



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta zdravotnických studií



Optimalizace parametrů depozice s ohledem na vlastnosti kompozitních fotokatalytických vrstev

Diplomová práce

Studijní program: N3963 – Biomedicínské inženýrství
Studijní obor: 3901T009 – Biomedicínské inženýrství
Autor práce: **Bc. Eliška Hynková**
Vedoucí práce: Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.

Liberec 2017





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC
Faculty of Health Studies



The effect of optimization of deposition parameters on the properties of composite photocatalytic layers

Master thesis

Study programme: N3963 – Biomedical engineering
Study branch: 3901T009 – Biomedical Engineering
Author: **Bc. Eliška Hynková**
Supervisor: Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.

Liberec 2017



Technická univerzita v Liberci
Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Eliška Hynková**
Osobní číslo: **D15000024**
Studijní program: **N3963 Biomedicínské inženýrství**
Studijní obor: **Biomedicínské inženýrství**
Název tématu: **Optimalizace parametrů depozice s ohledem na vlastnosti kompozitních fotokatalytických vrstev**
Zadávající katedra: **Fakulta zdravotnických studií**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cíle práce:

Připravit vzorky a deponovat fotokatalytické kompozitní vrstvy metodou dip-coat na určené podklady.

Stanovit vliv parametrů depozice vrstev na její strukturu.

Stanovit vliv parametrů depozice na fotokatalytické vlastnosti/antibakteriální vlastnosti vrstev.

S ohledem na výsledky testů zhodnotit vhodnost jednotlivých parametrů.

Teoretická východiska (včetně výstupu z kvalifikační práce):

U kompozitních fotokatalytických vrstev budeme testovat vliv různých parametrů depozice, příp. aditivace na strukturu vrstev, fotokatalytické vlastnosti a zejména pak na antibakteriální vlastnosti vrstev a jejich vhodnost pro použití v medicíně jako antibakteriální povrchy. Na základě výsledků testů stanovíme vhodnost určených podkladů, aditiv a optimální podmínky depozice s ohledem na fotokatalytickou aktivitu.

Výzkumné předpoklady:

Jaký bude vliv depozičních parametrů na strukturu vrstev?

Jaký bude vliv depozičních parametrů a aditivace na fotokatalytické vlastnosti vrstev?

Jaký bude vliv depozičních parametrů a aditivace na antibakteriální vlastnosti vrstev?

Metoda:

Kvantitativní

Technika práce, vyhodnocení dat:

Metodou kvantitativního výzkumu bude realizace srovnávacího experimentu.

Místo a čas realizace výzkumu:

Experiment bude probíhat v laboratořích CXI v budově L Technické univerzity Liberec.

Vzorek:

Při realizaci experimentu se nepředpokládá využití respondentů.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy: 70-90

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury: viz příloha

Vedoucí diplomové práce: Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D.

Datum zadání diplomové práce: 1. srpna 2016

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2017



V Liberci dne 30. listopadu 2016


Mgr. Marie Froňková
pověřena vedením fakulty

Příloha zadání diplomové práce

Seznam odborné literatury:

- FUJISHIMA, Akira, Kazuhito HASHIMOTO a Toshiya WATANABE. *TiO₂Fotokatalýza: základy a aplikace*. Praha: Silikátový svaz, 2002. ISBN 80-903-1133-4.
- ISO 27447:2009. Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics): Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials. 1. Switzerland: BSI, 2009.
- ISO 10677:2011. Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics): Ultraviolet light source for testing semiconducting photocatalytic materials. 1. Switzerland: BSI, 2011.
- LA RUSSA, Mauro F., Andrea MACCHIA, Silvestro A. RUFFOLO, Filomena DE LEO, Marianna BARBERIO, Pasquale BARONE, Gino M. CRISCI a Clara URZI. Testing the antibacterial activity of doped TiO₂ for preventing biodeterioration of cultural heritage building materials. *International Biodeterioration and Biodegradation Society* [online]. 2014, (96) [cit. 2016-10-03]. ISSN 0964-8305. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096483051400290X>
- SYNNOTT, Damian W., Michael K. SEERY, Steven J. HINDER, Georg MICHLITS a Suresh C. PILLAI. Anti-bacterial activity of indoor-light activated photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2013, (130-131) [cit. 2016-10-03]. ISSN 0926-3373. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337312004882>
- HÁJKOVÁ, Pavlína, Aleš KOLOUCH a Petr ŠPATENKA. Tenké vrstvy oxidů titanu. *Povrchová úprava* [online]. 2006, (3) [cit. 2016-10-03]. ISSN 1801-707X. Dostupné z: <http://www.galvanovny.cz/uploads/assets/casopisy/pu-2006-02.pdf>
- DUNLOP, P.S.M., C.P. SHEERAN, J.A. BYRNE, M.A.S. MCMAHON, M.A. BOYLE a K.G. MCGUIGAN. Inactivation of clinically relevant pathogens by photocatalytic coatings. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [online]. 2010, (216) [cit. 2016-10-03]. ISSN 1010-6030. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1010603010002595>
- PIGEOT-RÉMY, S., F. SIMONET, D. ATLAN, J.C. LAZZARONI a C. GUILLARD. Bactericidalefficiency and mode of action: A comparative study of photochemistry and photocatalysis. *Water Research* [online]. 2012, (46) [cit. 2016-10-03]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135412001820>
- PELAEZ, Miguel, Nicholas T. NOLAN a Suresh C. PILLAI, et al. A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2012, (125) [cit. 2016-10-03]. ISSN 0926-3373. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337312002391>
- ZBOŘILOVÁ, Z. *Fotokatalytická aktivita hybridních vrstev oxidu titaničitého a křemičitého*. Brno, 2013. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce Ing. Petr Dzik, Ph.D.
- VRCHOVECKÁ, P. *Vliv stříbra na zvýšení účinnosti fotokatalytické inaktivace kvasinek*. Brno, 2009. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
- NOVOTNÁ, M. *Fotokatalytická aktivita tištěných vrstev oxidu titaničitého*. Brno, 2009. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce doc. Ing. Michal Veselý, CSc.

Studentka
Bc. Eliška HYNKOVÁ
D15000024
Na Sídlišti 477
387 73 BAVOROV

Vyřizuje: Zuzana Janošíková / 485 353 762

V Liberci dne 18. dubna 2017
Č.j.: 17/8515/015868-02

Vyjádření k žádosti o ponechání tématu a prodloužení termínu odevzdání diplomové práce

Vážená studentko,

na základě Vaší žádosti ze dne 13. 4. 2017, zaevidované pod č.j.: 17/8515/015868-01, Vám sděluji, že **souhlasím** s ponecháním tématu diplomové práce „Optimalizace parametrů depozice s ohledem na vlastnosti kompozitních fotokatalytických vrstev“ a prodloužením termínu odevzdání do 30. 4. 2018.

S pozdravem


Mgr. Marie Froňková
pověřena vedením fakulty
Technická univerzita v Liberci
Fakulta zdravotnických studií
Studentská 2, 461 17 Liberec 1



Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 30.11.2017

Podpis: *Alexandra Eliska*

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce Ing. Pavlu Kejzlarovi, Ph.D. za jeho podporu a cenné rady. Dále děkuji konzultantce mé práce Ing. Michaele Jakubičkové, která mi byla nápomocna při realizaci antibakteriálních testů. Také bych ráda poděkovala panu Ing. Mateuszovi Fijałkowskiemu, Ph.D., v jehož laboratoři jsem nanášela tenké vrstvy. V neposlední řadě bych ráda poděkovala za pomoc poskytovanou výzkumnou infrastrukturou NanoEnviCz podporovanou Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu č. LM2015073. Poslední díky patří mé rodině a přátelům za nezbytnou podporu po dobu mých studií.

Abstrakt

Tato diplomová práce je zaměřena na optimalizaci depozice a aditivaci fotokatalyticky aktivních vrstev za účelem navýšení jejich antimikrobiální a fotokatalytické účinnosti. Na skleněná mikroskopická podložní sklíčka byly deponovány fotokatalyticky aktivní vrstvy na bázi $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ (Balclean®) s přídavkem ZnO či Ag za účelem zjištění vlivu aditivace na antibakteriální účinnost. Antibakteriální účinnost a fotokatalytická aktivita jednotlivých vrstev byly hodnoceny pomocí diluční metody, dle ISO normy 27447: 2009 a pomocí sledování degradace methylenové modři pod UV lampou. Na základě výsledků antibakteriálních testů lze říci, že po aditivaci nanočástic stříbra antibakteriální efekt částečně zesílil. Oxid zinku jako aditivum efekt spíše tlumil a došlo k mírnému poklesu úhynu mikroorganismů. Tyto závěry byly potvrzeny i pomocí degradace methylenové modři.

Klíčová slova

fotokatalýza, tenká vrstva, antibakteriální testy, dip-coating, oxid titanu, oxid zinku

Abstract

This thesis focuses on the optimization of deposition and an additivation of photocatalytically active layers for the purpose of increasing their antimicrobial and photocatalytic activity. Photocatalytically active layers on the base of $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ (Balclean®) with addition of ZnO or Ag were deposited on glass microscope slides for the purpose of ascertaining the influence of the additivation on the antibacterial efficacy. The antibacterial efficacy and the photocatalytic activity of the individual layers were evaluated by means of the dilution method, ISO 27447: 2009 and by monitoring degradation of methylene blue under UV lamp. On the base of the results of antibacterial tests we can conclude that the antibacterial effect partially increased after the additivation of the silver nanoparticles. The zinc oxide, as an additive, rather damped the effect and a slight decrease of the microorganisms die-off occurred. These conclusions were confirmed also by methylene blue degradation.

Key words

photocatalysis, thin layer, antibacterial tests, dip-coating, titanium oxide, zinc oxide

Obsah

Seznam použitých zkratk	15
1 Úvod.....	16
2 Teoretická část	17
2.1 Fotokatalýza.....	17
2.1.1 Mechanismus fotokatalýzy	18
2.1.2 Účinnost fotokatalytického procesu.....	19
2.2 Oxid titaničitý.....	19
2.2.1 Rutil.....	20
2.2.2 Brookit	20
2.2.3 Anatas	20
2.3 Oxid zinečnatý	21
2.4 Tenké vrstvy	21
2.4.1 Metody přípravy vrstev	21
2.4.2 Syntéza TiO ₂ /Ag	24
2.4.3 Metody nanášení vrstev	25
2.4.4 Hodnocení tenkých vrstev.....	28
2.5 Antibakteriální efekt	31
2.5.1 Staphylococcus aureus	31
2.5.2 Escherichia coli	32
2.5.3 Gramovo barvení	32
2.5.4 Stanovení antibakteriální účinnosti vrstev	33
3 Experimentální část.....	35
3.1 Substrát	35
3.2 Depozice	35
3.3 Rastrovací elektronová mikroskopie a energiově-disperzní analýza	36
3.4 Příprava médií.....	36

3.5	Příprava experimentu.....	38
3.6	Zpracování vzorků.....	39
3.6.1	Metoda otisku.....	39
3.6.2	Diluční metoda.....	39
3.6.3	Vyhodnocení počtu bakterií.....	40
3.7	Použité přístroje.....	41
3.8	Degradace methylenové modři.....	51
4	Výsledky	53
4.1	EDS analýza	53
4.2	Antibakteriální test bez UV ozáření	54
4.2.1	Tenká vrstva Ag.....	54
4.2.2	Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 5 % Ag.....	56
4.2.3	Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 10% Ag.....	58
4.3	Test fotokatalytické aktivity s UV ozářením.....	60
4.3.1	Tenká vrstva Balcleanu.....	60
4.3.2	Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 5 % Ag.....	61
4.3.3	Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 10 % Ag.....	62
4.3.4	Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 5 % Ag a 5 % ZnO.....	63
4.3.5	Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 10 % Ag a 10 % ZnO.....	64
4.4	Degradace methylenové modři.....	65
5	Diskuze	67
6	Závěr	70
	Seznam použité literatury	71
	Seznam obrázků.....	76
	Seznam tabulek.....	77
	Seznam grafů	78

Seznam použitých zkratk

PVD	fyzikální depozice z plynné fáze
CVD	chemická depozice z plynné fáze
AFM	mikroskopie atomárních sil
RTG	rentgenové záření
SEM	rastrovací elektronová mikroskopie
G+	Grampozitivní bakterie
G-	Gramnegativní bakterie
UVA	ultrafialové záření
MRSA	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
BLB	fluorescentní lampa
K	referenční vzorek bez vrstvy
BLC	Balclean
PO	přímý oplach
KS	referenční vzorek bez vrstvy pod UV zářením
KT	referenční vzorek bez vrstvy ve tmě
AS	aktivní vzorek s tenkou vrstvou pod UV zářením
AT	aktivní vzorek s tenkou vrstvou ve tmě
KTJ	kolonie tvořící jednotky
EDS	energieově disperzní analýza
MCF	McFarlandův standard
UV	ultrafialové záření
UV/VIS	ultrafialové záření/viditelné záření

1 Úvod

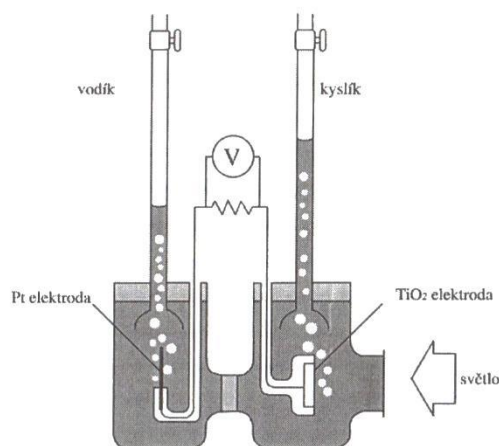
Globálně si lidé začínají uvědomovat, že postavit zisk na první místo není dobré pro životní prostředí. Proto se průmysl snaží vytvářet a nabízet výrobky a technologie, které jsou veřejnosti, respektive zákazníkům, prezentovány jako šetrnější k životnímu prostředí. Z tohoto důvodu mají kompozitní fotokatalytické vrstvy v dnešní době široké spektrum využití, díky jejich specifickým vlastnostem. V průmyslovém odvětví je o ně stále větší zájem právě díky jejich fotokatalytickým vlastnostem. Fotokatalýza může být využita například pro rozklad organických látek při současném působení ultrafialového záření. Prakticky tak dojde k rozložení mikroorganismů. Rozklad probíhá na fyzikálním principu, vůči kterému si mikroorganismy nemohou vypěstovat rezistenci. Toho se využívá při vytváření antibakteriálních či antivirových povrchů, které jsou potřeba například ve zdravotnictví. V dnešní době již existuje mnoho bakterií rezistentních na chemickou likvidaci. Také se využívá jako doplňkový proces při úpravě vody, protože není potřeba používat další chemická aditiva, a zároveň není producentem toxických látek. Fotokatalytické čištění se může týkat i vzduchu, celkově tedy fotokatalytické vrstvy přispívají ke zlepšování životních podmínek člověka.

Práce je zaměřena na optimalizaci parametrů depozice a složení kompozitních fotokatalytických vrstev s cílem navýšení jejich antimikrobiální účinnosti. Nejprve se připravily vzorky tenkých vrstev, které byly deponovány metodou dip-coating či nátěrem na laboratorní sklíčko. V experimentu bylo využito čistého Balcleanu, a jeho roztoků s nanočásticemi stříbra a oxidu zinku jako aditiva. Poté byl stanoven vliv těchto modifikací vrstev na jejich strukturu, na jejich fotokatalytické vlastnosti a na antibakteriální vlastnosti. Na konec byla s ohledem na výsledky testů zhodnocena vhodnost jednotlivých parametrů.

2 Teoretická část

2.1 Fotokatalýza

První popud zkoumat fotokatalytický jev byl na základě pokusu s oxidem zinečnatým. Elektroda z tohoto materiálu byla ponořena ve vodě a podle toho, jak velkou intenzitou světla byla elektroda ozařována, byla tomu úměrná velikost toku elektrického proudu. Poté japonský profesor (v té době ještě postgraduální student) proces zkoušel s oxidem titaničitým ve formě rutilu. Jako materiál pro druhou elektrodu byla použita platina. Umístěním elektrod do vodného roztoku byl vytvořen elektrochemický obvod. Po vystavení rutilové elektrody světlu z xenonové lampy se na obou elektrodách objevily bublinky plynu. Na povrchu elektrody z oxidu titanu se tvořil kyslík, zatímco na platinové elektrodě se formoval vodík. (Obrázek 1) Zajímavým úkazem byla stálost oxidu titaničitého. Nedocházelo k jeho rozkladu a jeho povrchové vlastnosti se neměnily ani po delším časovém úseku, kdy byl vystaven světlu.



Obrázek 1: Fotolytický rozklad vody za použití TiO_2 elektrody [1]

Honda – Fujishimův efekt má tedy tři části. První částí je tvorba kyslíku na rutilové elektrodě, ve druhé části dochází k přeměně světelné energie na elektrickou a v poslední, třetí části, dochází k tvorbě vodíku na platinové elektrodě. O využití tohoto jevu se zasloužili zejména Dr. Hashimoto a Dr. Watanabe.

Fotokatalýza je schopnost látky fungovat jako katalyzátor při chemickém rozkladu organických látek, za současného působení ultrafialového záření s vlnovou délkou kratší než 400 nm. Na povrchu fotokatalyzátoru probíhají oxidačně redukční reakce. Aby došlo ke vzniku fotokatalýzy, je zapotřebí minimální dávka $1 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ UVA záření. Typickým

a zároveň nejznámějším zástupcem fotokatalyzátoru je TiO_2 , na který je tato diplomová práce zaměřena. [1-3]

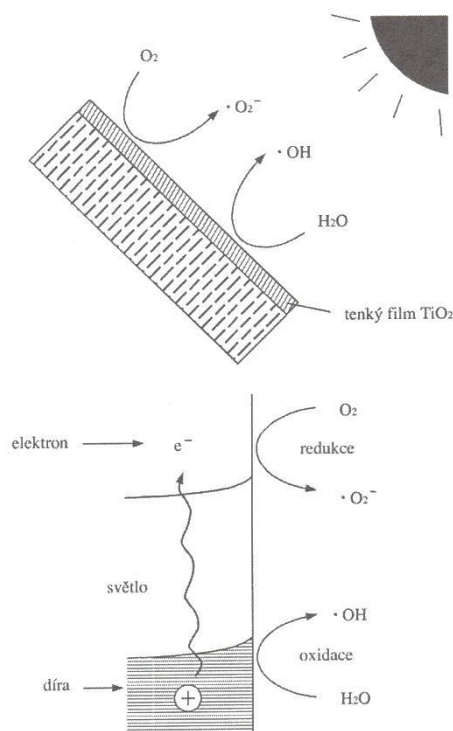
2.1.1 Mechanismus fotokatalýzy

U polovodičů je elektronový obal jádra uspořádán do energetických pásů, kdy vodivostní je nejvyšším energeticky dovoleným pásem. Nejnižší pás je pak valenční, kde hladiny elektronů vytvářejí chemickou vazbu. Rozdíl energií mezi těmito pásy udává šířku zakázaného pásu, která se podílí na rozdělení látek na vodiče, polovodiče a izolanty. Polovodiče jsou charakteristické šířkou 0,5 – 3,2 eV. Po ozáření polovodiče předá foton svou energii elektronu, který excituje z valenčního pásu do vodivostního. Po chybějícím elektronu zůstane tzv. díra, dochází tedy ke generaci páru elektron-díra. To vše proběhne pouze za předpokladu, že energie fotonu je vyšší než zakázaného pásu.

