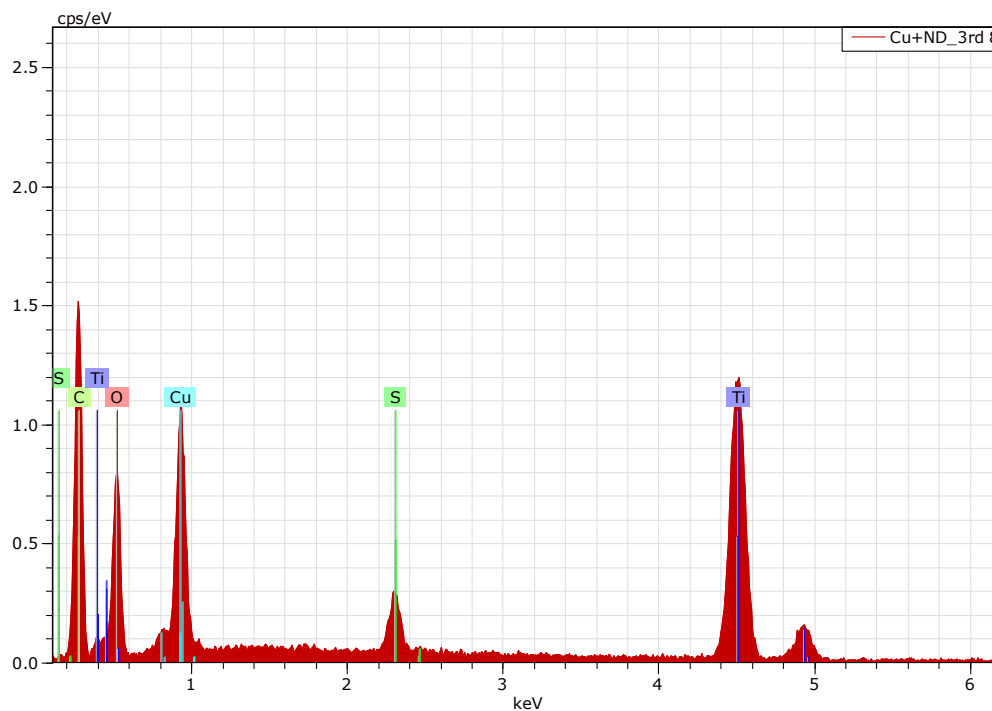
**Tab. 8: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)**

Prvek	Atomární [%]
C	41,89
O	16,52
Ti	41,22
Cu	0,37

Na obr. 50 je SEM analýza a následně na obr. 51 s tab. 9 je EDS analýza typické sorbované částice (značena červeně). Jsou zde zastoupeny prvky jako v předchozích případech.



**Obr. 50: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)**

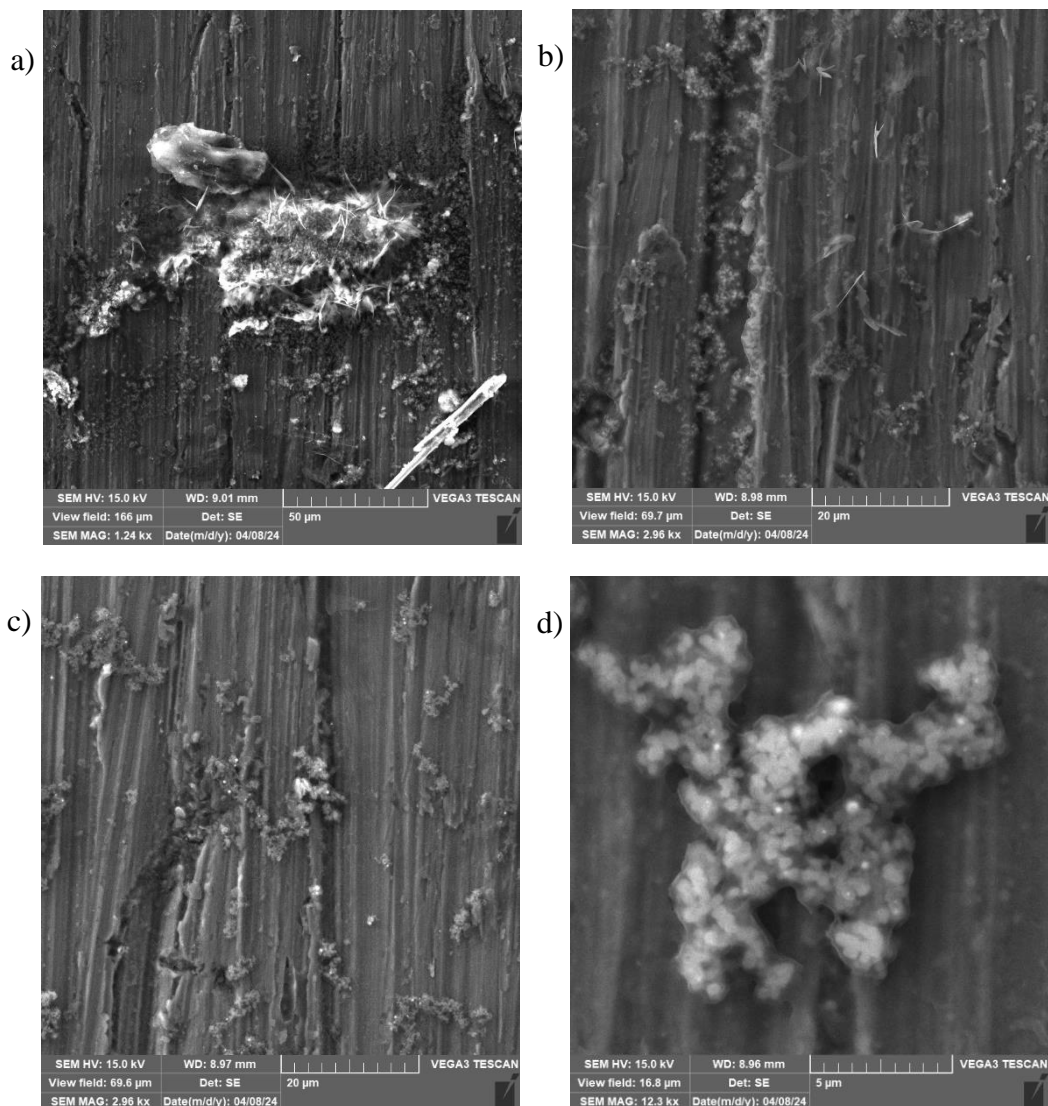


**Obr. 51: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)**

**Tab. 9: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)**

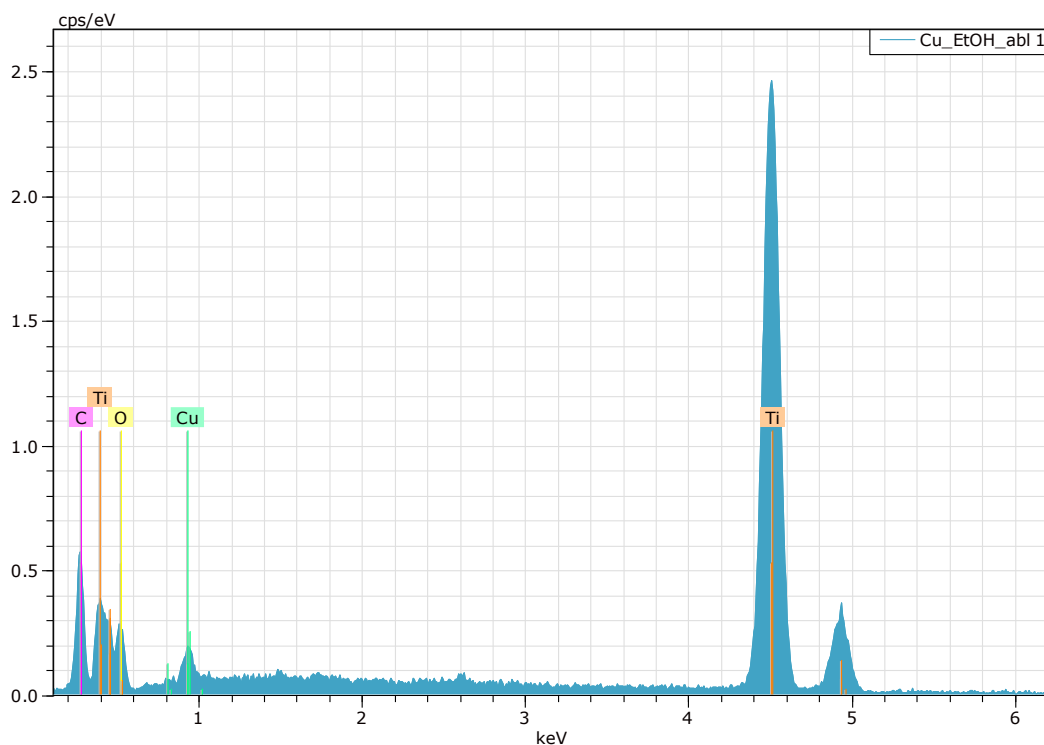
Prvek	Atomární [%]
C	51,86
O	30,46
S	1,08
Ti	11,88
Cu	4,72

Na obr. 52 jsou SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH a lze pozorovat různé ostrohranné typy částic (obr. 52a) ve velikostech v řádech desítek  $\mu\text{m}$ . Tyto krystalové útvary by pak mohly být antibakteriální právě kvůli ostrým hranám. Při větším zvětšení (obr. 52d) jsou vidět tzv. kolonie, které jsou tvořeny nanočásticemi.



**Obr. 52: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm; a - d)**

Obr. 53 a tab. 10 představuje EDS analýzu povrchu sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH. Prvky C, O, Ti a Cu odpovídají předpokladu. Nicméně je důležité zmínit, že v dalších EDS analýzách (částic a menších ploch) byly objeveny nečistoty a byly zde prvky jako F, P, Mg, Al, Si, S, Cl, K a Ca.



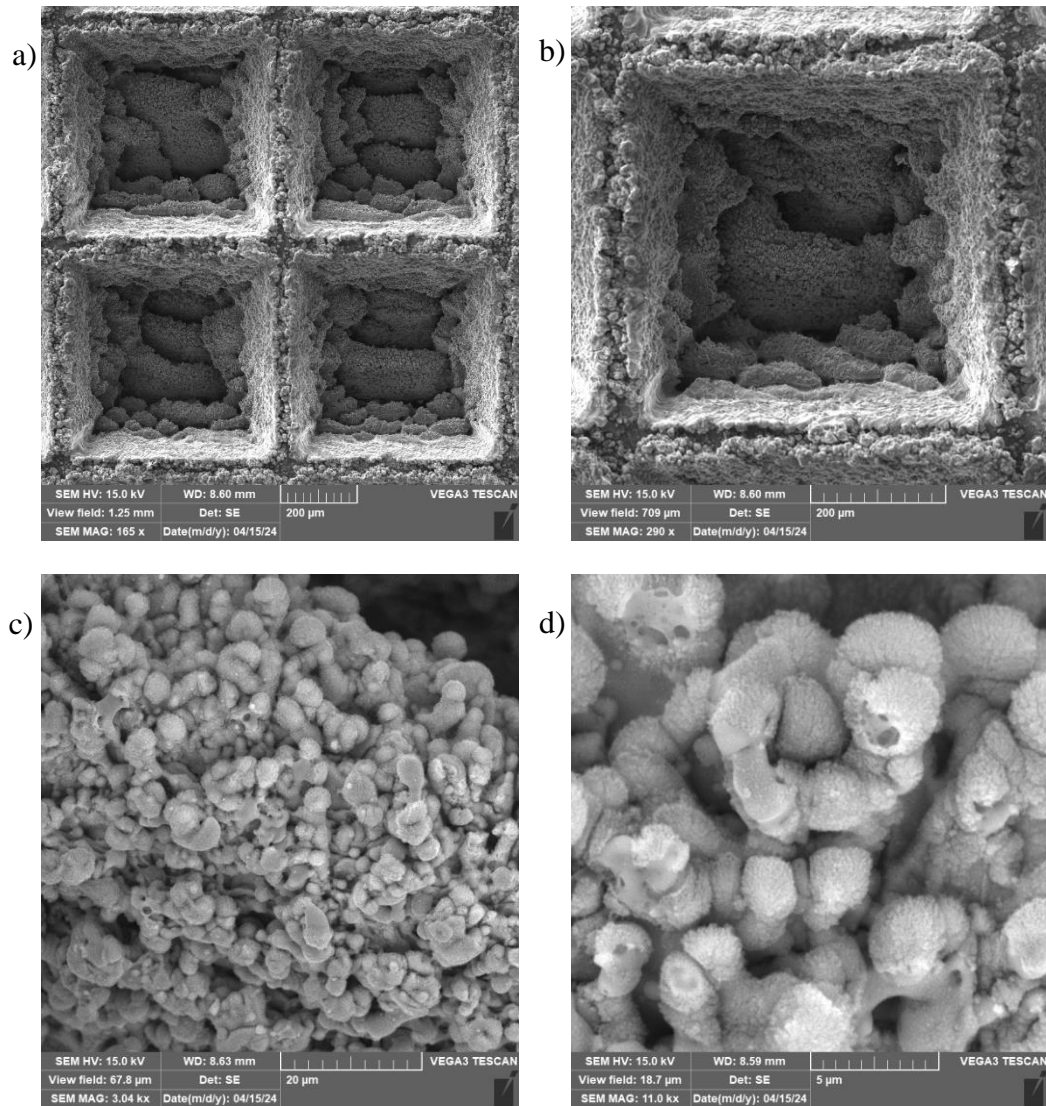
Obr. 53: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm)

