



# VLIV TEPELNÉHO ZPRACOVÁNÍ KŘEMIČITÝCH NANOVLÁKEN NA SCHOPNOST JEJICH SILANIZACE

Bakalářská práce

*Studijní program:*

B3942 - Nanotechnologie

*Studijní obor:*

3942R002 - Nanomateriály

*Autor práce:*

**Anna Kavánová**

*Vedoucí práce:*

doc. Ing. Petr Exnar, CSc.





# EFFECT OF SILICA NANOFIBERS THERMAL TREATMENT ON THEIR SILANIZATION ABILITY

**Bachelor thesis**

*Study programme:* B3942 - Nanotechnology  
*Study branch:* 3942R002 - Nanomaterials  
*Author:* **Anna Kavánová**  
*Supervisor:* doc. Ing. Petr Exnar, CSc.



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Anna Kavánová**  
Osobní číslo: **M14000142**  
Studijní program: **B3942 Nanotechnologie**  
Studijní obor: **Nanomateriály**  
Název tématu: **Vliv tepelného zpracování křemičitých nanovláken na schopnost jejich silanizace**  
Zadávající katedra: **Katedra chemie**

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

1. Provedte literární rešerši o principech a způsobech silanizace anorganických materiálů.
2. Připravte řadu různě tepelně zpracovaných křemičitých nanovláken, proveďte jejich silanizaci vybraným postupem a biochemickými metodami zhodnoťte jejich schopnost imobilizace organických agens.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **40-50 stran**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. Exnar, P. a Lovětinská-Šlamborová, I. In: NART 2015 Nanofibers, Applications and Related Technologies, Conference Proceedings, Liberec, 31.8.-2.9. 2015. Liberec: Technical University of Liberec, 2015, 197-203.
2. Lovětinská-Šlamborová, et al. Journal of Nanomaterials 2016, p. e2485173. Article ID 2485173, Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2485173>.
3. Mugica L.C. et al. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Eng. Aspects 500, 2016, 79-87.
4. Qiao B. et al. Applied Surface Science 351, 2015, 646-654.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Petr Exnar, CSc.**  
Katedra chemie

Datum zadání bakalářské práce: **10. října 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2017**

prof. Ing. Zdeněk Plíva, Ph.D.  
děkan



prof. Ing. Josef Šedlbauer, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 10. října 2016

## Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou 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 bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom 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.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím bakalářské práce a konzultantem. Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 10.5.2017

Podpis: Kavanova'

## Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat všem, kteří mi pomohli s mojí závěrečnou prací a bez kterých by tato práce nemohla vzniknout. Zejména bych chtěla poděkovat panu doc. Ing. Petru Exnarovi CSc. a paní doc. Mgr. Ireně Lovětinské - Šlamborové, Ph.D. za jejich odborné vedení a spolupráci. Dále bych chtěla poděkovat paní Soně Rothové, která mě po celou dobu mé práce doprovázela v laboratoři. Děkuji také *Fakultě zdravotnických studií* za poskytnutí prostorů k uskutečnění experimentů.

V neposlední řadě děkuji mé rodině a příteli, kteří mě vždy morálně podpořili.

## **Abstrakt**

Cílem této bakalářské práce je zjistit, jaký vliv má teplota tepelného zpracování a stárnutí tepelně zpracovaných nanovláken na jejich schopnost silanizace. Pro tento účel byly provedeny testy silanizace tepelně zpracovaných nanovláken při teplotách 180 °C, 260 °C, 550 °C a 800 °C v rozmezí do tří měsíců od tepelného zpracování. Vyhodnocení výsledků proběhlo pomocí metody AATCC Test Method: 147-2004 - Antibacterial Activity Assessment of Textile materials na bakteriích *Staphylococcus aureus* a *Escherichia Coli*. Bylo zjištěno, že největší vliv na výsledky experimentu má doba mezi zvláknováním a jejich silanizací. Vliv teploty stabilizace a doby mezi stabilizací a zvláknováním se ukázal jako zanedbatelný. Výsledkem experimentů je zjištění, že nanovláknina je zapotřebí silanizovat co nejdříve od zvláknování, aby bylo docíleno nejlepší schopnosti silanizace. Přesto, že s přibývajícím časem klesá schopnost silanizace, lze za přínosný výsledek považovat to, že i po třech měsících prokazují křemičitá nanovláknina výborné účinky na bakterie.

## **Klíčová slova**

Nanovláknina, křemičitá nanovláknina, tepelná stabilizace, silanizace, tetracyklin, biologické metody vyhodnocení.

## **Abstract**

The goal of this bachelor thesis is to determine the ways of influencing the silanization possibilities of the silica nanofibers. Several tests with stabilized temperatures of 180 °C, 260 °C, 550 °C and 800 °C were carried out for this purpose. The influence of time gap between nanofibers treatment and fabrication was also tested. Evaluation of the results was done by AATCC Test Method: 147-2004 - Antibacterial Activity Assessment of Textile materials on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia Coli* bacteria. It was discovered that the time between fiber spinning and silanization has the major influence. The influence of stabilization temperature or time between stabilization and fiber spinning was not so important. The results show that the nanofibers ability of silanization is highest if the nanofibers are silanized as soon as possible. One of the positive results is that the silica nanofibers are still effective against bacteria if the silanization is made three months after fiber spinning.

## **Keywords**

Nanofibers, silica nanofibers, thermal stabilization, silanization, tetracycline, biological methods for evaluation.



# OBSAH

SEZNAM ZKRATEK.....	10
SEZNAM GRAFŮ, OBRÁZKŮ A TABULEK.....	12
SEZNAM PŘÍLOH.....	14
1. ÚVOD.....	15
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	16
2.1 Nanotechnologie a nanovlákná.....	16
2.1.1 Křemičitá nanovlákná .....	18
2.1.2 Příprava křemičitých nanovláken.....	18
2.1.3 Vlastnosti křemičitých nanovláken .....	21
2.2 Principy a způsoby silanizace.....	25
2.2.1 Obecné principy a způsoby silanizace .....	26
2.2.2 Principy a způsoby silanizace křemičitých nanovláken.....	30
2.3 Nanovlákná a mikrobiologie .....	32
2.3.1 Biologické aplikace křemičitých nanovláken .....	33
2.3.2 Charakteristika účinku tetracyklinu na bakterie <i>Escherichia Coli</i> a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	36
3.1 Použité chemikálie.....	36
3.2 Výroba křemičitých nanovláken.....	36
3.3 Stabilizace křemičitých nanovláken .....	38
3.4 Postup silanizace křemičitých nanovláken.....	39
3.5 Imobilizace antibiotik.....	39
3.6 Testování vzorků křemičitých nanovláken s navázaným tetracyklinem pomocí metody AATCC Test Method: 147-2004 – Antibacterial Activity Assessment of Textile materials .....	41
3.7 Rozdělení a označení vzorků.....	42

4.	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	44
4.1	Porovnání výsledků z hlediska typu bakterie .....	48
4.2	Porovnání výsledků z hlediska teploty stabilizace .....	49
4.3	Porovnání vzorků řady A, testovaných na bakteriích <i>Escherichia Coli</i> a <i>Staphylococcus aureus</i> z hlediska časového odstupu silanizace a stabilizace .....	53
4.5	Porovnání vzorků jednotlivých skupin řady A a řady B při testování na bakteriích <i>Escherichia Coli</i> a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	56
5.	ZÁVĚR.....	57
	LITERATURA.....	59
	PŘÍLOHY.....	66

## SEZNAM ZKRATEK

180 – teplota stabilizace 180 °C

260 – teplota stabilizace 260 °C

550 – teplota stabilizace 550 °C

800 – teplota stabilizace 800 °C

A0 – stabilizace a silanizace vzorku ihned po zvláknění

A1 – silanizace ihned stabilizovaného vzorku 1 měsíc po tepelném zpracování

A2 - silanizace ihned stabilizovaného vzorku 2 měsíce po tepelném zpracování

A3 – silanizace ihned stabilizovaného vzorku 3 měsíce po tepelném zpracování

AEAPTES - N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltriethoxysilan

AEAPTMS - N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan

AHAMTES - N-(6-aminohexyl)aminomethyltriethoxysilan

APDMES – (3-aminopropyl)-dimethyl-ethoxysilan

APMS - (3-Aminopropyl)trimethoxysilan

APTES – (3 - aminopropyl)triethoxysilan

APTMS - (3 - aminopropyl)-trimethoxysilan

B1 – stabilizace vzorku po 1 měsíci po zvláknování, silanizace ihned po stabilizaci

B2 – stabilizace vzorku po 2 měsících po zvláknování, silanizace ihned po stabilizaci

B3 – stabilizace vzorku po 3 měsících po zvláknování, silanizace ihned po stabilizaci

EC – *Escherichia Coli*

GA - glutaraldehyd

GPS - (3-glycidyoxypropyl)trimethoxysilan

IPA - izopropylalkohol

K – Kavánová

MES - (2- (N-morfolino) ethansulfonová kyselina

MPTMS - (3-mercaptopropyl)trimethoxysilan

MPTS - 3-merkaptopropyltrimethoxysilan

PDMS - polydimethylsiloxan

S – silanizace

SA – *Staphylococcus aureus*

T – tetracyklin

t-BDMS - t-butyldimethylsilyl

TEOS – tetraethoxysilan

TMS – trimethylsilyl

# SEZNAM GRAFŮ, OBRÁZKŮ A TABULEK

Graf 2.1 Úbytek hmotnosti křemičitých nanovláken s rostoucí teplotou.....	23
Graf 3.1 Znázorněné teploty (červeně), které byly použity při tepelné stabilizaci vzorků. ....	38
Graf 4.1 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady A, testovaných na bakterii <i>Escherichia Coli</i> .....	51
Graf 4.2 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady A, testovaných na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	51
Graf 4.3 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady B, testovaných na bakterii <i>Escherichia Coli</i> .....	52
Graf 4.4 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady B, testovaných na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	52
Graf 4.5 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých bakterií v závislosti na časovém odstupu silanizace od stabilizace. ....	54
Graf 4.6 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých bakterií v závislosti na časovém odstupu silanizace a stabilizace od zvlákňování.....	55
Obr. 2.1 Křemičitá nanovlákná. Snímek je pořízen pomocí SEM.....	18
Obr. 2.2 Reakce, probíhající při výrobě vláken metodou sol-gel. ....	19
Obr. 2.3 Schéma elektrostatického zvlákňování. ....	20
Obr. 2.4 OH skupiny a voda na povrchu xerogelu oxidu křemičitého v závislosti na teplotě a) laboratorní podmínky, b) teplota 200 °C, c) teplota 1200 °C . ....	24
Obr. 2.5 Schéma probíhající reakce při silylaci. ....	25
Obr. 2.6 Silanolizace umožňuje zavedení silanolů. ....	25
Obr. 2.7 Možnost reakce APTES s křemičítým povrchem: (a) kovalentně připojená molekula APTES s aminovou skupinou, (b) kovalentně připojená molekulu APTES, jejíž aminová skupina interaguje s povrchovou silanolovou skupinou, (c) - (e) slabě vázané molekuly APTES. ....	27
Obr. 2.8 Vznik polymeru z APTES na povrchu substrátu. a) vertikální připojení molekul APTES na již silanizovaný povrch, b) interakce pomocí nábojů aminoskupiny a kyslíku, c) připojení již vzniklých polymerů na APTES, d) horizontální propojení APTES u povrchu sub substrátu, kde obě molekuly APTES jsou vázány na substrát, e) horizontální propojení APTES, kde jedna z molekul není vázaná na substrát, f) interakce nábojů již připojených molekul. ....	28

Obr. 2.9 Aktivace APTES vodou a průběh silanizace APTES na povrch SiO <sub>2</sub> .....	31
Obr. 2.10 Připojení enzymu na povrch křemičitých nanovláken přes silanizaci pomocí APTMS a pomocné molekuly GA. ....	33
Obr. 3.1 Připravená nanovláknenná vrstva SiO <sub>2</sub> .....	37
Obr. 3.2 Nanovláknenná vrstva SiO <sub>2</sub> detail. ....	37
Obr. 3.3 Připojení tetracyklinu na aminoskupinu APTES na křemičitá nanovláknna. ....	40
Obr. 3.4 Testování křemičitých nanovláken s navázaným tetracyklinem na bakteriích <i>Staphylococcus aureus</i> (vlevo) a <i>Escherichia Coli</i> (vpravo).....	41
Obr. 3.5 Znázornění testování vzorků. Oboustranné šipky znázorňují měřené rozměry. ....	42
Obr. 4.1 Křemičitá nanovláknna s navázaným tetracyklinem, testované na bakterii <i>Escherichia Coli</i> . U tohoto vzorku vláken došlo k rovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken. ....	45
Obr. 4.2 Křemičitá nanovláknna s navázaným tetracyklinem, testované na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> . U tohoto vzorku vláken došlo k rovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken. ....	45
Obr. 4.3 Křemičitá nanovláknna s navázaným tetracyklinem, testované na bakterii <i>Escherichia Coli</i> . U tohoto vzorku vláken došlo k nerovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken. ....	46
Obr. 4.4 Průběh připojování APTES na povrch křemičitých nanovláken. Výměna alkyl skupin vodíkem.....	50
Tab. 2.1 Jednotlivé typy vláken v porovnání testy In vitro a In vitro. ....	22
Tab. 3.2 Data řady A, kde EC znamená bakterie <i>Escherichia Coli</i> a SA bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> . Hodnoty označeny tučným písmem jsou upraveny (přepočítány při zanedbání určitého rozměru, který by mohl zkreslit výsledky). ....	47
Tab. 3.3 Vzorky řady B, kde EC znamená bakterie <i>Escherichia Coli</i> a SA bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> . Hodnoty označeny tučným písmem jsou upraveny (přepočítány při zanedbání určitého rozměru, který by mohl zkreslit výsledky). ....	48

## SEZNAM PŘÍLOH

Tab. 6.1	Datумы, kdy byly provedeny jednotlivé práce na křemičitých nanovláčkách. ....	66
Tab. 6.2	Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> .67	
Tab. 6.3	Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> .68	
Tab. 6.4	Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočtení průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	68
Tab. 6.5	Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočtení průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	69
Tab. 6.6	Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii <i>Escherichia Coli</i> . ....	69
Tab. 6.7	Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii <i>Escherichia Coli</i> . ....	70
Tab. 6.8	Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočtení průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii <i>Escherichia Coli</i> . ....	70
Tab. 6.9	Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočtení průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii <i>Escherichia Coli</i> . ....	71

# 1. ÚVOD

Mnozí z nás nemají ani ponětí, jaké všechny nemoci existují a co způsobují. Ve chvíli, kdy se s nimi nepotýkáme osobně či někdo z našich blízkých, tak ani netušíme, čeho všeho jsme ušetřeni.