Pokud není přítomen vhodný donor či akceptor, dochází k opětovnému spojení páru elektron-díra za současného vyzáření energie. V případě přítomnosti donoru nebo akceptoru může dojít k uskutečnění redoxní reakce. Díry, které jsou ve valenčním pásu, působí jako oxidanty. Elektrony ve vodivostním pásu pak působí jako reduktanty. Oxidačně redukční reakce tedy probíhají současně na povrchu polovodiče.

K fotokatalytickému jevu dochází po vystavení oxidu titaničitého světlu. Při absorbování záření dochází ke vzniku páru elektron (e^-) a díra (h^+). V případě kovů by docházelo k okamžité rekombinaci. Oxid titaničitý je ale polovodič a tento stav zachová po delší časový úsek. Právě poměr rychlosti vzniku a zániku párů elektron-díra znamená maximální účinnost fotokatalytické reakce.

Na povrchu katalyzátoru je tenká vrstva adsorbovaných molekul vody. Po kontaktu těchto molekul se vzniklou dírou (h^+) dochází k jejich oxidaci za současného vzniku hydroxylových radikálů ($\bullet\text{OH}$). Ty pak reagují s organickými sloučeninami a společně vytváří volné radikály. Kyslík, který je také přítomen, má nespárované elektrony, které vytváří s volnými radikály organické peroxidové radikály. Vzniklé elektrony (e^-) reagují s rozpuštěným vzdušným kyslíkem a přidají mu elektrony. Kyslík se bude redukovat a vznikne superoxidový radikál (O_2^-). (Obrázek 2) Již zmíněné peroxidové radikály budou reagovat společně se superoxidovým radikálem. Výsledný produkt se může rozložit za vzniku molekuly oxidu uhličitého. [1-3]



Obrázek 2: Reakční mechanismus TiO_2 fotokatalýzy [1]

2.1.2 Účinnost fotokatalytického procesu

Organické sloučeniny mají větší sklon k oxidaci než voda. Pokud je koncentrace těchto sloučenin vysoká, je větší pravděpodobnost, že vzniklé díry budou reagovat přímo s nimi. Elektrony jsou pak přenášeny na molekulární kyslík, což určuje, s jakou rychlostí bude docházet k fotokatalytickým reakcím. Díky tomu se může regulovat účinnost fotokatalytického procesu. Jako elektrochemické katalyzátory jsou použity nanočástice například oxidu titaničitého o průměru několika nanometrů. [1-3]

2.2 Oxid titaničitý

Oxid titaničitý je běžně využívaný materiál. Tzv. titanová běloba má využití jako pigment v potravinářství, v kosmetickém průmyslu, titanová běloba v lacích aut či jako aditivum do nátěrových hmot. Zde se ovšem projevuje snaha potlačit jeho fotokatalytické vlastnosti. Obecně lze říci, že oxid titaničitý je chemická sloučenina kyslíku a titanu. Jedná se o polovodič, u kterého dochází po dopadu světelné energie na jeho povrch k chemické aktivaci. Právě díky svým fotokatalytickým vlastnostem se začal využívat pro přípravu tenkých vrstev. Termín tenká vrstva znamená, že tloušťka naneseného materiálu se pohybuje

v rozmezí desítek nanometrů až po několik mikrometrů. Používají se v mnoha průmyslových odvětvích jako fotoelektrody, plošné optické a integrované obvody, senzory atd. Vrstvy oxidu titaničitého jsou chemicky odolné a nejsou toxicky závadné. Proto se také používají jako samočisticí, antibakteriální a protiplísňové povrchy. [1]

Oxid titaničitý je velmi stabilní sloučenina, kterou lze v přírodě nalézt ve třech alotropních modifikacích a to rutil, anatas a brookit. Všechny tři jsou z chemického hlediska totožné. Liší se pouze v uspořádání atomů kyslíku a titanu v jejich krystalické mřížce. Mají proto rozdílné vlastnosti a vzhled. [4]

2.2.1 Rutil

Rutil má uspořádanou krystalickou mřížku stejně jako anatas – čtverečně. Barva rutilu je černá, šedá a hnědá. Jeho vryp je světle hnědý. Je dokonale štěpný a kovově se leskne. Vyskytuje se v podobě jehlicovitých a sloupcovitých krystalů. Je odolný a těžký, proto se také využívá na výrobu odolných slitin. Také se využívá jako pigment – běloba při výrobě plastů a kosmetických přípravků. Na stupnici tvrdosti dosahuje hodnot 6 až 6,5.

2.2.2 Brookit

Jako jediný ze tří modifikací má kosočtverečné uspořádání krystalické mřížky. Jde o nejméně běžnou formu oxidu titaničitého. Na stupnici tvrdosti dosahuje stejných hodnot jako anatas. V přírodě se vyskytuje v žlutohnědé až černé barevné formě a jeho vryp je bezbarvý. Dipyramidální krystaly jsou zploštělé a mají tabulkovitý tvar.

2.2.3 Anatas

Krystalická mřížka anatasu je tetragonální. Anatas lze nalézt v různých barvách jako například černá, modrá či hnědá. Je velmi dobře štěpný a v přírodě se vyskytuje v podobě příkrých dipyramidálních krystalků. Anatas má diamantový či kovový lesk a jeho vryp je bezbarvý až světle žlutý. Na stupnici tvrdosti dosahuje hodnot 5,5 až 6. [5-8]

2.3 Oxid zinečnatý

Oxid zinečnatý je jednou z nejdůležitějších sloučenin zinku. Využívá se jako bílý pigment při výrobě barviv, známý také pod pojmem zinková běloba. Má své uplatnění v gumárenství, kosmetice, výrobě hnojiv, keramickém a sklářském průmyslu při výrobě odolných skel a glazur. Zinkové běloby je využíváno i v lékařství jako součást dentálního cementu. Oxid zinečnatý je bílý prášek, který je nerozpustný ve vodě, má hořkou chuť a je bez zápachu. Jeho přírodní forma je známa pod jménem zinkit. Má hexagonální symetrii, tvrdost 4,5–5 a jeho vryp je žlutooranžový. Vyskytuje se ve žluté, tmavě červené a oranžově žluté barvě. Oxid zinečnatý má v zakázaném pásmu mezní hodnoty energie 3,37 eV, což je podobné jako v případě TiO_2 . Předpokládá se tedy, že bude mít fotokatalytickou schopnost jako oxid titaničitý. [9-13]

2.4 Tenké vrstvy

2.4.1 Metody přípravy vrstev

Z hlediska možností tenkých fotokatalytických vrstev můžeme v současné době metody rozdělit např. podle jejich přípravy do dvou skupin. První skupinou je způsob přípravy fyzikální cestou (physical vapor deposition – PVD), druhou pak způsob přípravy chemickou cestou (sol-gel a chemical vapor deposition – CVD). Další možností rozdělení je např. podle způsobu provedení přípravy, a to z roztoku nebo z plynné fáze.

Fyzikální depozice z plynné fáze

Při fyzikální depozici se využívá nanášených materiálů v kapalně nebo pevně fázi. Ve formě páry je potom dopraven k substrátu, kde na jeho povrchu zkondenzuje a vytvoří tak tenkou vrstvu. Tloušťka nanášených vrstev se pohybuje v rozmezí 10^{-3} až 10 μm . Je ale možné nanášet i silné vrstvy v řádu jednotek milimetrů či vrstev s různým složením. Proces probíhá ve vakuu či za sníženého pracovního tlaku a poskytuje možnost přesného nanesení velmi čisté látky. Proces depozice je možné rozdělit na dva hlavní směry – napařování a naprašování. Také se využívají hybridní metody, kdy se využívá obou typů depozice (PVD i CVD).

Tvorba tenké vrstvy naprašováním

Jde o proces, kdy se využívá sekundární emise iontů. Původcem energetické částice může být plazma či iontové dělo. Tato částice dopadá na povrch nanášeného materiálu a předává svou kinetickou energii atomům na jeho povrchu za současného vypuzení atomů do plynné fáze. Pokud se vloží do systému magnetické pole, zvýší se účinnost ionizace. Těto metody se využívá při povlakování předmětů s atypickým tvarem.

Tvorba tenké vrstvy napařováním

Metoda napařování je jedna z nejjednodušších postupů pro přípravu tenkých vrstev. Materiál ve formě pevné fáze potřebuje tepelnou energii pro transformaci do plynné fáze. Je tedy za sníženého tlaku vystaven na tak vysokou teplotu, aby došlo k jeho rychlé sublimaci. Vzniká pára, která rovnoměrně expanduje do okolí, které obsahuje substrát. Na povrchu substrátu, který má nižší teplotu, pára zkondenzuje. Nevýhodou této metody je vznik drobných kapek během procesu, což ovlivňuje kvalitu vrstvy. To se dá ošetřit využitím elektromagnetického filtru, který ale průběh procesu zpomalí. Struktura povlaku je závislá na podmínkách procesu, zejména na teplotě substrátu, tlaku v komoře či na úhlu dopadu. [14-16]

Chemická depozice z plynné fáze

Jedná se o starší způsob nanášení než metodou PVD. Její podstatou je vytvoření tenké vrstvy filmu díky chemické reakci na povrchu substrátu. Hodnoty tloušťky tenkých vrstev, které jsme schopni touto metodou nanést, se pohybují v rozmezí 0,1 až 10 μm . Tato metoda využívá k depozici směs chemicky reaktivních plynů zahřátou na vysokou teplotu. Tento plynný materiál je vystaven účinkům prekurzorů, kdy dochází k reakci na povrchu substrátu za vzniku požadovaného materiálu. Nevýhodou této metody je její vysoká teplota a nutnost plynného skupenství při povlakování. V porovnání s přípravou z roztoku je obtížná kontrola parametrů nanášených vrstev.

Součástí celkové aparatury je systém, kde dochází ke zplyňování materiálu, který bude nanášen na povrch substrátu. Poté samotná chemická komora, kde jsou umístěny substráty, které chceme nechat potáhnout tenkou vrstvou filmu. A poslední součástí aparatury je odpadní systém určený pro plyn, který již zreagoval. Struktura tenké vrstvy se odvíjí od několika parametrů, jako například povrchové reakce na substrátu, adsorpci/desorpci, či na nukleaci. Samotné chemické reakce na povrchu substrátu neprobíhají samovolně, ale je potřeba jim dodat energii k aktivaci.

Termická aktivace

Nejběžnější způsobem je aktivace termická, kdy k dodání tepla může dojít dvěma způsoby. Při použití teplostěnného reaktoru dojde k jeho celkovému zahřátí na požadovanou teplotu. Druhým způsobem je možnost zahřátí pouze vzorků na nanášecí teplotu. V tomto případě se jedná o chladnostěnné procesy. Bohužel z důvodů nutnosti udržování vysoké teploty při procesu je tato metoda značně nevýhodná. Také není možné využívat tuto metodu pro materiály, které po vystavení takto vysokým teplotám, mění svou strukturu.

Aktivace laserem

Výhodou této metody je její možnost nanášení tenkých vrstev na velice lokalizovanou oblast v řádech mikrometrů. Ať už se jedná o tepelný či, fotochemický proces, rychlost nanášení se pohybuje v rozmezí 0,1-1 μm za minutu.

Plazmová aktivace

Při aktivaci chemické reakce za použití plazmy není potřeba tak vysokých teplot. To dává možnost využití i materiálů s menší tepelnou odolností. Pro vznik plazmatu se využívá stejnosměrného či střídavého výboje. Tím dojde ke zvýšení energie v komoře. Substrát je zapojen jako katoda a k výboji dochází mezi ním a anodou. Plazma může ovlivňovat složení plynné fáze a podmínky povlakování. [16-18]

Metoda sol-gel

Tento proces přípravy tenkých vrstev je založen na hydrolýze/polykondenzaci kovových prekurzorů. Jedná se o tzv. mokrou chemickou technologii. Je to jedna z nejvhodnějších metod nanášení tenkých vrstev díky její jednoduchosti. Má dobrou homogenitu a nízkou teplotu při zpracování. Její možnosti velikosti nanášecí plochy jsou poměrně velké. Není zapotřebí složitého vybavení a umožňuje snadnou kontrolu parametrů nanášených vrstev. V porovnání s ostatními metodami je ekonomicky výhodnější. S její pomocí lze připravit homogenní a transparentní tenké vrstvy.

Metoda sol-gel je procesem, při kterém dochází k transformaci kovových prekurzorů na gel. Ten je následně sušen a žíhán za vysokých teplot, čímž dochází k jeho chemickému čištění. Základem metody je anorganická polymerace (z monomerů vznikají polymery), která umožňuje syntézu materiálů s velmi vysokým stupněm homogenity. To vše se děje na molekulární úrovni. Prvotním dějem je hydrolýza alkoxylové skupiny za vzniku solu,

následována polykondenzační reakcí. Tyto po sobě jdoucí reakce se podílejí na transformaci metalového prekursoru na oxidovou síť za vzniku gelu. Dále pak probíhá sušení gelu, kdy je oxidová síť zbavována molekul vody. Ke gelu je možno před transformací přidat aditivum pro možnost přípravy materiálů s velkou variabilitou parametrů. [19-24]

2.4.2 Syntéza TiO_2/Ag

V této diplomové práci bude využito pro experimentální měření nanokompozitu TiO_2/Ag . Příměs stříbra aplikovaná do vrstev oxidu titanu zvyšuje u takovýchto vzorků fotokatalytickou aktivitu a propůjčuje jim antibakteriální vlastnosti. Syntéza tohoto produktu probíhá různými způsoby. Metody, které budou popsány níže, jsou jedny z nejčastějších. Metoda fotokatalytické depozice Ag probíhá na podobných základech jako metoda elektrochemické depozice Ag. Samotná příprava části oxidu titanu je velice podobná, odlišný je pouze způsob, kdy dochází k syntéze se stříbrem. Metoda magnetronového naprašování se liší i přípravou oxidu titaničitého. [25]

Metoda fotokatalytické depozice Ag

Jedná se o jednu z prvních metod syntézy nanokompozitu oxidu titaničitého a stříbra. Je oblíbená pro svou nenáročnou realizaci a technicky snadné provedení. Základem je vytvoření koloidního roztoku oxidu titaničitého o určité koncentraci. Využívá se směsi etanolu a TiO_2 ve formě anatasu či rutilu. Koncentrace roztoku není nijak specificky určena a záleží na uživateli, jakou si ji zvolí. Tento roztok je nanesen na povrch substrátu jako například tenké laboratorní sklíčko. Metody nanášení vrstev budou popsány dále v následující kapitole. Po nanesení na určený povrch dojde k vyžihání po dobu jedné hodiny za stálé teploty vzduchu 500 °C. Takto vytvořený vzorek má mléčně bílou barvu. V této fázi přípravy přichází na řadu syntéza se stříbrem. K tomu je potřeba jedno molárního roztoku dusičnanu stříbrného, kterým rovnoměrně potřeme povrch oxidu a necháme působit v čase mezi třemi až pěti minutami. Vzorek následně očistíme destilovanou vodou a vysušíme. V posledním kroku necháme působit ultrafialové záření po dobu 10 až 15 minut. Takto vznikne hnědošedý vzorek nanokompozitu TiO_2/Ag .

Metoda elektrochemické depozice Ag

Elektrochemická depozice kovů a slitin na substráty se využívá v řadě moderních technologií. Zejména v elektronickém průmyslu se využívá například k výrobě plošných

spojů či při pokovování. Hlavním rozdílem oproti metodě fotokatalytické depozice stříbra na oxid je ve využití elektřiny místo světla. V předchozí metodě se stříbro syntetizovalo za pomoci využití energie ultrafialového záření. V případě této metody je zvolena energie elektrická. Při využití elektrické energie je nutné zajistit vodivost vzorku, což je ošetřeno nanesením vodivé vrstvy mezi laboratorní sklíčko a oxid titaničitý. Na vzorek s TiO_2 nanese roztok, ve kterém je obsažena určitá koncentrace dusičnanu stříbrného. Stříbro se redukuje pod vlivem malého napětí, které na vzorek působí po určitý časový úsek. Nakonec laboratorní sklíčko ošetříme destilovanou vodou a vysušíme. Výsledná barva vrstvy je stejná jako v případě metody fotokatalytické depozice.

Metoda magnetronového naprašování

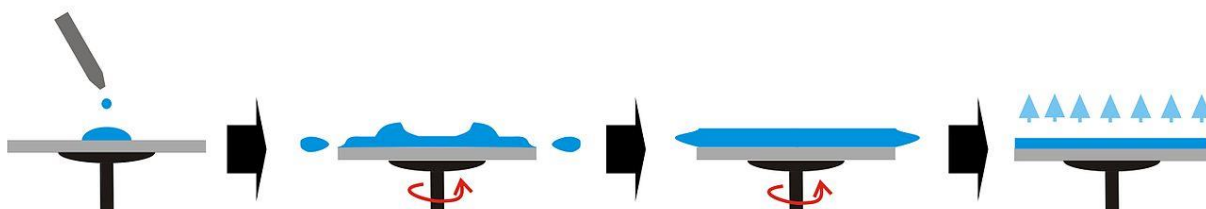
Tato metoda vychází z principu nanášení vrstviček kovu na podklad za stálého nízkého tlaku. Dochází k naprašování pevného terče (katoda) na substrát (anoda). Kladné ionty, které dopadají na terč, vyřazují jeho povrch. K naprašování dochází ve třech fázích. V první části se naprašováním na křemenné sklíčko vytvoří amorfni vrstva oxidu titaničitého tenká jen několik desítek nanometrů. K tomuto procesu dochází v argonovo-kyslíkové atmosféře za stálého tlaku 1 Pa a proudu 900 mA. V další fázi dochází v již pouze argonové atmosféře k naprašování nanovrstvy stříbra. Tlak během procesu je 0,8 Pa za současné přítomnosti proudu 170 mA. V poslední části vzorek znovu překryjeme vrstvou oxidu titaničitého a vyžeháme ve 300 °C po dobu 30 minut. Může tak dojít k procesu začlenění stříbra do oxidu titanu a vznikne požadovaný nanokompozit. Předností metody magnetronového naprašování je jednoduchá depozice a rychlost nanášení materiálů. Nespornou výhodou je také možnost homogenního nanášení vrstev na velkých plochách podkladů. [26-28]

2.4.3 Metody nanášení vrstev

Metoda spin-coating

Tzv. metoda rotačního lití spočívá v nanášení roztoku prekursoru na substrát za pomoci rotační vakuové pumpy. (Obrázek 3) Na substrát, který je umístěn na rotoru, je nanesen kapalný prekursor. Poté zvyšujeme rotační rychlost otočné části až na její konstantní hodnotu, kdy dochází k rovnoměrnému rozetření prekursoru po celé ploše substrátu za pomoci odstředivé síly. Výběrem rychlosti motoru, viskozity prekursoru či času rotace lze ovlivnit

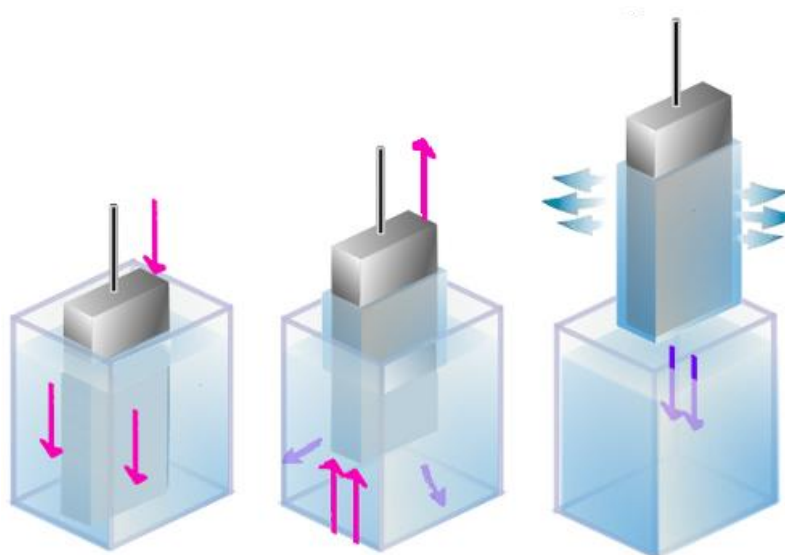
tloušťku dané vrstvy, která se pohybuje v rozmezí stovek nanometrů až do stovek mikrometrů.