Tab. 10: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm)

Prvek	Atomární [%]
C	29,11
O	27,53
Ti	42,26
Cu	1,10

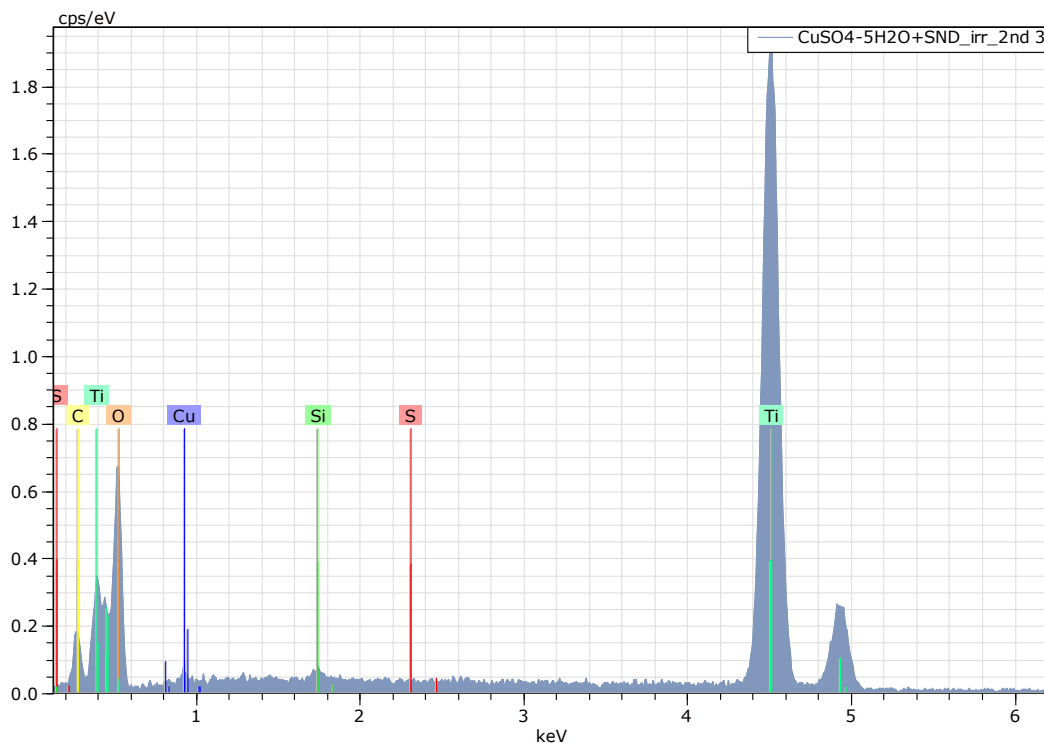
Další část této kapitoly je věnována analýzám SEM/EDS sorbovaných částic z koloidů na bázi Cu na texturovaném Ti povrchu. Texturovaný povrch Ti je ve formě mřížek, kde velikost hrany mřížky činí 500  $\mu\text{m}$ .

Na obr. 54a) je vidět typická laserová texturace Ti povrchu. Při větším zvětšení je na první pohled zřejmé, že pozorovatelnost nanočástic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem je horší z důvodu texturovaného povrchu, který je více členitý. Lze ale vidět (obr. 54d) hladké pórovité útvary s velikostí kolem 2  $\mu\text{m}$ , které jsou pravděpodobně sorbovanými částicemi.



**Obr. 54: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a - d)**

Na obr. 55 a v tab. 11 je provedena EDS analýza z jedné ze hran mřížky, kde byla nalezena nečistota ve formě Si.

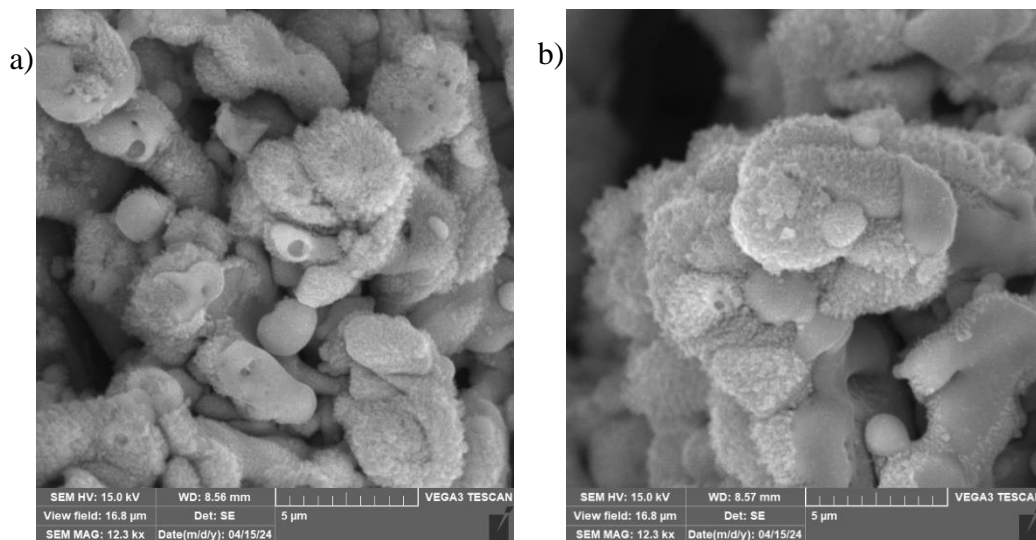


**Obr. 55: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

**Tab. 11: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

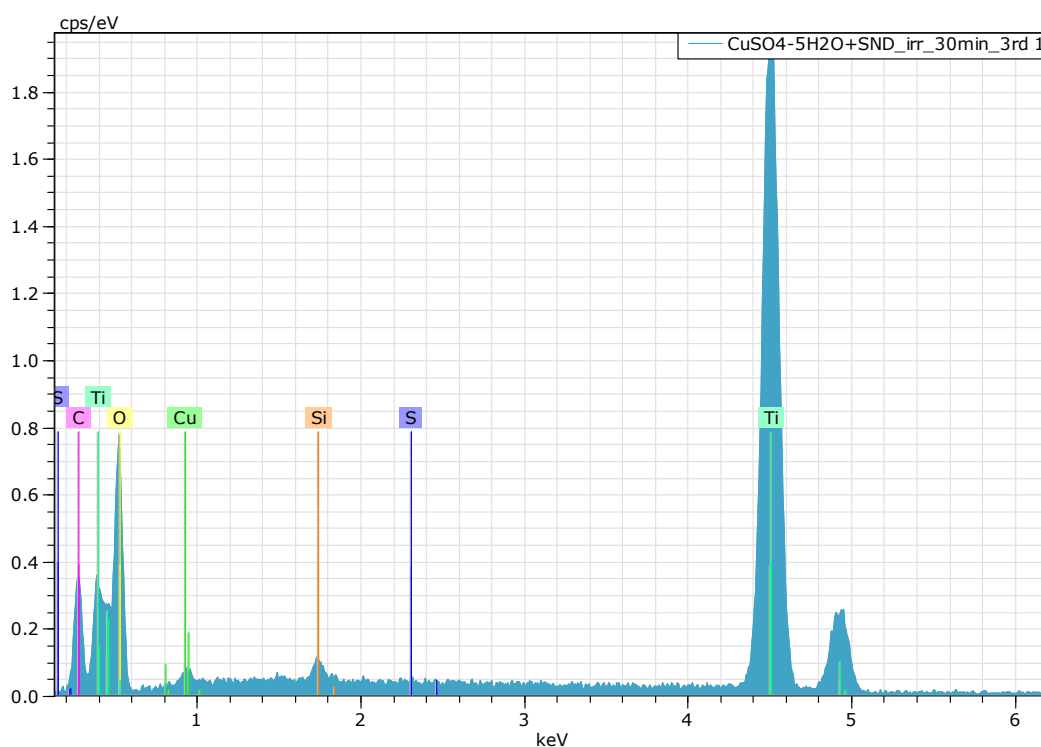
Prvek	Atomární [%]
C	8,10
O	57,98
Si	0,31
S	0,03
Ti	33,25
Cu	0,33

SEM analýzy z obr. 56 na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem ukazují přítomnost hladkých pórovitých částic o rozměru jen několika jednotek  $\mu\text{m}$ .



**Obr. 56: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b)**

Na obr. 57 a v tab. 12 je EDS analýza z jedné ze hran mřížky. Jako v předchozím případě při sorpci částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem se zde nachází nečistota ve formě Si.



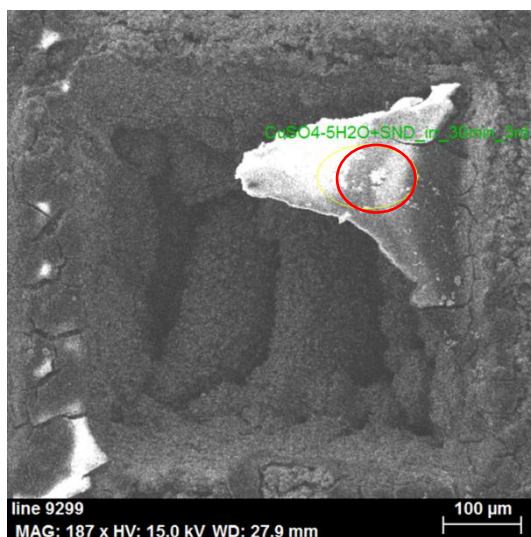
**Obr. 57: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**