Každý z nás se setkal s malými oděrkami či drobným poraněním. Naše pokožka je natolik schopná regenerace, že se nad tímto problémem ani nepozastavíme a po krátké době se vše vrátí do původního stavu a pokožka je jako nová. Co však dělat při onemocnění jako jsou bércové vředy, sakrální dekubit či popáleniny toho nejvyššího stupně? Při léčbě těchto nemocí a poranění již nevystačíme s klasickou léčbou. V tomto případě rány mokvají a obvazy je zapotřebí neustále měnit. Tím se zvyšuje riziko infekce. Běžné obvazy se k ráně lepí a jejich odstranění z rány je spojené s poškozením nově zhojeného povrchu rány.

V posledních letech se biomedicína a biotechnologie posunuly natolik dopředu, že již existují možnosti léčení těchto nemocí daleko šetrnějšími způsoby. Přesto však tyto metody nejsou běžně používány z důvodu možných rizik, která nejsou doposud známa. Zatím je vše pouze na experimentální úrovni. Jednou z těchto možných metod léčby jsou křemičitá nanovlákna s navázaným antibiotikem. Ta mají tu výhodu, že se antibiotikum uvolňuje postupně a obvaz vyrobený z těchto vláken se nemusí často měnit. Velký měrný povrch křemičitých nanovláken také zajišťuje dostatečné množství antibiotik, které je na nanovláknech navázáno. Různé typy navázání antibiotika na nanovlákna také umožňují jeho postupné uvolňování a dlouhodobější účinnost. Z těchto důvodů se obvazy nemusí tak často měnit a tím se zmenší riziko infekce. Tato nanovlákna se k ráně nelepí, a proto nestrhávají svrchní část nově zhojené pokožky, což přispívá k lepší a rychlejší léčbě. Jednou z předních vlastností křemičitých nanovláken je biokompatibilita a biodegradabilita, což představuje jejich velký potenciál pro využití ve zdravotnictví.

Cílem mé bakalářské práce je příprava řady křemičitých nanovláken stabilizovaných při teplotách 180 °C, 260 °C, 550 °C a 800 °C a zkoumání vlivu časového odstupu stabilizace vláken od jejich výroby a rozestupu mezi silanizací a stabilizací. Vyhodnocení výsledků této práce proběhlo pomocí metody AATCC Test Method: 147-2004 - Antibacterial Activity Assessment of Textile materials na bakteriích *Staphylococcus aureus* a *Escherichia Coli*



## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Nanotechnologie a nanovláknna

#### Nanotechnologie

Nanotechnologie je jedním z nových vědních oborů. Tento obor se zabývá objekty ve velikosti od 1 nm do 100 nm [1, 2]. Za jednoho z hlavních zakladatelů nanotechnologií lze považovat Richarda Feynmana, který jako první přišel s myšlenkou o využití atomů a jejich kontrole. Tuto svou hypotézu představil poprvé na výroční schůzi Americké společnosti fyziků v Caltechu v roce 1959 na přednášce „Tam dole je spousta místa“ (There's Plenty of Room at the Bottom) [3, 4]. S pojmem nanotechnologie přišel poprvé japonský vědec Norio Tamaguchi v roce 1974. Od této doby byly nanomateriály prozkoumávány a bylo o nich zjištěno mnohem více informací [4, 5].

Důvod proč se nanomateriály staly v dnešní době tak populární je ten, že mají užitečné vlastnosti [6, 7]. To je spojeno s tím, že materiály pohybující se na úrovni nanometrů mohou vykazovat kvantové jevy a přináší s sebou zajímavé a neobvyklé úkazy [8].

Nanomateriály mají díky svým rozměrům skvělé elektrické, tepelné, magnetické a optické vlastnosti [5]. Díky těmto vlastnostem nalézají nanomateriály široké využití. Používají se například v elektronice, v medicíně, v oděvnictví, ke zlepšení vlastností povrchů či ochraně životního prostředí [7].

Nanomateriály existují v různých tvarech a velikostech [7]. Tvar také částečně určuje a ovlivňuje jejich chování a charakter [9]. Dle dimenze je lze rozdělit na:

0D - kvantové tečky a nanočástice,

1D – nanovláknna a nanotrubičky,

2D - nanovrstvy,

3D – nanokrystaly [7].

Možnost řízení jejich složení, rozměrů a struktury určuje vlastnosti a použitelnost takto vyrobených nanomateriálů [8]. Jelikož nanomateriály nejsou doposud dostatečně prozkoumané, nejsou známa všechna možná rizika, která s sebou mohou nést. Proto je potřeba tyto nanomateriály zkoumat opatrně a s rozumem, zejména nyní, kdy jejich používání zaznamenává velký rozvoj a růst [10].

## Nanovlákna

Nanovlákna jsou definována jako vlákna s průměrem od 1 nm do 500 nm [6, 7, 11]. Vlákna s průměrem od 500 nm do 1  $\mu\text{m}$  jsou zpravidla označována jako submikronová vlákna [11]. Průměr vyrobených nanovláken je ovlivněn materiálem, z kterého jsou vyrobena, způsobem výroby a nastavenými parametry zařízení pro jejich výrobu [6].

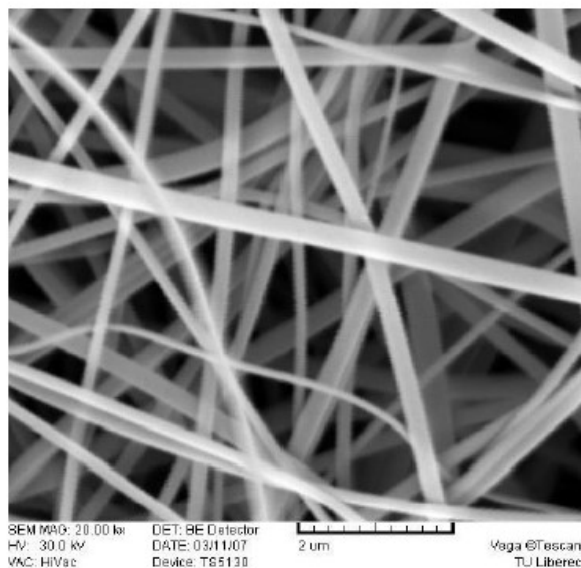
Mezi zajímavé vlastnosti, které tato nanovlákna vykazují, patří jejich velký měrný povrch, výborné mechanické vlastnosti, velké množství pórů mezi nimi a možnost začlenění různých aditiv [6, 12, 13].

Nanovlákna se nejčastěji se připravují elektrostatickým zvlákněním [14, 15]. Kromě elektrostatického zvláknění, neboli electrospinningu, existuje ještě celá řada metod, kterými lze nanovlákna připravit. Mezi ně patří electroblowing, centrifuge spinning [16, 17], drawing neboli dlužení, phase separation, čili fázová separace a jiné metody [17]. V průmyslu se v dnešní době používá prakticky jen elektrostatické zvláknění, protože s sebou přináší řadu výhod [16, 17].

Nanovlákna dle použitých výchozích látek pro výrobu lze rozdělit na organická, anorganická a případně i na organicko-anorganická [15, 18,].

Pro přípravu organických nanovláken se používají zejména organické polymery, jako jsou například PVA, PVB a další. Využití organických nanovláken lze najít v optice či elektronice pro výrobu nejrůznějších komponentů. [18, 19].

Anorganická nanovlákna mohou být keramická či kovová. Patří sem například nanovlákna vyrobena z  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  či  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Jejich výroba se značně liší od výroby nanovláken organických. U anorganických nanovláken musí být odstraněny organické zbytky, které se používají pro jejich výrobu. Z tohoto důvodu anorganická nanovlákna vyžadují další zpracování, jakým je například kalcinace či jiná tepelná úprava. Anorganická nanovlákna mají široké použití. Jejich uplatnění najdeme při vysokoteplotní filtraci, dále mohou sloužit jako biosenzory [6]. Keramická nanovlákna mají tu výhodu, že jsou odolná proti chemikáliím a také se vyznačují vysokoteplotní odolností [20]. Struktura a vzhled anorganických nanovláken, konkrétně křemičitých nanovláken, jsou zachyceny na *Obr. 2.1*.



Obr. 2.1 Křemičitá nanovlákna. Snímek je pořízen pomocí SEM [13].

### 2.1.1 Křemičitá nanovlákna

Křemičitá nanovlákna neboli  $\text{SiO}_2$  vlákna jsou anorganického původu [6]. Hlavní metodou zkoumání a vyhodnocování jejich struktury je elektronový mikroskop, např. SEM [21]. Nejčastěji se připravují pomocí metody sol-gel elektrostatickým zvlákňováním [15, 21].

### 2.1.2 Příprava křemičitých nanovláken

Jak již bylo zmíněno výše, nejčastěji používanou metodou přípravy výchozího solu pro výrobu nanovláken je metoda sol-gel. Nanovlákna jsou vyráběna ze solu elektrostatickým zvlákňováním [15, 17].

### Metoda sol-gel

Na začátek pro lepší pochopení souvislostí a následujících informací by bylo vhodné vysvětlit pár základních pojmů. Mezi tyto pojmy patří:

Sol je nepříliš koncentrovaný koloidní roztok, za daných podmínek relativně stabilní.

Gel má strukturu vysoce porézní sítě, v jejíž pórech se nachází rozpouštědlo. Gel vzniká ze solu postupným propojením částic disperzního podílu.

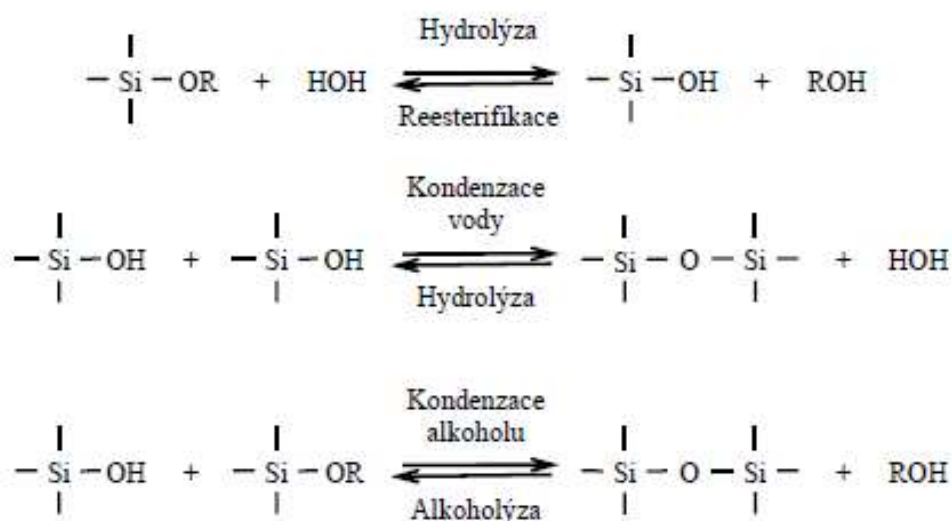
Pravý roztok je homogenní směs rozpouštědla a rozpouštěné látky, ve které je velikost částic menší než 1 nm. Tento systém je termodynamicky stabilní [22].

Sol-gel metoda zahrnuje procesy, kdy dochází ke změně pravého roztoku či solu na tuhý materiál zvaný gel [23]. Termín sol-gel je však často používán i pro příbuzné metody, ve kterých nedochází k tvorbě gelu, ale pro výrobu je zapotřebí homogenizace výchozích složek ve formě pravého roztoku [22].

Výchozí látkou pro výrobu solu jsou alkoxidy [17, 22, 23], z nichž nejpoužívanější jsou tetraethoxysilan a tetraizopropyl titanát [17, 22]. U alkoxidů je vazba C – O – Si velice důležitá, jelikož počáteční reakcí pro tvorbu gelu je právě hydrolyza této vazby. Alkoxidy jsou dobře rozpustné na pravé roztoky v bezvodých organických rozpouštědlech, zejména v alkoholech. Nejběžnější rozpouštědla jsou ethanol a izopropylalkohol. Jako kyselé katalyzátory se používají kyseliny, hlavně HCl či HNO<sub>3</sub>. Katalyzátor je důležitý, neboť bez něho by docházelo k tvorbě prášku či nehomogenního gelu [22].

Při hydrolyze reaguje vždy jedna skupina Si – O – R s jednou molekulou vody H<sub>2</sub>O za vzniku Si – O – H a jedné molekuly alkoholu ROH [22]. Dále probíhají polykondenzační reakce a dochází k propojování jednotlivých skupin na Si – O – Si [22, 24]. Tyto reakce popisuje Obr. 2.2.

Při úplné polykondenzaci dochází k tvorbě gelu, což souvisí se vzrůstem viskozity [22, 24]. Procesu přeměny solu v gel se využívá při elektrostatickém zvlákňování pro výrobu nanovláken [25].

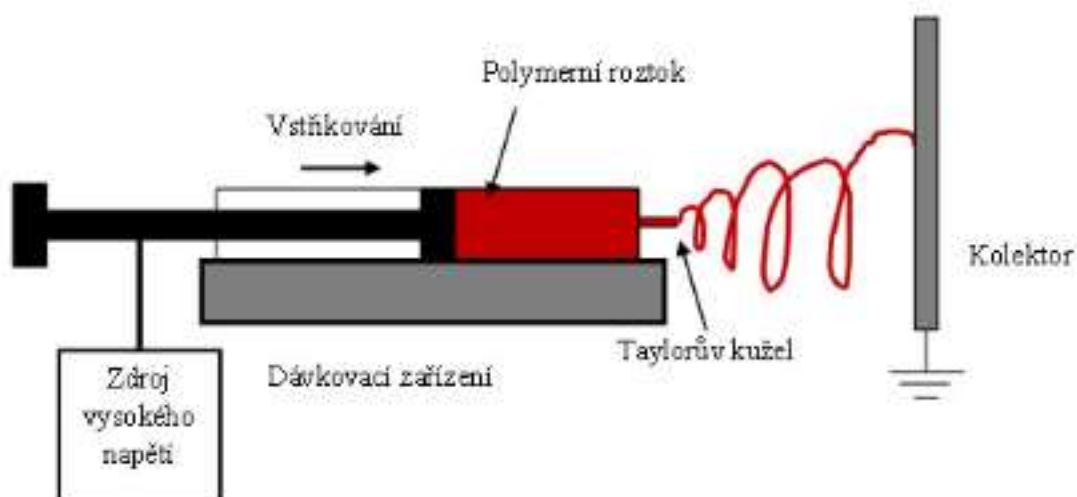


Obr. 2.2 Reakce, probíhající při výrobě vláken metodou sol-gel [17].

## Elektrospinning

Elektrospinning neboli elektrostatické zvlákňování je jednou z metod používaných pro přípravu nanovláken. Touto metodou vznikají vlákna s průměrem od jednotek nanometrů až po jednotky mikrometrů [26]. Fyzikálně je jev elektrostatického zvlákňování důsledek vzájemného vlivu mezi elektrostatickými a kapilárními silami. První z těchto sil hovoří o nabitých kapalinových tělesech, která se rozpadají díky dlouhodobým repulsním Coulombickým silám mezi ionty stejného znaménka. Druhá z těchto sil zapřičiňuje to, že částice kapaliny se snaží držet pohromadě, aby minimalizovaly povrch kapaliny a povrchovou energii, což pramení z krátké vzdálenosti mezi intermolekulárními interakcemi na kvantové úrovni [27].