Obrázek 3: Princip spin-coateru [29]

Metoda dip-coating

Do nádoby s kapalinou, která obsahuje fotokatalyticky aktivní látku, je ponořován substrát. (Obrázek 4) Jeho následné vytažení určitou rychlostí určuje tloušťku vrstvy roztoku s fotokatalyzátorem na povrchu. Díky ponořování ulpí vrstvy na obou stranách substrátu. Tato metoda je často využívána při přípravě sol-gel vrstev. Tloušťku vrstvy lze ovlivnit počtem ponorů do roztoku, volbou rychlosti vytažení či koncentrací fotokatalyzátoru v kapalině. [30]



Obrázek 4: Princip dip-coatingu [31]

Metoda mikropiezo depozice

Tato metoda je realizována pomocí inkoustových tiskáren. Nanášená vrstva je tvořena pomocí malých kapiček, které jsou uvolňovány dvěma způsoby. Principem technologie „Drop on demand“ je vypuzování kapek z tiskové hlavičky jen tehdy, když mají dopadnout na konkrétní bod na potiskovaném médiu. Druhý tisk – kontinuální pracuje na principu nepřetržitého proudu kapek inkoustu. Aby bylo dosaženo vytvoření určitého bodu, jsou tyto kapky vychylovány ze své pozice právě do konkrétního místa na potiskovaném médiu. Ostatní kapky jsou odváděny zpět do zásobníku. Rychlost tisku je určena počtem kapek umístěných za časovou jednotku. [25] [32]

Metoda vakuového napařování

Technologie vakuového napařování je založena na principu kondenzace par. Ve vakuovém napařovacím prostoru je materiál, který chceme nanášet, zahřát na předepsanou mez. Na jeho povrchu dochází ke zvýšení kinetické energie a odpařováním se uvolňují atomy dané látky. Pokud se v prostoru nachází předmět, který má nižší teplotu, dochází ke zkonzenzování mraku na povrch předmětu. V napařovacím prostoru obvykle bývá senzor, který vyhodnocuje tloušťku napařované vrstvy. [33]

Metoda nátěru

Další metodou je natírání, kdy se jedná o nejjednodušší metodu. Je energeticky i finančně mnohem méně náročná. Umožňuje pokrytí velkých ploch, ať už se jedná o venkovní či vnitřní prostory. Tato metoda spočívá v roztírání požadovaného roztoku po určeném podkladu za pomoci štětce. Ten je namáčen do roztoku nanášené látky, který je následně roztírán po povrchu substrátu. Při opakovaném pohybu štětce po ploše za sebou nechává vrstvu roztoku, která následně vytvoří tenký souvislý povlak. Poté se vše nechá zaschnout a vzniká nátěr. Jako alternativu ke štětci jde využít i váleček. Bohužel u této metody není zajištěna stejná tloušťka a naprostá homogenita tak, jako u předchozích metod. K tomuto typu nanášení roztoků není odborná literatura kvůli její jednoduchosti a využití v běžné praxi.

Metoda spray-coatingu

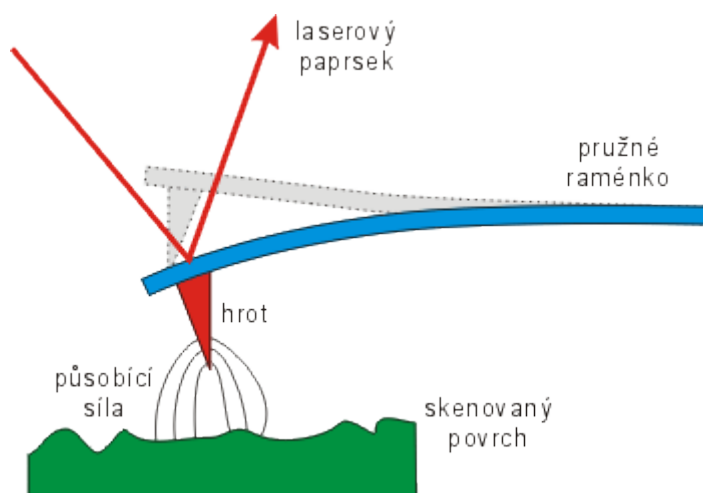
Metoda spray-coatingu spočívá v nástřiku požadovaného roztoku na substrát. Při nanášení vzniká aerosol, který pokryje nanášený povrch tenkou homogenní vrstvou. Tato technika je uplatňována především pro nepravidelně tvarované povrchy, kde by metoda nátěru

byla neefektivní. Výhodou metody je její finanční nenáročnost, rychlost nanášení a možnost pokrytí velkých ploch. Těto metody je využíváno obzvláště ve stavebnictví pro depozici vrstvy na omítky či dlaždice. [34]

2.4.4 Hodnocení tenkých vrstev

Mikroskopie atomárních sil

AFM patří do skupiny mikroskopů s rastrující sondou. Dokáže detailně zobrazit povrch vzorku. Princip metody spočívá v pohybu sondy v pravidelném rastru v těsné blízkosti povrchu zkoumaného objektu. (Obrázek 5) Ten zajišťují piezokeramické aktuátory, díky kterým je AFM schopna sub-nanometrového rozlišení. Vzdálenost mezi sondou a povrchem je zajišťována zpětnovazební smyčkou. V případě mikroskopie atomárních sil pracuje mechanismus detekce vzdálenosti na základě sil vzájemně působících mezi sondou a povrchem. Mikroskopií atomárních sil je možné i zmapovat mechanické vlastnosti vzorku.



Obrázek 5: Princip mikroskopie atomárních sil [35]

Sonda nebo také hrot je umístěn na pružném držáku tzv. cantileveru. Pro detekci sil se využívá jeho deformace, která je zachycena pomocí laserového svazku a fotodiody. V závislosti na síle vzájemné přitažlivosti povrchu se sondou a jejich vzdálenosti můžeme pozorovat přitažlivé a odpudivé síly. Přitažlivé síly působí ve větších vzdálenostech díky

elektrostatickým či van der Waalsovým silám. Odpudivé síly naopak působí v menších vzdálenostech díky překryvu elektronových oblaků.

Při mikroskopii atomárních sil se využívá mnoha různých módů. Nejčastěji jsou využívány tři. Prvním je tzv. kontaktní, kdy je cantilever se sondou v těsném kontaktu s povrchem. Pracuje tedy s odpudivými silami. Druhým módem je bezkontaktní, kdy je vzdálenost mezi hrotem a povrchem konstantní a hrot se pohybuje nad povrchem. Posledním režimem je poklepový mód. Hrot osciluje a v krátkých intervalech dochází ke kontaktu se vzorkem. (Obrázek 6) [35-36]



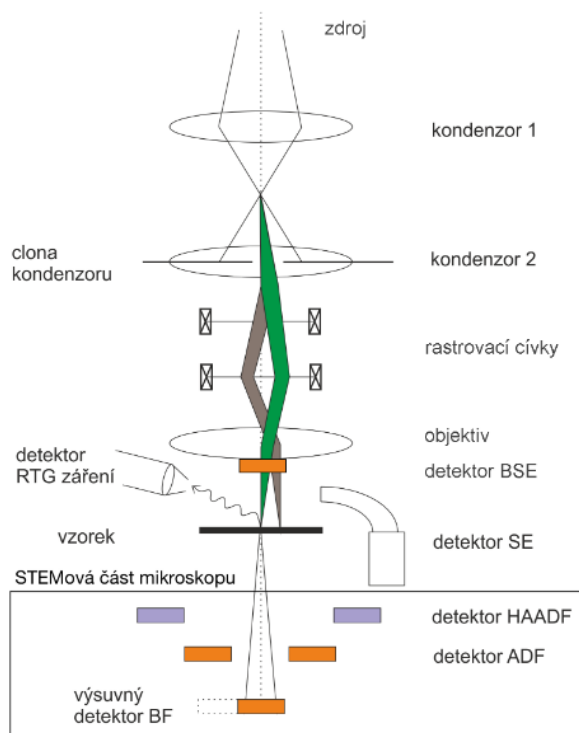
Obrázek 6: Působení sil při AFM [35]

Rastrovací elektronový mikroskop

Jak již název napovídá, rastrovací elektronová mikroskopie využívá při zobrazování elektrony. Mikroskop fokusuje svazek elektronů a pohybuje jím po povrchu vzorku. Díky interakci elektronů s povrchem vzorku dochází ke generaci signálů, které umožňují získat informace o zkoumaném vzorku. (Obrázek 7) Velikost zkoumaných vzorků je libovolná a závisí pouze na rozměrech vakuové komory. Jako zdroj elektronů se využívá katoda. Pro fokusaci elektronového paprsku jsou v mikroskopu umístěny elektromagnetické čočky. Za pomoci rastrovacích cívek je realizován pohyb paprsku po vzorku.

Při kontaktu fokusovaných elektronů se vzorkem dojde k emisi sekundárních, zpětně odražených elektronů či RTG záření. Elektrony se vzdalují od vzorku pod různým úhlem a s rozdílnou energií. Tyto signály nesou různé informace o zkoumaném objektu. Zpětně odražené elektrony vzniknout pouhým odražením od vzorku, k čemuž dochází při interakci elektronů s jádrem atomu. Množství takovýchto elektronů tedy závisí na atomovém čísle a nesou informaci o chemickém složení vzorku.

Sekundární elektrony však vznikají při vyrazení elektronu z valenční sféry atomového obalu. Emise těchto elektronů závisí na úhlu dopadu na vzorek. Pokud je místo dopadu na vrcholku, pak se uvolní více elektronů. Pokud je dopad do prohlubně, pak je množství uvolněných elektronů menší. Tento děj probíhá těsně pod povrchem vzorku, proto sekundární elektrony dávají informaci o jeho povrchu. Jedná se o tzv. topografický kontrast. [37-39]



Obrázek 7: Princip SEM [39]

Dojde-li k vyrazení některého z elektronů nacházejících se na vnitřních elektronových orbitalech, vzniká v tomto místě elektronová vakance, která je zaplněna některým z elektronů nacházejících se na vyšších orbitalech. Rozdíl energií mezi jednotlivými orbitaly je poté vyzářen ve formě fotonu charakteristického RTG záření. Detekce a analýza tohoto záření nám umožňuje stanovit lokální chemické složení v daném místě (EDS analýza).

2.5 Antibakteriální efekt

Jak již bylo zmíněno, fotokatalytické kompozitní vrstvy mají antibakteriální účinek, kterého se využívá například ve zdravotnictví. Při působení ultrafialového světla na tyto vrstvy dochází k fotokatalytickému jevu, při kterém vznikají superoxidové radikály a peroxidové radikály. Díky nim nastane rozklad mikroorganismů. Běžná antimikrobiální činidla bakterie zabijí a mrtvé buňky pak pokrývají jejich povrch. To jim nadále znemožňuje působit antibakteriálně. V případě fotokatalyticky aktivní látky ale nedochází k pouhému usmrcení bakterie. Po kontaktu látky s vnější membránou mikroorganismu dojde k jejímu narušení propustnosti pro radikály. Ty mohou proniknout dovnitř buňky, kde napadnou cytoplazmatickou membránu, a buňka následně zemře. Fotokatalytické činidlo pracuje, i když je jeho povrch pokryt mrtvými buňkami, a bakterie se nadále aktivně rozmnožují. Dokonce je schopno rozkládat i toxin uvolňovaný při inaktivaci buňky bakterie *E. coli*. [40]

Při zjišťování desinfekčních účinků TiO_2 vrstev jsou běžně používány bakterie, které jsou méně citlivé na účinky UVA záření. Jako představitel Gramnegativních (G-) bakterií byla vybrána *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* jako zástupce skupiny Grampozitivních (G+) bakterií. Po ozáření měly bakterie rozdílnou rychlost reakce. U (G-) bakterie *E. coli* byl prokázán 100% baktericidní účinek po 6ti hodinách ozáření. Oproti tomu u (G+) bakterie *Staphylococcus aureus* byl prokázán 100% baktericidní účinek už po 2,5 hodinách. Fotoaktivní vrstvy tedy lépe zničily Grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus*. [1] [40]

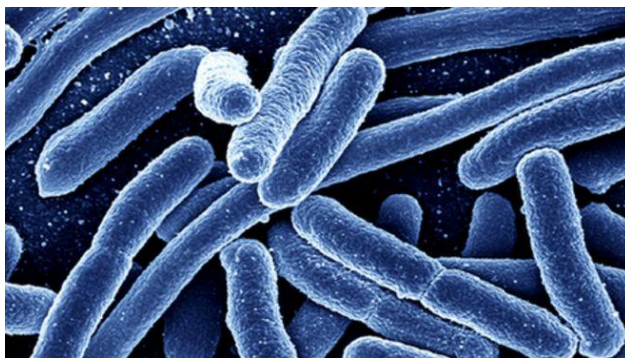
2.5.1 *Staphylococcus aureus*

Jedná se o grampozitivní kulovitou bakterii o průměru jeden mikron, konkrétně nesporulující, nepohyblivý a neopouzďřený kok. Může se vyskytovat jednotlivě či seskupený do nepravidelných hlouček nebo hrozníčku. Produkuje řadu toxinů, z nichž patří mezi hlavní například PV-leukocidin, který má schopnost perforovat membránu leukocytů, což způsobí jejich buněčnou smrt. Pro identifikaci bakterie se využívá Stafylokoagulázy, která dokáže koagulaci plazmy. Jiné druhy stafylokoků ji ve většině případů netvoří. Bakterie *staphylococcus aureus* způsobuje kožní onemocnění jako je impetigo, furunkl, karbunkl a další. Ale také vnitřní orgány se nákaze nevyhnou. Bronchopneumonie, endokarditida či sepse jsou významnými orgánovými postiženími. Stafylokoky jsou do jisté míry odolné vůči nepříznivým vlivům svého okolí. Dokáží vydržet teplotu až 55 °C po dobu 30 minut, vysychání či vyšší koncentrace NaCl. [41-42]

Také citlivost na antibiotikum je významná. Po zavedení penicilinu se objevily kmeny, které produkují penicilinázu. Proto byly vyvinuty peniciliny, které jsou vůči penicilináze rezistentní, například meticilin či oxacilin. Bohužel se ale některé kmeny adaptovaly a jsou rezistentní na tyto látky (MRSA – Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*). Tyto kmeny se často vyskytují ve zdravotnických zařízeních a způsobují nozokomiální nákazy. Jedná se o vážný celosvětový problém, kdy naprosto selhává antibiotická terapie.

2.5.2 *Escherichia coli*

Tato bakterie je ze skupiny gramnegativních bakterií, které mají podobu rovných tyčinek o velikosti jednotek mikronů. (Obrázek 8) Jsou pohyblivé díky bičíkům. Podstatnou část vnější stěny membrány tvoří lipopolysacharid. Existuje mnoho druhů bakterií *escherichia*, ale jejich nejvýznamnějším zástupcem je právě *Escherichia coli*, která se vyskytuje v přirozeném prostředí tlustého střeva savců. Pokud se bakterie dostanou mimo trávicí trakt, dokážou vyvolat v určitých případech vážné infekce. Jsou například původcem průjemových onemocnění, infekce močového traktu a ve tkáních vyvolávají záněty, kdy může dojít až k sepsi. Ve vyspělých zemích jsou označovány jako původci nemocničních infekcí. *E. coli* je citlivá na většinu antibiotik, ale nemocniční kmeny jsou sekundárně rezistentní. [41-42]



Obrázek 8: *Escherichia coli* [43]

2.5.3 Gramovo barvení

Jedním ze způsobů, jak rozčlenit bakterie, je i tzv. Gramovo barvení. Procedura je pojmenovaná podle dánského mikrobiologa Christiana Grama. V roce 1884 popsal způsob, jak diferenciatně obarvit bakterie. Vzorek živočišné tkáně, který obsahoval také bakterie, obarvil krystalovou violetí a nechal na něj působit Gramův jodový roztok. Tato kombinace

obarvila preparát výraznou modrofialovou barvou. Když potom Gram působil na vzorek organickým rozpouštědlem, odbarvila se buď samotná tkáň, nebo se odbarvily bakterie spolu s tkání. Právě díky tomuto jevu rozlišujeme bakterie grampozitivní, které za působení etanolu modrofialovou barvu neztrácejí, a gramnegativní, které se působením rozpouštědla odbarvují.

Důvod, proč se některé druhy bakterií zbarví a některé ne je ten, že mají odlišnou stavbu buněčné stěny. U grampozitivních bakterií je stěna buňky tlustá a tvořena výhradně peptidoglykanem přičemž neobsahuje téměř žádné lipidy. Naopak u gramnegativních buněk je stěna tvořena z velké části lipidy a je tenčí. Gramovo barvení tedy funguje na principu rozdílné permeability stěny buněk bakterií za současného působení organického rozpouštědla. U gramnegativních bakterií alkohol rozpustí lipidy přítomné v buněčné stěně a tím ji dělá propustnější pro barevný komplex, který z buňky snadno unikne. K opačnému efektu dochází u bakterií grampozitivních, kdy dojde k dehydrataci a následnému snížení permeability buněčné stěny. [41-42]

2.5.4 Stanovení antibakteriální účinnosti vrstev

ISO norma 27447: 2009 určuje pravidla a metody pro určování antibakteriální aktivity vrstev. Testování fotokatalyticky aktivních vrstev je rozděleno na dva hlavní přístupy. Prvním je metoda adheze filmu, která je používána pro ploché a pevné povrchové materiály s fotokatalytickým povlakem. K provedení antibakteriálních testů jsou využívány dva typy bakterií, a to *Staphylococcus aureus* jako zástupce grampozitivní bakterie a *Escherichia Coli* jako gramnegativní. Druhým přístupem je metoda přilnavosti skla. Té se využívá při hodnocení fotokatalytických antibakteriálních povrchů látek. Pro tuto metodu jsou používány na antibakteriální testy *Staphylococcus aureus* a *Klebsiella pneumoniae*.

Pro metodu přilnavosti filmu jsou mateřské kmeny naočkovány do kultivačního média (živného agaru) a inkubovány při 37 °C v rozmezí 16 až 24 hodin. Bakterie jsou poté přeneseny do nového agaru a opět inkubovány po dobu 16 až 24 hodin. Malá část bakterií je poté přenesena do zředěné formy živné půdy za pomoci platinové smyčky. Poté je změřen počet bakterií, zředěn na požadované množství $6,7 \cdot 10^5 - 2,6 \cdot 10^6$ na jeden mililitr a použit jako vhodný vzorek pro test. V případě, že test není ihned proveden, je možné bakterie uchovat po dobu 4 hodin při teplotě 0 °C. Na testy smí být použito pouze 10 subkultur pocházejícího od originálního kmenu a doba použití nesmí přesáhnout jeden měsíc.