**Tab. 12: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

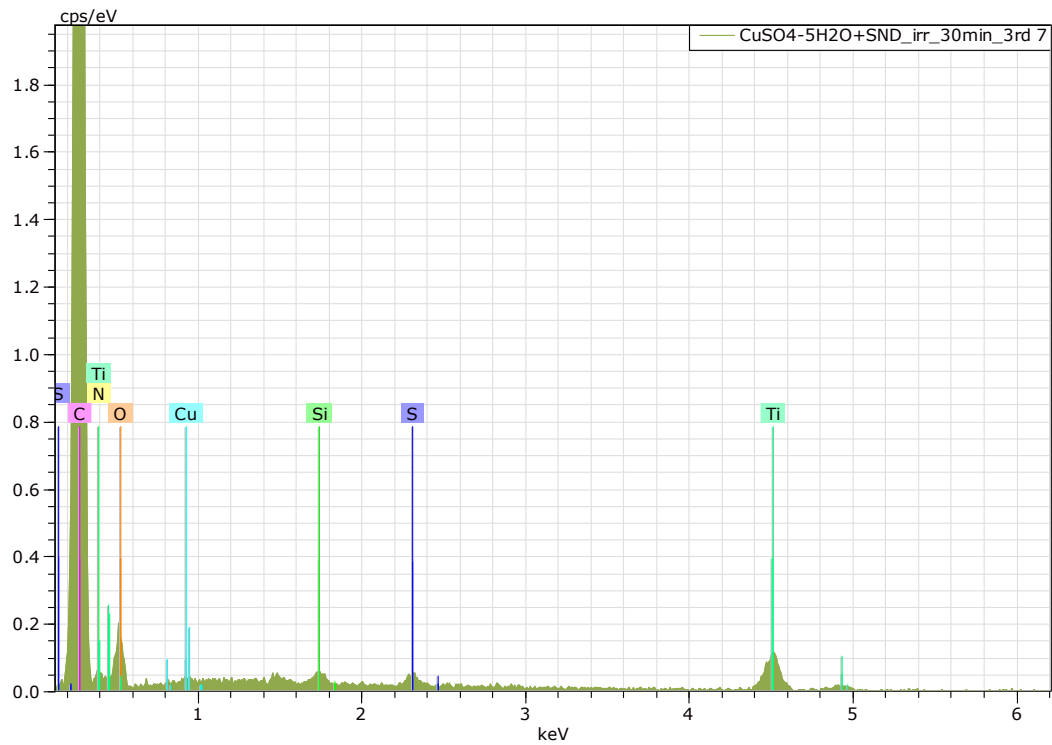
Prvek	Atomární [%]
C	15,24
O	54,74
Si	0,46
S	0,03
Ti	29,34
Cu	0,19

Na obr. 58 je SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem. Zde je patrná velká struktura ve velikosti zhruba 300  $\mu\text{m}$ , která vznikla po odpaření a sorpci koloidu. Je zřejmé, že tato struktura je i u hrany mřížky popraskaná, s drobnými mikrotrhlinami. Může se jednat o tzv. smršťovací trhlinu, která poškozuje celistvost povrchového filmu. K tomuto jevu může dojít díky rychlejšímu odpařování koloidu.



**Obr. 58: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

Na obr. 59 a v tab. 13 je EDS analýza vzniklé struktury z obr. 58. Jsou zde nečistoty Si, N a není zde procentuálně atomárně zastoupen Cu, ale ve spektru nalezen byl.

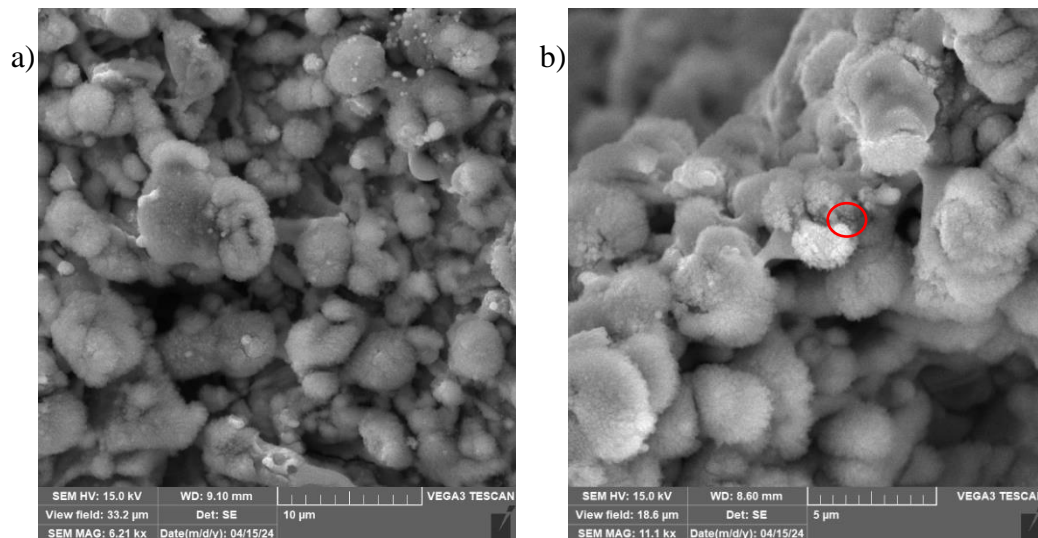


**Obr. 59: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

**Tab. 13: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

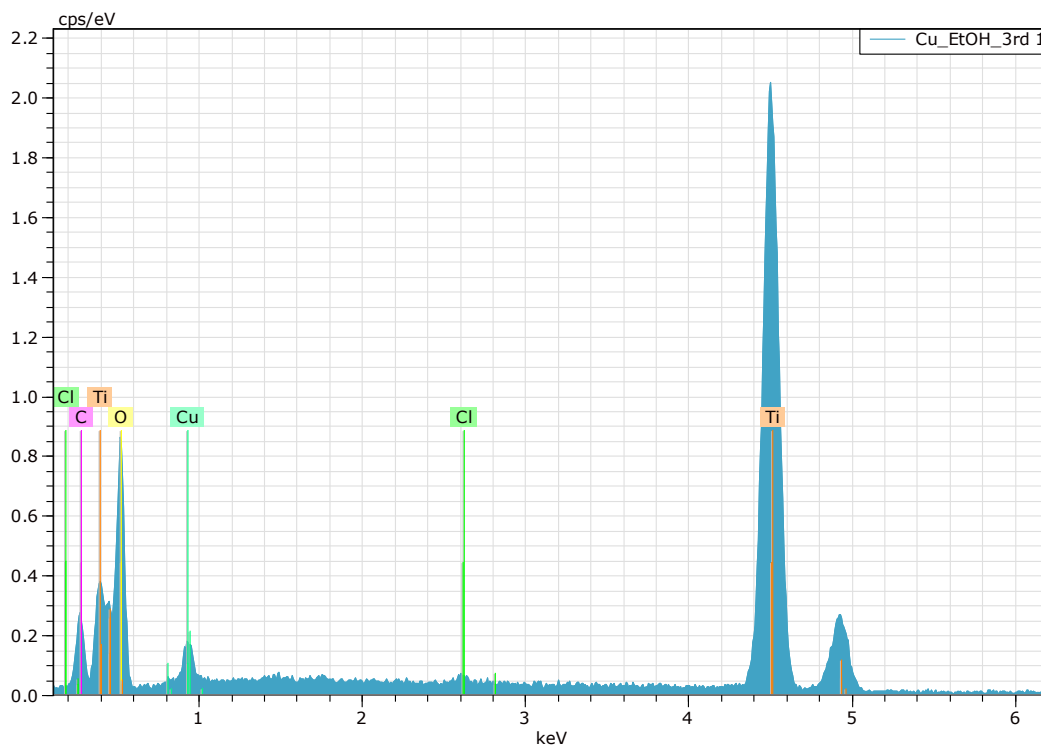
Prvek	Atomární [%]
C	91,81
N	1,09
O	6,16
Si	0,06
S	0,07
Ti	0,81
Cu	0,00

Na obr. 60 jsou SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH a zde jsou při daném zvětšení patrné nanočástice s velikostmi i pod 100 nm (červeně označená oblast).



**Obr. 60: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b)**

Provedená EDS analýza (obr. 61 a tab. 14) z jedné ze hran mřížky potvrzuje přítomnost Cu, a tak jako při sorpci na hladký povrch Ti je i zde přítomnost nečistot, v tomto případě Cl.



**Obr. 61: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

**Tab. 14: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Cu po ablaci v EtOH (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti**

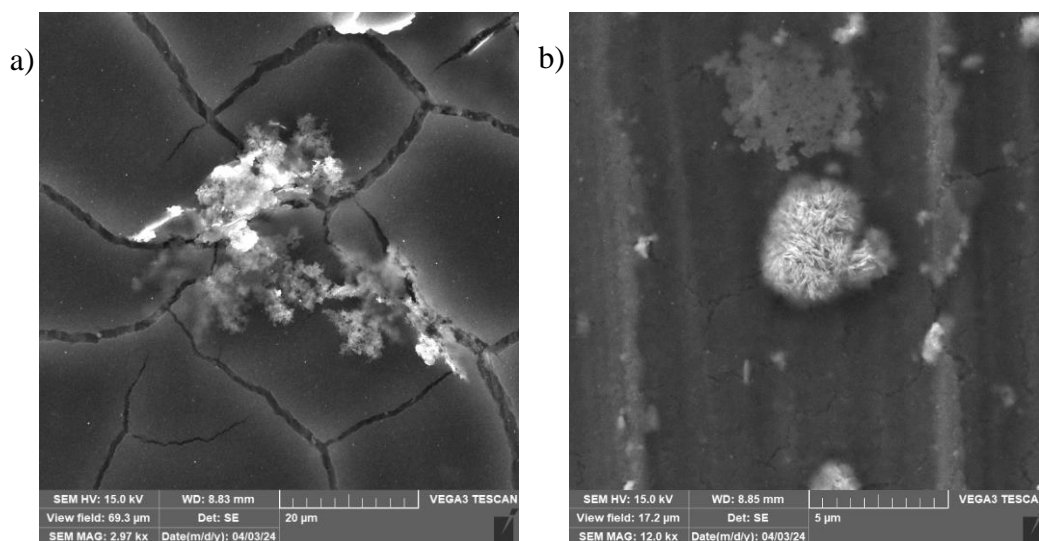
Prvek	Atomární [%]
C	11,87
O	57,86
Cl	0,18
Ti	28,81
Cu	1,28

## 6.10 SEM/EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag

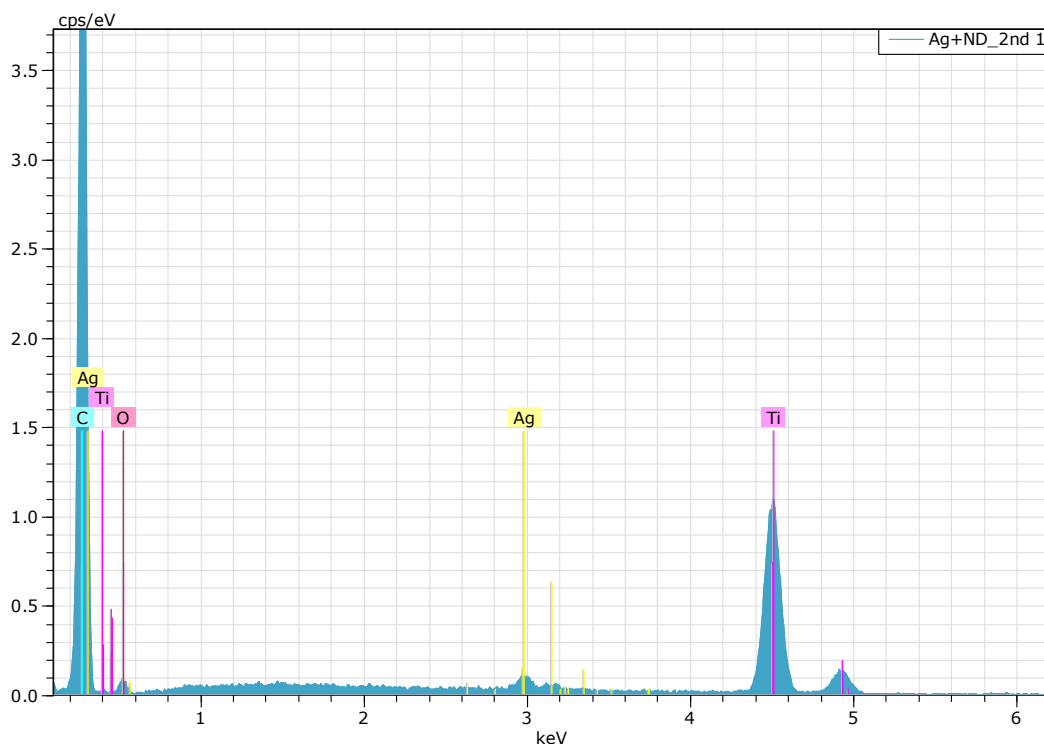
Pro měření probíhaly stejné podmínky jako u SEM/EDS Cu koloidů.

Na obr. 62 je možné rozpoznat pozoruhodné vzniklé struktury na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem. Útvar složený z mnoha částic o velikosti několika desítek  $\mu\text{m}$  (obr. 62a) vypadá, jako kdyby vzlínal z povrchu vytvořeného filmu (film je pravděpodobně vrstva DND). Menší struktury budou pravděpodobně shluky nanočástic. Na obr. 62b) je spatřitelný shluk o průměru 5  $\mu\text{m}$  složený z ostrohranných krystalických nanočástic.