Tato metoda pracuje se silným elektrostatickým polem. Z velice malé trysky, v které se nachází patřičný sol, dojde díky vysokému elektrostatickému poli k vytlačení kapky, která se formuje do tzv. Taylorova kužele. Z tohoto kužele následně vznikají nanovlákna, která dopadají na kolektor [15]. Schéma metody a princip elektrostatického zvlákňování jsou znázorněny na *Obr. 2.3*. Homogenita a produkce vláken je dána počtem Taylorových kuželů. Čím je jejich počet větší, tím jsou homogenita a produkce vláken vyšší [28]. Tato metoda má však určité nevýhody. Při tomto způsobu výroby nanovláken může totiž dojít k ucpání trysky a tím k zamezení výroby vláken [15].



*Obr. 2.3 Schéma elektrostatického zvlákňování [29].*

Revolučním objevem se stala technologie Nanospider. Zjistilo se, že zvlákňování nemusí probíhat pouze pomocí trysek, ale lze jej provádět též z tenkého filmu z celého povrchu solu či polymeru [27, 28]. To je opět zapříčiněno vysokým elektrostatickým polem, které je schopno vytvořit Taylorovy kužele na povrchu [15, 21]. Na rozdíl od klasického elektrostatického zvlákňování nehrozí ucpání trysek a tím je zamezeno potencionálnímu zastavení započatého zvlákňování [27, 28]. Jedná se o novou metodu, která nabízí mnoho výhod. Metoda je vhodná pro výrobu organických i anorganických vláken. Touto metodou lze zvlákňovat polymerní roztok, složený z polymerů rozpustných ve vodě, dále také z tavenin polymerů či polymerů rozpustných v organických rozpouštědlech [28]. Viskozita je pro výrobu vláken velice důležitá a má na charakter vzniklých vláken velký vliv. Aby došlo k tvorbě vláken, která se v průběhu procesu netrhají a nevytvářejí hrudky, je nutno dodržet správnou viskozitu solu [20]. Nanovlákna, která odlétají z povrchu solu jsou zachycena na textilním podkladu, což dále usnadňuje i manipulaci s nanovláknem [21].

Způsob výroby nanovláken z polymerního roztoku elektrostatickým zvlákňováním a zařízení k provádění způsobu vynalezl v roce 2003 profesor Oldřich Jirsák se svým týmem na Technické univerzitě v Liberci. Univerzita poskytla licenci firmě ELMARCO s.r.o. [30].

### **2.1.3 Vlastnosti křemičitých nanovláken**

Křemičitá nanovlákna, která jsou složena jen z vláken o průměru v desítkách až malých stovkách nanometrů odpovídají definici nanovláken, mají špatné mechanické vlastnosti. S takovými nanovláknem lze obtížně manipulovat, což komplikuje jakoukoli práci s nimi. Daleko lepší mechanické vlastnosti vykazují křemičitá nanovlákna spolu se submikronovými vláknem či mikrovláknem [11].

Nanovlákna  $\text{SiO}_2$  jsou odolná v kyselém prostředí, v neutrálním se jejich odolnost mírně snižuje a v silně alkalickém je velmi špatná [22]. Velký měrný povrch, malé otvory mezi nanovláknem a velký objem pórů mezi nimi jsou právě ty vlastnosti, které představují jejich velký potenciál. Existuje však možné riziko, které je zapotřebí si uvědomit [31]. V případě, že jsou vlákna bioperzistentní, představují pro lidský organismus určité nebezpečí [32]. Dále se jedná o možnou karcinogenitu takto malých vláken, a to zejména u vláken tepelně zpracovaných za vysokých teplot [31]. Je důležité dbát všech bezpečnostních předpisů, aby se zamezilo vdechnutí nanovláken, která se mohou dostat až do plicních sklípků a způsobit vznik

nádorů [32]. Vlákna lze považovat za potencionálně karcinogenní právě tehdy, když je jejich délka větší než 5  $\mu\text{m}$ , jejich průměr menší než 3  $\mu\text{m}$  a jejich rozpustnost v plicních tekutinách velmi nízká. Křemičitá nanovlákna jsou podstatně rozpustnější v tělních tekutinách než v čisté vodě. Například ve fyziologickém roztoku se křemičitá nanovlákna rozpouštějí až 40 x rychleji než v destilované vodě. [33].

Existují dva způsoby, jak lze testovat odbourávání křemičitých nanovláken: *in vivo* a *in vitro*. Toto testování nám ukazuje, jak moc jsou dané materiály pro živé organismy nebezpečné [17, 32]. Testy *in vivo* sledují dobu, za jakou dojde k odbourání poloviny objemu vláken aplikovaných do pokusného zvířete ( $t_{0,5}$ ). Kdežto testy *in vitro* sledují rychlost rozpouštění vláken R v roztocích simulujících plicní tekutiny. Ze studie firmy Johns Manville vyplývá, že za nezávadná lze považovat vlákna s rychlostí rozpouštění R v desítkách až stovkách  $\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ \*[17]. Pro názornost v *Tab. č. 2.1* jsou vybrané typy vláken a jim příslušející hodnota  $t_{0,5}$  a R.

\*Uvedená jednotka sice není v souladu se soustavou SI, dále je však používána pro přímé porovnání s údaji v *Tab. 2.1*

*Tab. 2.1 Jednotlivé typy vláken v porovnání testy In vitro a In vitro [17].*

Vlákno	Typ	"in vivo" $t_{0,5}$ [dny]	"in vitro" R [ $\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ]
Crocidolite	Asbestos	817	<1
Amosite	Asbestos	418	<1
E Glass	FG Special App.	79	9
RCF1	Refractory Ceramic	55	3
475 Glass	FG Special App.	49	12
Rock Wool	MW, MMVF12	67	20
JM 901	FG Bldg. Insulation	14,5	300
Certain Teed	FG Bldg. Insulation	9	100
Slag Wool	MW, MMVF11	9	400
HT Stonewool	MW	6	59

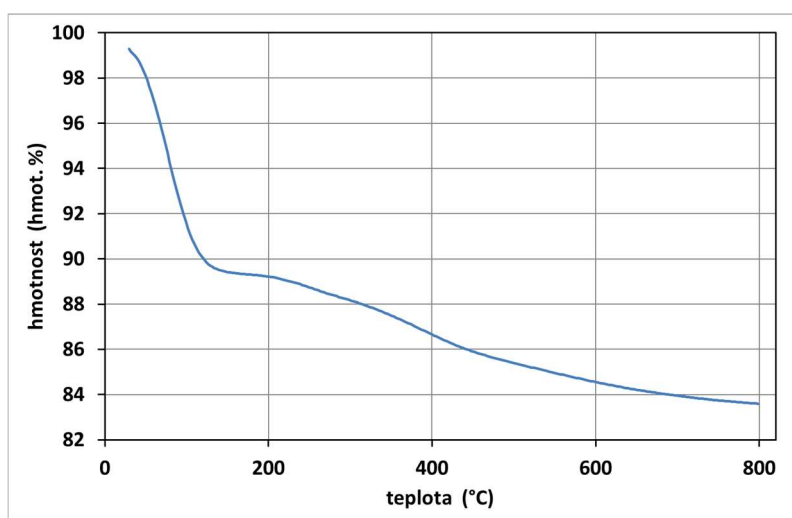
Mechanické i chemické vlastnosti křemičitých nanovláken lze ovlivnit mimo jiné i teplotou stabilizace [22]. Čím vyšší je teplota stabilizace, tím je míra rozpustnosti menší. Při teplotě 800 °C již dochází k vzniku křemenného skla, které je zcela nerozpustné [15].

Křemičitá nanovlákna obsahují na svém povrchu velké množství –OH skupin. Množství -OH skupin a adsorbované vody, které jsou vázány na povrchových –OH skupinách

pomocí vodíkových můstků, je určeno právě jejich tepelným zpracováním. Při běžných laboratorních teplotách je povrch pokryt adsorbovanou vodou. S rostoucí teplotou dochází k odpaření přítomné vody a na povrchu zůstávají pouze –OH skupiny. Při opětovném ochlazení dochází k zpětnému navázání vody na povrch substrátu. Se stoupající teplotou tepelného zpracování také klesá rychlost opětovného vázání vody a vlhkosti z okolí [22]. Při teplotě 180 °C dochází k postupnému odstranění adsorbované vody. V okolí teploty 350 °C je již odstraněna část vody, vázaná formou Si – OH skupin a další organické zbytky [15, 21]. Nad 550 °C až 600 °C již dochází k postupnému odstranění všech Si - OH skupin a přítomny jsou pouze Si – O – Si skupiny [21, 22].

Povrchové Si - OH skupiny, které jsou značně reaktivní, na sebe mohou vázat další látky. Tím může dojít ke změně vlastností povrchu substrátu. Velké množství –OH skupin na povrchu křemičitých nanovláken umožňuje imobilizaci různých léčiv a organických biomolekul [14]. Při vyšších teplotách se snižuje množství –OH skupin a tím i reaktivita povrchu. Struktura a množství -OH skupin na povrchu oxidu křemičitého je znázorněno na Obr. 2.4 [22].

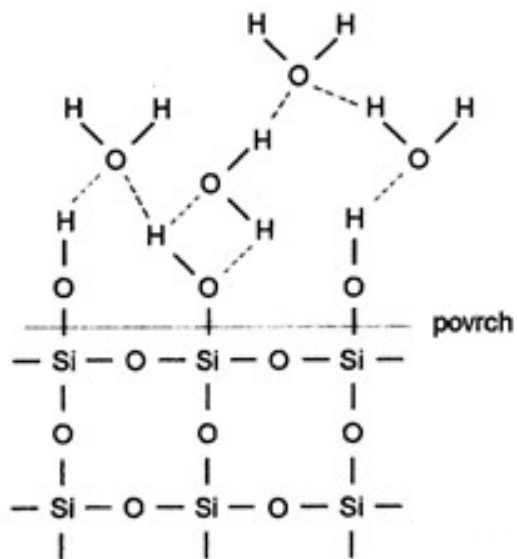
Dále se s teplotou stabilizace mírně mění i rozměry nanovláken [21]. Při stabilizaci na 180 °C se rozměry vláken skoro nemění a zůstávají stejné [15]. Při teplotě 800 °C může smrštění průměru nanovláken dosáhnout až 18 % [11]. Morfologie nanovláken se nemění, pouze se zmenšuje jejich průměr [15]. K velké změně však dochází u hmotnosti. Ta s rostoucí teplotou téměř exponenciálně klesá [14]. Změna hmotnosti souvisí s eliminací zbytků organických rozpouštědel a s úbytkem –OH skupin na povrchu křemičitých nanovláken [11, 22]. Závislost hmotnosti nanovláken na teplotě stabilizace je znázorněna v Grafu 2.1.



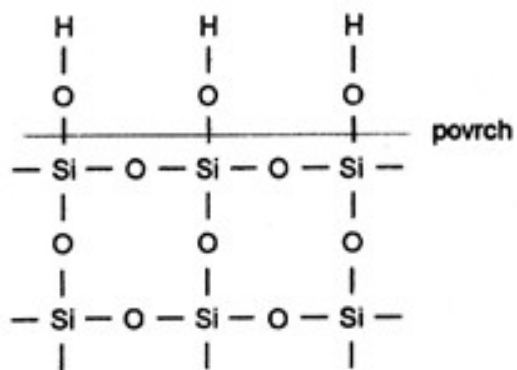
Graf 2.1 Úbytek hmotnosti křemičitých nanovláken s rostoucí teplotou. [11].



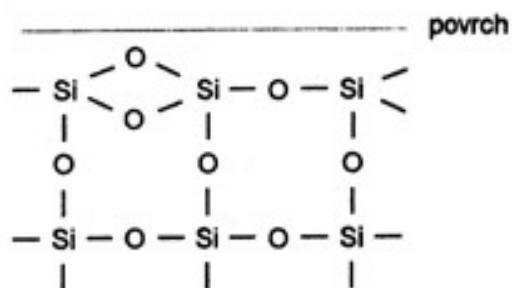
a)



b)



c)



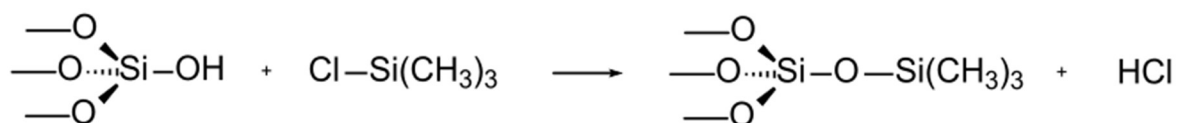
Obr. 2.4 OH skupiny a voda na povrchu xerogelu oxidu křemičitého v závislosti na teplotě  
a) laboratorní podmínky, b) teplota 200 °C, c) teplota 1200 °C [22].

## 2.2 Principy a způsoby silanizace

Dříve než bude vysvětlen princip silanizace, je nutno zmínit, že tento pojem často bývá zaměňován s pojmy silanolizace a silylace. Rozdíl mezi nimi je však značný [11].

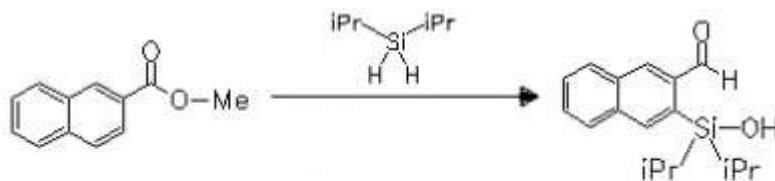
Silylace je proces při němž dochází k nahrazení aktivního vodíku (například na skupinách  $\text{-NH}_2$  či  $\text{-OH}$ ) skupinami alkylsilyl. Mezi tyto skupiny patří například trimethylsilyl (TMS) nebo t- butyldimethylsilyl (t-BDMS) [11, 34].

Příklad silylace je znázorněn na Obr. 2.5.



Obr. 2.5 Schéma probíhající reakce při silylaci [35].

Příklad silanolizace je znázorněn na Obr. 2.6. zde dochází k nahrazení vodíku silanolem [36]



A): 0.1 mol%  $[\text{IrCl}(\text{cyzlooksten})_2]_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $45^\circ\text{C}$ ,  
B): 0.4 mol%  $[\text{RhCl}(\text{nbd})]_2/\text{P}(\text{p-anisyl})_3$  (1:6), THF,  $120^\circ\text{C}$   
C):  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$  (1:1),  $25^\circ\text{C}$ , [pH 5, 10 h]

Obr. 2.6 Silanolizace umožňuje zavedení silanolů [36].

Pokud chceme imobilizovat molekulu na povrch určitého substrátu, je občas zapotřebí provést určité úpravy povrchu či navázat na povrch další pomocné látky, aby mohlo k samotné imobilizaci vůbec dojít. Jednou z možností imobilizace molekul na povrch substrátu je silanizace. Používají se zde látky, které na povrchu substrátu vytvoří tenkou vrstvu o tloušťce jednotek nanometrů. Jedná se o silany, obsahující reaktivní skupiny, na které lze navázat další potřebné látky a molekuly. Toto jsou takzvané bifunkční molekuly, které jsou vázané jak na substrát, tak na imobilizovanou molekulu. [37].