Pro metodu přilnavosti skla musí být bakterie kultivovány v živném agaru s platinovou smyčkou po dobu 24 až 48 hodin a použity během jednoho týdne. Kolonie z této inkubace jsou dále využity pro inkubaci 20 ml živné půdy ve 100 ml Erlenmeyerovy baňky a míseny rychlostí 110 otáček za minutu po dobu 18 až 24 hodin. Nyní je ve směsi koncentrace buněk 1 až $2 \cdot 10^8$ na mililitr. Tento proces se znovu opakuje za cílem dosáhnout počtu buněk na 10^7 v jednom mililitru. Počet buněk je měřen stejně jako v předešlém případě metody pomocí optického mikroskopu či metody optické absorpce hustoty.

Vzorek s bakteriemi je vložen přímo do testovací komory pokryté skleněným krytem pro udržení vysoké úrovně vlhkosti. Je umístěn na filtrační papírek a na trubici ve tvaru U. Přilnavý film či sklo s transparentností vyšší, než je 85 % pro UV záření o vlnové délce v rozmezí 340 až 380 nanometrů je položen na vzorek s bakteriemi. Vzorek je poté ozářen BLB fluorescentní lampou s maximální emisní vlnovou délkou 351 nm. [44-45]

3 Experimentální část

3.1 Substrát

Při výběru vhodného substrátu k depozici tenkých vrstev byla hlavním kritériem opakovatelnost pokusů. Proto bylo zvoleno hladké mikroskopické podložní sklíčko o rozměrech 25×75×1,1 mm a matné broušené sklíčko o rozměrech 25×25×4 mm kvůli předpokladu homogenních vlastností (reliéf povrchu, smáčivost apod.). Na experimenty s oxidem zinečnatým muselo být využito matné broušené sklíčko, a to z důvodu práškové formy oxidu, který v suspenzi s Balcleanem měl tendenci sedimentovat a po nanesení vytvářel mapy.

Substrát bylo nutno před depozicí očistit. Sklíčka byla předem naložena ve směsi vody a čistícího přípravku po dobu jednoho dne. Po vyndání byla důkladně opláchnuta destilovanou vodou. Následně byla omyta etanolem. Posledním krokem procesu byl oplach acetonem. Takto připravené sklíčko bylo vysušeno za pomoci vzduchové pistole a připraveno k depozici. V případě stálé přítomnosti nečistot na povrchu se celý proces opakoval.

3.2 Depozice

V případě hladkých mikroskopických sklíček bylo využito metody nanášení dip-coatingem. Díky tomu bylo dosaženo homogenity nanášené vrstvy, která netvořila shluky. V případě směsi s oxidem zinku byl roztok nanášen metodou nátěru. Oxid zinku dostupný pro experiment byl v práškové formě a při metodě nanášení dip-coaterem tvořil na naneseném sklíčku mapy. V průběhu nanášení sedimentoval na dně nádoby a nanesená vrstva tedy nebyla homogenní.

Vyčištěné hladké podložní sklíčko bylo upevněno do držáku dip-coateru. Do teflonové nádoby byl vpraven požadovaný roztok. Deponované vrstvy jsou shrnuty v Tabulka 1. Nádobka byla umístěna do dip-coateru a nastavena do polohy, kdy bylo hladké sklíčko co nejvíc ponořené v nanášeném roztoku. Komora dip-coateru byla uzavřena a za pomoci vhánění stlačeného vzduchu byla uvnitř kontrolovaná relativní vlhkost snížena na 8 %. Teplota v komoře byla 28,5 °C. Při dosažení těchto podmínek byla vysunováním sklíčka z roztoku rychlostí 1 mm/s z nádoby nanášena tenká vrstva zvoleného roztoku. Při rychlosti

3 mm/s byla v porovnání s rychlostí vytahování 1 mm/s homogenita napovlakované vrstvy horší. Po nanesení bylo sklíčko položeno na stojan a vrstva se nechala zaschnout.

Tabulka 1: Deponované vrstvy

K	Referenční vzorek bez vrstvy
AG	Nanočástice Ag ($\varnothing$ 20 nm, Sigma Aldrich)
BLC	Čistý roztok Balcleanu
BLC + 5 % AG	20 g Balcleanu + 0,1 g Ag
BLC + 10 % AG	20 g Balcleanu + 0,2 g Ag
BLC + 5 % AG + 5 % ZNO	20 g Balcleanu + 0,1 g Ag + 0,098 g ZnO ($\varnothing$ 40 až 50 nm, Sigma Aldrich)
BLC + 10 % AG + 10 % ZNO	20 g Balcleanu + 0,1 g Ag + 0,196 g ZnO

3.3 Rastrovací elektronová mikroskopie a energiově-disperzní analýza

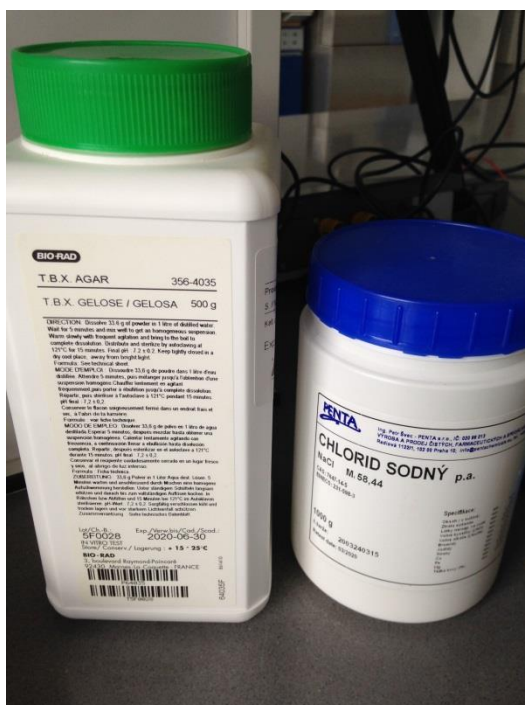
Struktura a lokální chemické složení vzorků byly hodnoceny na rastrovacím elektronovém mikroskopu Zeiss Ultra Plus, který byl vybaven energiově-disperzním detektorem charakteristického RTG záření Oxford X-Max 20. Snímky byly pořízeny při nízkém urychlovacím napětí (2 kV). Nabíjení bylo kompenzováno pomocí lokální injeckce dusíku (Charge-compenzator). EDS analýza byla realizována při urychlovacím napětí 10 kV (pro vrstvu BLC + Ag + ZnO 20 kV kvůli rozlišení píku Zn-L α od Na-K α , které mají překryv na 1,0 keV).

3.4 Příprava médií

V mikrobiologii se využívá dvou typů živných půd. Prvním typem je půda univerzální, kdy na tomto médiu je schopno růstu velký počet fyziologicky různorodých druhů mikroorganismů. Práce s tímto typem půdy je náročnější, proto byl pro práci zvolen druhý typ

půdy a to selektivní. Toto médium je uzpůsobeno svým složením pouze pro růst určitého druhu mikroorganismů a ostatní skupiny potlačují.

Pro první měření byl využit T.B.X. agar. (Obrázek 9) V jeho případě nově narostlé mikroorganismy měly světle namodralé zbarvení pro lepší vizualizaci kolonií. Pro přípravu půdy bylo odváženo 5,25 g agarů ve formě prášku, který byl smísen s 250 ml destilované vody. Takto připravený roztok bylo potřeba vysterilizovat za pomoci autoklávu. Tento přístroj zahřál médium na teplotu 125 °C za zvýšeného tlaku vodních par po časový interval 25 minut. Tento typ agarů je finančně náročnější, proto byl využit pouze pro efekt prvního měření. Na další experimenty byl využit Nutrient Agar, kdy vzniklé kolonie měly světle nažloutlou barvu. Pro jeho přípravu bylo zapotřebí 7 g samotného agarů v práškové formě a 250 ml destilované vody, ve které byl prášek rozmíchán. Dále se postupovalo stejným způsobem jako v případě prvního média. Agar taje při teplotě 95 °C, ale tato teplota by usmrtila potřebné mikroorganismy a experiment by byl nevypovídající. Proto se musel před použitím ochladit. Teplota však nesměla klesnout pod 45 °C, kdy už docházelo k jeho tuhnutí, a nebylo by možné zalití bakterií v Petriho misce.



Obrázek 9: Využitá média při experimentu. V levé části je nádoba s práškem T.B.X. agarů, v pravé části nádoba s chloridem sodným.

Dalším médiem využívaným při měření byl fyziologický roztok. Některé vzorky není možné očkovat přímo do živných médií, ať už se jedná o tekutá či ztužená. Je zapotřebí je ředit kvůli počitatelnosti množství narostlých kolonií mikroorganismů. K tomuto účelu slouží právě fyziologický roztok, který byl namíchán za pomoci 2,5 g chloridu sodného a 250 ml destilované vody. Jeho další zpracování probíhalo za stejných podmínek sterilizací v autoklávu. (Obrázek 10)



Obrázek 10: Sterilizační zařízení Microjet enbio

3.5 Příprava experimentu

Nejprve bylo potřeba nařezat si za pomoci diamantového nože sklička s tenkou vrstvou tak, aby měla všechna sklička stejnou velikost. Poté umístit do Petriho misky buničinu navlhčenou 200 μ l destilované vody. Vlhčení prostředí se provádělo z důvodu lepšího prostředí pro růst bakterií. Na buničinu byly posazeny skleněné tyčinky, na které již bylo uloženo nanesené skličko v případě aktivních vzorků. Pro kontrolní vzorky bylo použito pouze vyčištěných sklíček bez jakéhokoliv dalšího povlaku.

Na každý takto připravený vzorek bylo nanášeno 150 µl 0,5 MCF bakterie *E. coli*, která byla zvolena pro tento experiment. 0,5 roztok podle McFarlandova standardu znamená, že v každém ml roztoku je obsaženo $1,5 \times 10^8$ buněk dané bakterie. Tento standard je často využíván v klinických mikrobiologických laboratořích pro testování antimikrobiální citlivosti. Petriho misky byly uzavřeny a vzorky dány do boxu. Po uplynutí intervalů 0 minut, 30 minut, 60 minut, 120 a 240 minut byly vzorky vyzvednuty a zpracovány.

3.6 Zpracování vzorků

3.6.1 Metoda otisku

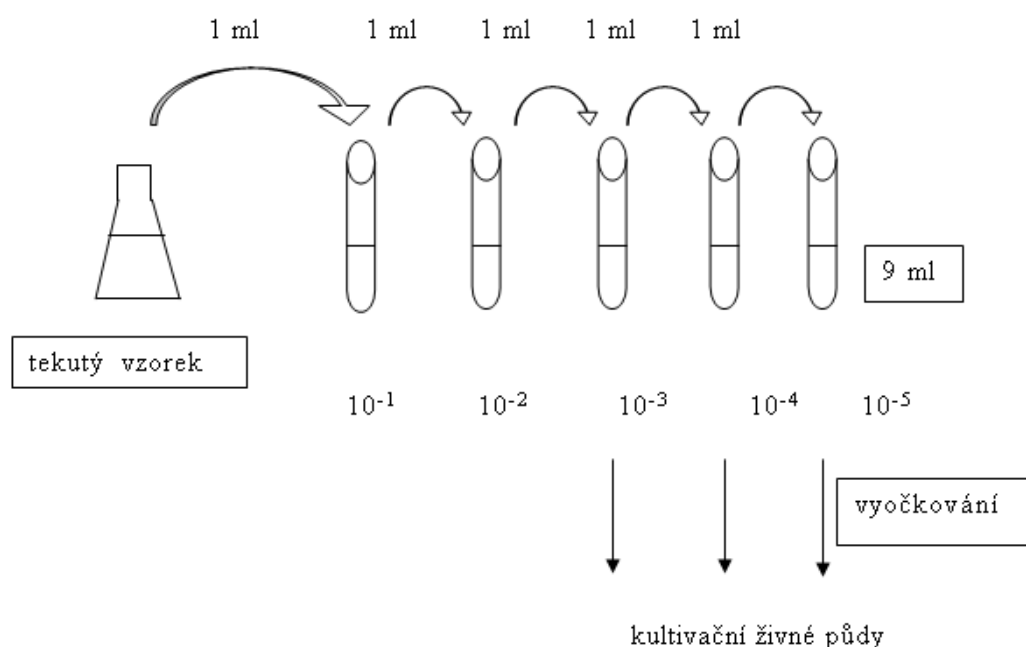
Při prvním experimentu, kdy tenká vrstva na hladkém sklíčku obsahovala pouze stříbro, bylo využito dvou metod zpracování. První byla metoda otisku. Do Petriho misky byl odlit živný agar, který se nechal zatuhnout. Z vyzvednutých vzorků bylo sklíčko položeno na ztuhlý agar tak, aby se dotýkala vrstva s nanášenou bakterií spolu s vrstvou živné půdy. Po 30 minutách se odebralo sklíčko a takto zpracované vzorky byly umístěny do laboratorního inkubátoru, kde se ponechaly dva dny v teplotě 36,7 °C kvůli inkubaci bakterií. Po uplynutí doby se vzorky vyjmuly a spočítaly se přeživší bakterie. Bohužel tato metoda se ukázala jako zcela neprůkazná. Nebylo možné přesně spočítat počet bakterií rostlých v živné půdě a výsledky aktivity nanášené tenké vrstvy byly zavádějící. Proto byla tato metoda pro další zpracování vzorků vyloučena.

3.6.2 Diluční metoda

Jako druhá byla použita diluční metoda (Obrázek 11), která se využívá k detekci minimální inhibiční koncentrace antimikrobiálního činidla. Ředění roztoku se provádí desetinnou řadou. Koncentraci v původním vzorku tedy snižujeme postupně o jeden řád - tj. 10x, 100x, 1000x atd. Tato ředění se označují zápornými exponenty: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} a dále. Pro přesné ředění je potřeba sada zkumavek o přesném objemu sterilního ředícího roztoku, v našem případě se jedná o fyziologický roztok. Dále je zapotřebí pipet spolu se sterilními pipetovacími špičkami.

Sklíčka z vyzvednutých vzorků byla dána do nádoby s obsahem 9 ml fyziologického roztoku. Tento roztok byl spolu se sklíčkem promíchán vodním vírem, který vyvolá stolní laboratorní přístroj Vortex (třepačka). Z nádoby byl pipetou odebrán 1 ml a asepticky

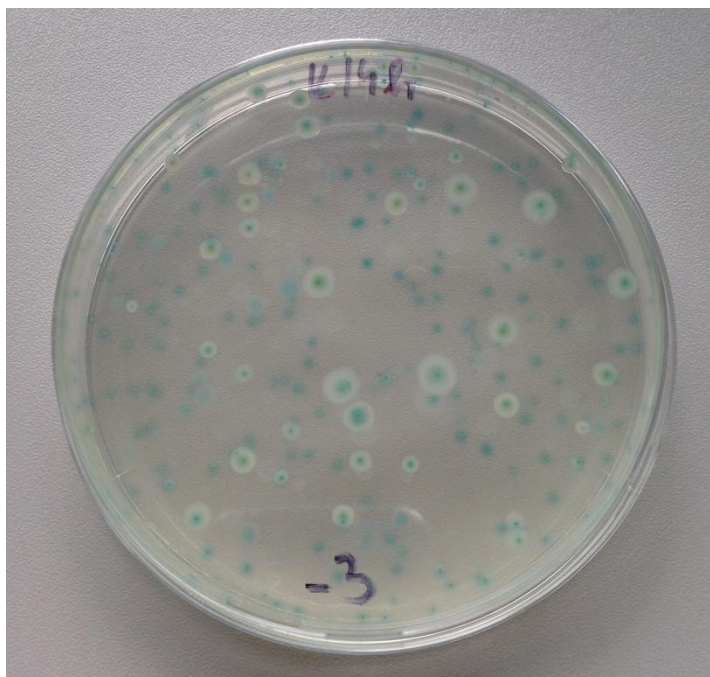
vpřaven do předem připravené zkumavky, která obsahovala opět 9 ml fyziologického roztoku. Vše se znovu protřepalo a ze zkumavky se odpipetoval jeden ml. Dále se opakoval stejný postup jako u předešlé zkumavky v závislosti na předpokládaném obsahu mikroorganismů tolikrát, aby se dosáhlo požadovaného zředění. V případě nejprve druhého a třetího ředění se odpipetoval ze zkumavky i 1 ml, kterým se naplnila Petriho miska. Po prvním počítání bakterií *E. coli* bylo zvoleno jako vhodné třetí, čtvrté a páté ředění. Petriho miska byla poté zalita živou půdou, tj. tekutým agarem, který se nechal ztuhnout. Po ztuhnutí se miska obrátila dnem vzhůru, aby nedocházelo během inkubace ke kondenzaci vody na spodní straně víček, a umístila se do inkubační komory po dobu 48 hodin.



Obrázek 11: Postup ředění

3.6.3 Vyhodnocení počtu bakterií

Po 48 hodinách v inkubační komoře je možné vidět vyrostlé mikroorganismy na živné půdě ve formě kolonií. (Obrázek 12) Jedná se o útvary, které vznikly množением jedné buňky nebo shluku dvou či více od sebe neoddělitelných buněk. Pro potřeby experimentu byly vyhodnocovány jen takové Petriho misky, kde byl dobře patrný počet mikroorganismů. Při počtu přesahujícím číslo 300 byl takovýto vzorek nepočitatelný.



Obrázek 12: Petriho miska po 48 hodinách v inkubační komoře. Jedná se o kontrolní vzorek bez fotokatalytické vrstvy, který byl vyzvednut po 4 hodinách. Na obrázku je Petriho miska se třetím ředěním.

3.7 Použité přístroje

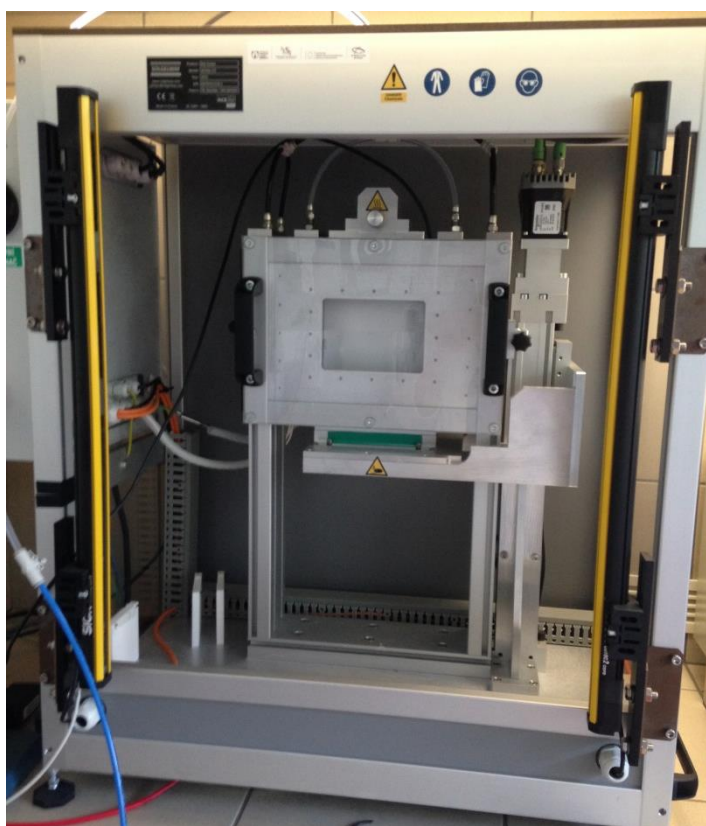
Dip-coater ACedip 2.0

Samotná metoda dip-coating je popsána výše v kapitole 2.4.3. Tento typ je vhodný pro širokou škálu povlaků, ať už se jedná o sol-gel, koloidy či nanokompozity. Dokáže vytvořit ultra tenký povlak z vodných roztoků. Je vybaven dobrým pohybovým systémem, který umožňuje velmi hladký přenos roztoku při různých rychlostech. Utěsněná komora může být naplněna jakýmkoliv plynem a zahřata až na 150 °C. Díky speciálnímu softwaru může ovládat teplotu a vlhkost po celý proces. Technické parametry jsou uvedeny v Tabulka 2.