Na obr. 63 a v tab. 15 je EDS analýza reprezentativní části plochy a byly zde prvky C, O, Ti a Ag, což odpovídá vzhledem k použitým výchozím látkám pro experiment.



**Obr. 62: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm; a, b)**

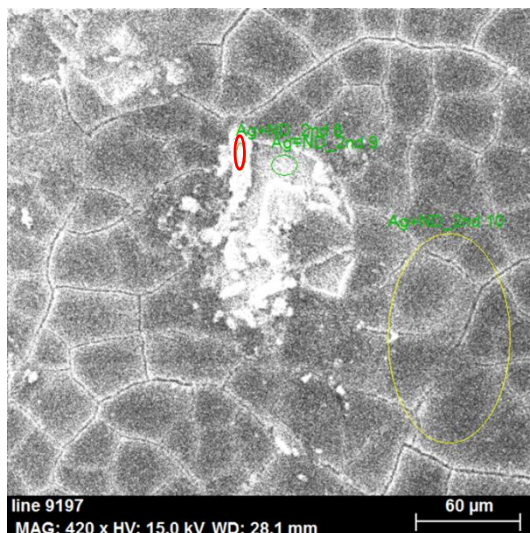


Obr. 63: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

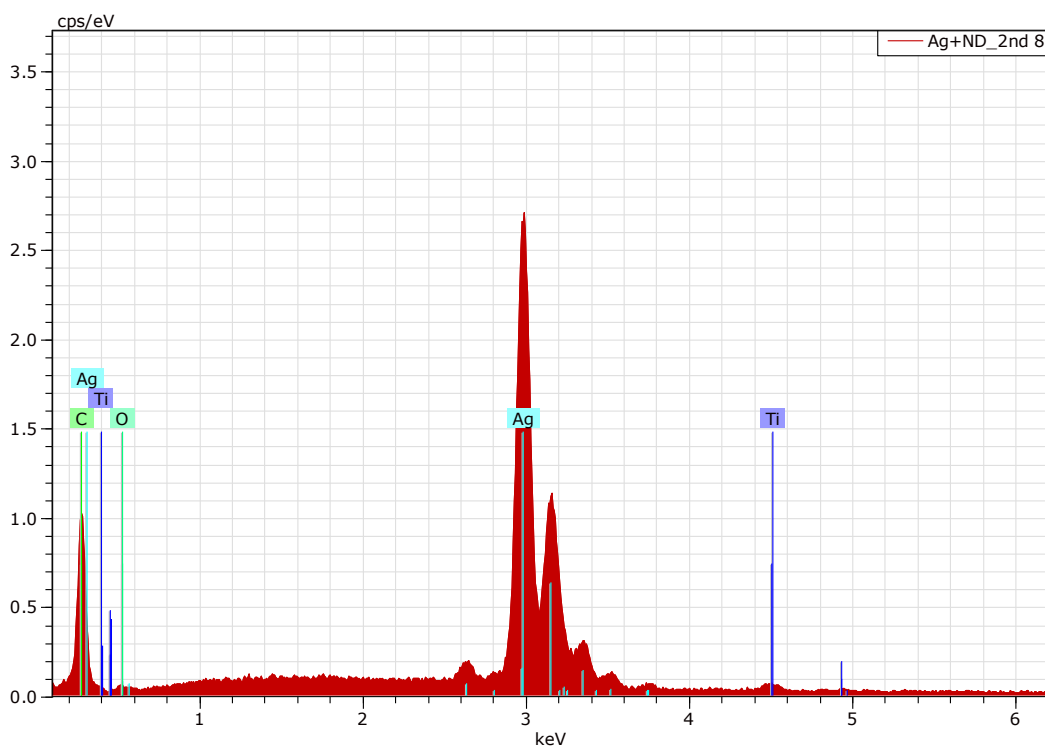
Tab. 15: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

Prvek	Atomární [%]
C	86,73
O	3,23
Ti	9,76
Ag	0,29

Na obr. 64 je SEM analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND. Následně je provedena EDS analýza (obr. 65 a tab. 16) částice, která je na povrchu popraskaného filmu, viz obr. 64 (značena červeně). Je zde relativně vysoké atomární % Ag, tedy 47,91 %.



Obr. 64: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)



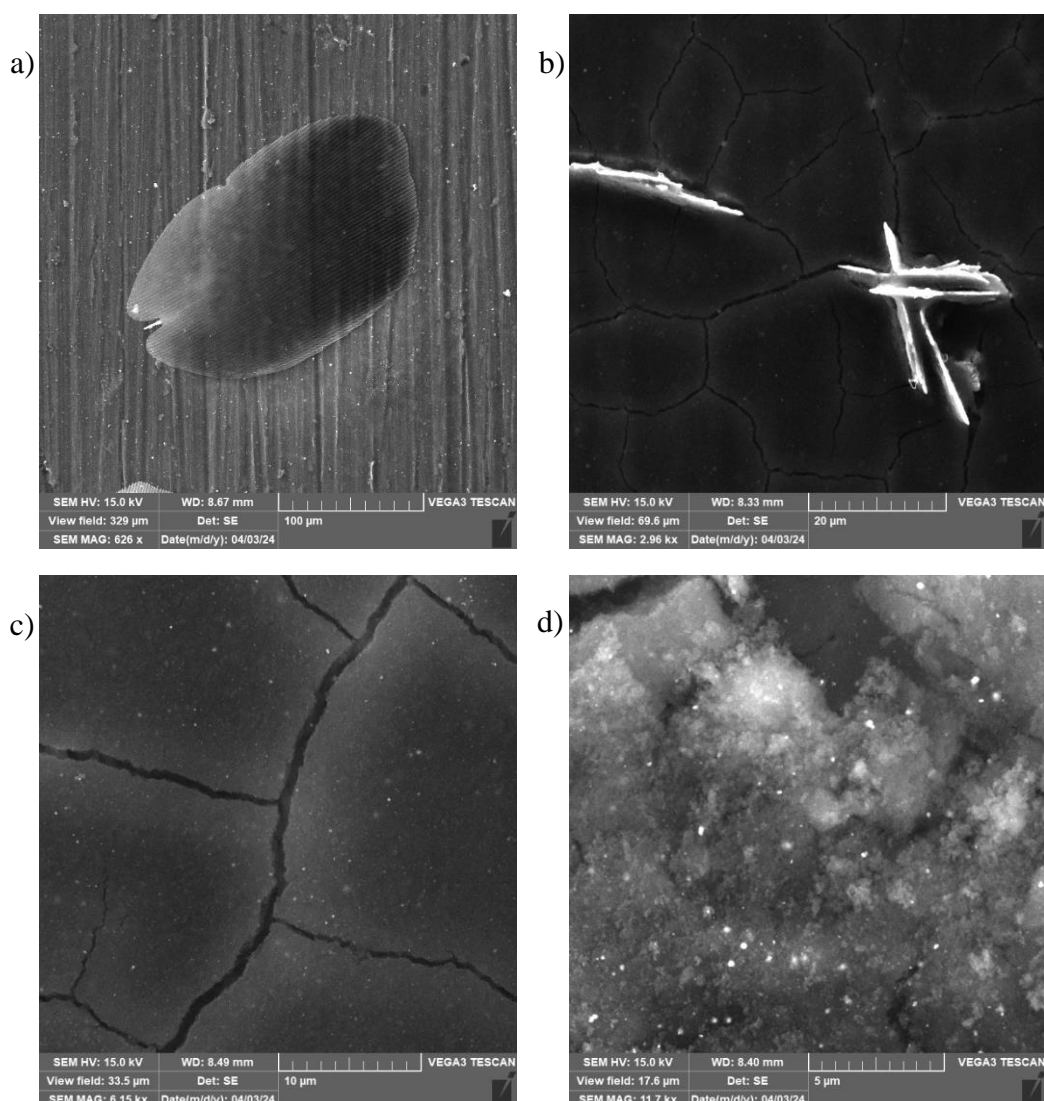
Obr. 65: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

Tab. 16: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm)

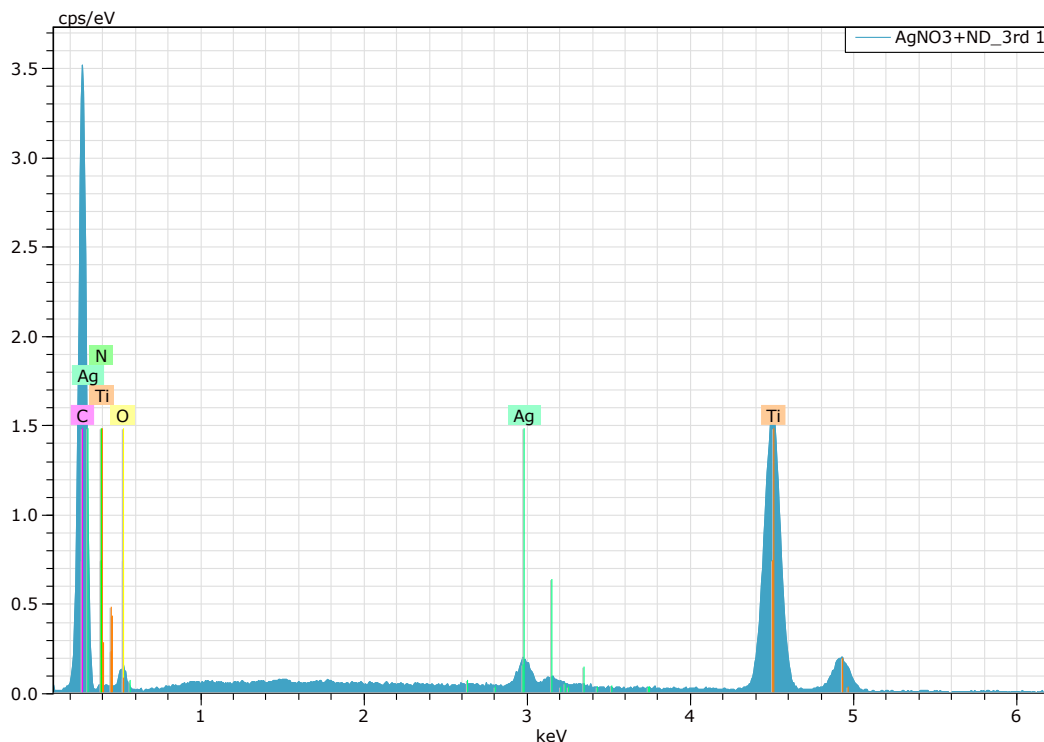
Prvek	Atomární [%]
C	45,29
O	4,96
Ti	1,84
Ag	47,91

Na obr. 66 jsou SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem. Vznikly zde překvapivé struktury. První typ struktury (obr. 66a) je částice velká přes 200  $\mu\text{m}$  a má tvar „lastury“ s jemným pravidelným rovnoběžným rýhováním. Druhým typem struktur (obr. 66b) jsou ostrohranné destičkovité částice o velikostech zhruba 20  $\mu\text{m}$ , které vycházejí kolmo z popraskaného filmu. Posledním typem jsou nanočástice určitelné dle měřítka o velikostech pod 100 nm (obr. 66d). Na obr. 67 a v tab. 17 je EDS analýza reprezentativní plochy sorbovaných částic z koloidu, kde jsou všechny typy struktur z obr. 66. Prvky C, O, Ti a Ag odpovídají výchozím látkám použitých v experimentu. Obr. 67 ukazuje i přítomnost prvku N, ale jeho atomární zastoupení je 0,00 %. N může pocházet z DND, jelikož běžně DND obsahují atomární 2 % N. Pravděpodobněji je ale N z  $\text{NO}_3^-$  aniontu.

Na obr. 68 je SEM pohled na částici (vlevo dole, značena červeně), kde je poté na obr. 69 s tab. 18 EDS analýza z pozorované částice. Oproti plošné EDS je zde vyšší atomární % Ag, tedy 17,95 %.