## 2.2.1 Obecné principy a způsoby silanizace

Silanizace je napojení silanů na povrch substrátu přes -OH skupiny. Vznikne tak vazba  $M - O - Si$ , kde M může být vedle Si například Zr, Ti a další. Silany, používané pro silanizaci, dovolují nanesení monovrstvy na povrch substrátu [38]. Pro samotnou silanizaci je zapotřebí nejprve očistit povrch, tzn. omýt jej a zbavit organických zbytků. V případě nečistot neprobíhá silanizace tak dobře jako když je povrch čistý [39]. Pokud je povrch řádně očištěn, dojde ke vzniku vrstvy a povrch vzniklých organosilanů je jednolitý. Pro čištění povrchu substrátu se používají kyseliny, organická rozpouštědla či báze [38]. Stabilita vrstvy závisí hlavně na teplotě a délce alkylového řetězce [40].

Anorganické substráty, na kterých je silanizace prováděna, nemusí být nutně z jedné anorganické látky. Mohou to být i substráty zkombinované z několika různých anorganických složek, jako je tomu u nanokompozitů, nanoprášek nebo nanovláken. Silanizace je však možná i u organických materiálů s dobře modifikovatelným povrchem (tzn. obsahující skupiny jako jsou  $-NH_2$ ,  $-OH$ ,  $-COOH$ , či jsou modifikovány plazmou pro vytvoření  $-OH$ -skupin) [37].

Organické povrchy, například alkany, nejsou příliš vhodné pro silanizaci, protože nejsou reaktivní a obvykle neobsahují na svém povrchu -OH skupiny. Pokud však docílíme toho, aby se na tomto organickém povrchu -OH skupiny vyskytovaly, například pomocí 9 - kapronyloxytetraakis (methoxyethyl) porfyrinu (CPO), získáme vhodný povrch s -OH skupinami pro nanesení silanů. Touto problematikou se zabýval Shenghua Gan v roce 2009 [41].

Fyzisorpce alkylalkoxysilanů je většinou prvním krokem silanizace, po které je provedena hydrolyza alkoxy skupin [37]. Fyzisorpce je jev, kdy dochází k adsorpci molekul určité látky z plynné nebo kapalné fáze na povrch pevné látky. Tento jev zásadně závisí na teplotě a tlaku. Fyzisorpce je však měřitelná až pod určitou nízkou teplotou, charakteristickou pro dané materiály [42]. Dále je možné provést chemisorpci, která je založena na vzniku kovalentních vazeb. Méně používaným postupem je přímá chemisorpce organické agens na aktivní centrum anorganického povrchu substrátu [37].

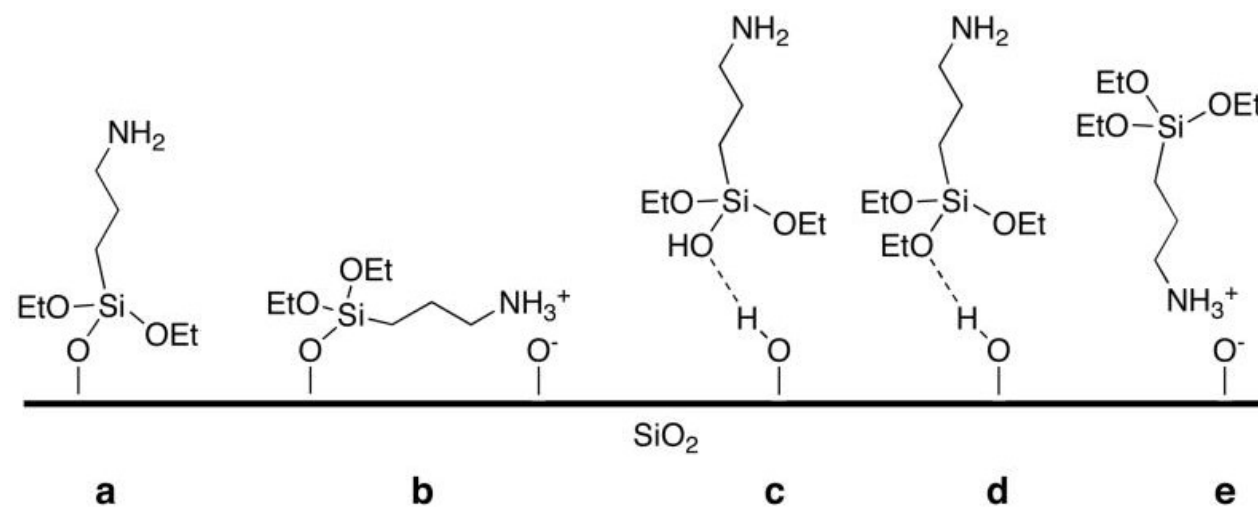
Silanizaci lze provádět na nejrozličnějších materiálech, které obsahují na svém povrchu reaktivní -OH skupiny. Jedná se například o chitosan, jehož silanizaci se zabýval Guicai Li [43], dále také o povrch skla [44] či o  $ZrO_2$  materiály [30]. Yue Liu se roku 2012 zabýval studií

o kinetice silanizace magnetických nanočástic s použitím různých rozpouštědel. U těchto materiálů bylo zjištěno, že silanizace zpočátku probíhá velmi rychle, avšak po určité době, kdy se hustota skupin na povrchu blíží k nasycení dojde k jejímu zpomalení. Nejlepším rozpouštědlem se u těchto magnetických materiálů ukázala směs toluenu a methanolu [45].

Existuje nepřehledné množství způsobů, jak nanést silany na povrch substrátů a také mnoho druhů substrátů, na kterých je silanizace prováděna. Silanizace může probíhat buďto ve vodném či v bezvodném prostředí [46, 40]. Tyto rozdílné podmínky silanizace mají velký vliv hlavně na mechanismus reakcí a tvorbu monovrstvy, jak bude uvedeno dále [47].

## Silanizace ve vodném prostředí

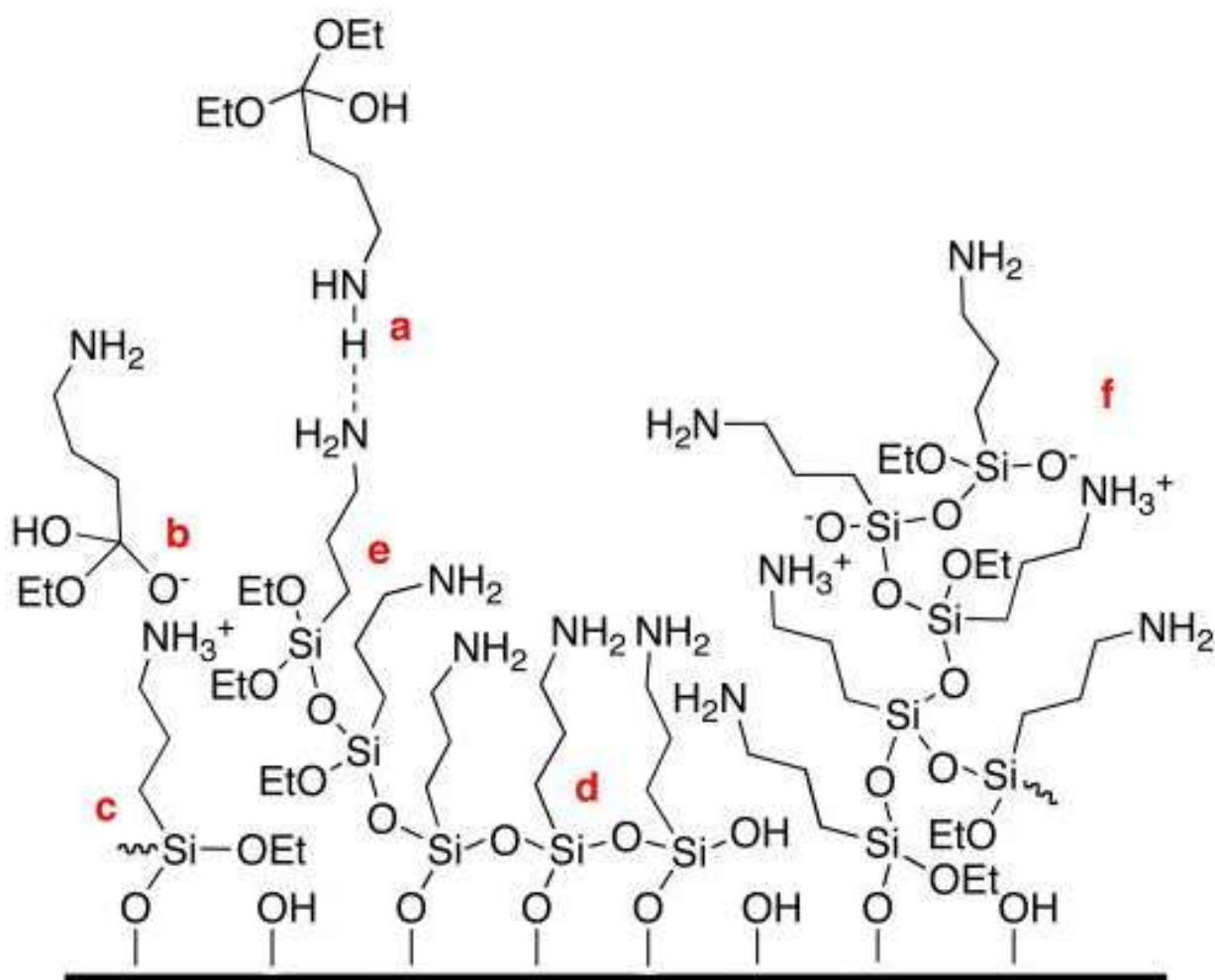
Důvodem proč se při silanizaci ve vodném prostředí hojně používá APTES je ten, že vykazuje výborné vlastnosti. Jednou z nich je možnost reakce s povrchem křemičitých nanovláken pomocí více mechanismů, kterými jsou vodíkové můstky, fyzisorpce, elektrostatické síly a siloxanové vazby znázorněné na Obr 2.9 [48].



Obr. 2.7 Možnost reakce APTES s křemičitým povrchem: (a) kovalentně připojená molekula APTES s aminovou skupinou, (b) kovalentně připojená molekulu APTES, jejíž aminová skupina interaguje s povrchovou silanolovou skupinou, (c) - (e) slabě vázané molekuly APTES [48].

Při silanizaci ve vodném prostředí se potýkáme s jedním problémem. I když je voda nezbytná k hydrolyze, přebytek vody při silanizaci vede k polykondenzaci alkoxylosilanů či chlorsilanů a tvorbě polymerů již v jejich roztoku. Tyto polymery se mohou následně připojovat k substrátu a tím může docházet ke vzniku vertikální či horizontální polykondenzace na jeho povrchu

[40, 48]. Tímto můžeme získat řadu různých struktur povrchu, což je patrné na *Obr. 2.7* [48], kde dochází k tvorbě silné a nehomogenní organosilanové vrstvy. Proto je důležité kontrolovat reakční podmínky jakými jsou druh rozpouštědla, koncentrace silanu, obsah vody, teplota a struktura povrchu [40]. Z tohoto důvodu je velmi složité u tohoto typu silanizace vytvoření hladké vrstvy [49].



*Obr. 2.8* Vznik polymeru z APTES na povrchu substrátu. a) vertikální připojení molekul APTES na již silanizovaný povrch, b) interakce pomocí nábojů aminoskupiny a kyslíku, c) připojení již vzniklých polymerů na APTES, d) horizontální propojení APTES u povrchu sub substrátu, kde obě molekuly APTES jsou vázány na substrát, e) horizontální propojení APTES, kde jedna z molekul není vázána na substrát, f) interakce nábojů již připojených molekul [48].

Svou studií z roku 2001 Minghui Hu zjistil, že lze ovlivnit tvorbu monovrstvy. V jeho experimentu byl pro silanizaci použit MPTMS - (3-merkaptopropyl)trimethoxysilan. Díky této studii bylo zjištěno, že značný vliv na tvorbu monovrstvy ve vodném prostředí má koncentrace vody a daného silanu [49].

Dále bylo zjištěno studií Magali Phaner-Goutorbe z roku 2011, že v případě použití monofunkčních silanů nedochází k hustému zesílení a v přítomnosti vody se v roztoku tvoří pouze diméry, které lze snadno odstranit z povrchu substrátu. Monofunkční silany jsou díky kovalentní vazbám vázány k povrchu a nejsou tedy náchylné k odstranění z povrchu substrátu [40].

## **Silanizace v bezvodém prostředí**

Silany bez přítomnosti vody mohou tvořit pouze jednu siloxanovou vazbu s povrchem [47]. Provedení silanizace v plynné fázi vede ke vzniku hladkých monovrstev, které mají řadu využití a aplikací [40, 48]. V tomto případě však nebývá zcela jisté, zda silanové molekuly jsou připojeny k substrátu oxidu křemičitého prostřednictvím siloxanových vazeb nebo vodíkových vazeb. Oplachování ve vodě při tomto způsobu silanizace podporuje tvorbu siloxanových vazeb. Pro přípravu hladkých nanovrstev se používají bezvodá rozpouštědla, například toluen. Při tomto způsobu silanizace je zapotřebí pracovat s nízkou koncentrací silanů k zamezení vzniku polymerů a oligomerů na povrchu substrátu. Také teplota může značně ovlivnit silanizaci. Při mírné reakční teplotě okolo 70 °C dojde k narušení vodíkové vazby a sníží se počet slabě vázaných silanových molekul v silanových vrstvách. Oplachy substrátu po silanizaci v toluenu, ethanolu a vodě pomáhají k hydrolyze zbytků alkoxykupin vázaných vodíkovými vazbami. Poté je nutno usušit a vytvrdit nově vzniklou vrstvu. Toho lze dosáhnout tepelnou úpravou za zvýšené teploty okolo 100 °C, která opět podporuje vznik siloxanových vazeb. Metoda v plynné fázi je méně citlivá na změny v reakčních systémech než silanizace v roztoku [48].

Odstranění rozpouštědla z reakčního systému by mělo mít za následek menší (a více kontrolovatelné) množství vody na povrchu substrátu. Navíc oligomerní a polymerní silany mají při mírných reakčních teplotách zanedbatelný tlak par, a proto se neúčastní povrchových reakcí. Na základě těchto předpokladů by proces silanizace v plynné fázi měl obcházet nedostatky silanizace v roztoku. Většina silanových molekul je však pravděpodobně slabě spojena s povrchem a bývá z něho odstraněna během procesu oplachování. Ukazuje se, že v plynné fázi čistota silanů nemá vliv na tloušťku vrstvy

a variabilitu, na rozdíl od silanizace v roztoku. Je také pozoruhodné, že trimethoxysilany tvoří silnější vrstvy než odpovídající triethoxysilany. Zdá se, že triethoxysilany jsou lepšími kandidáty při vytváření více reprodukovatelných silanových vrstev. Studií přípravy hladkých vrstev v bezvodém prostředí se zabýval Mojun Zhu [48].