Tabulka 2: Technické parametry přístroje Dip-coater

Zdroj	48 V / 5 A max.
Provozní teplota motoru	0 až 85 °C
Motor	Pohon s kuličkovým šroubem
Komunikační rozhraní	RS422 / USB
Rychlost posunu	$0,0005 \leq v \leq 30$ mm/s

Objem kontejneru	15 až 235 ml
Rozměry substrátu	110x130x5 mm
Výkon topného tělesa	1000 W
Rozměry	960x490x850 mm
Hmotnost	60 kg



Obrázek 13: Dip-coater

SafeFAST Classic 212

Zařízení flowbox (Obrázek 14) slouží k filtraci vzduchu a zajišťuje možnost práce ve sterilním prostředí bez mikroorganismů. Biohazard box třídy II má elektricky posuvné sklo zešikmené o 7°. Součástí je také UV lampa na magnetickém panelu, která slouží ke sterilizaci materiálů uložených v boxu. Technické parametry jsou uvedeny v Tabulka 3.

Tabulka 3: Technické parametry přístroje SaveFAST

Zdroj	230 V; 50 Hz
Výkon	1,14 kW
Proud	6,7 A
Třída	II
Hmotnost	195 kg
Rozměry	1350 x 810 x 1545 mm



Obrázek 14: SaveFast Classic 212

KERN EWB 620-2M

Laboratorní váhy (Obrázek 15) byly využívány během experimentu k navážení přesných dávek médií. Mezní hodnoty je možné zadávat v gramech, kusech nebo procentech. Tyto váhy mají LCD displej a jsou polohovatelné za pomoci šroubovacích nožek. Při

překročení meze pomáhá optická indikace. Energie je dodávána přes napájecí adaptéry. Rychlá odezva vážení, ustálená hodnota se ukáže již za 2 sec. Technické parametry uvedeny v Tabulka 4.

Tabulka 4: Technické parametry přístroje Kern Ewb

Rozsah vážení	maximum 620 g
Citlivost	0,01 g
Napájení	9 V/200 mA
Hmotnost	4,9 kg
Rozměry	182x235x75 mm
Vážicí miska	140 mm



Obrázek 15: KERN EWB 620-2M

GORO MID 10

Tento systém reverzní osmózy (Obrázek 16) je schopen výkonu 10 litrů za hodinu. Lze s ním docílit deionizované vody. Princip reverzní osmózy spočívá v protlačení vody pod tlakem skrz velice jemné mikroskopické póry membrány. Póry jsou menší než nežádoucí

látky obsažené ve vodě, proto dokáží tyto příměsi zachytit. Proces se dá zpětně vrátit a vodu můžeme opět remineralizovat či jinak upravovat. Technické parametry jsou uvedeny v Tabulka 5.

Tabulka 5: Technické parametry Goro Mid 10

Zdroj	240 V; 60 Hz
Velikost zásobníku	10 až 200 litrů
Typ vody	deionizovaná
Kvalita vody	splnění normy ČSN ISO 3696
Rozměry	1930x500x700



Obrázek 16: Goro Mid 10

Microjet Enbio

Tento autokláv (Obrázek 10) pracuje s tepelnou energií, která je potřebná pro sterilizaci, dodávanou přímo do média. Jako zdroj této energie je využíváno mikrovln, ohřev média tedy nastává okamžitě a rovnoměrně po celém objemu. Klasické autoklávy pracují s párou, proto je proces sterilizace v microjetu až pětikrát rychlejší. Případný rozklad složek média je tedy snížen na minimum. Technické parametry přístroje jsou v Tabulka 6.

Tabulka 6: Technické parametry autoklávu Microjet Enbio

Teplota sterilizace	135 °C
Doba vystavení sterilizační teplotě	80 s
Doba ohřevu	1,5 až 4,5 min
Doba chlazení	cca. 4 až 8 min
Celková doba procesu	7 až 12,5 min
Teplota média po skočení procesu	95 °C
Napájení	230 V; 50 Hz
Výstupní výkon	0,95 kW
Maximální spotřeba proudu	8 A
Pracovní tlak	3,6 bar
Maximální tlak	5 bar
Hmotnost	15 kg
Kapacita procesní komory	2 l
Frekvence elektromagnetických vln	2450 MHz
Stupeň ochrany	IP 20

Třepačka zkumavek – VORTEX Genius 3 s kruhovým pohybem

Při provádění antibakteriálních testů bylo zapotřebí protřepávat nádobky a zkumavky kvůli lepšímu rozložení přeživších bakterií *E. coli*. K tomuto účelu slouží třepačka zkumavek. (Obrázek 17) Bez protřepání by ve zkumavce mohlo dojít k tomu, že bude bakterie nerovnoměrně obsažena v roztoku. Při následném odpipetování bychom tak mohli mít zkreslené výsledky. Třepačka se dá nastavit dvěma způsoby. Spouštěním na dotyk nebo je v trvalém provozu. Technické parametry jsou uvedeny v Tabulka 7.

Tabulka 7: Technické parametry třepačky Vortex Genius 3

Zdroj energie	220 až 240 V; 50/60 Hz
Výkon	10 W
Rychlost otáčení	500 až 2500/min
Pohon	motor se štěrbinovými póly
Druh pohybu	kruhový, horizontální

Zdvih	4 mm
Přípustná teplota	5 až 40 °C
Přípustná vlhkost	maximum 80 %
Krytí	IP 21
Hmotnost	4,5 kg
Maximální zatížení	0,5 kg
Rozměry	127x149x136 mm



Obrázek 17: Třepačka zkumavek Vortex Genius 3

Incucell

Tento přístroj funguje jako elektricky vytápěná komora, kde dochází k ohřevu materiálů až do 300 °C. (Obrázek 18) Využívá se k bezpečnému zpracování mikrobiologických kultur. Zaručuje rychlé a přesné rozložení teploty v komoře. K úspoře energie a minimalizaci úniku tepla z komory slouží dokonalá ekologická izolace. Pro snadnou údržbu je možné vyjmout vnitřní stěny komory. Technické parametry jsou uvedeny v Tabulka 8.

Tabulka 8: Technické parametry přístroje Incucell

Zdroj	230 V; 1,3 A
Maximální příkon	0,3 kW
Příkon v pohotovostním stavu	5 W
Doba náběhu na teplotu 37 °C	57 min
Vysálané teplo do okolí při 37 °C	45 W
Hmotnost	87 kg
Rozměry	640x760x860 mm
Maximální nosnost síta/skříně	20 kg/50 kg



Obrázek 18: Incucell

Horkovzdušný sterilizátor HS 62A

Tento přístroj je určený ke sterilizaci materiálů za pomoci horkého vzduchu. (Obrázek 19) Ten uvnitř sterilizační komory cirkuluje a dle potřeby vysouší a sterilizuje materiály k tomu určené. Nesmí se využívat pro materiály, které nesnesou podmínky horkovzdušné sterilizace. Horký vzduch s nucenou cirkulací je ohříván topnými tělesy a je vháněn do pracovního prostoru, kde je materiál umístěn na sítích. Tranzistorový regulátor udržuje

teplotu vzduchu na stálé teplotě, která je předem nastavena. Pro sušení jsou v přístroji zabudovány větrací otvory. Technické parametry jsou uvedeny v Tabulka 9.

Tabulka 9: Technické parametry horkovzdušného sterilizátoru

Zdroj	220 V; 50 Hz
Zdánlivý výkon	2,1 kVA
Rozsah teplot	50 až 200 °C
Rozsah časového spínače	3 s až 60 h
Hmotnost	48 kg
Rozměry	290x540x450 mm



Obrázek 19: Horkovzdušný sterilizátor

TL-D 18W/108 (08) BLB Philips

Při testech podle ISO normy 27447: 2009 byla nutná přítomnost zdroje UV-A záření. Část vzorků bylo po nanesení bakterie E. coli umístěno pod zdroj ultrafialového záření. Pro potřeby experimentu bylo využito BLB zářivky o průměru 26 mm. Je vyrobena z tmavě

modrého skla, které vyzařuje UV-A záření, ale pouze minimum viditelného světla. Technické parametry uvedeny v Tabulka 10.

Tabulka 10: Technické parametry zářivky

Příkon	18 W
Napětí	59 V
Proud	0,36 A
UV-A	320 až 400 nm

PerkinElmer Lambda 35

Přístroj použitý v experimentu je UV/VIS spektrofotometr (Obrázek 20), který pracuje na základě pohlcování světla o různých vlnových délkách. Roztok v kyvetě je prozařován světelným zářením, které je roztokem absorbováno. Detektor záření měří intenzitu dopadajícího světla, které nebylo analyzovaným roztokem absorbováno. Následně je porovnávána intenzita vysílaného a detekovaného záření. Množství záření, které roztok absorbuje, je úměrné koncentraci methylenové modři ve vodném roztoku. Technické parametry přístroje uvedeny v Tabulka 11.

Tabulka 11: Technické parametry PerkinElmer Lambda

Rozsah vlnových délek	190 až 1100 nm
Přesnost měření	$\pm 0,1$ nm
Fotometrická přesnost	$\pm 0,001$ A
Rozměry	65x56x23 mm
Hmotnost	25 kg



Obrázek 20: UV/Vis spektrofotometr

3.8 Degradace methylenové modři

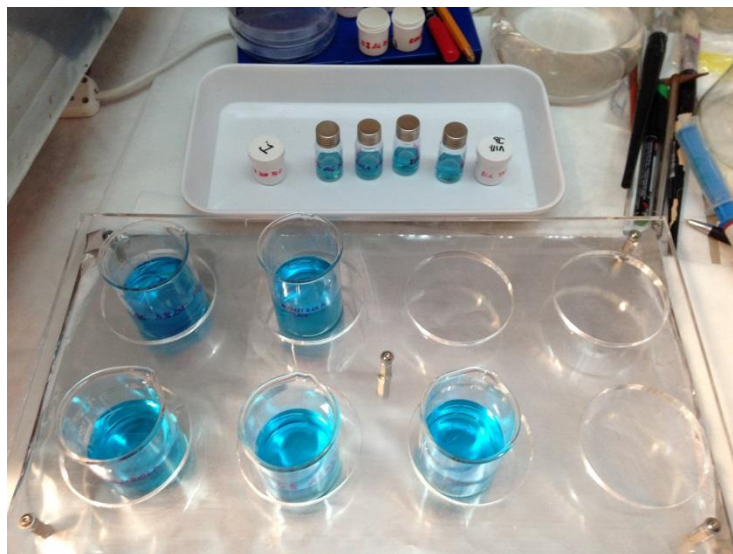
Tato metoda slouží ke stanovení fotokatalytické aktivity povrchů ve vodném prostředí degradací methylenové modři za současného působení ultrafialového světla. Aktivitu stanovujeme na základě fotonické účinnosti povrchu, což je míra schopnosti dopadajících fotonů indukovat odbarvování methylenové modři.

Ve vodném roztoku je v kontaktu fotokatalyticky aktivní povrch a methylenová modř. Ta je degradována díky fotokatalytické aktivitě nanesených vrstev, za pomoci jejich ozařování UV světlem. Hodnota zbývajícího barviva přítomného v roztoku se stanovuje v pravidelných intervalech během měření. K tomu je určený přístroj UV/VIS spektrofotometr. Se stejným vzorkem se pak provádí kontrolní měření, kdy se již povrch nevystavuje UV záření. Světelný zdroj by měl být v rozmezí vlnové délky $320 < \lambda < 400 \text{ nm}$ s intenzitou $10 \pm 0,5 \text{ W / m}^2$.

Pro přípravu vodného roztoku methylenové modři je potřeba demineralizovaná voda a koncentrovaný roztok modři $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$. Jejich sloučením dosáhneme vodného roztoku methylenové modři o koncentraci $10 \pm 0,5 \text{ } \mu\text{mol/l}$, kdy absorbance takového roztoku, měřena v 10 mm kyvetě, je 0,74 pro vlnovou délku 664 nm. [46-47]

Pod zdroj UV záření se umístí kádinky se vzorky sklíček ponořené ve vodném roztoku s methylenovou modří. (Obrázek 21) Maximální počet vzorků je však 6. Kontrolní vzorek je uložen na tmavém místě bez přístupu světla. V prvních 40 minutách je ale zdroj UV vypnut a absorbance se měří bez UV záření. Postupně je od začátku po 20 minutách odebírána malá

část z každého vzorku a je měřena závislost absorpance methylenové modři na čase. Po uplynutí 40 minut se zapne UV zdroj a pokračuje se v měření.



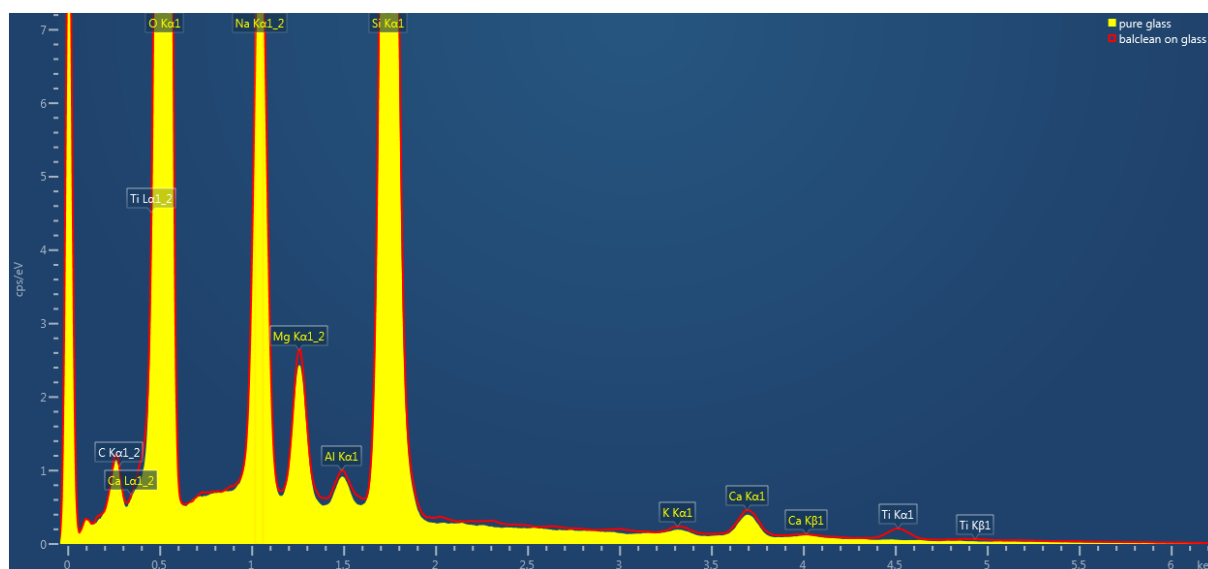
Obrázek 21: Kádinky se vzorky sklíček ponořené ve vodném roztoku s methylenovou modří

4 Výsledky

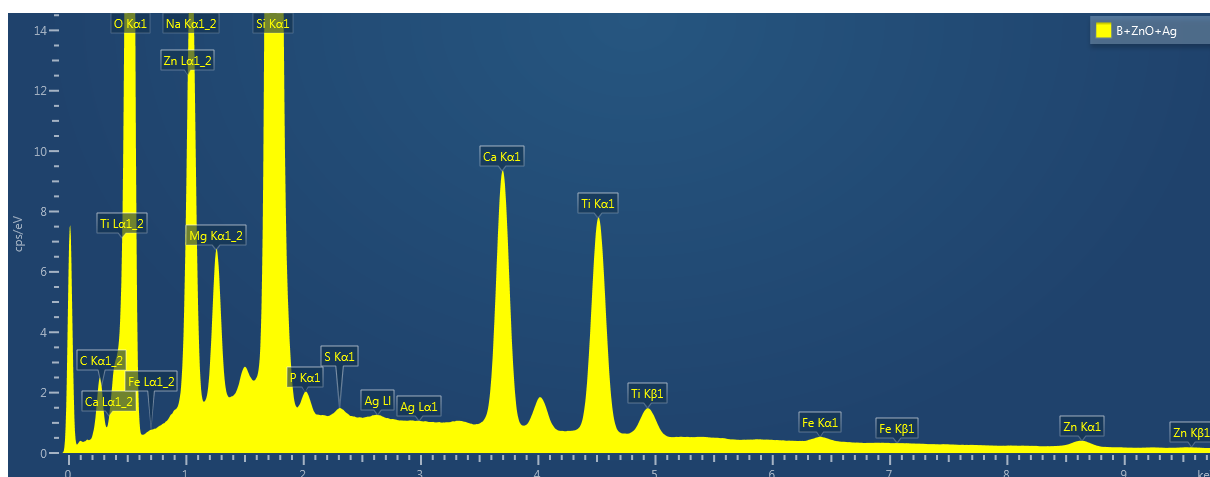
4.1 EDS analýza

EDS analýza se využívá ke zjištění lokálního chemického složení vzorku. Touto metodou je možné identifikovat jednotlivé chemické prvky a v jakém kvalitativním zastoupení vzorek obsahuje. Při bombardování vzorku elektrony vzniká RTG záření, které je detekováno energiově disperzním spektrometrem. Výsledkem je spektrum signálů RTG záření, kdy je poloha každého píku charakteristická pro určitý prvek. Výška (intenzita) píku je mírou koncentrace daného prvku ve vzorku. Výhodou EDS analýzy je rychlé a přehledné zpracování dat. [48]

Pomocí EDS analýzy jsme porovnali spektra čistého skla a skla povlakovaného čistým roztokem Balcleanu. V případě tenké vrstvy Balcleanu je navíc vidět pík Ti na 4,509 keV, viz Obrázek 22. V případě EDS spektra vzorku matného broušeného skla s nátěrem B+ZnO+Ag je v důsledku nanášení nátěrem oproti dip-coatingu tloušťka vrstvy mnohem větší, což se projevuje výrazně vyšším píkem Ti (4,509 keV). Povšimnout si lze i píků Zn (8,630 keV) a Ag (2,634 keV), které potvrzují úspěšnou aditivace, viz Obrázek 23. [49]



Obrázek 22: Porovnání EDS analýzy čistého sklíčka a sklíčka s vrstvou Balcleanu



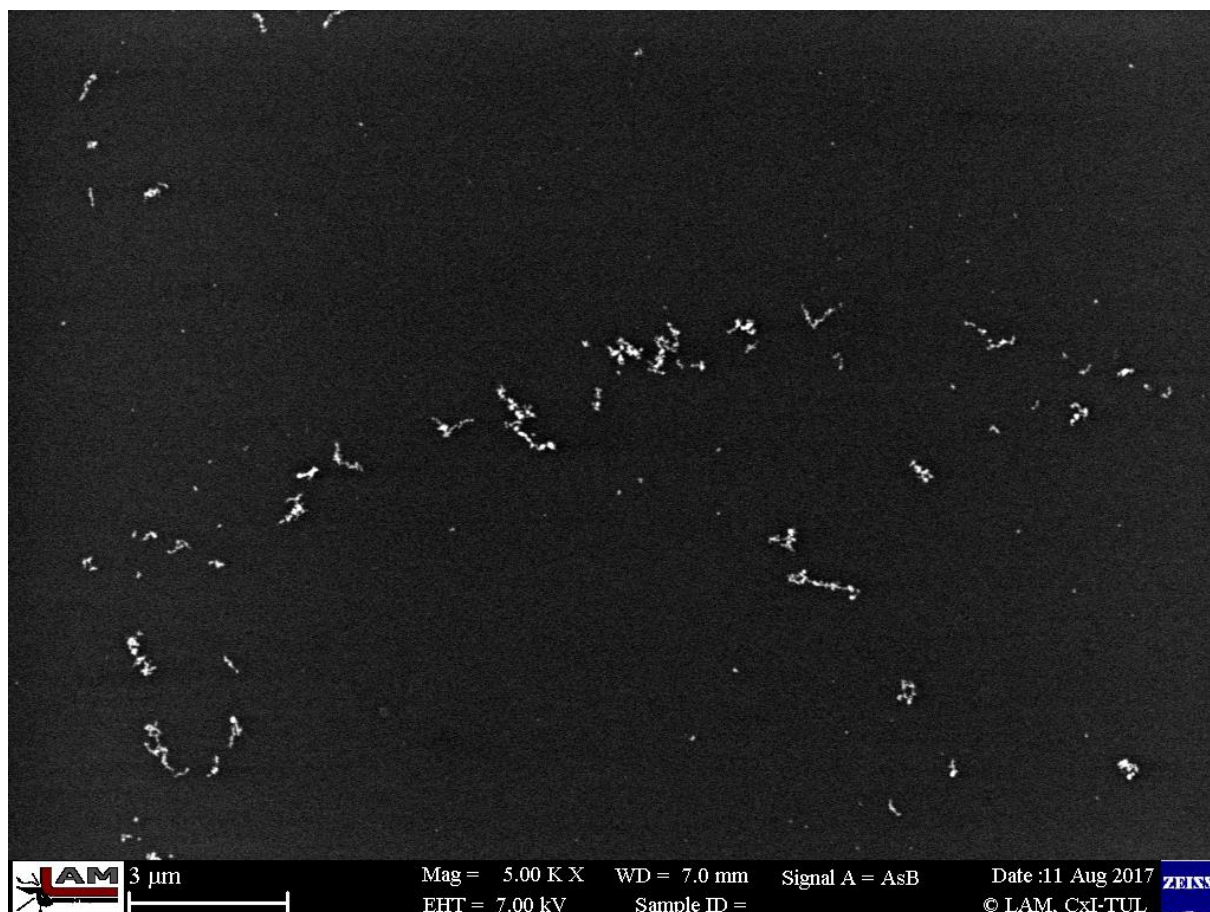
Obrázek 23: EDS spektrum vzorku matného broušeného skla s nátěrem B+ZnO+Ag.