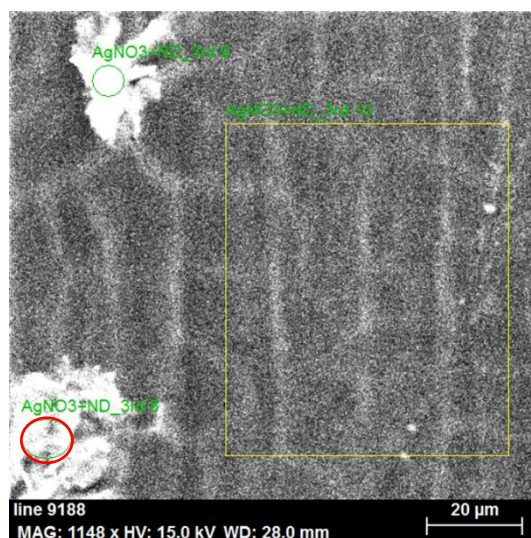
Obr. 66: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm; a - d)



Obr. 67: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

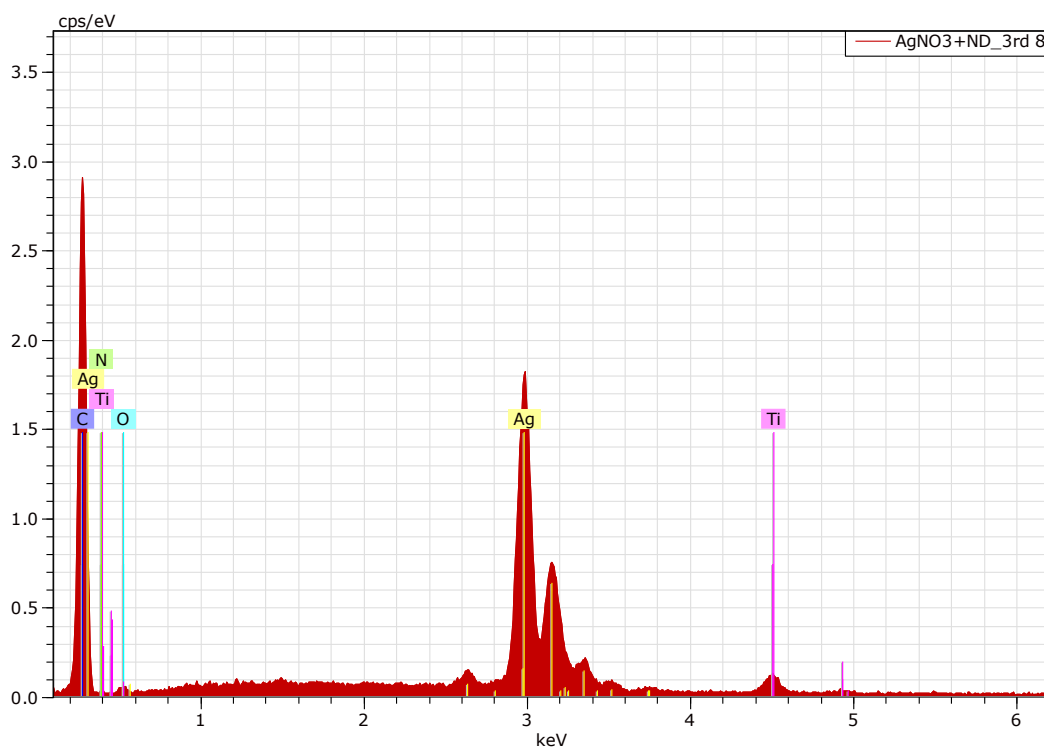
Tab. 17: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

Prvek	Atomární [%]
C	75,68
O	7,41
Ti	16,27
Ag	0,64



Obr. 68: SEM analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)





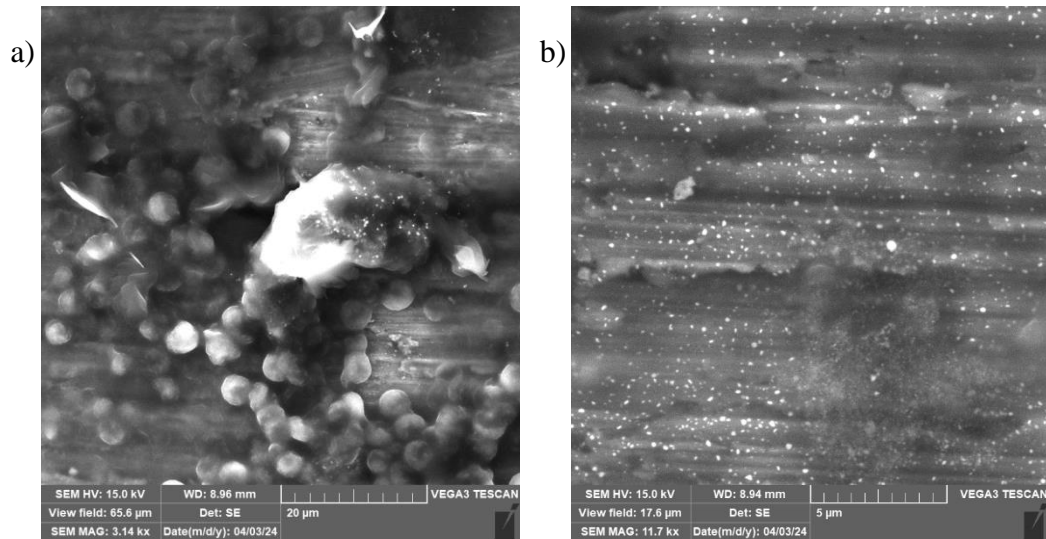
**Obr. 69:** EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

**Tab. 18:** Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm)

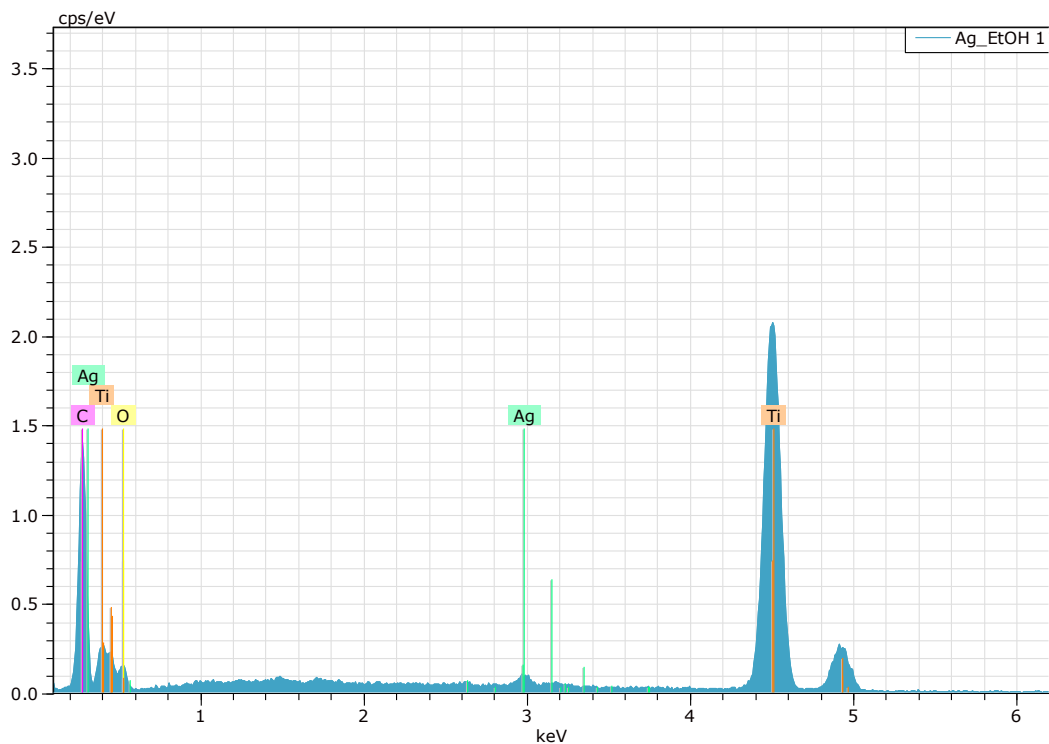
Prvek	Atomární [%]
C	76,17
N	0,60
O	2,71
Ti	2,57
Ag	17,95

Na obr. 70 jsou analýzy SEM sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH. Vzniklé struktury (obr. 70a) jsou globulární tvaru o průměrech okolo 2  $\mu\text{m}$ . Na obr. 70b) jsou dle měřítka nanočástice i s velikostí pod 100 nm.

Na obr. 71 a v tab. 19 je EDS analýza reprezentativní části plochy a byly zde nalezeny prvky, které odpovídají výchozím látkám.



Obr. 70: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm; a, b)

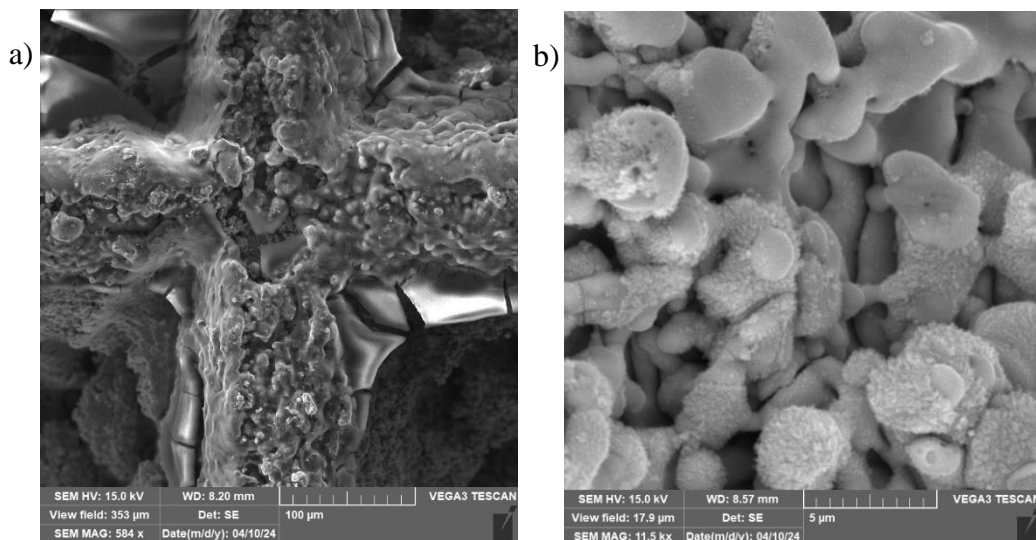


Obr. 71: EDS analýza sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm)

Tab. 19: Atomární procenta EDS analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm)

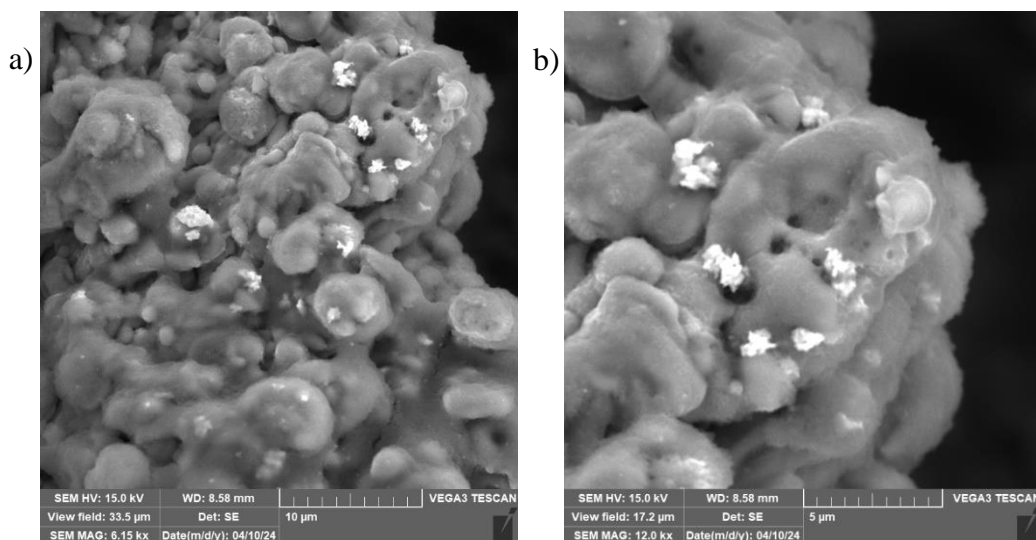
Prvek	Atomární [%]
C	54,37
O	12,52
Ti	32,75
Ag	0,36

Další část kapitoly je věnována analýzám SEM/EDS sorbovaných částic z koloidů na bázi Ag na texturovaném Ti povrchu. Na obr. 72 jsou SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem. Lze zde vidět na povrchu Ti u hran texturace popraskaný sorbovaný film s velikostí zhruba jen několik desítek  $\mu\text{m}$  (obr. 72a). Na obr. 72b) je přítomnost hladkých pórovitých částic o velikosti jen několika jednotek  $\mu\text{m}$ .