Dugas et al. vyvinuli novou metodu zvanou „Impregnation Protocol“, tert-butyl-11-(dimethylamino)silylundekanoát byl rozpuštěn v suchém pentanu a do tohoto prostředí byl vložen substrát. Došlo zde k odpaření pentanu a tím k impregnaci povrchu substrátu silanem. Toto je nazýváno jako proces tenkého kondenzovaného filmu. Bylo dokázáno pomocí infračervené spektroskopie, že tato metoda vede k vytvoření tenké, husté a rovnoměrné vrstvy na povrchu substrátu [40].

## 2.2.2 Principy a způsoby silanizace křemičitých nanovláken

Křemičitá nanovlákná mají výborné předpoklady pro silanizaci. Je to způsobeno velkým množstvím přítomných reaktivních skupin Si – OH na povrchu substrátu, které jsou nezbytné pro silanizaci. Jak již bylo zmíněno v kapitole o vlastnostech křemičitých nanovláken, množství těchto skupin lze ovlivnit tepelnou úpravou vláken [38].

Pro silanizaci se nejčastěji používají následující silany:

(3 - aminopropyl)triethoxysilan (APTES),  
(3 - aminopropyl)-trimethoxysilan (APTMS),  
(3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilan (GPS) [38].

Dále je možné také použít:

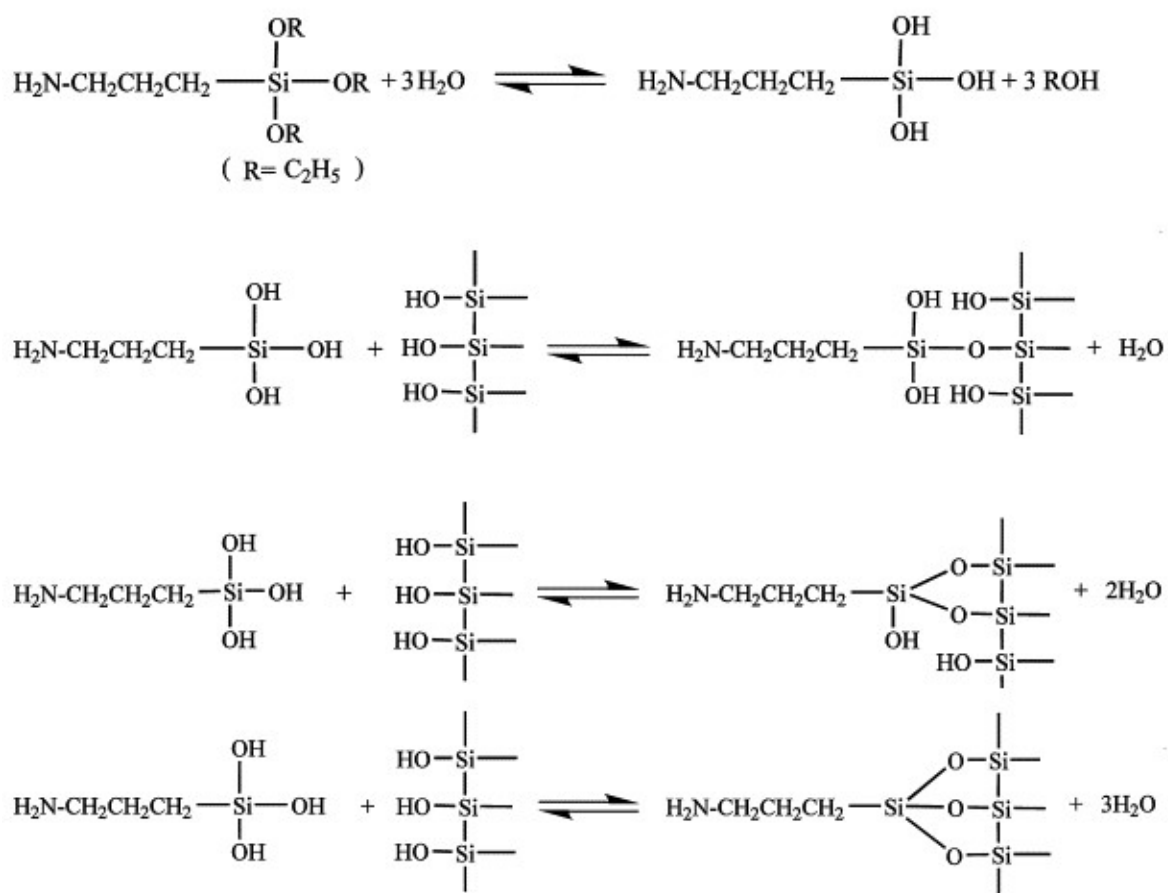
N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltriethoxysilan (AEAPTES),  
N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan (AEAPTMS),  
N-(6-aminohexyl)aminomethyltriethoxysilan (AHAMTES) [50].

Tyto látky reagují s povrchovými Si - OH skupinami za vzniku Si – O – Si vazeb a slabé vrstvičky na povrchu nanovláken [38].

Aby vytvořená vrstva měla určitou pravidelnost a požadovaný charakter, je velice důležité dodržení zásadních podmínek, jakými jsou typ rozpouštědla, přítomnost vody, teplota, koncentrace silanů, doba silanizace a sušení [48].

Jak je patrné z *Obr.2.8*, u APTES dochází ke změně -OR skupin na -OH skupiny, které pak mohou dále reagovat s -OH skupinami na povrchu křemičitých nanovláken. Polykondenzací a případným zahříváním dochází k odstranění vody a ke vzniku skupin - Si – O – Si - [50].

Funkční skupin NH<sub>2</sub>, kterou nese APTES, pak může reagovat s dalšími látkami [50]. Pokud jsou vlákna ponechána „delší“ reakční čas v roztoku, dochází ke tvorbě silnější vrstvy silanů [48]. Aminoskupiny přítomné na povrchu materiálu jsou schopny navázat biologická agens. Některé biomolekuly mohou reagovat se skupinou – NH<sub>2</sub> za vzniku kovalentní vazby. Organosilany jsou látky vhodné pro navázání protilátek na povrch oxidu křemičitého a skla [38].



*Obr. 2.9 Aktivace APTES vodou a průběh silanizace APTES na povrch SiO<sub>2</sub> [50].*



## 2.3 Nanovlákná a mikrobiologie

Velkou výhodou a velkým potenciálem křemičitých nanovláken je jejich použití v medicíně a ve zdravotnictví. Vedle toho, že nejsou křemičitá nanovlákná toxická a jsou biodegradabilní, mají také vhodný povrch pro navázání biologických látek [33]. Velkou výhodou je i to, že lze částečně řídit uvolňování navázaného léčiva. U kovalentních vazeb totiž dochází k pomalejšímu uvolňování léčiva než u slabých interakcí, kde se léčivé látky uvolňují rychleji [45].

Na povrch nanovláken můžeme navázat organické molekuly jako jsou antibiotika, enzymy či polypeptidy. Anorganické substráty, na které tyto biomolekuly vážeme, mohou být keramické, skleněné či kovové. Pokud je provedena fyzikální modifikace povrchu substrátu, jsou imobilizované molekuly drženy pouze slabými interakcemi (Van der Waalsovy síly) a mohou být snadno přerušeny pouhou změnou stavu, kterou může být například změna pH. Dále lze provést úpravu povrchu chemickými metodami, kdy dochází ke vzniku vazby mezi povrchem substrátu a imobilizovanou molekulou [37].

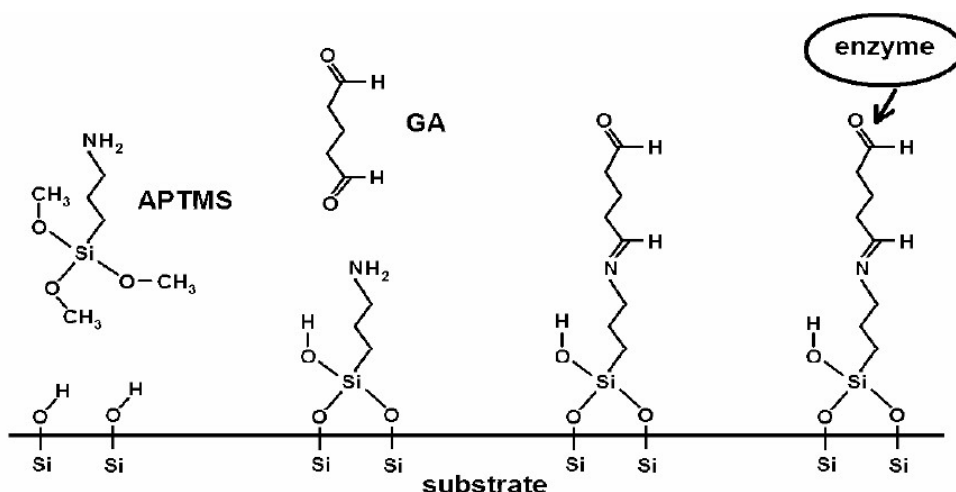
Biologickými agens vázanými na substrát mohou být enzymy, které se často používají kvůli své velké specifitě. Použitelnost enzymů je omezena jejich stabilitou. Tu lze částečně ovlivnit možnou imobilizací. Nejčastěji používané materiály, na které jsou enzymy imobilizovány, jsou opět křemičitá nanovlákná, keramika a sklo [37, 38, 51].

Jedna z možností navázání enzymů je připojení glutaraldehyd na amino-skupinu již navázaného silanu (APTES, APTMS). Nejlepší navázání enzymů probíhá v destilované vodě společně s velmi zředěnou kyselinou octovou. Navázání enzymů však probíhá výborně i v případě cyklohexanu a izopropylalkoholu. Při imobilizaci enzymu je nutné udržení pH, které je dáno druhem imobilizovaného enzymu [51].

Jeden z možných způsobů, kterým lze pomocí silanizace navázat enzymy na povrch substrátu, popisuje *Obr. 2.10*. Zde dochází k silanizaci pomocí APTMS a následnému navázání glutaraldehydu (GA) na amino-skupinu. Na glutaraldehyd lze potom navázat daný enzym [37].

Imobilizace antibiotik se provádí obdobnou technikou jako navázání enzymů na povrch vláken. Antibiotika, která lze navázat na vlákna po silanizaci, jsou například penicilin, tetracyklin, ciprofloxacin, clindamycin a další [37].

Nejlepší výsledky imobilizace antibiotik byly zjištěny u chitosanových nanovláken a křemičitých nanovláken [37].



Obr. 2.10 Připojení enzymu na povrch křemičitých nanovláken přes silanizaci pomocí APTMS a pomocné molekuly GA [51].

### 2.3.1 Biologické aplikace křemičitých nanovláken

Nejperspektivnější aplikací křemičitých nanovláken je navázání určitých druhů biomolekul, které lze použít pro léčbu. Těmito látkami mohou být antibiotika, analgetika či různé typy enzymů, které lze na povrch vláken imobilizovat díky silanizaci [52]. Dále to mohou být látky pro léčbu diabetu či pro léčbu nádorů a některých typů rakoviny [25].

Nanovlákná s imobilizovanými biomolekulami lze použít i k výrobě biomembrán pro separaci či biokatalýzu [37].

V biomedicině by bylo možné z křemičitých nanovláken vyrábět např. obvazy, které zjevně vykazují daleko lepší vlastnosti než obvazy obyčejné [52]. Tyto obvazy se totiž nelepí k pokožce a nestrhávají s sebou čerstvě zahojenou tkáň. Doléhají přímo na ránu [25] a tím je možno docílit toho, že se mezi ránou a obvazem nevyskytují žádné vzduchové bublinky. Navíc jsou křemičitá nanovlákná biokompatibilní [25, 53]. Rozpuštění křemičitých nanovláken, která jsou přiložena na ránu, trvá až sedm dní, což je výhodou, neboť se obvazy nemusí měnit tak často a nehrozí tak velké riziko infekce rány [53].

Jak již bylo zmíněno výše, lze částečně ovlivnit i rychlost uvolňování léčiva. Z tohoto důvodu jsou křemičitá nanovlákná v kombinaci s širokospektrými antibiotiky skvělou možností léčby chronických ran [25].

### 2.3.2 Charakteristika účinku tetracyklinu na bakterie *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus*

Tetracyklin je širokospektrální bakteriostatické antibiotikum s účinkem na proteosyntézu bakterií. Blokuje připojení t-RNA na m-RNA [25]. Tetracyklin působí na mnoho gramnegativních i grampozitivních bakterií. Gramnegativní a grampozitivní bakterie vykazují značné odlišnosti ve své stavbě buněčné stěny, čímž je způsobena jejich odlišná reakce na antibiotika [54].

Buněčná stěna se u bakterií nachází nad cytoplasmatickou membránou a slouží jako ochrana celé buňky, neboť je to jediný pevný stavební materiál, který se v buňce nachází. Buněčná stěna uděluje buňce tvar, poskytuje ji chemickou odolnost a chrání ji proti vysušení a vnějšími vlivy. Není však zcela nepropustná, slouží jako „síta“ molekul, které projdou dovnitř do buňky a z buňky ven. V buněčné stěně grampozitivních i gramnegativních bakterií se nachází peptidoglykan (mukopeptid, murein). Peptidoglykan je složen s dvou aminocukrů, které jsou propojeny mezi sebou a tvoří polymerní síť. Transpeptidázy jsou proteiny, které na sebe váží penicilin (penicillin binding proteins), ovlivňují navázání antibiotika, protože mají k různým druhům antibiotik různou afinitu. Je potřeba, aby syntéza peptidoglykanů probíhala současně s růstem buňky. Navázáním antibiotika může dojít k inhibici transpeptidázové reakce a tím i k inhibici syntézy peptidoglykanu. To způsobí usmrcení bakterie [54].

#### Grampozitivní bakterie (G+):

- Síť peptidoglykanů je pevnější, více pospojovaná a skládá se z více vrstev sítě peptidoglykanů
- Buněčnou stěnou prostupují teichoové kyseliny, které k sobě váží zejména dvojmočné kationty  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$  plnící funkci povrchových antigenů těchto bakterií.

#### Gramnegativní bakterie (G-):

- Má tenčí buněčnou stěnu, která je daleko složitější z hlediska výstavby. Nad vrstvou peptidoglykanů je ještě fosfolipidová dvojvrstva s bílkoviny.
- Mezi těmito dvěma vrstvami se nachází mnoho látek, ať už metabolity, živiny či enzym  $\beta$ -laktamáza. Tento enzym štěpí penicilin a tím zajišťuje rezistenci bakterie na toto antibiotikum.
- Na vnější straně fosfolipidové dvojvrstvy se nachází lipopolysacharidy, ty mají antigenní funkci. V případě, že dojde ke zkrácení či zničení lipopolysacharidů, ztrácí

bakterie svou ochranu a stává se citlivou a náchylnou na vnější podmínky, zejména hydrofobní agens.

Ačkoliv je gramnegativní buňka mechanicky křehčí, její výhodou zůstává to, že je chemicky odolnější, než buňka grampozitivní [54].