4.2 Antibakteriální test bez UV ozáření

Testování antibakteriálního efektu a fotokatalytické aktivity probíhalo v laboratořích CXI v budově L Technické univerzity v Liberci. V první části experimentu se vzorky nevystavovaly UV záření, ale pouze byly ponechány v boxu za přístupu viditelného světla. Po nanesení bakterie *E. coli* se vzorky nechaly pracovat po určitý časový interval. Po vyzvednutí byly zpracovány diluční metodou. Více v kapitole 3.6.2. Hodnoty v tabulkách jsou výsledky zprůměrovaných hodnot ze tří měření.

4.2.1 Tenká vrstva Ag

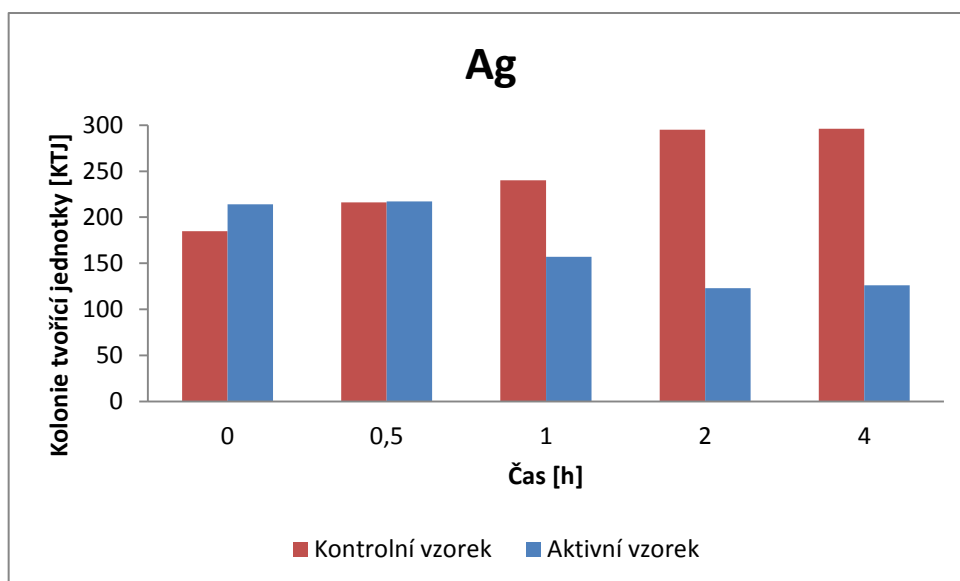
V prvním vzorku bylo použito pouze nanočástic stříbra ve vodném roztoku bez jakýchkoliv aditiv. Snímek pořízený rastrovacím elektronovým mikroskopem (Obrázek 24) v chemickém kontrastu ukazuje nerovnoměrnou distribuci (tendenci vytvářet shluky) nanočástic stříbra v nanosené vrstvě. Stříbro samo o sobě je pro bakterie toxické, protože vůči němu nemají vytvořenou rezistenci. Napadá stěny bakterií a reaguje s jejich DNA, čímž zabraňuje jejich rozmnožování. Proto má i samo o sobě vliv na úhyn *E. coli* v experimentu. V Tabulka 12 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky KTJ. [50-51]



Obrázek 24: Povrch hladkého laboratorního sklíčka s nanočásticemi stříbra

Tabulka 12: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Ag

Počet bakterií při koncentraci buněk 10^5		
Čas	Kontrolní vzorek	Aktivní vzorek
0	185	214
0,5	216	217
1	240	157
2	295	123
4	296	126

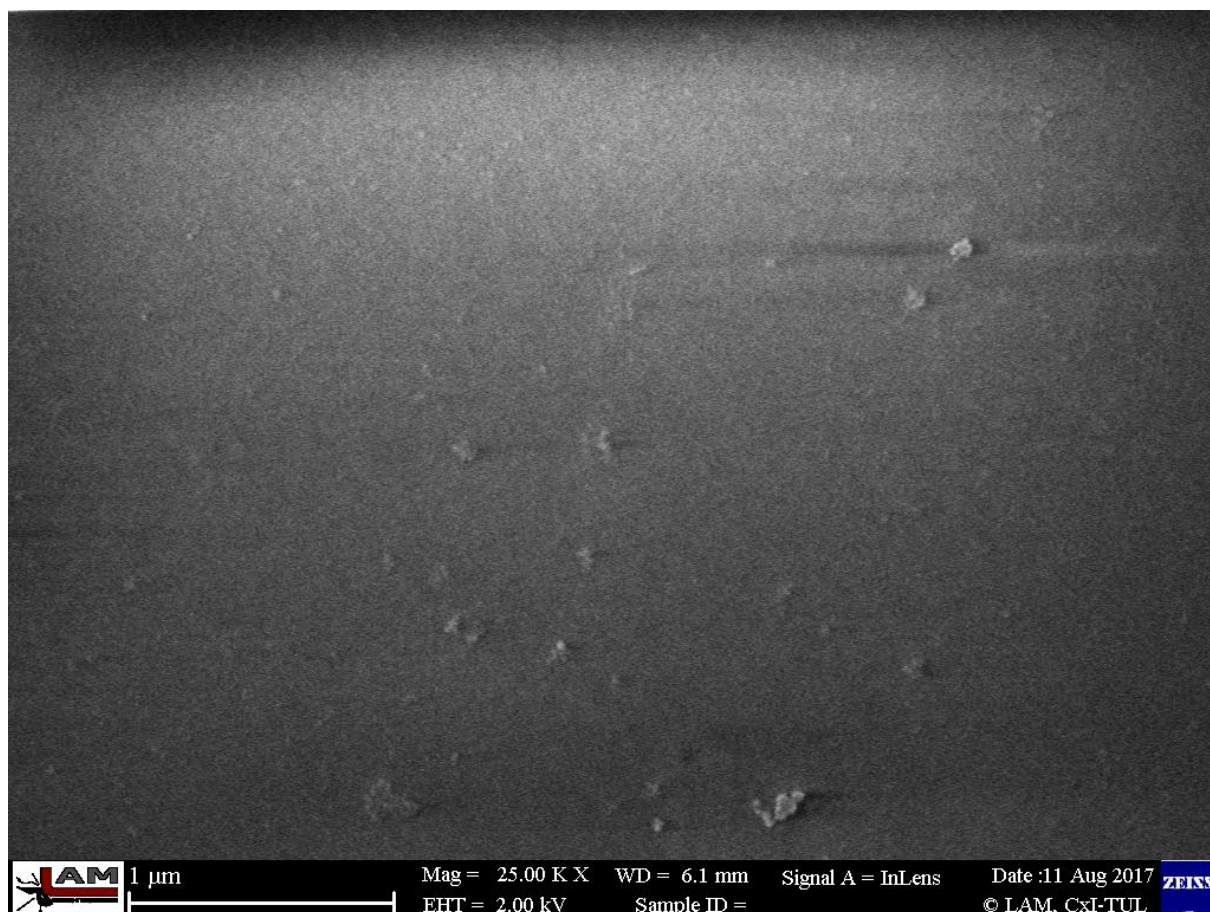


Graf 1: Test antibakteriální aktivity na hladkém skle s tenkou vrstvou Ag s koncentrací buněk 10^5

V Graf 1 jsou zaneseny výsledky z testu antibakteriální aktivity pro tenkou vrstvu nanočástic stříbra. Tenká vrstva Ag byla nanášena metodou dip-coating na hladké podložní laboratorní sklíčko bez jakýchkoliv aditiv. Kontrolní vzorek je zanesen červenou barvou a značí sklíčko bez nanesené vrstvy. Aktivní vzorek označený modrou barvou je pokryt tenkou vrstvou obsahující nanočástice Ag. V grafu jsou vyneseny počty kolonií bakterií *E. coli*, které jsou v kontaktu se sklíčkem po různě dlouhé časové intervaly. Na kontrolním vzorku pozorujeme nárůst počtu kolonií bakterií v čase. Naopak, v případě aktivního nátěru je patrný jejich výrazný úhyn.

4.2.2 Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 5 % Ag

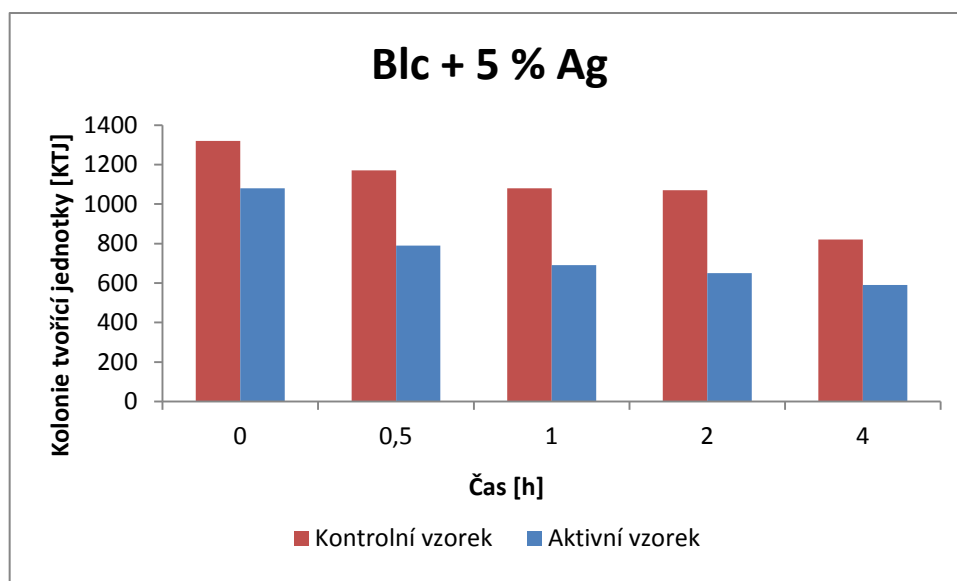
V případě dalšího vzorku již bylo stříbro aditivováno do fotokatalyticky aktivního roztoku Balclean. Na Obrázek 25 je SEM snímek struktury povrchu této vrstvy nanesené na hladkém podložním skle. Vrstva je velmi hladká, větší shluky částic jsou pravděpodobně tvořeny nanočásticemi stříbra, obdobně jako na Obrázek 24. Koncentrace stříbra v tomto vzorku byla 5 %. Ta se ovšem nevztahuje na celý roztok Balcleanu, ale pouze na nanočástice TiO_2 v něm obsažené. Pro namíchání roztoku tedy bylo použito 20 g Balcleanu a 0,1 g nanočástic stříbra. V Tabulka 13 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.



Obrázek 25: Struktura povrchu hladkého laboratorního sklíčka s kompozitní tenkou vrstvou Balcleanu a 5 % nanočástic stříbra

Tabulka 13: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Balcleanu s 5 % Ag

Počet bakterií při koncentraci buněk 10^5		
Čas	Kontrolní vzorek	Aktivní vzorek
0	1320	1080
0,5	1170	790
1	1080	690
2	1070	650
4	820	590



Graf 2: Test antibakteriální aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 5 % Ag s koncentrací buněk 10^5

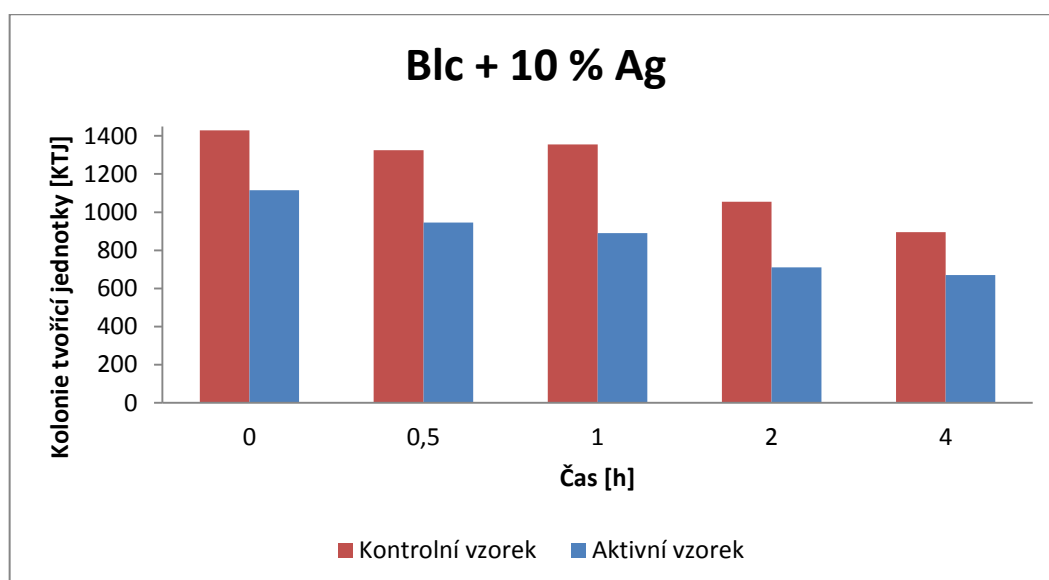
V Graf 2 jsou zaneseny výsledky z testu antibakteriální aktivity pro tenkou vrstvu Balcleanu s příměsí 5 % nanočástic stříbra. Také v tomto případě byl roztok nanášen na hladké podložní laboratorní sklíčko metodou dip-coating. Kontrolní vzorek je zanesen červenou barvou a značí sklíčko bez nanesené vrstvy. Aktivní vzorek značen modrou barvou je pokryt tenkou vrstvou Blc + Ag. Na grafu je vidět úhyn bakterií, které jsou v kontaktu se sklíčkem po různě dlouhé intervaly. Na kontrolním vzorku pozorujeme pozvolný úhyn bakterií E. coli v čase. V případě aktivního nátěru již od začátku pozorujeme menší počet bakterií, které s postupujícím časem hynou.

4.2.3 Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 10% Ag

Při tomto vzorku bylo stříbro v množství 10 % aditivováno do fotokatalyticky aktivního roztoku Balcleanu. Ta jsou opět vztažena na nanočástice TiO_2 obsažené v Balcleanu. Pro namíchání roztoku bylo tedy použito 20 g balcleanu a 0,2 g nanočástic stříbra. V Tabulka 14 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.

Tabulka 14: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Balcleanu s 10 % Ag

Počet bakterií při koncentraci buněk 10^5		
Čas	Kontrolní vzorek	Aktivní vzorek
0	1430	1115
0,5	1325	945
1	1355	890
2	1055	710
4	895	670



Graf 3: Test antibakteriální aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 10% Ag s koncentrací buněk 10^5

V Graf 3 jsou zaneseny výsledky z testu antibakteriální aktivity pro tenkou vrstvu Balcleanu s příměsí 10 % nanočástic stříbra. Jako podklad pro tenkou vrstvu roztoku sloužilo hladké podložní laboratorní sklíčko. Kontrolní vzorek je zanesen červenou barvou a značí sklíčko bez nanosené vrstvy. Aktivní vzorek značen modrou barvou je pokryt tenkou vrstvou Ag. Sklíčko s bakterií *E. coli* bylo vystaveno účinkům vrstvy po rozdílné intervaly. Na kontrolním vzorku pozorujeme velmi pozvolný úhyn bakterií. Až od intervalu 1 hodina začínají počty klesat strměji. V případě aktivního nátěru již od začátku pozorujeme minimálně o 300 KTJ menší počet než v případě kontroly. V obou případech spojení Balcleanu se stříbrem je patrné menší množství KTJ od začátku měření.

4.3 Test fotokatalytické aktivity s UV ozářením

V druhé části experimentu se vzorky vystavovaly UV záření. Po nanesení bakterie *E. coli* se polovina vzorků umístila pod zdroj UV světla a byly ozařovány po dobu 4 hodin. Druhá polovina vzorků byla umístěna ve tmě. Jako zdroj UV záření byla využita zářivka TL-D 18W/108 (08) BLB Philips, která je vyrobena z tmavě modrého skla. Emituje UV-A záření, ale pouze minimum viditelného světla. Po vyzvednutí byly vzorky zpracovány opět diluční metodou. Koncentrace bakterie *E. coli* byla stejná jako u předchozího měření. Hodnoty v tabulkách jsou výsledky zprůměrovaných hodnot ze tří měření. V Tabulka 15 jsou shrnuty zkratky vzorků používaných ve výsledných grafech.