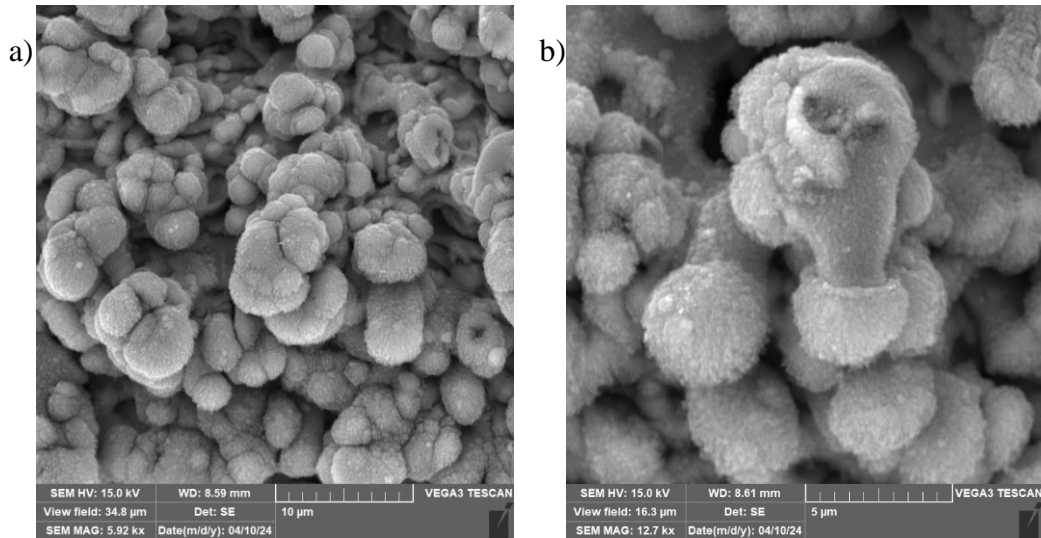
**Obr. 72: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 2. harmonickým modulem (532 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b)**

Na obr. 73 jsou SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem na texturovaném povrchu substrátu Ti. Zde lze vidět částice, které pravděpodobně tvoří shluky o rozměrech kolem 500 nm.



**Obr. 73: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag DND po fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm), texturovaný povrch substrátu Ti (a, b)**

Na obr. 74 jsou SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH. Díky texturaci nelze přesně rozlišit, co by mohly být sorbované částice. Některé částice lze nicméně pozorovat o rozměrech v řádech desítek až stovek nm.



**Obr. 74: SEM analýzy sorbovaných částic na bázi Ag po ablaci v EtOH (355 nm),  
texturovaný povrch substrátu Ti (a, b)**

## 7 Diskuse výsledků

V této části budou interpretovány, zhodnoceny a shrnuty výsledky provedených analýz. Z tab. 20 lze porovnat výsledky získaných nanočástic na bázi Cu z fotoredukce za použití laseru s 2. harmonickým modulem (532 nm) nebo 3. harmonickým modulem (355 nm) základní vlnové délky v přítomnosti silně redukční disperze DND. V případě fotoredukce s použitím laseru s 2. harmonickým modulem se jeví, že bylo dosaženo nanokompozitů na bázi Cu s oxidem  $\text{Cu}_2\text{O}$  a s částečně grafitizovaným DND. DND tedy pod vlivem laserového ozařování podléhá grafitizaci. U připraveného koloidu došlo k aglomeraci a dle ELS byl připravený koloid nestabilní, proto může být překvapivé, že došlo k objevení shluků (pravděpodobně i kolonií) těchto nanokompozitů. U použití laseru s 3. harmonickým modulem nebyly objeveny kolonie sorbovaných nanočástic i přesto, že zhotovený koloid vykazoval lepší stabilitu a u přípravy k aglomeraci nedošlo. Hypotéza může být, že částice s morfologií „rýže“ a velikostí  $\sim 1 \mu\text{m}$  by mohla být  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  a kolonie nanočástic by mohly být redukována Cu.

**Tab. 20: Shrnutí výsledků získaných nanočástic na bázi Cu z fotoredukce v přítomnosti disperze DND**

Použité metody	Laserem asistovaná fotoredukce Cu laserem s 2. harmonickým modulem z roztoku její soli $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ v přítomnosti disperze DND	Laserem asistovaná fotoredukce Cu laserem s 3. harmonickým modulem z roztoku její soli $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ v přítomnosti disperze DND
DLS velikost částic	V řádu 1000 nm (sražení)	100 – 1000 nm
ELS zeta potenciál	12,1 mV	20,2 mV
UV-Vis absorpční pásy	300 nm	300 nm
Ramanova spektroskopie	Částečně grafitizované DND, $\text{Cu}_2\text{O}$	Částečně grafitizované DND, $\text{Cu}_2\text{O}$
SEM	Částice „rýže“ $\sim 1 \mu\text{m}$ , kolonie nanočástic	Částice „rýže“ $\sim 1 \mu\text{m}$ (bez kolonií)
EDS	Cu 2,86 at. %	Cu 0,37 at. %

Dále dle předchozích experimentů bylo zjištěno, že při smíchání roztoku soli s disperzí DND nedojde samovolně k redukci a ani ke grafitizaci DND. Také bylo zjištěno, že při pulsní laserové ablaci jen samotného roztoku soli  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (tedy bez disperze DND) nedojde k redukci na čistý kov Cu. Ukazuje se tedy, že pro proces redukce je důležitý redukční účinek DND v kombinaci s laserovým zářením.

V tab. 21 je opět porovnání použití laseru s rozdílným harmonickým modulem základní vlnové délky, v tomto případě na fotoredukci Ag ze soli  $\text{AgNO}_3$  v přítomnosti disperze DND. S použitím laseru s 2. harmonickým modulem je vidět, že zůstaly i zbytkové DND. Dále si lze všimnout toho, že Ramanova spektroskopie dokáže odhalit vibrace vazeb v mřížce Ag. Díky tomu se může jednoznačně určit i s pomocí UV-Vis a EDS analýz, že v obou modulacích laseru došlo k redukci na atomární kovové Ag, ale také na oxidy Ag. Fotoredukce v případě použití 3. harmonického modulu je navíc dle přiložených snímků SEM velmi průkazná. V Příloze č.1 je Ramanova spektroskopie s mikroskopickým snímkem, kde dokonce čisté Ag přilnulo na sklo reaktorové komory při fotoredukci 3. harmonickým modulem.

**Tab. 21:** Shrnutí výsledků získaných nanočástic na bázi Ag z fotoredukce v přítomnosti disperze DND

Použité metody	Laserem asistovaná fotoredukce Ag laserem s 2. harmonickým modulem z roztoku její soli AgNO <sub>3</sub> v přítomnosti disperze DND	Laserem asistovaná fotoredukce Ag laserem s 3. harmonickým modulem z roztoku její soli AgNO <sub>3</sub> v přítomnosti disperze DND
DLS velikost částic	200 nm	150 nm
ELS zeta potenciál	20,6 mV	29,3 mV (navýšení)
UV-Vis absorpční pásy	295 nm, 330 nm, 425 nm	295 nm, 330 nm
Ramanova spektroskopie	Částečně grafitizované DND, DND, AgO, Ag <sub>2</sub> O, Ag	DND, AgO, Ag <sub>2</sub> O, Ag
SEM	Útvary složené z různých částic ~10 μm, shluky nanočástic	Částice „lastury“ ~200 μm, ostrohranné destičkovité částice ~20 μm, nanočástice určitelné pod 100 nm
EDS	Ag 0,29 at. %	Ag 0,64 at. %

V tab. 22 je srovnání nanočástic na bázi Cu nebo Ag v případě použití metody pulsní laserové ablace v EtOH. Jedná se o více probádanou metodu, a tak zde byly nanočástice s velikostmi pod 100 nm očekávány. Překvapivý byl naměřený zeta potenciál 30 mV u koloidu Ag v EtOH, což je vysoká hodnota vzhledem k ostatním měřeným koloidům zde v práci. EDS analýzy povrchu v obou případech ukázaly nečistoty ve formě neočekávaných různých prvků, zdrojem mohly být již nečistoty při přípravě vzorků.

**Tab. 22:** Shrnutí výsledků získaných nanočástic na bázi Cu nebo Ag

Použité metody	Pulsní laserová ablace Cu v ethanolu	Pulsní laserová ablace Ag v ethanolu
DLS velikost částic	70 - 1000 nm	100 nm
ELS zeta potenciál	14,8 mV	30,0 mV
UV-Vis absorpční pásy	285 nm, 700 nm	285 nm, 400 nm
Ramanova spektroskopie	Vazby CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> , nanodiamanty, CuO, Cu(OH) <sub>2</sub> , Cu <sub>2</sub> O	Vazby CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> , amorfnní C, Ag
SEM	ostrohranné typy částic ve velikostech v řádech desítek μm, kolonie nanočástic	Částice globulitické ~2 μm, nanočástice pod 100 nm
EDS	Cu 1,10 at. % (nečistoty)	Ag 0,36 at. % (nečistoty)

## Závěr

Diplomová práce je rozdělena na teoretickou a experimentální část. Teoretická část je zaměřena na bioaktivní nanočástice obecně. Bioaktivní nanočástice jsou pak rozděleny dle vzniku a interakce s lidskou tkání. Další část je zaměřena na syntézu a vlastnosti nanočástic s rozdělením dle druhu materiálu, tj. na bázi uhlíku, keramiky, kovu, polovodičů, polymerů a lipidů. Dále byly rozebrány obecně antibakteriální nanočástice a jejich mechanismy. Oxidační stres indukovaný ROS a uvolňování iontů kovů jsou dobře zdokumentované antibakteriální mechanismy, zatímco vysvětlení neoxidačních mechanismů by mělo být v budoucnosti předmětem dalšího vědeckého zkoumání. Následující kapitola zohledňuje i toxický účinek nanočástic, který může být potenciálním problémem při aplikaci antibakteriálních nanočástic. V následující části se rešerše věnuje antibakteriálním nanočásticím obsahující Cu a Ag, primárně vlastnostem, metodám přípravy a využití. Zde vyplynulo, že nanočástice na bázi Cu i Ag jsou vhodnými antibakteriálními látkami, např. pro povlaky a součásti zubních výplní, díky jejich antibakteriálním vlastnostem. V kapitole 3 jsou rozebrány DND vzhledem k jejich účinné fotokatalytické aktivitě, což může ovlivnit i způsob úpravy DND povrchů. V současnosti jsou nejvíce studované H- a O-terminace DND. Poslední kapitolou teoretické části je návrh experimentu, který popisuje a vysvětluje princip metod pro získání nanočástic na bázi Cu/Ag v přítomnosti disperze nanodiamantu a nanočástic Cu a Ag v EtOH. Na konci této kapitoly jsou použité měřicí a pozorovací metody s jejich základními teoretickými principy.