Bakterie *Staphylococcus aureus* je grampozitivní, avšak jedná se o rezistentní kmen. Rezistentní bakterie rostou většinou pomaleji než kmeny citlivější. Velké společenství *Staphylococcus aureus* je mnohem více rezistentní než malá společenství. V nepřítomnosti antibiotika je schopnost konkurence rezistentních kmenů bakterií oproti jejich citlivým partnerům malá. Odolné rezistentní bakterie tak potom mohou být v prostředí bez antibiotika skutečně v nevýhodě oproti citlivým buňkám [55].

## 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Použité chemikálie

APTES – (3-Aminopropyl)triethoxysilane  $\geq 98\%$  - Sigma PCode 101503090

EtOH - Ethylalkohol p.a. 99,9 % - Penta 11/2014 č.š.: 1710201014

IPA – Izopropylalkohol čistý - Lachner PP/2014/08866

TETRACYKLIN – SigmaPCode 101410135

### 3.2 Výroba křemičitých nanovláken

Křemičitá nanovlákná byla vyrobena pomocí metody sol-gel elektrostatickým zvlákňováním na Technické univerzitě v Liberci.

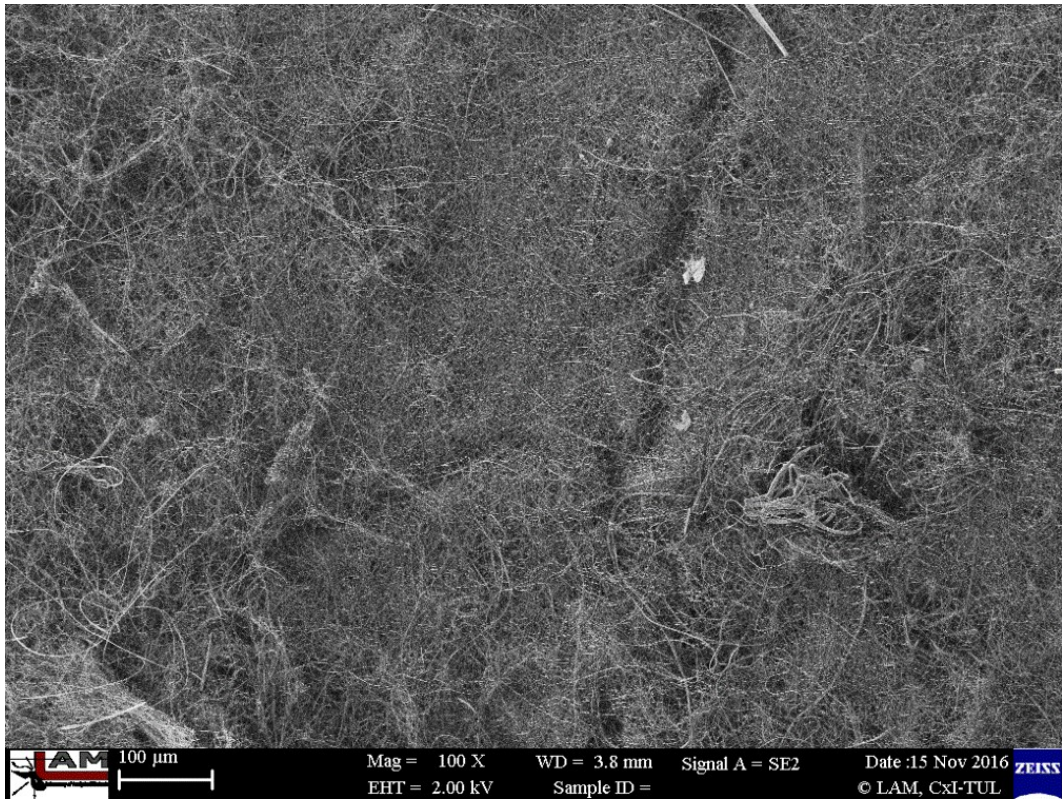
Takto vyrobené sérii vláken bylo přiděleno číslo šarže S01/9 – 2.

#### Charakteristika vyrobené nanovláknenné vrstvy

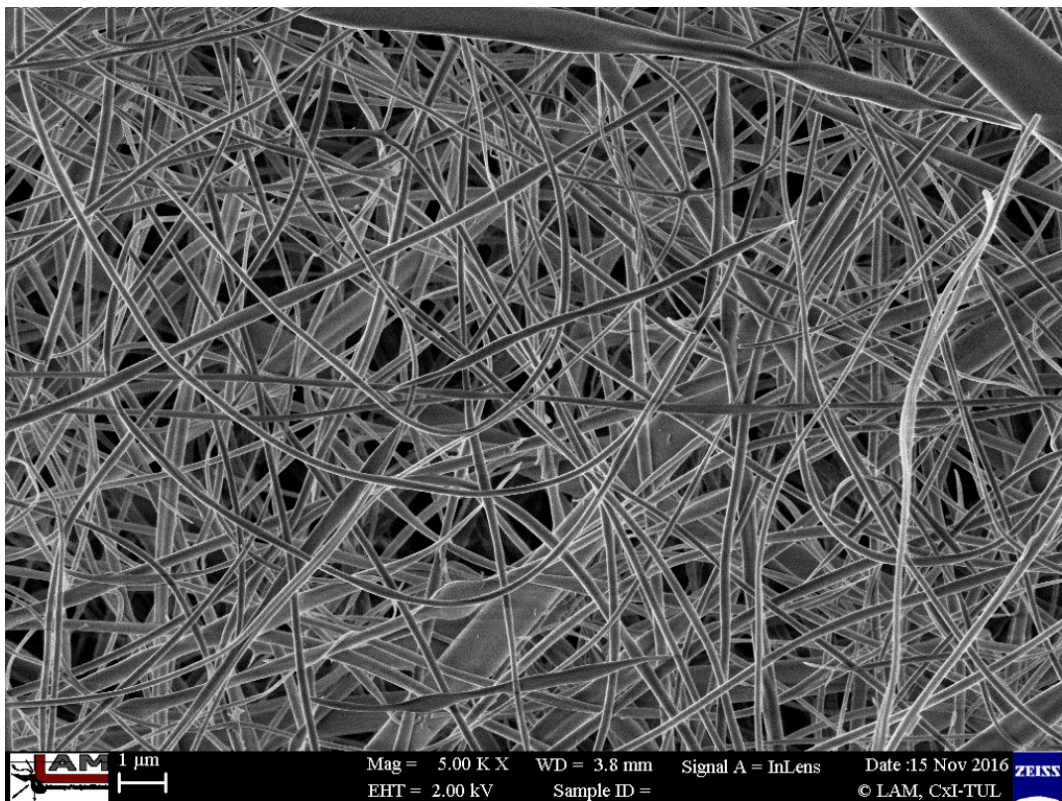
Křemičitá nanovlákná byla vyhodnocena pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu Carl Zeiss ULTRA Plus. Snímky, které zachycují tvar a strukturu vyrobených křemičitých nanovláken jsou vidět na následující straně.

Na *Obr. 3.1* jsou zachycena vlákna, kde dané měřítko obrázku má hodnotu 100  $\mu\text{m}$ . Zde můžeme pozorovat strukturu celé vrstvy vláken. Nanovláknenná vrstva je tenká s jemnými nehomogenitami.

Dále na *Obr. 3.2* jsou zachycena vlákna, kde dané měřítko obrázku je 1  $\mu\text{m}$ . Zde lze pozorovat detail křemičitých nanovláken. Z hlediska mikroskopického lze říci, že vlákna jsou krásně hladká bez korálového efektu a jakýchkoliv hrudek. Také lze pozorovat různé rozměry a tvary vláken. Některé jsou až v jednotkách mikrometrů, jiné mají pouze submikronovou velikost. U určitých submikronových vláken lze pozorovat tvar spíše plochých pásků.



*Obr. 3.1 Připravená nanovláknenná vrstva SiO<sub>2</sub>.*



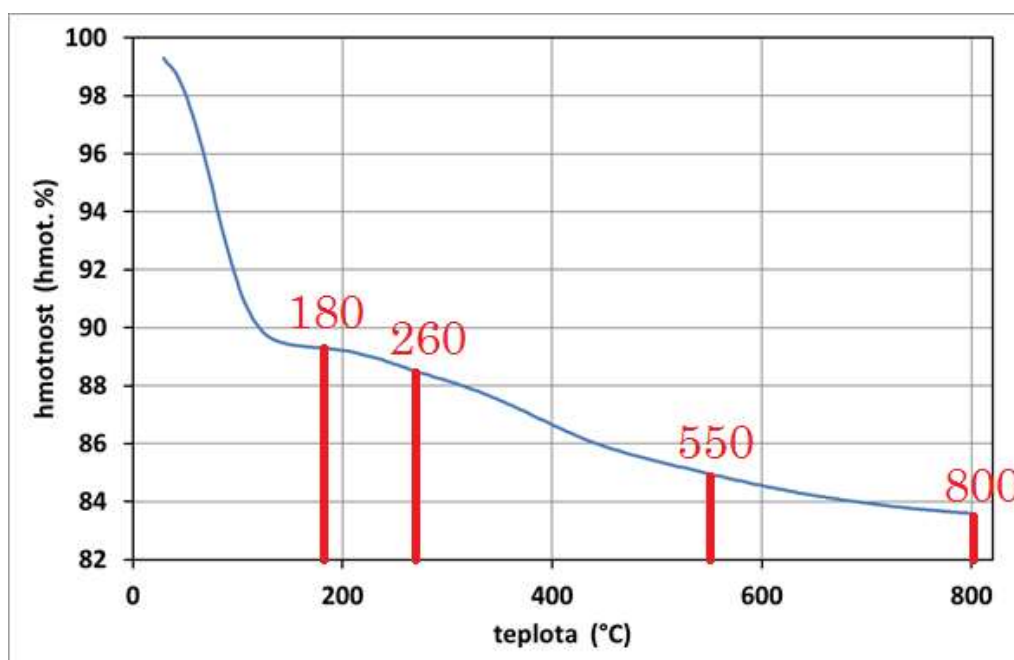
*Obr. 3.2 Nanovláknenná vrstva SiO<sub>2</sub> detail.*

### 3.3 Stabilizace křemičitých nanovláken

Střední část vyrobených nanovláken s optimálními vlastnostmi (dostatečnou tloušťkou) měla rozměry 25 x 30 cm. Na testování byly použity vzorky šarže S 01/9 – 2 ze středu vzorku. Část této nanovláčkové vrstvy byla následující den po zvláknění rozstříhána na rozměry 5 x 4 cm a stabilizována při vybraných teplotách (180 °C, 260 °C, 550 °C a 800 °C). Ostatní části byly ponechány v nestabilizovaném stavu. Jejich stabilizace byla provedena až v daném termínu po zvláknění (po 1 měsíci, po 2 měsících, po 3 měsících). Všechna nanovláčková byla skladována v aluminiové fólii, která byla řádně uzavřena, aby nedošlo k poškození či znečištění nanovláčků.

Stabilizace nanovláčků při teplotách 180 °C a 260 °C byla prováděna v sušárně na sterilizačním sítu. Pro stabilizaci nanovláčků při teplotách 550 °C a 800 °C byla použita muflová pec. Kvůli možnému znečištění a kontaminaci vláčků byly vzorky v muflové peci položeny mezi dvě korundové destičky. Po stabilizaci vláčků při 800 °C bylo potřeba pracovat s těmito vzorky s rouškou, kvůli potenciální karcinogenitě takto zpracovaných nanovláčků.

Teploty, na které byla vláčková stabilizována jsou vyznačeny v *Grafu 3.1*. Tyto teploty byly vybrány jako zajímavé, kvůli změně hmotnosti a rozměrům. Změna hmotnosti v závislosti na teplotě stabilizace je zaznamenána v *Grafu 3.1*.



*Graf 3.1* Znáznorněné teploty (červeně), které byly použity při tepelné stabilizaci vzorků.

### 3.4 Postup silanizace křemičitých nanovláken

Pro navázání tetracyklinu na křemičitá nanovlákná je nejprve zapotřebí navázat funkční aminoskupinu na Si - OH skupiny nanovláken. Toho lze docílit navázáním (3 - aminopropyl)triethoxysilanu (APTES) na povrch křemičitých nanovláken. Pro silanizaci nanovláken byl vyroben základní roztok. Nejprve se připravilo 20 ml 2% APTES (APTES byl rozpuštěn v IPA), ke kterému bylo přidáno 450 ml IPA a nakonec 30 ml H<sub>2</sub>O. Kvůli APTES bylo potřeba pracovat s plastovým nádobím. Roztok byl rozdělen do plastových misek a vzorky byly do tohoto roztoku ponořeny po dobu 1 hodiny. Aby nedošlo k záměně vzorků, byl vždy jeden vzorek položen právě do jedné misky s roztokem. Toto opatření bylo provedeno i u oplachů nanovláken. Oplachy byly prováděny dvakrát v destilované vodě vždy po dobu 5 minut a dále jednou v kyselině octové (0,5 ml koncentrované CH<sub>3</sub>COOH / 500 ml vody) po dobu 10 minut. Po důkladném opláchnutí nanovláken byly vzorky sušeny v sušárně při teplotě 30 °C po dobu 3 hodin. Mokrý vzorky byly opatrně pokládány přímo na nerezové sterilizační síto. Dno sterilizačního síta bylo položeno ve výšce 5 cm ode dna sušárny na skleněných kádinkách. Tím bylo zajištěno lepší proudění teplého vzduchu k dosušení vzorků. Suché vzorky se dobře snímaly a nepřichytávaly se k sítu. Po dosušení již nebyla viditelná struktura mřížky na nanovláknenné vrstvě.

Vzniklé aminoskupiny na povrchu vláken nyní slouží pro imobilizaci tetracyklinu.