Tabulka 15: Značení vzorků ve výsledných grafech

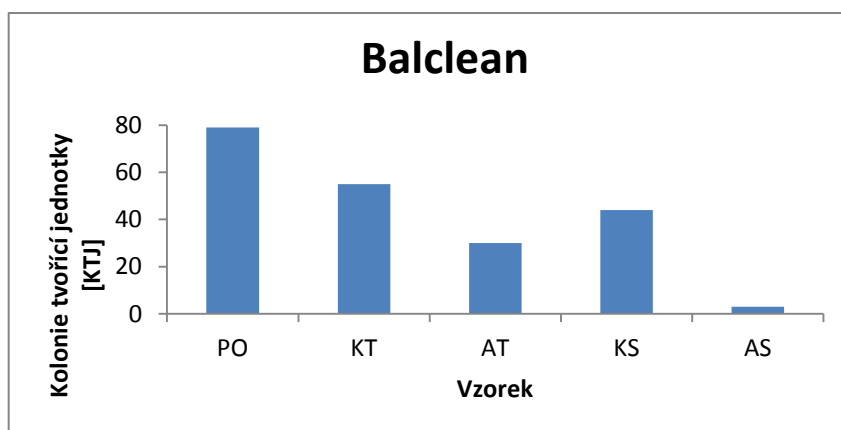
PO	Přímý oplach
KT	Referenční vzorek bez vrstvy ve tmě
AT	Aktivní vzorek s vrstvou ve tmě
KS	Referenční vzorek bez vrstvy pod UV
AS	Aktivní vzorek s vrstvou pod UV

4.3.1 Tenká vrstva Balcleanu

Prvním testovaným vzorkem pod UV osvětlením byla tenká vrstva samotného Balcleanu bez aditiv. Jeden vzorek hladkého podložního sklíčka o velikosti 25x25 mm byl vystaven intenzitě $0,187 \text{ mW/cm}^2$ ultrafialového záření. Druhý byl umístěn do tmavého prostředí. V Tabulka 16 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.

Tabulka 16: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Balcleanu

Počet bakterií při koncentraci buněk 10^5				
PO	KT	AT	KS	AS
79	55	30	44	3



Graf 4: Test fotokatalytické aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu s koncentrací buněk 10⁵

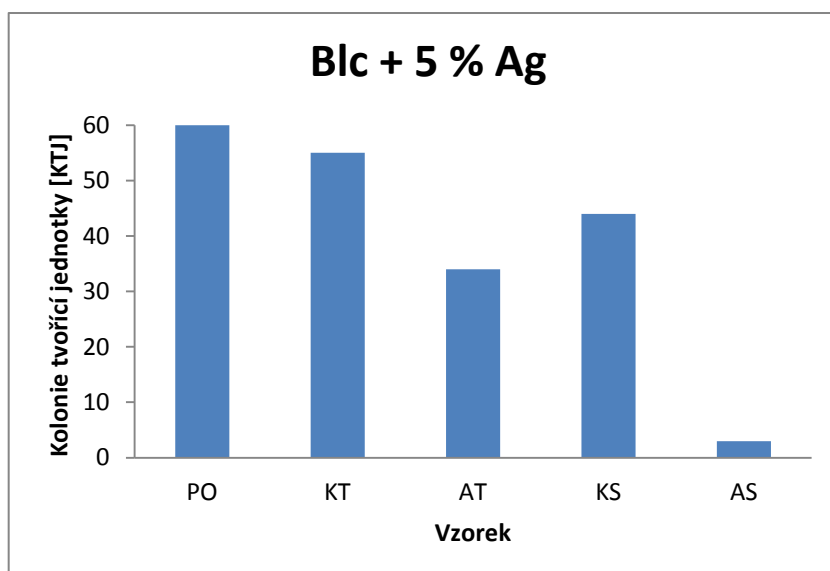
V Graf 4 vidíme výsledky vzorků ve tmě a pod světlem. Zkratka PO znamená přímý oplach. KT je kontrolní vzorek ve tmě a AT je vzorek s aktivní vrstvou ve tmě. Zkratky KS a AS pak znamenají totéž, ale byly umístěny pod zdroj UV světla. Právě na vzorku AS jsme zaznamenali největší úhyn bakterií, a to díky fotokatalytickým vlastnostem Balcleanu. Účinnost aktivního vzorku je viditelná i v případě sklíčka ve tmě. Na vzorku KS je také menší počet bakterií *E. coli*, protože samotné UV světlo má germicidní účinky.

4.3.2 Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 5 % Ag

Pro další test bylo použito roztoku Balcleanu s příměsí 5 % Ag vztaženého na nanočástice TiO₂. Vzorek byl vystaven ultrafialovému záření o intenzitě 0,152 mW/cm². Druhý byl umístěn do tmavého prostředí. V Tabulka 17 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.

Tabulka 17: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu a 5% Ag

Počet bakterií při koncentraci buněk 10 ⁵				
PO	KT	AT	KS	AS
60	55	34	44	3



Graf 5: Test fotokatalytické aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 5 % Ag s koncentrací buněk 10⁵

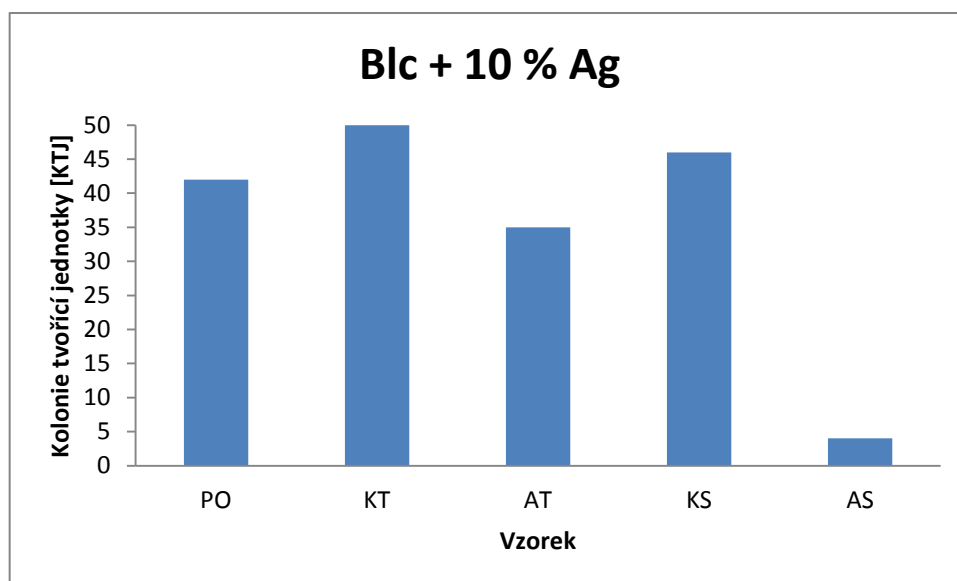
V Graf 5 zkratka PO znamená přímý oplach. KT je kontrolní vzorek ve tmě a AT je vzorek s aktivní vrstvou ve tmě. Zkratky KS a AS pak znamenají totéž, ale byly umístěny pod zdroj UV světla. Na vzorku AS je patrný velký úhyn bakterií *E. coli*. Ve tmě je úspěšnost menší, ale v porovnání se vzorkem bez vrstvy (jak na světle, tak ve tmě) je účinnější.

4.3.3 Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 10 % Ag

Posledním vzorkem, který byl deponován na hladké podložní sklíčko, je roztok Balcleanu a 10 % stříbra. Při pokusu byl vystaven jeden vzorek UV záření o intenzitě 0,204 mW/cm² a druhý uložen do tmavého prostředí. V Tabulka 18 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.

Tabulka 18: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu a 10% Ag

Počet bakterií při koncentraci buněk 10 ⁵				
PO	KT	AT	KS	AS
42	50	35	46	4



Graf 6: Test fotokatalytické aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 10% Ag s koncentrací buněk 10⁵

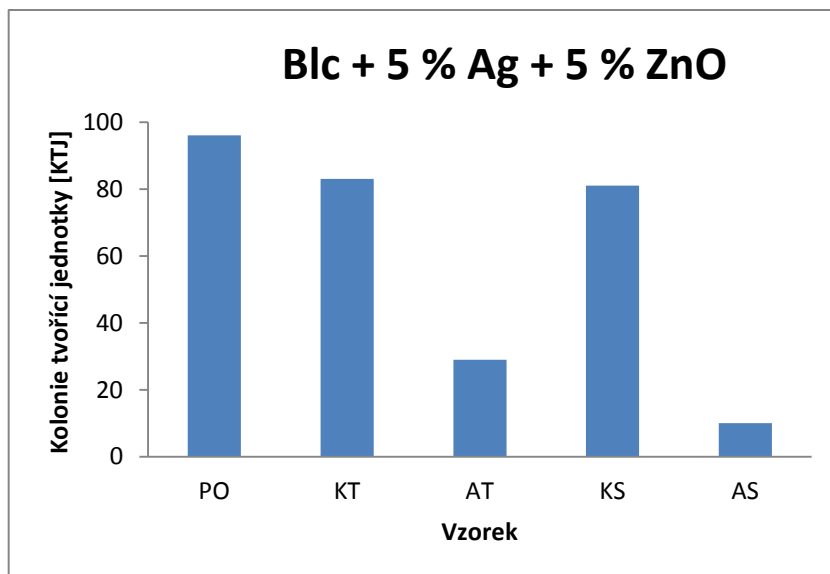
V Graf 6 jsou podobné hodnoty jako v případě Balcleanu a aditivace 5 % stříbra. Vzorky AS zaznamenaly velký úhyn bakterií *E. coli* v porovnání se vzorky KS bez nátěru. Vzorky AT v porovnání se vzorky KT také obsahovaly méně přeživších kolonií.

4.3.4 Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 5 % Ag a 5 % ZnO

V případě tohoto experimentu byl oxid zinku použitý ve formě nanočásticového prášku. Při nanášení vrstev metodou dip-coating byl výsledný povrch nehomogenní. Vrstva tvořila na hladkém laboratorním sklíčku mapy. Proto byl jako způsob nanášení zvolen prostý nátěr štětcem. A jako podklad bylo použito matného broušeného sklíčka. Pro namíchání roztoku bylo využito 20 g Balcleanu spolu s 0,1 g nanočástic Ag a 0,098 g oxidu zinku. Jeden vzorek byl vystaven UV záření o intenzitě 0,143 mW/cm² a druhý byl ponechán ve tmě. V Tabulka 19 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.

Tabulka 19: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu, 5 % Ag a 5 % ZnO

Počet bakterií při koncentraci buněk 10 ⁵				
PO	KT	AT	KS	AS
96	83	29	81	10



Graf 7: Test fotokatalytické aktivity na broušeném skle s vrstvou Balcleanu a 5 % Ag a 5 % ZnO s koncentrací buněk 10^5

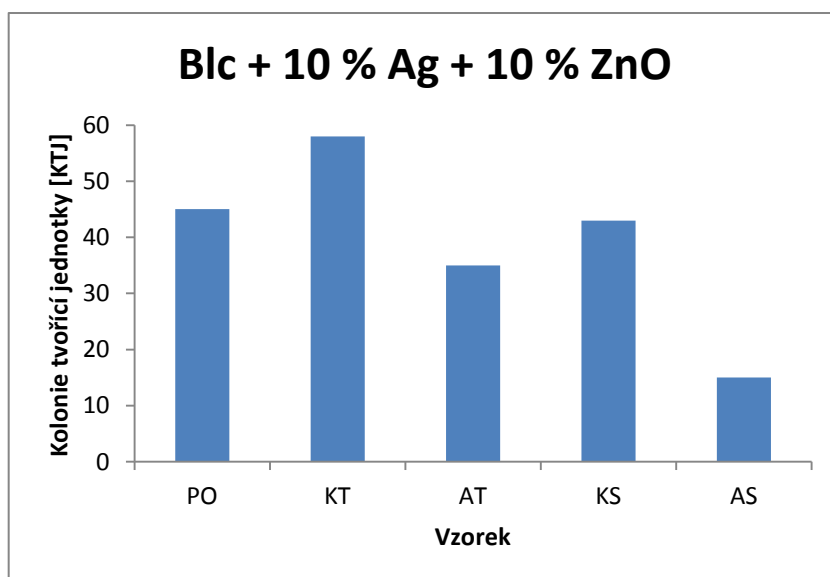
V Graf 7 můžeme vidět, že přidavkem ZnO do roztoku se mírně zmenšila fotokatalytická účinnost deponovaného materiálu. Ve vzorku AS počty kolonií bakterií oproti nátěru pouze s aditivací stříbra stouply. Oxid zinku také zapůsobil i v případě AT, kdy je pokles E. coli menší, v porovnání s roztokem Balcleanu a stříbra.

4.3.5 Tenká vrstva Balcleanu s příměsí 10 % Ag a 10 % ZnO

Druhý vzorek, kde bylo použité matné broušené sklíčko, je směs 20 g Balcleanu spolu s 0,2 g nanočástic Ag a 0,196 g oxidu zinku. Jeden vzorek byl vystaven UV záření o intenzitě $0,144 \text{ mW/cm}^2$ a druhý byl ponechán ve tmě. V Tabulka 20 jsou zaneseny počty kolonií tvořících jednotky.

Tabulka 20: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu, 10 % Ag a 10 % ZnO

Počet bakterií při koncentraci buněk 10^5				
PO	KT	AT	KS	AS
45	58	35	43	15

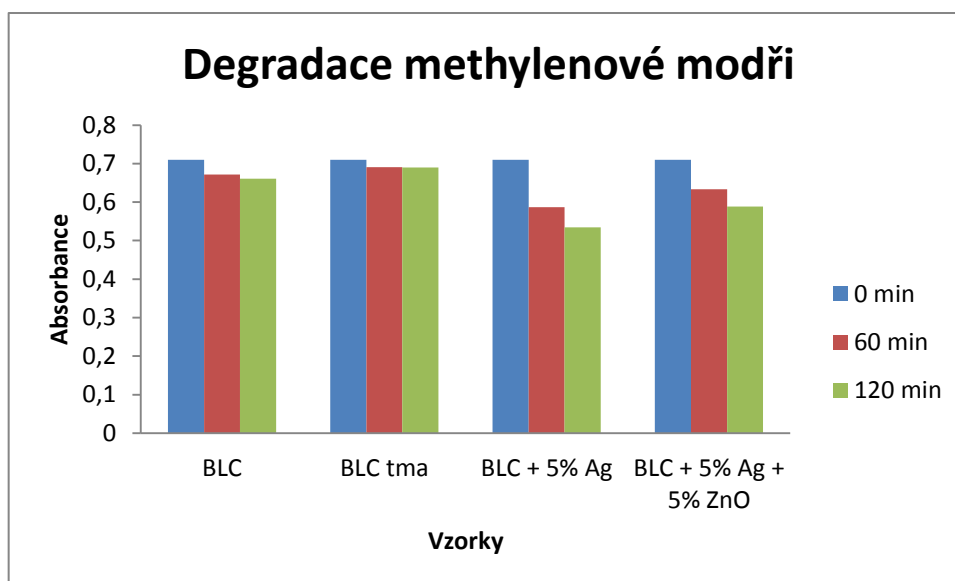


Graf 8: Test fotokatalytické aktivity na broušeném skle s vrstvou Balcleanu a 10 % Ag a 10 % ZnO s koncentrací buněk 10^5

V Graf 8 se deponovaná vrstva s aditivací 10 % ZnO do roztoku projevila jako méně účinná než s přidavkem 5 % ZnO. Fotokatalytická aktivita materiálu se projevila méně než při pouhé aditivaci 10 % stříbrem. Ve vzorku AS se počet přeživších bakterií navýšil, jak v porovnání s roztokem 10 % stříbra, tak v porovnání s předešlým vzorkem 5 % Ag + 5 % ZnO + Balclean.

4.4 Degradace methylenové modři

Výsledky degradace methylenové modři jsou zaneseny v Graf 9. Hodnoty absorbance jsou vyneseny do grafu v čase 0, po jedné hodině a po dvou hodinách. Prvním vzorkem byl čistý Balclean, druhý byl samotný Balclean ponechaný ve tmě, bez přístupu UV záření. Třetí vzorek je roztok Balcleanu a 5 % stříbra. Posledním roztokem je Balclean s 5 % stříbra a 5 % oxidu zinku. Z grafu je patrné, že nejlepších výsledků dosáhl roztok Balcleanu +5 % Ag, kde došlo k největšímu poklesu absorbance, která je úměrná koncentraci methylenové modři v roztoku. Naopak u samotného Balcleanu ponechaného ve tmě nebyla zaznamenána téměř žádná změna.



Graf 9: Degradace methylenové modři

5 Diskuze

Tato diplomová práce se zabývá možností navýšení antibakteriální účinnosti fotokatalyticky aktivní vrstvy Balclean, která byla vyvinuta na TUL.

Nejprve byl hodnocen vliv rychlosti vytahování sklíčka z roztoku při depoziční metodě dip-coating. Po vizuálním zhodnocení vzorků lišících se rychlostí vytahování byla jakožto nejvhodnější zvolena rychlost 1 mm/s, kdy byla homogenita nanesené vrstvy nejvyšší.

Jako vhodná možnost modifikace fotokatalytické účinnosti byla zvolena aditivace nanočásticemi stříbra a oxidu zinečnatého. Oxid zinečnatý je znám obdobně jako TiO_2 pro svoji fotokatalytickou účinnost. Jelikož širší zakázaných pásů TiO_2 a ZnO jsou podobné, lze očekávat jen malé rozdíly ve fotokatalytické účinnosti. Oproti TiO_2 je však ZnO levnější.

Při depozici vrstev aditivovaných oxidem zinečnatým metodou dip-coating nebylo možné získat homogenní vrstvu, jelikož ZnO jevil značnou tendenci sedimentovat u dna a v nanesených vrstvách byly viditelné mapy. Z tohoto důvodu byla z hodnocení vyřazena vrstva BLC + ZnO a zkušebně byly připraveny vrstvy BLC + 5 (10) % Ag + 5 (10) % ZnO , které však byly nanесeny nátěrem na matné broušené sklo. Lze předpokládat, že metoda depozice nátěrem je z technologického hlediska nejpravděpodobnější při reálné aplikaci.

U nanočástic stříbra aditivovaných do Balcleanu lze předpokládat uplatnění dvojího jevu. Stříbro je známé pro svoji antibakteriální účinnost (toxicita pro buňku), druhým jevem je, že nanočástice stříbra fungují jakožto akceptory uvolněných elektronů z TiO_2 , čímž prodlužují rekombinační čas a tím i účinnost fotokatalytické vrstvy [15].

Pro stanovení vlivu na antibakteriální, respektive fotokatalytickou účinnost byly využity: diluční metoda, metoda dle ISO normy 27447: 2009 a degradace methylenové modři. Pro antibakteriální testy byla jakožto modelový organismus zvolena bakterie E. Coli.

Testování antibakteriální účinnosti vzorků ve tmě jednoznačně prokázalo pozitivní účinky stříbra, jak je patrné z grafu 1-3. Jelikož zde vzorky nebyly vystaveny UV záření, lze tyto výsledky přisoudit cytotoxicitě stříbra. Navýšení přídavku Ag do Balcleanu z 5 na 10 % však již nemá prokazatelný účinek.

Další testy probíhaly při expozici vzorků UV záření o vlnové délce 320 až 400 nm. Všechny vzorky opatřené fotokatalyticky aktivní vrstvou zde prokázaly výrazně vyšší antibakteriální účinnost v porovnání s referenčním vzorkem bez vrstvy. Nejvyšší nárůst

antibakteriální účinnosti byl pozorován u vrstvy BLC + 5 % Ag, viz Graf 2. Zde se patrně uplatňuje synergický jev, kdy stříbro působí dvojitým účinkem – je pro *E. coli* toxické a současně prodlužuje rekombinační čas, čímž navyšuje fotokatalytickou účinnost oxidu titaničitého. Vyšší přídavek stříbra (10 %) nevedl k dalšímu poklesu množství kolonií *E. coli*. Porovnáme-li výsledky vzorku s přídavkem ZnO, zdá se, že antibakteriální účinnost v důsledku přídavku ZnO poklesla. Zde je nutné brát v úvahu, že kvůli výše zmíněným důvodům (sedimentace ZnO) byly vrstvy obsahující ZnO deponovány jinou metodou, protože nelze výsledky přímo porovnat. Pro relevantní posouzení vlivu přídavku ZnO je nutné doplnit následující experimenty o vrstvy BLC a BLC + ZnO deponované nátěrem na matné sklo. Zde je však zapotřebí dále uvážit vliv nehomogenity vrstev deponovaných nátěrem zapříčiněný samotnou technologií depozice.