Experimentální část je věnována popisu samotného experimentu včetně použitého zařízení. Následně se experimentální část věnuje dosaženým výsledkům. Pro získání výsledků byly použity moderní měřicí a pozorovací techniky, které umožnily charakterizaci získaných částic. Konkrétní použité metody jsou DLS, ELS, UV-Vis spektroskopie, Ramanova spektroskopie a SEM/EDS. Vzhledem k výsledkům lze uvažovat, že laserem asistovaná fotoredukce Cu nebo Ag laserem z roztoku jejich solí v přítomnosti disperze DND i pulsní laserová ablace v EtOH jsou úspěšné procesy pro získání nanostruktur Cu i Ag za použití vhodných podmínek. Důležité je zmínit, že použitý Nd:YAG laser pro ozařování byl použit s 2. (532 nm) a 3. (355 nm) harmonickým modulem základní vlnové délky laseru, což mělo vliv na získané výsledky, viz kapitola 7 Diskuse výsledků. Experiment přináší mimořádně zajímavé výsledky z analýz SEM. Vznikly specifické struktury, např. částice s morfologiemi „rýže, lastury“ a různorodé kolonie nanočástic, které bude potřeba dále prozkoumat a charakterizovat. Dále je plánováno zjistit antibakteriální vlastnosti těchto struktur. Metoda laserem asistované fotoredukce Cu a Ag z roztoku jejich solí v přítomnosti silně redukční disperze DND byla provedena pouze pro hydrogenované DND, proto je pro další výzkum doporučeno provést experiment znovu se stejnými podmínkami, kde by jediným rozdílem bylo použití oxidovaných DND. Vzhledem k rozdílným vlastnostem díky H- a O-terminaci DND lze očekávat jiné vlastnosti nanočástic. Jednou z výzev bude vysvětlení mechanismu vlivu DND v kombinaci s laserově indukovanou fotoredukcí. Další výzvou bude objasnění vlivu povrchové úpravy DND (H- a O- terminace) na redukční proces.

## Seznam použitých zdrojů

- [1] BOMMAKANTI, Vaishnavi, Madhura BANERJEE, Divik SHAH, Kowdi MANISHA, Kavya SRI a Satarupa BANERJEE. An overview of synthesis, characterization, applications and associated adverse effects of bioactive nanoparticles. *Environmental Research* [online]. 2022, 214, 1. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2022.113919
- [2] LESPES, Gaëtane, Stéphane FAUCHER a Vera I. SLAVEYKOVA. Natural Nanoparticles, Anthropogenic Nanoparticles, Where Is the Frontier? *Frontiers in Environmental Science* [online]. 2020, 8, 71. ISSN 2296-665X. Dostupné z: doi:10.3389/fenvs.2020.00071
- [3] KÖGEL, Tanja, Ørjan BJORØY, Benuarda TOTO, André Marcel BIENFAIT a Monica SANDEN. Micro- and nanoplastic toxicity on aquatic life: Determining factors. *Science of The Total Environment* [online]. 2020, 709, 1–2. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.136050
- [4] ØDEGAARD, Kristin S., Jan TORGENSEN a Christer W. ELVERUM. Structural and Biomedical Properties of Common Additively Manufactured Biomaterials: A Concise Review. *Metals* [online]. 2020, 10(12), 1677. ISSN 2075-4701. Dostupné z: doi:10.3390/met10121677
- [5] WEI, Shuai, Jian-Xiong MA, Lai XU, Xiao-Song GU a Xin-Long MA. Biodegradable materials for bone defect repair. *Military Medical Research* [online]. 2020, 7(1), 54. ISSN 2054-9369. Dostupné z: doi:10.1186/s40779-020-00280-6
- [6] AMUKARIMI, Shukufe a Masoud MOZAFARI. Biodegradable magnesium-based biomaterials: An overview of challenges and opportunities. *MedComm* [online]. 2021, 2(2), 123–144. ISSN 2688-2663, 2688-2663. Dostupné z: doi:10.1002/mco2.59
- [7] D'AMATO, Rosaria, Mauro FALCONIERI, Serena GAGLIARDI, Ernest POPOVICI, Emanuele SERRA, Gaetano TERRANOVA a Elisabetta BORSELLA. Synthesis of ceramic nanoparticles by laser pyrolysis: From research to applications. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. 2013, 104, 461–469. ISSN 01652370. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaap.2013.05.026
- [8] ZIELIŃSKA, Aleksandra, Filipa CARREIRÓ, Ana M. OLIVEIRA, Andreia NEVES, Bárbara PIRES, D. Nagasamy VENKATESH, Alessandra DURAZZO, Massimo LUCARINI, Piotr EDER, Amélia M. SILVA, Antonello SANTINI a Eliana B. SOUTO. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. *Molecules* [online]. 2020, 25(16), 3731. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25163731
- [9] KUMAR, Sacheen a Jaspreet Kaur RANDHAWA. High melting lipid based approach for drug delivery: Solid lipid nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2013, 33(4), 1842–1852. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2013.01.037
- [10] BELOQUI, Ana, María Ángeles SOLINÍS, Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN, António J. ALMEIDA a Véronique PRÉAT. Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*



- [online]. 2016, 12(1), 143–161. ISSN 15499634. Dostupné z: doi:10.1016/j.nano.2015.09.004
- [11] KAUR, Harleen, Protima RAUWEL a Erwan RAUWEL. Antimicrobial nanoparticles: Synthesis, mechanism of actions. In: *Antimicrobial Activity of Nanoparticles* [online]. B.m.: Elsevier, 2023, s. 155–202. ISBN 978-0-12-821637-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-821637-8.00008-0
- [12] WANG, Linlin, Chen HU a Longquan SHAO. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine* [online]. 2017, Volume 12, 1227–1249. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S121956
- [13] YU, Jian, Wenyun ZHANG, Yang LI, Gang WANG, Lidou YANG, Jianfeng JIN, Qinghua CHEN a Minghua HUANG. Synthesis, characterization, antimicrobial activity and mechanism of a novel hydroxyapatite whisker/nano zinc oxide biomaterial. *Biomedical Materials* [online]. 2014, 10(1), 12. ISSN 1748-605X. Dostupné z: doi:10.1088/1748-6041/10/1/015001
- [14] XU, Xiaoling, Dan CHEN, Zhigang YI, Man JIANG, Li WANG, Zuowan ZHOU, Ximei FAN, Yong WANG a David HUI. Antimicrobial Mechanism Based on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Generation at Oxygen Vacancies in ZnO Crystals. *Langmuir* [online]. 2013, 29(18), 5573–5580. ISSN 0743-7463, 1520-5827. Dostupné z: doi:10.1021/la400378t
- [15] ALLAHVERDIYEV, Adil M, Emrah Sefik ABAMOR, Malahat BAGIROVA a Miriam RAFAILOVICH. Antimicrobial effects of TiO<sub>2</sub> and Ag<sub>2</sub>O nanoparticles against drug-resistant bacteria and *leishmania* parasites. *Future Microbiology* [online]. 2011, 6(8), 933–940. ISSN 1746-0913, 1746-0921. Dostupné z: doi:10.2217/fmb.11.78
- [16] DONALDSON, Ken, Craig A. POLAND a Roel P. F. SCHINS. Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: Criteria for improved test strategies. *Nanotoxicology* [online]. 2010, 4(4), 414–420. ISSN 1743-5390, 1743-5404. Dostupné z: doi:10.3109/17435390.2010.482751
- [17] PAN, Zhi, Wilson LEE, Lenny SLUTSKY, Richard A. F. CLARK, Nadine PERNODET a Miriam H. RAFAILOVICH. Adverse Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles on Human Dermal Fibroblasts and How to Protect Cells. *Small* [online]. 2009, 5(4), 511–520. ISSN 1613-6810, 1613-6829. Dostupné z: doi:10.1002/sml.200800798
- [18] MARKIN, Alexey V. a Natalia E. MARKINA. Experimenting with Plasmonic Copper Nanoparticles To Demonstrate Color Changes and Reactivity at the Nanoscale. *Journal of Chemical Education* [online]. 2019, 96(7), 1438–1442. ISSN 0021-9584, 1938-1328. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jchemed.8b01050
- [19] CHAKRABORTY, Nilanjan, Jishnu BANERJEE, Pallab CHAKRABORTY, Anuron BANERJEE, Sumedha CHANDA, Kasturi RAY, Krishnendu ACHARYA a Joy SARKAR. Green synthesis of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review. *Green Chemistry Letters and Reviews* [online]. 2022, 15(1), 187–215. ISSN 1751-8253, 1751-7192. Dostupné z: doi:10.1080/17518253.2022.2025916

- [20] YIMENG, Su, Xu HUILUN, Liao ZIMING, Liu KEJUN, Merzougui CHAIMA, Zhang XIANGYU, Hu YINCHUN, Wei YAN a Huang DI. Copper-Based Nanoparticles as Antibacterial Agents. *European Journal of Inorganic Chemistry* [online]. 2023, 26(4), 1–10. ISSN 1434-1948, 1099-0682. Dostupné z: doi:10.1002/ejic.202200614
- [21] MICHALAK, Magdalena, Agata ROGUSKA, Wojciech NOGALA a Marcin OPALLO. Patterning Cu nanostructures tailored for CO<sub>2</sub> reduction to electrooxidizable fuels and oxygen reduction in alkaline media. *Nanoscale Advances* [online]. 2019, 1(7), 2645–2653. ISSN 2516-0230. Dostupné z: doi:10.1039/C9NA00166B
- [22] MDLOVU, Ndumiso Vukile, Chao-Lung CHIANG, Kuen-Song LIN a Ruei-Ching JENG. Recycling copper nanoparticles from printed circuit board waste etchants via a microemulsion process. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2018, 185, 781–796. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2018.03.087
- [23] BARUAH, Prahlad K., Anuma SINGH, Latha RANGAN, Ashwini K. SHARMA a Alika KHARE. Optimization of copper nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation in distilled water as a viable SERS substrate for karanjin. *Materials Chemistry and Physics* [online]. 2018, 220, 111–117. ISSN 02540584. Dostupné z: doi:10.1016/j.matchemphys.2018.08.064
- [24] USMAN, Muhammad, Adeel AHMED, Bing YU, Qiaohong PENG, Youqing SHEN a Hailin CONG. Photocatalytic potential of bio-engineered copper nanoparticles synthesized from Ficus carica extract for the degradation of toxic organic dye from waste water: Growth mechanism and study of parameter affecting the degradation performance. *Materials Research Bulletin* [online]. 2019, 120, 1–10. ISSN 00255408. Dostupné z: doi:10.1016/j.materresbull.2019.110583
- [25] REN, Guogang, Dawei HU, Eileen W.C. CHENG, Miguel A. VARGAS-REUS, Paul REIP a Robert P. ALLAKER. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 2009, 33(6), 587–590. ISSN 09248579. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004
- [26] GNANAVEL, V., V. PALANICHAMY a Selvaraj Mohana ROOPAN. Biosynthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its anticancer activity on human colon cancer cell lines (HCT-116). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. 2017, 171, 133–138. ISSN 10111344. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.05.001
- [27] MEGHANA, Surapaneni, Prachi KABRA, Swati CHAKRABORTY a Nagarajan PADMAVATHY. Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles. *RSC Advances* [online]. 2015, 5(16), 12293–12299. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C4RA12163E
- [28] ABBAS, Saeed J., Mamta RANI a S.K. TRIPATHI. Preparation and characterization of nanocomposite between poly(aniline-co-m-chloroaniline)–copper sulfide nanoparticles. *Physica B: Condensed Matter* [online]. 2014, 443, 107–113. ISSN 09214526. Dostupné z: doi:10.1016/j.physb.2014.02.025
- [29] YAN, Weiyao, Xuan FU, Yuan GAO, Liyin SHI, Qi LIU, Wenchao YANG a Jianguo FENG. Synthesis, antibacterial evaluation, and safety assessment of CuS NPs against

- PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* subsp. *CAROTOVORUM*. *Pest Management Science* [online]. 2022, 78(2), 733–742. ISSN 1526-498X, 1526-4998. Dostupné z: doi:10.1002/ps.6686
- [30] CHEN, Shuai, Fu TANG, Liangzhen TANG a Lidong LI. Synthesis of Cu-Nanoparticle Hydrogel with Self-Healing and Photothermal Properties. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2017, 9(24), 20895–20903. ISSN 1944-8244, 1944-8252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.7b04956
- [31] JAVED, Rabia, Farwa RAIS, Muhammad KALEEM, Bushra JAMIL, Muhammad Arslan AHMAD, Tianhao YU, Saba Waqar QURESHI a Qiang AO. Chitosan capping of CuO nanoparticles: Facile chemical preparation, biological analysis, and applications in dentistry. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2021, 167, 1452–1467. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.11.099
- [32] XU, Veena Wenqing, Mohammed Zahedul Islam NIZAMI, Iris Xiaoxue YIN, Ollie Yiru YU, Christie Ying Kei LUNG a Chun Hung CHU. Application of Copper Nanoparticles in Dentistry. *Nanomaterials* [online]. 2022, 12(5), 805. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano12050805
- [33] ALMATROUDI, Ahmad. Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open Life Sciences* [online]. 2020, 15(1), 819–839. ISSN 2391-5412. Dostupné z: doi:10.1515/biol-2020-0094
- [34] LEE, Sang a Bong-Hyun JUN. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, 20(4), 865. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20040865
- [35] ALEXANDER, J. Wesley. History of the Medical Use of Silver. *Surgical Infections* [online]. 2009, 10(3), 289–292. ISSN 1096-2964, 1557-8674. Dostupné z: doi:10.1089/sur.2008.9941
- [36] CRAWFORD, Kevin G., Isha MAINI, David A. MACDONALD a David A.J. MORAN. Surface transfer doping of diamond: A review. *Progress in Surface Science* [online]. 2021, 96(1), 100613. ISSN 00796816. Dostupné z: doi:10.1016/j.progsurf.2021.100613
- [37] JANG, Dong Myung, Hyung Soon IM, Yoon MYUNG, Yong Jae CHO, Han Sung KIM, Seung Hyuk BACK, Jeunghye PARK, Eun Hee CHA a Minyung LEE. Hydrogen and carbon monoxide generation from laser-induced graphitized nanodiamonds in water. *Physical Chemistry Chemical Physics* [online]. 2013, 15(19), 7155. ISSN 1463-9076, 1463-9084. Dostupné z: doi:10.1039/c3cp50769f
- [38] ARNAULT, J.C. a H.A. GIRARD. Hydrogenated nanodiamonds: Synthesis and surface properties. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* [online]. 2017, 21(1), 10–16. ISSN 13590286. Dostupné z: doi:10.1016/j.cossms.2016.06.007
- [39] BACHMANN, Peter K., Dieter LEERS a Hans LYDTIN. Towards a general concept of diamond chemical vapour deposition. *Diamond and Related Materials* [online]. 1991, 1(1), 1–12. ISSN 09259635. Dostupné z: doi:10.1016/0925-9635(91)90005-U

- [40] JANG, Dong Myung, Yoon MYUNG, Hyung Soon IM, Young Suk SEO, Yong Jae CHO, Chi Woo LEE, Jeunghee PARK, Ah-Young JEE a Minyung LEE. Nanodiamonds as photocatalysts for reduction of water and graphene oxide. *Chem. Commun.* [online]. 2012, 48(5), 696–698. ISSN 1359-7345, 1364-548X. Dostupné z: doi:10.1039/C1CC16210A
- [41] M. A. ALSHAREF, Jamal, Mohd Raihan TAHA a Tanveer AHMED KHAN. PHYSICAL DISPERSION OF NANOCARBONS IN COMPOSITES—A REVIEW. *Jurnal Teknologi* [online]. 2017, 79(5), 76. ISSN 2180-3722, 0127-9696. Dostupné z: doi:10.11113/jt.v79.7646
- [42] ZENG, Haibo, Xi-Wen DU, Subhash C. SINGH, Sergei A. KULINICH, Shikuan YANG, Jianping HE a Weiping CAI. Nanomaterials via Laser Ablation/Irradiation in Liquid: A Review. *Advanced Functional Materials* [online]. 2012, 22(7), 1333–1353. ISSN 1616-301X, 1616-3028. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201102295
- [43] HOLZMAN, Martin. *Laserově indukovaná funkcionalizace porézních titanových povrchů pro biomedicínské aplikace*. Plzeň, 2022. Bakalářská práce. Západočeská univerzita, Fakulta strojní.
- [44] GONCHAROVA, D. A., I. N. LAPIN, E. S. SAVELYEV a V. A. SVETLICHNYI. Structure and Properties of Nanoparticles Fabricated by Laser Ablation of Bulk Metal Copper Targets in Water and Ethanol. *Russian Physics Journal* [online]. 2017, 60(7), 1197–1205. ISSN 1064-8887, 1573-9228. Dostupné z: doi:10.1007/s11182-017-1195-3
- [45] STETEFELD, Jörg, Sean A. MCKENNA a Trushar R. PATEL. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical Reviews* [online]. 2016, 8(4), 409–427. ISSN 1867-2450, 1867-2469. Dostupné z: doi:10.1007/s12551-016-0218-6
- [46] DAS, Somenath, Arpan MUKHERJEE, Gereraj SENGUPTA a Vipin Kumar SINGH. Overview of nanomaterials synthesis methods, characterization techniques and effect on seed germination. In: *Nano-Materials as Photocatalysts for Degradation of Environmental Pollutants* [online]. B.m.: Elsevier, 2020, s. 371–401. ISBN 978-0-12-818598-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-818598-8.00018-3
- [47] GLAWDEL, Tom a Carolyn REN. Zeta Potential Measurement. In: Dongqing LI, ed. *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics* [online]. Boston, MA: Springer US, 2008, s. 2199–2207. ISBN 978-0-387-32468-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-48998-8\_1702
- [48] CORBETT, Jason Cw a Fraser MCNEIL-WATSON. Electrophoretic Light Scattering. In: EUROPEAN BIOPHYSICAL SOCIETIES, Gordon ROBERTS a Anthony WATTS, ed. *Encyclopedia of Biophysics* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2018, s. 1–10. ISBN 978-3-642-35943-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-35943-9\_288-1
- [49] PATEL, Smit, Aniket RAULJI, Diya PATEL, Diya PANCHAL, Mitali DALWADI a Umesh UPADHYAY. A Review on “Uv Visible Spectroscopy”. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications* [online]. 2022, 7(5), 1144–1151. ISSN 2456-4494. Dostupné z: doi:10.35629/7781-070511441151

- [50] BUMBRAH, Gurvinder Singh a Rakesh Mohan SHARMA. Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. *Egyptian Journal of Forensic Sciences* [online]. 2016, 6(3), 209–215. ISSN 2090536X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejfs.2015.06.001
- [51] SUMAN DAS, JOYESHREE BISWAS, a IQTIAR MD SIDDIQUE. Mechanical characterization of materials using advanced microscopy techniques. *World Journal of Advanced Research and Reviews* [online]. 2024, 21(3), 274–283. ISSN 25819615. Dostupné z: doi:10.30574/wjarr.2024.21.3.0742
- [52] RATHER, Mohd Yousuf a Somaiah SUNDARAPANDIAN. Facile Green Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles and Their Rhodamine-b Dye Adsorption Property. *Journal of Cluster Science* [online]. 2022, 33(3), 925–933. ISSN 1040-7278, 1572-8862. Dostupné z: doi:10.1007/s10876-021-02025-4
- [53] TSAI, Lin-Wei, Yu-Chung LIN, Elena PEREVEDENTSEVA, Andrei LUGOVTSOV, Alexander PRIEZZHEV a Chia-Liang CHENG. Nanodiamonds for Medical Applications: Interaction with Blood in Vitro and in Vivo. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2016, 17(7), 1111. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms17071111
- [54] VENKATESHAM, Maragoni, Dasari AYODHYA, Alle MADHUSUDHAN, Amrutham SANTOSHI KUMARI, Guttena VEERABHADRAM a Kotu GIRIJA MANGATAYARU. A Novel Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Gum Karaya: Characterization, Antimicrobial and Catalytic Activity Studies. *Journal of Cluster Science* [online]. 2014, 25(2), 409–422. ISSN 1040-7278, 1572-8862. Dostupné z: doi:10.1007/s10876-013-0620-1
- [55] THAPLIYAL, Vibhor, Mohamad E. ALABDULKARIM, Donna R. WHELAN, Bandita MAINALI a James L. MAXWELL. A concise review of the Raman spectra of carbon allotropes. *Diamond and Related Materials* [online]. 2022, 127, 109180. ISSN 09259635. Dostupné z: doi:10.1016/j.diamond.2022.109180
- [56] DENG, Yilin, Albertus D. HANDOKO, Yonghua DU, Shibo XI a Boon Siang YEO. *In Situ* Raman Spectroscopy of Copper and Copper Oxide Surfaces during Electrochemical Oxygen Evolution Reaction: Identification of Cu<sup>III</sup> Oxides as Catalytically Active Species. *ACS Catalysis* [online]. 2016, 6(4), 2473–2481. ISSN 2155-5435, 2155-5435. Dostupné z: doi:10.1021/acscatal.6b00205
- [57] MERMOUX, Michel, Shery CHANG, Hugues A. GIRARD a Jean-Charles ARNAULT. Raman spectroscopy study of detonation nanodiamond. *Diamond and Related Materials* [online]. 2018, 87, 248–260. ISSN 09259635. Dostupné z: doi:10.1016/j.diamond.2018.06.001
- [58] NEE, Chen-Hon, Seong-Ling YAP, Teck-Yong TOU, Huan-Cheng CHANG a Seong-Shan YAP. Direct synthesis of nanodiamonds by femtosecond laser irradiation of ethanol. *Scientific Reports* [online]. 2016, 6(1), 33966. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep33966
- [59] STEHLIK, Stepan, Ondrej SZABO, Ekaterina SHAGIEVA, Daria MILIAIEVA, Alexander KROMKA, Zuzana NEMECKOVA, Jiri HENYCH, Jan KOZEMPEL, Evgeny EKIMOV a Bohuslav REZEK. Electrical and colloidal properties of hydrogenated

- nanodiamonds: Effects of structure, composition and size. *Carbon Trends* [online]. 2024, 14, 100327. ISSN 26670569. Dostupné z: doi:10.1016/j.cartre.2024.100327
- [60] HU, Zhiping, Xiaoli WANG, Weirong WANG, Zhenlong ZHANG, Huiping GAO a Yanli MAO. Raman spectroscopy for detecting supported planar lipid bilayers composed of ganglioside-GM1/sphingomyelin/cholesterol in the presence of amyloid- $\beta$ . *Physical Chemistry Chemical Physics* [online]. 2015, 17(35), 22711–22720. ISSN 1463-9076, 1463-9084. Dostupné z: doi:10.1039/C5CP02366A
- [61] LU, Zhicheng, Yuejiao GU, Jingxiu YANG, Zhishi LI, Weidong RUAN, Weiqing XU, Chun ZHAO a Bing ZHAO. SERS-active Ag substrate from the photo-active decomposition of electrodeposited divalent silver oxide. *Vibrational Spectroscopy* [online]. 2008, 47(2), 99–104. ISSN 09242031. Dostupné z: doi:10.1016/j.vibspec.2008.02.015
- [62] MARTINA, Irene, Rita WIESINGER, Dubravka JEMBRIH-SIMBUERGER a Manfred SCHREINER. Micro-Raman characterisation of silver corrosion products: instrumental set up and reference database. *e-Preservation Science*. 2012, 9, 1–8. ISSN 1581-9280.
- [63] JOSHI, Neha, Neha JAIN, Abhishek PATHAK, Jai SINGH, Ram PRASAD a Chandrama Prakash UPADHYAYA. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Carissa carandas* berries and its potential antibacterial activities. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* [online]. 2018, 86(3), 682–689. ISSN 0928-0707, 1573-4846. Dostupné z: doi:10.1007/s10971-018-4666-2
- [64] YANG, Min, Rui YOU, Dan LI, Zhenhua ZHANG a Weixin HUANG. Methanol Partial Oxidation Over Shaped Silver Nanoparticles Derived from Cubic and Octahedral Ag<sub>2</sub>O Nanocrystals. *Catalysis Letters* [online]. 2019, 149(9), 2482–2491. ISSN 1011-372X, 1572-879X. Dostupné z: doi:10.1007/s10562-019-02850-3

## **PŘÍLOHA č. 1**

### **Ramanova spektroskopie**

## Ramanova spektroskopie nanočásticových struktur na bázi Ag DND vzniklých při fotoredukci laserem s 3. harmonickým modulem (355 nm) přilnutých na skle reaktorové komory