### 3.5 Imobilizace antibiotik

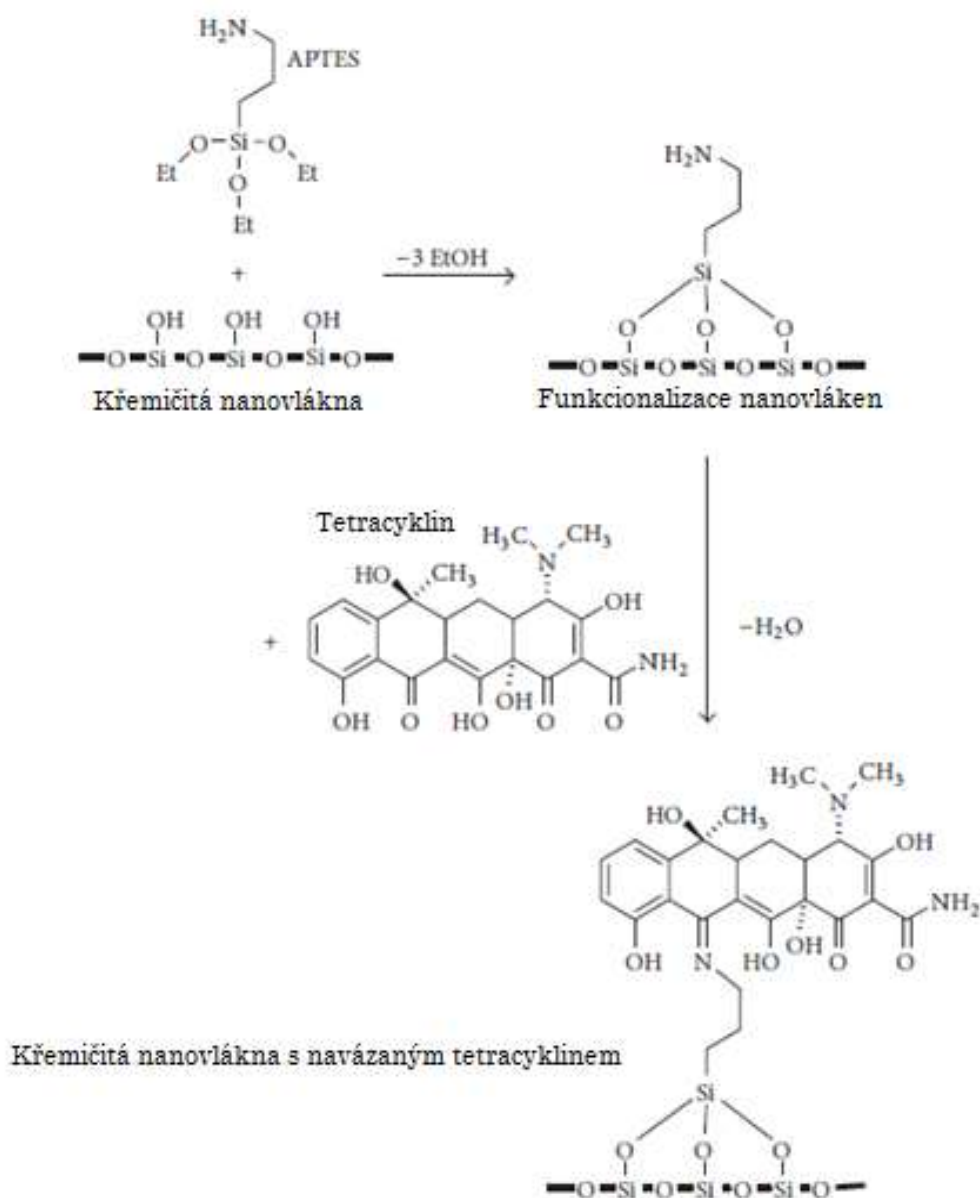
Pro první sérii vzorků byla připravena navážka 0,5 g tetracyklinu, která byla rozpuštěna v absolutním ethylalkoholu p.a. 99,9 % a doplněna po značku v 100 ml odměrné baňce. Připravené vzorky nanovláken byly po silanizaci namočený v roztoku tetracyklinu v Petriho misce. Vzorky byly ponořeny do roztoku a miska uchována ve vysušeném exsikátoru při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách byly vzorky 1x opláchnuty v absolutním ethylalkoholu. Oplachy nanovláken s navázaným tetracyklinem se prováděly ve skleněné Petriho misce. V plastovém nádobí by totiž mohlo dojít k znečištění misek tetracyklinem, který pak již z plastu nelze důkladně omýt. Po oplachu byla nanovlákná dosušena po dobu 20 minut při teplotě 30 °C v sušárně výše popsaným postupem. Vzorky s navázaným tetracyklinem byly uloženy do aluminiové fólie.



Pro druhou, třetí a čtvrtou sérii vzorků byla použita 1,5 x větší navážka tetracyklinu a jí odpovídající množství absolutního ethylalkoholu p.a. 99,9 %, z důvodu většího počtu vzorků.

Pro jednodušší manipulaci s nanovláčenou vrstvou při oplachování, byla použita pevná tenká fólie, na kterou byla vlákna nabírána a následně přemístěna na dané místo. Důvodem bylo to, že nanovláčka byla mokrá a nebylo možné pracovat s pinzetou, aby nedošlo k poškození nanovláčkové vrstvy.

Proces, jak dané reakce probíhají, popisuje *Obr. 3.3*.



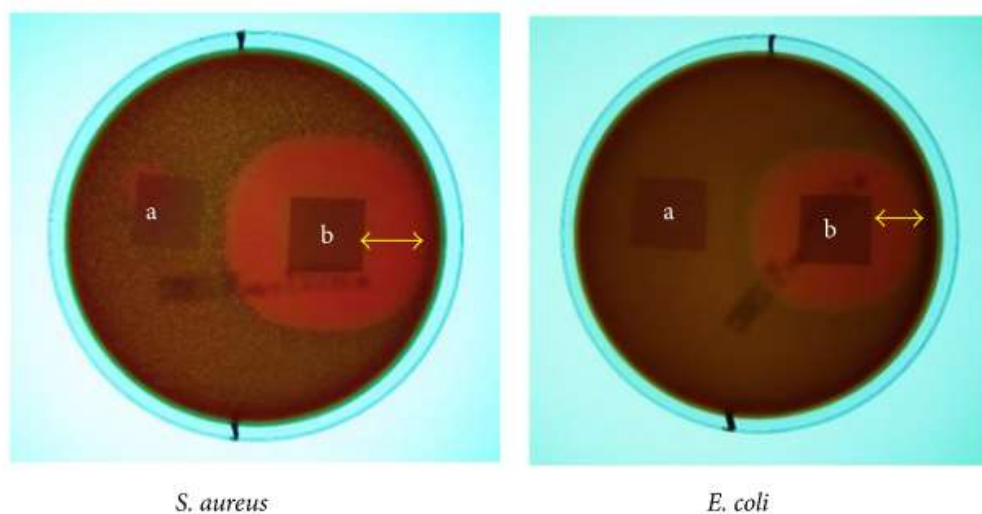
*Obr. 3.3 Připojení tetracyklinu na aminoskupinu APTES na křemičitá nanovláčka.*

Celý postup byl opakován i pro další vzorky. Podrobnosti popisují *Tab. 6.2 – Tab- 6.9* v přílohách.

### 3.6 Testování vzorků křemičitých nanovláken s navázaným tetracyklinem pomocí metody AATCC Test Method: 147-2004 – Antibacterial Activity Assessment of Textile materials

Biologické testování bylo provedeno na dvou typech bakterií – *Staphylococcus aureus* a *Escherichia Coli*. Tyto dva druhy bakterií byly zvoleny z důvodu, že v prvním případě se jedná o bakterii grampozitivní a v druhém případě o gramnegativní. Z jednoho vzorku vláken byly vždy vystřiženy 2 čtverce o rozměrech 18 x 18 mm. Každý čtverec byl použit pro jeden typ bakterií. Do Petriho misky s krevním agarem byl naočkován 1 ml bakteriálního kmene o koncentraci  $10^8$  CFU/ml a následně byla doprostřed misky položena upravená nanovláčková vrstva o rozměrech 18 x 18 mm. Po uzavření se Petriho misky nechaly inkubovat v termostatu při 37 °C po dobu 24 hodin.

Výsledkem této metody testování jsou tzv. halo zóny, což jsou plochy v okolí nanovláken, kde dochází k usmrcení daného kmene bakterií kvůli antibakteriálním účinkům tetracyklinu. Na *Obr. 2.12* je patrné, jak působí na bakterie vlákna bez navázaného tetracyklinu (*a*) v porovnání s vlákny s navázaným tetracyklinem (*b*) a to na bakteriích *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus* [25].



*Obr. 3.4* Testování křemičitých nanovláken čistých (*a*) a s navázaným tetracyklinem (*b*) na bakteriích *Staphylococcus aureus* (vlevo) a *Escherichia Coli* (vpravo) [25].

Druhý den bylo vše fotograficky zdokumentováno a byly změřeny rozměry halo zón, kde došlo k potlačení množení bakterií. Měření bylo prováděno pomocí posuvného digitálního měřítka. Byly změřeny čtyři rozměry od stěn čtverce vláken až po okraje halo zón. Čtyři měřené rozměry halo zón jsou znázorněny na *Obr.3.5*. Tyto čtyři rozměry byly zprůměrovány a zapsány do tabulek jako původní průměr. V některých případech byl z neznámých důvodů některý z těchto rozměrů výrazně větší (kladně) a proto byl vypuštěn a nový průměr byl zapsán do tabulek jako upravený průměr (viz kapitola 4).

Při hodnocení výsledků na základě rozměrů halo zóny je však nutné si uvědomit, že se jedná o biochemický systém, na který mají výrazný vliv i nejmenší odchylky a nepravidelnosti a opakovatelnost je na úrovni několika mm. Proto nelze dělat závěry z malých rozdílů průměrných hodnot a je nutné sledovat trendy.



*Obr. 3.5 Způsob odečítání rozměrů halo zóny při testování vzorků. Oboustranné šipky znázorňují měřené rozměry.*

### 3.7 Rozdělení a označení vzorků

Vzorky byly rozděleny do dvou řad A a B. Ty lze dále rozdělit na skupiny A0, A1, A2, A3, B1, B2 a B3. Řada A obsahuje vzorky stabilizované ihned po zvláknování, řada B potom vzorky stabilizované po daných měsících. Skupiny A0, A1, A2 a A3 zahrnují vzorky stabilizované ihned, kde číslo za písmenem A, určuje měsíc silanizace a následné navázání tetracyklinu. U skupin B1, B2 a B3 jsou vzorky, které byly stabilizovány až po dané době, kdy měsíc stabilizace, silanizace a následného navázání tetracyklinu je číslo za písmenem B.

Pro snazší orientaci ve velkém množství vzorků bylo každému vzorku přiděleno číslo. To, jaké číslo přísluší danému vzorku, popisuje *Tab. 3.1*. Kompletní informace o dnech, kdy byly experimenty prováděny, jsou uvedeny v *Tab. 6.1* v Příloze. Ze seznamu zkratk a způsobu číslování lze tedy říct, že například vzorek č. 1 je označení pro vlákna stabilizovaná ihned po zvláknování na teplotu 180 °C, na kterých byla silanizace provedena následně po stabilizaci.

*Tab. 3.1 Čísla jednotlivých vzorků, které byly použity při testování. K – Kavánová, S – silanizace, T – tetracyklin. A – vzorky stabilizované ihned. B – vzorky stabilizované až po určité době. Číselná hodnota je teplota stabilizace.*

<b>Pořadové číslo vzorku</b>	<b>Označení vzorku</b>	<b>Pořadové číslo vzorku</b>	<b>Označení vzorku</b>
1.	K180A0ST	15.	K550A0ST
2.	K180A1ST	16.	K550A1ST
3.	K180A2ST	17.	K550A2ST
4.	K180A3ST	18.	K550A3ST
5.	K180B1ST	19.	K550B1ST
6.	K180B2ST	20.	K550B2ST
7.	K180B3ST	21.	K550B3ST
8.	K260A0ST	22.	K800A0ST
9.	K260A1ST	23.	K800A1ST
10.	K260A2ST	24.	K800A2ST
11.	K260A3ST	25.	K800A3ST
12.	K260B1ST	26.	K800B1ST
13.	K260B2ST	27.	K800B2ST
14.	K260B3ST	28.	K800B3ST

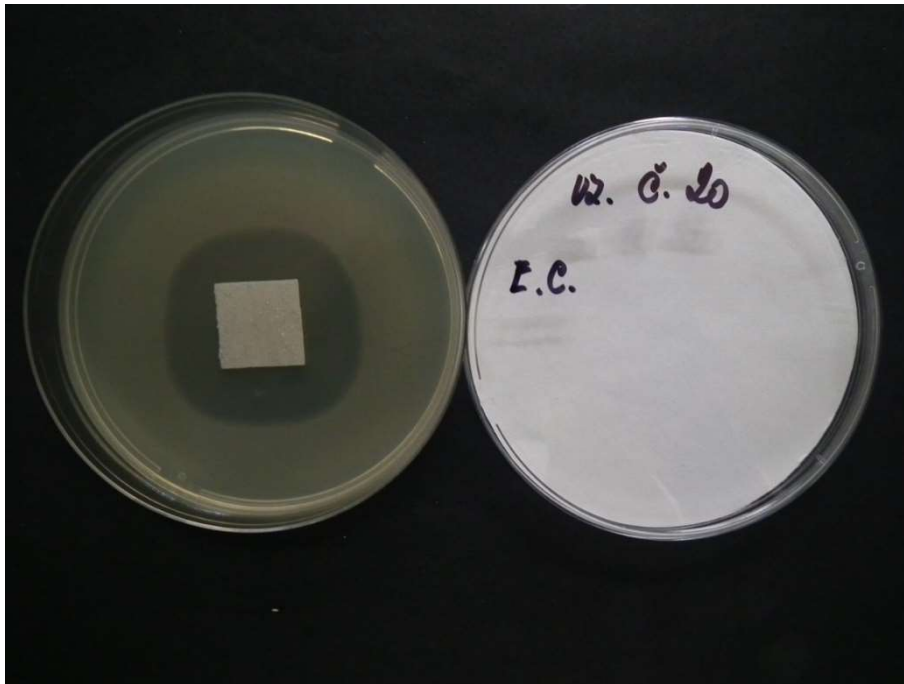
## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

V této práci bylo zjišťováno, jak různý způsob zpracování křemičitých nanovláken ovlivňuje silanizaci a následně jejich antibakteriální aktivitu. Výsledky byly vyhodnocovány z hlediska různé teploty stabilizace vzorků, časového odstupu stabilizace vzorků od jejich zvlákňování, časového odstupu silanizace vzorků od jejich stabilizace a také z hlediska typů bakterií na kterých byla vlákna testována. Vycházelo se z toho, že množství navázaného antibiotika, které působí na tyto bakterie, určuje schopnost silanizace křemičitých nanovláken.