Testy využívající živé organismy jsou velmi náchylné na zkreslení výsledku v důsledku působení řady různých faktorů (teplota, homogenita distribuce a vitalita organismů, morfologie/drsnost povrchu vrstvy...), proto by pro získání relevantních výsledků vyžadovaly vysoké počty opakování, což je časově a technologicky velmi náročné. Z tohoto důvodu byla pro potvrzení získaných výsledků zvolena metoda zaznamenávání degradace methylenové modři, jež poskytuje kvantitativní a opakovatelné výsledky. Metoda degradace methylenové modři potvrdila benefit aditivace nanočástic stříbra do Balcleanu spočívající ve zvýšení fotokatalytické účinnosti (viz Graf 9).

Na základě výsledků antibakteriálních i fotokatalytických testů lze říci, že pomocí přídavku malého množství nanočástic Ag bylo docíleno navýšení antibakteriální i fotokatalytické účinnosti studované vrstvy. Bylo by jistě vhodné obdobně otestovat přídavky např. nanočástic CuO, Pt či Au.

Přídavek oxidu zinečnatého se neukázal jako efektivní. Sedimentace nanočástic ZnO v roztoku negativně ovlivňovala homogenitu nanášených vrstev. Z důvodu nutnosti využití jiné metody depozice vrstvy (nátěr oproti dip-coatingu) je nutné poznamenat, že výsledky testů mohou být zkreslené, protože je nelze přímo porovnat. Pro validní posouzení je nutné doplnit vzorky BLC a BLC + ZnO deponované nátěrem.

Řešení této práce přineslo řadu výsledků, které poskytují spoustu podnětů pro další výzkum. Zajisté by bylo přínosné se zabývat vlivem povrchové morfologie/drsnosti vrstev; vlivem velikosti nanočástic aditiv; studovat synergické účinky jednotlivých složek v kompozitních systémech; přiblížit se reálnému prostředí, kde mají být tyto vrstvy

aplikovány (denní světlo, expozice povětrnostním podmínkám aj.). Zajímavé by také bylo realizovat antibakteriální experimenty na dalších modelových organismech (*S. aureus*, zelené řasy...).

6 Závěr

Na hladká podložní laboratorní sklíčka a na matná sklíčka byly deponovány fotokatalytické kompozitní vrstvy na bázi $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ (Balclean). Byl ověřován vliv aditivace nanočásticemi stříbra a oxidu zinečnatého na antibakteriální a fotokatalytickou účinnost těchto vrstev pomocí antibakteriálních testů a rozkladu methylenové modři pod UV zářením.

Vrstvy Balcleanu, suspenze stříbra a Balcleanu s přídavkem stříbra (tedy vzorky neobsahující ZnO) v koncentraci 5 a 10 % byly nanášeny na hladká sklíčka pomocí metody dip-coating. Optimální rychlost nanášení byla 1 mm/s kdy byla homogenita nanesených vrstev nejvyšší.

U roztoků Balcleanu + 5 a 10 % stříbra + 5 a 10 % oxidu zinku bylo použito matné sklíčko a metoda depozice nátěrem. Metoda nanášení dip-coating se ukázala jako nevhodná z důvodu nehomogenity takto deponované vrstvy (tvorba „map“) způsobené sedimentací částic ZnO .

Přítomnost aditiv (Ag a ZnO) v deponovaných vrstvách byla potvrzena EDS analýzou (Obrázek 23).

Z výsledků jednoznačně vyplývá pozitivní účinek přídavku malého množství stříbra. Testy prokázaly vyšší fotokatalytickou účinnost a díky cytotoxicitě stříbra byl pozorován baktericidní vliv i u vzorečků testovaných ve tmě.

Oxid zinečnatý se jakožto aditivum do vrstvy Balclean neosvědčil. Negativně ovlivňoval homogenitu deponovaných vrstev a použitá metodika neprokázala jiný benefit aditivace oxidem zinečnatým v podobě navýšení antibakteriální či fotokatalytické účinnosti.

Seznam použité literatury

1. **FUJISHIMA, Akira, HASHIMOTO, Kazuhito a WATANABE, Toshiya.** *TiO₂ Fotokatalýza, základy a aplikace.* Praha : Silikátový svaz, 2002. ISBN 80-903113-3-4.
2. **ZBOŘILOVÁ, Zdeňka.** *Fotokatalytická aktivita hybridních vrstev oxidu titaničitého a křemičitého.* Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2013. Diplomová práce.
3. **PAZDZIORA, Erich.** Využití fotokatalytických vlastností TiO₂. *Zdravotnictví a medicína.* [Online] 9. 9 2011. [Citace: 26. 11 2017.] <https://zdravi.euro.cz/clanek/sestra/vyuziti-fotokatalytickych-vlastnosti-tio2-461375>.
4. **VISHWAS, M., a další, a další.** Optical, electrical and dielectric properties of TiO₂–SiO₂ films prepared by a cost effective sol–gel process. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 2011, 83, stránky 614-617.
5. **SEJKORA, Jiří a KOUŘIMSKÝ, Jiří.** *Atlas minerálů České a Slovenské republiky.* Praha : Academia, 2005. ISBN 80-200-1317-2.
6. **VELEBIL, Dalibor.** *Minerály pod nohama, v průmyslu a ve sbírkách.* Praha : Academia, 2012. ISBN 978-80-200-2093-2.
7. **HÁJKOVÁ, Pavlína, KOLOUCH, Aleš a ŠPATENKA, Petr.** Tenké vrstvy oxidů titanu. *Povrchová Úprava.* 3-4, 2006, Sv. III, 6.
8. **TOBALDI, David Maria, a další, a další.** Effects of SiO₂ addition on TiO₂ crystal structure and photocatalytic activity. *Journal of the European Ceramic Society.* 2010, 30, stránky 2481-2490.
9. **LEE, Kian Mun, a další, a další.** Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review. *Water Research.* 1, 2016, 88, stránky 428-448.
10. **BENHEBAL, Hadj , a další, a další.** Photocatalytic degradation of phenol and benzoic acid using zinc oxide powders prepared by the sol–gel process. *Alexandria Engineering Journal.* 3, 2013, 52, stránky 517-523.
11. **VÁVRA, Václav, ŠTELCL, Jindřich a LOSOS, Zdeněk.** Atlas minerálů (výuková pomůcka). [Online] Ústav geologických věd, PřF, Masarykova univerzita, 28. 1 2013. [Citace: 26. 11 2017.] <http://mineraly.sci.muni.cz/oxidy/zinkit.html>.

12. **ČECHOVÁ, Petra.** *Antimikrobní aditiva a jejich použití v povrchových nátěrových hmotách.* Hradec Králové : Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2011. Rigorózní práce.
13. **SYNNOTT, Damian W., a další, a další.** Anti-Bacterial Activity of Indoor Light Activated Photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental.* 2013, 130-131, stránky 106-111.
14. **HARSHA, Sree K. S.** *Principles of Vapor Deposition of Thin Films.* Londýn : Elsevier Science, 2005. ISBN: 978-0-08-044699-8.
15. **HÁJKOVÁ, Pavlína, a další, a další.** The Influence of Surface Treatment on Photocatalytic Activity of PE CVD TiO₂ Thin Films. *Plasma Processes and Polymers.* 2009, 6, stránky 735-740.
16. **MACÁK, Jan, a další, a další.** Korozní vlastnosti fyzikálně nanášených tenkých vrstev. *Chemické listy.* 2007, Sv. 9, 101, stránky 713-721.
17. **SEKEROVÁ, Kateřina.** *Příprava a vlastnosti hybridních vrstev oxidu titaničitého a křemičitého.* Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2013. Diplomová práce.
18. **ABDULLAH, Mohd Zakuan Bin, a další, a další.** Metal Release of Multilayer Coatings by Physical Vapour Deposition (PVD). *Procedia Engineering.* 2016, 148, stránky 254-260.
19. **KAJITVICHYANUKUL, Puangrat a AMORNCHAT, Parichart.** Effects of diethylene glycol on TiO₂ thin film properties prepared by sol–gel process. *Science and Technology of Advanced Material.* 2005, Sv. 3-4, 6, stránky 344-347.
20. **KAJITVICHYANUKUL, Puangrat, ANANPATTARACHAI, Jirapat a PONGPOM, Siriwan.** Sol–gel preparation and properties study of TiO₂ thin film for photocatalytic reduction of chromium(VI) in photocatalysis process. *Science and Technology of Advanced Materials.* 2005, Sv. 3-4, 6, stránky 352-358.
21. **RAHMANI, E., AHMADPOUR, A. a ZEBARJAD, M.** Enhancing the photocatalytic activity of TiO₂ nanocrystalline thin film by doping with SiO₂. *Chemical Engineering Journal.* 2011, 174, stránky 709-713.
22. **VEBER, Asja, a další, a další.** The effects of solvents on the formation of sol-gel-derived Bi₁₂SiO₂₀ thin films. *Journal of the European Ceramic Society.* 2010, 30, stránky 2475-2480.

23. **MOHAMMADI, M. R., a další, a další.** Preparation of high surface area titania (TiO₂) films and powders using particulate sol–gel route aided by polymeric fugitive agents. *Sensors and Actuators B*. 2006, 120, stránky 86-95.
24. **SU, C., HONG, B. - Y. a TSENG, C. - M.** Sol–gel preparation and photocatalysis of titanium dioxide. *Catalysis Today*. 2004, 96, stránky 119-126.
25. **VRCHOVECKÁ, P.** *Vliv stříbra na zvýšení účinnosti fotokatalytické inaktivace kvasinek*. Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2009. Diplomová práce.
26. **GÜNZEL, Martin.** *Metody depozice tenkých vrstev pomocí nízkoteplotního plazmatu*. České Budějovice : Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2013. Diplomová práce.
27. **OKUMU, J., a další, a další.** Photochromic silver nanoparticles fabricated by sputter deposition. *Journal of applied physics*. 9, 2005, 97.
28. **SCHLESINGER, Mordechai a PAUNOVIC, Milan.** *Electroless and Electrodeposition of Silver, in Modern Electroplating, Fifth Edition* . Hoboken : John Wiley & Sons, 2010. ISBN 9780470602638.
29. SpinCoater. Q: *What is spin coating?* [Online] Laurell Technologies Corporation. [Citace: 26. 11 2017.] <http://www.spincoater.com/what-is-spin-coating.php>.
30. **GROSSO, David.** How to exploit the full potential of the dip-coating process to better control film formation. *Journals of Materials Chemistry*. 2011, 21, stránky 17033-17038.
31. Toa Optical Technologies - Optical Components and Units. *Moisture-proof coating on deliquescent crystal material*. [Online] [Citace: 26. 11 2017.] <http://www.toa-optical.com/news/news130712.html>.
32. **NOVOTNÁ, Michaela.** *Fotokatalytická aktivita tištěných vrstev*. Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2009. Diplomová práce.
33. **YAHYA, Doaa.** Vlastnosti vakuově napařovaných kovových vrstev. *ELEKTRO*. 5 2013, Sv. 5, 23.
34. **SCHMIDT, H. a MENNING, M.** Wet Coating Technologies for Glass. *The sol-gel gateway*. [Online] 11 2000. [Citace: 26. 11 2017.] <http://www.solgel.com/articles/Nov00/coating.htm>.

35. Mikroskopie skenující sondou. *Atmilab - Laboratoř mikroskopie atomárních sil*. [Online] Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů Univerzity Palackého v Olomouci. [Citace: 26. 11 2017.] <http://atmilab.upol.cz/spm.html>.
36. Nanometrologie. [Online] Český metrologický institut, 2012. [Citace: 26. 11 2017.] http://www.nanometrologie.cz/cz/techs_afm.php.
37. **MAŇKA, Tadeáš.** *Srovnání zobrazovacích možností transmisního a rastrovacího elektronového mikroskopu*. Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2014. Bakalářská práce.
38. **GOODHEW, Peter J., HUMPHREYS, John a BEANLAN , Richard.** *Electron Microscopy and Analysis*. London : Taylor & Francis, 2001. ISBN 0 7484 0968 8.
39. **JÄGER, A. a GÄRTNEROVÁ, V.** Elektronovým mikroskopem do nitra materiálů aneb jak vypadá jejich struktura. *Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i.* [Online] [Citace: 26. 11 2017.] <https://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>.
40. *Antibakteriální a antivirové účinky TiO₂ vrstev*. **HÁJKOVÁ, P., a další, a další.** [editor] J. KRÝSA. Praha : VŠCHT, 2007. NANOMATERIÁLY A FOTOKATALÝZA. ISBN 978-80-7080-005-8.
41. **BEDNÁŘ, Marek.** *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha : Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
42. **SCHINDLER, Jiří.** *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů, doplněné a přepracované vydání*. Praha : Grada, 2014. ISBN 978-20-247-4771-2.
43. **MUNDASAD, Smitha.** BBC News. *E. coli: Are the bacteria friend or foe?* [Online] BBC, 4. 6 2011. [Citace: 26. 11 2017.] <http://www.bbc.com/news/health-13639241>.
44. ISO 27447: 2009. *Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics): Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials*. Švýcarsko : BSI, 2009.
45. **MILLS, Andrew, HILL, Claire a ROBERTSON, Peter K. J.** Overview of the current ISO tests for photocatalytic materials. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2012, 237, stránky 7-23.

46. **UHROVÁ, Ivana.** *Monitoring fotokatalytické aktivity redoxními barviv.* Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2013. Bakalářská práce.
47. **JANOTA, Pavel, DVOŘÁČKOVÁ, Marie a KUŘITKA, Ivo.** Metoda pro testování fotokatalytické aktivity materiálů. *Chemické listy*. 2014, 108.
48. **BELLARDITA, M., a další, a další.** Photocatalytic activity of TiO₂/SiO₂ systems. *Journal of Hazardous Materials*. 2010, 174, stránky 707-713.
49. **CAIS, Jaromír.** Elektronová mikroskopie, metalografie. *Metodická příručka*. [Online] Centrum pro studium vysokého školství, v.v.i. , 6 2015. [Citace: 26. 11 2017.] http://www.csvs.cz/projekty/2014_veda_pro_zivot/data/11_KA3_Jaromir_Cais_2_Elektronov_a_%20mikroskopie_a_%20EDS_%20analyza_metodicka_prirucka.pdf. ISBN 978-80-86302-67-6.
50. Stříbro a zdraví – jaký má vliv a zdravotní účinky? *Rehabilitace.info*. [Online] 8. 8 2016. [Citace: 26. 11 2017.] <http://www.rehabilitace.info/zajimavosti/stribro-a-zdravi-jaky-ma-vliv-a-zdravotni-ucinky/>.
51. **ČERNÝ, Michal.** Stříbro proti virům. *RESPEKT*. [Online] 13. 1 2013. [Citace: 26. 11 2017.] <https://www.respekt.cz/tydenik/2013/3/stribro-proti-virum>.

Seznam obrázků

Obrázek 1: Fotolytický rozklad vody za použití TiO_2 elektrody (1)	17
Obrázek 2: Reakční mechanismus TiO_2 fotokatalýzy (1)	19
Obrázek 3: Princip spin-coateru (29)	26
Obrázek 4: Princip dip-coatingu (31)	26
Obrázek 5: Princip mikroskopie atomárních sil (35)	28
Obrázek 6: Působení sil při AFM (35)	29
Obrázek 7: Princip SEM (39)	30
Obrázek 8: Escherichia coli (43)	32
Obrázek 9: Využitá média při experimentu. V levé části je nádoba s práškem T.B.X. agaru, v pravé části nádoba s chloridem sodným.	37
Obrázek 10: Sterilizační zařízení Microjet enbio	38
Obrázek 11: Postup ředění	40
Obrázek 12: Petriho miska po 48 hodinách v inkubační komoře. Jedná se o kontrolní vzorek bez fotokatalytické vrstvy, který byl vyzvednut po 4 hodinách. Na obrázku je Petriho miska se třetím ředěním.	41
Obrázek 13: Dip-coater	42
Obrázek 14: SaveFast Classic 212	43
Obrázek 15: KERN EWB 620-2M	44
Obrázek 16: Goro Mid 10	45
Obrázek 17: Třepačka zkumavek Vortex Genius 3	47
Obrázek 18: Incucell	48
Obrázek 19: Horkovzdušný sterilizátor	49
Obrázek 20: UV/Vis spektrofotometr	51
Obrázek 21: Kádinky se vzorky sklíček ponořené ve vodném roztoku s methylenovou modří	52
Obrázek 22: Porovnání EDS analýzy čistého sklíčka a sklíčka s vrstvou Balcleanu	53
Obrázek 23: EDS spektrum vzorku matného broušeného skla s nátěrem $\text{B}+\text{ZnO}+\text{Ag}$	54
Obrázek 24: Povrch hladkého laboratorního sklíčka s nanočásticemi stříbra	55
Obrázek 25: Struktura povrchu hladkého laboratorního sklíčka s kompozitní tenkou vrstvou Balcleanu a 5 % nanočástic stříbra	57

Seznam tabulek

Tabulka 1: Deponované vrstvy	36
Tabulka 2: Technické parametry přístroje Dip-coater	41
Tabulka 3: Technické parametry přístroje SaveFAST	43
Tabulka 4: Technické parametry přístroje Kern Ewb	44
Tabulka 5: Technické parametry Goro Mid 10	45
Tabulka 6: Technické parametry autoklávu Microjet Enbio	46
Tabulka 7: Technické parametry třepačky Vortex Genius 3	46
Tabulka 8: Technické parametry přístroje Incucell	48
Tabulka 9: Technické parametry horkovzdušného sterilizátoru	49
Tabulka 10: Technické parametry zářivky	50
Tabulka 11: Technické parametry PerkinElmer Lambda	50
Tabulka 12: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Ag	55
Tabulka 13: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Balcleanu s 5 % Ag	57
Tabulka 14: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Balcleanu s 10% Ag	59
Tabulka 15: Značení vzorků ve výsledných grafech	60
Tabulka 16: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro tenkou vrstvu Balcleanu	60
Tabulka 17: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu a 5% Ag ..	61
Tabulka 18: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu a 10% Ag ..	62
Tabulka 19: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu, 5 % Ag a 5 % ZnO	63
Tabulka 20: Hodnoty kolonií tvořících jednotky KTJ pro vrstvu Balcleanu, 10 % Ag a 10 % ZnO	64

Seznam grafů

Graf 1: Test antibakteriální aktivity na hladkém skle s tenkou vrstvou Ag s koncentrací buněk 10^5	56
Graf 2: Test antibakteriální aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 5 % Ag s koncentrací buněk 10^5	58
Graf 3: Test antibakteriální aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 10% Ag s koncentrací buněk 10^5	59
Graf 4: Test fotokatalytické aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu s koncentrací buněk 10^5	61
Graf 5: Test fotokatalytické aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 5 % Ag s koncentrací buněk 10^5	62
Graf 6: Test fotokatalytické aktivity na hladkém skle s vrstvou Balcleanu a 10% Ag s koncentrací buněk 10^5	63
Graf 7: Test fotokatalytické aktivity na broušeném skle s vrstvou Balcleanu a 5 % Ag a 5 % ZnO s koncentrací buněk 10^5	64
Graf 8: Test fotokatalytické aktivity na broušeném skle s vrstvou Balcleanu a 10 % Ag a 10 % ZnO s koncentrací buněk 10^5	65
Graf 9: Degradace methylenové modři.....	66