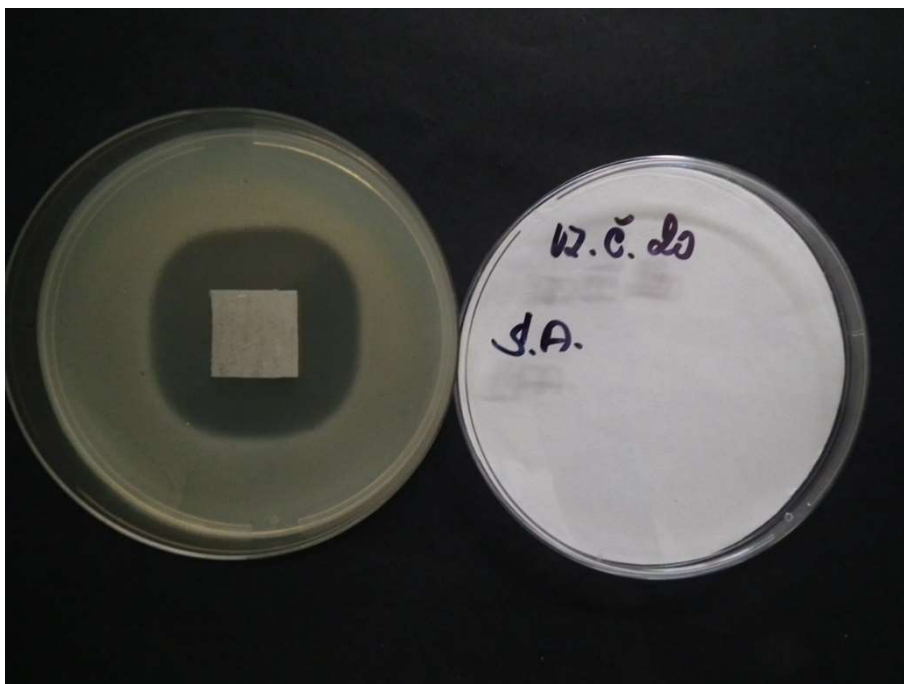
Vzhledem k nerovnoměrnému rozmístění halo zón okolo některých vzorků bylo zapotřebí přepočítání některých jejich průměrů. Důvodem byla značná odchylka některého rozměru halo zón od ostatních. Tento odchýlný rozměr byl proto pro zvýšení objektivitu výsledků vyřazen. Příslušná hodnota byla vyloučena, pokud byla důvodně podezřelá jako odchýlná, tj. od průměru se lišila o více než dvojnásobek směrodatné odchylky (95% pravděpodobnost). Nutno také zdůraznit, že pokud se určité hodnoty zanedbávaly, nikdy nedošlo k zanedbání nejnižších hodnot, vždy se jednalo o hodnoty, které byly odchýleny směrem nahoru (kladným směrem). Úprava průměru rozměrů je zaznamenána v *Tab. 3.2* a *Tab. 3.3*. V grafech jsou zobrazeny již tyto upravené rozměry. Všechna naměřená data i upravená data jsou shrnuta v *Tab. 6.2* až *6.9* v Příloze.

Pro názornost jsou na *Obr. 4.1* a *Obr. 4.2* zachyceny vzorky nanovláken s navázaným tetracyklinem, u kterých došlo k rovnoměrnému rozmístění halo zón. Všechny čtyři rozměry se ve svých hodnotách téměř shodují a není patrná žádná velká odchylka. Na *Obr. 4.1* je vzorek vláken, který byl testován na bakterii *Escherichia Coli*, na *Obr. 4.2* je potom vzorek, který byl testovaný na bakterii *Staphylococcus aureus*.

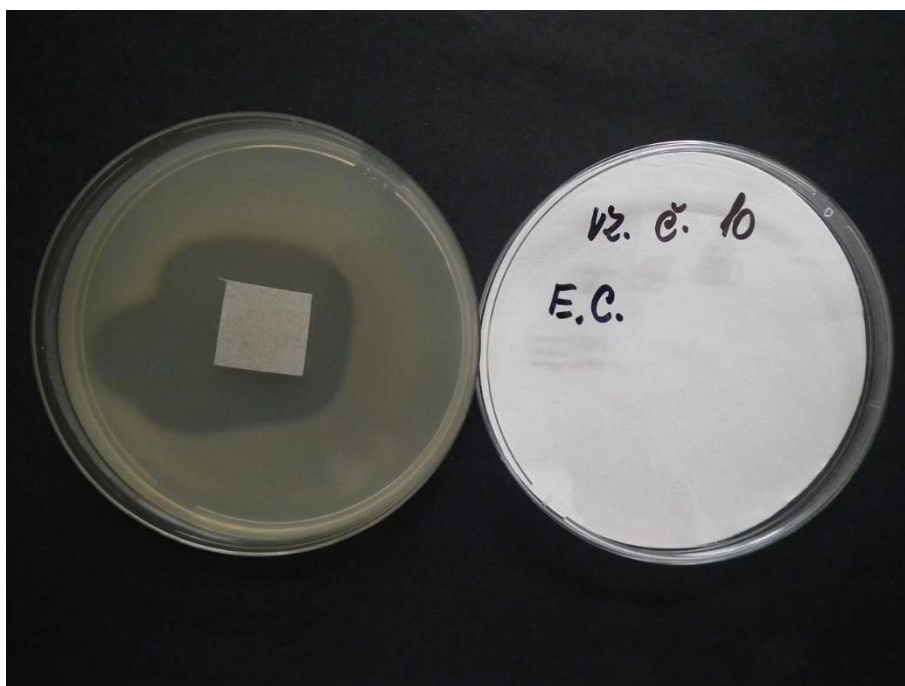
*Obr. 4.3* a *Obr. 4.4* zachycují vzorky nanovláken s navázaným tetracyklinem, u kterých došlo k nerovnoměrnému rozmístění halo zón. Na *Obr. 4.3* je vzorek vláken, který byl testován na bakterii *Escherichia Coli*, na *Obr. 4.4* je potom vzorek, který byl testovaný na bakterii *Staphylococcus aureus*. Na těchto obrázcích je patrné, že jeden z rozměrů halo zón je značně odchýlený od ostatních a nelze s ním dále pracovat.



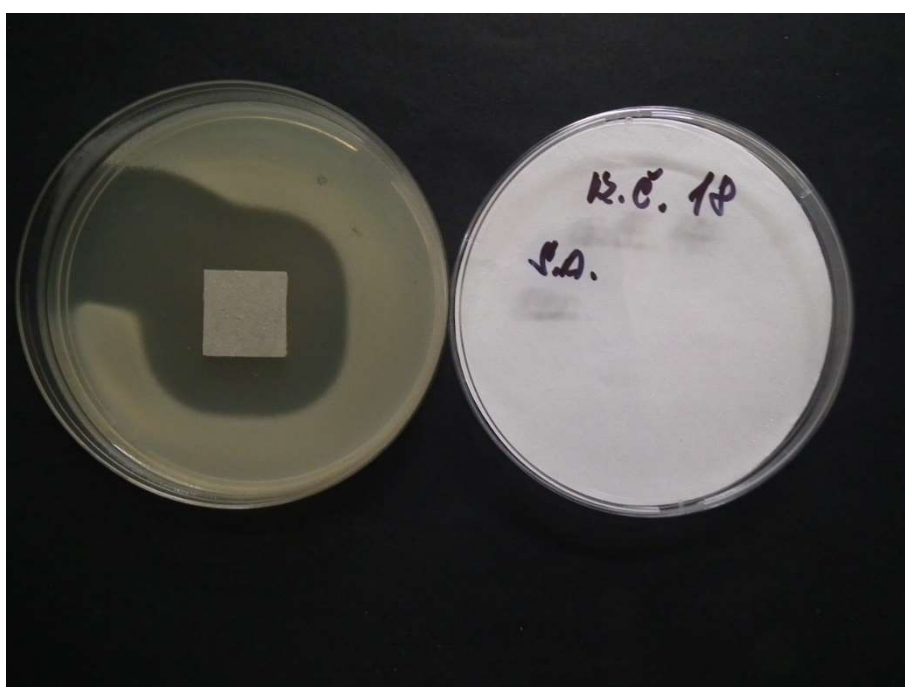
Obr. 4.1 Křemičitá nanovláknna s navázaným tetracyklinem, testovaná na bakterii *Escherichia Coli*. U tohoto vzorku vláken došlo k rovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken.



Obr. 4.2 Křemičitá nanovláknna s navázaným tetracyklinem, testovaná na bakterii *Staphylococcus aureus*. U tohoto vzorku vláken došlo k rovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken.



*Obr. 4.3 Křemičitá nanovláčna s navázaným tetracyklinem, testovaná na bakterii Escherichia Coli. U tohoto vzorku vláken došlo k nerovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken.*



*Obr. 4.4 Křemičitá nanovláčna s navázaným tetracyklinem, testovaná na bakterii Staphylococcus aureus. U tohoto vzorku vláken došlo k nerovnoměrnému rozmístění halo zón okolo nanovláken. Důvodem tohoto efektu je pravděpodobně nehomogenní úprava vzorku.*

Tab. 3.1 Data řady A, kde EC znamená bakterie *Escherichia Coli* a SA bakterie *Staphylococcus aureus*. Hodnoty označeny tučným písmem jsou upraveny (přepočítány při zanedbání určitého rozměru, který by mohl zkreslit výsledky).

Skupina	Přepočet rozměrů		EC	EC	SA	SA
	Číslo vzorku	Teplota stabilizace [°C]	Původní průměr [mm]	Přepočet průměru [mm]	Původní průměr [mm]	Přepočet průměru [mm]
A0	1	180	17,6	<b>17,6</b>	9,2	<b>9,2</b>
	8	260	19,7	<b>19,7</b>	9,2	<b>9,2</b>
	15	550	23,6	<b>21,3</b>	8,9	<b>8,9</b>
	22	800	19,5	<b>19,5</b>	9,6	<b>9,6</b>
A1	2	180	20,0	<b>20,0</b>	19,7	<b>13,9</b>
	9	260	23,1	<b>19,7</b>	12,7	<b>9,0</b>
	16	550	25,6	<b>19,7</b>	9,8	<b>9,8</b>
	23	800	24,5	<b>21,2</b>	9,9	<b>9,9</b>
A2	3	180	11,9	<b>11,9</b>	15,2	<b>12,7</b>
	10	260	10,9	<b>10,9</b>	12,8	<b>12,8</b>
	17	550	11,4	<b>11,4</b>	15,4	<b>13,7</b>
	24	800	16,3	<b>13,6</b>	21,8	<b>16,9</b>
A3	4	180	10,8	<b>10,8</b>	17,0	<b>14,3</b>
	11	260	11,3	<b>11,3</b>	14,3	<b>13,1</b>
	18	550	11,2	<b>11,2</b>	17,1	<b>12,9</b>
	25	800	11,4	<b>11,4</b>	14,1	<b>14,1</b>



Tab. 3.2 Vzorky řady B, kde EC znamená bakterie *Escherichia Coli* a SA bakterie *Staphylococcus aureus*. Hodnoty označeny tučným písmem jsou upraveny (přepočítány při zanedbání určitého rozměru, který by mohl zkreslit výsledky).

Skupina	Přepočet rozměrů		EC	EC	SA	SA
	Číslo vzorku	Teplota stabilizace [°C]	Původní průměr [mm]	Přepočet hodnoty [mm]	Původní průměr [mm]	Přepočet hodnoty [mm]
B1	5	180	17,6	<b>17,6</b>	9,2	<b>9,2</b>
	12	260	19,7	<b>19,7</b>	9,2	<b>9,2</b>
	19	550	23,6	<b>21,3</b>	8,9	<b>8,9</b>
	26	800	19,5	<b>19,5</b>	9,6	<b>9,6</b>
B2	6	180	18,8	<b>18,8</b>	9,6	<b>9,6</b>
	13	260	18,9	<b>18,9</b>	9,0	<b>9,0</b>
	20	550	27,8	<b>19,7</b>	12,6	<b>9,4</b>
	27	800	19,4	<b>19,4</b>	9,3	<b>9,3</b>
B3	7	180	11,7	<b>11,1</b>	17,7	<b>13,5</b>
	14	260	11,3	<b>11,3</b>	16,6	<b>13,1</b>
	21	550	11,0	<b>10,5</b>	12,6	<b>12,6</b>
	28	800	11,4	<b>11,4</b>	18,6	<b>15,9</b>

#### 4.1 Porovnání výsledků z hlediska typu bakterie

Bakterie *Escherichia Coli* je gramnegativní a měla by být chemicky odolnější než bakterie *Staphylococcus aureus*, která je grampozitivní a její buněčná stěna není tak odolná. *Staphylococcus aureus* však patří mezi rezistentní bakterie, které jsou schopny odolávat nejrůznějším antibiotikům, což značně ovlivňuje výsledky. Na bakterii *Staphylococcus aureus* velké množství antibiotika neúčinkuje tolik, jako v případě bakterie *Escherichia Coli*. U menšího množství antibiotika je tomu naopak. Důsledkem je rozdílnost rozměrů halo zón u každé bakterie. Pro vzorky testované na bakterii *Staphylococcus aureus* je patrné, že se halo zóny zvětšují s přibývajícím časovým odstupem silanizace od zvláknování a stabilizace. U bakterie *Escherichia Coli* je tomu naopak, s přibývajícím dobou prodlevy stabilizace a silanizace klesá rozměr halo zón. Toto je vidět na *Grafu 4.5* v kapitole 4.3, kde u vzorků, testovaných na bakterii *Staphylococcus aureus* dochází k opačnému průběhu grafu než v případě vzorků, testovaných na bakterii *Escherichia Coli*.

## 4.2 Porovnání výsledků z hlediska teploty stabilizace

*Graf 4.1* porovnává vzorky řady A, testované na bakterii *Escherichia Coli* z hlediska teploty tepelné stabilizace nanovláken. Na *Grafu 4.1* je patrné, že v případě jednotlivých skupin řady A, testovaných na bakterii *Escherichia Coli*, se rozměr halo zón liší pouze v řádu milimetrů. Tyto rozdíly mezi jednotlivými rozměry jsou nepodstatné a proto zanedbatelné. Díky tomu lze tedy říci, že v tomto případě teplota tepelné stabilizace nanovláken nemá prokazatelný vliv na rozměr halo zón.

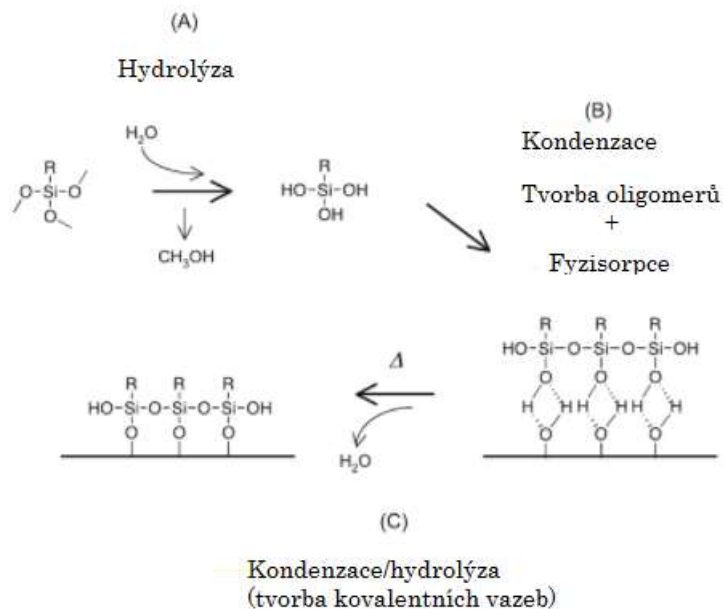
*Graf 4.2* porovnává vzorky řady A, testované na bakterii *Staphylococcus aureus*. Jak je vidět na *Grafu 4.2* u vzorku skupiny A1, který byl stabilizovaný na 180 °C a vzorku ze skupiny A2, stabilizovaném na teplotu 800 °C došlo v obou případech k odchýlení od ostatních vzorků těchto skupin. U těchto dvou vzorků je však patrný velký rozdíl jednotlivých rozměrů halo zón. Po přepočítání by vyhovovala pouze jedna jediná hodnota, proto byl započítán i další rozměr. Tento vzorek však nelze pokládat za směrodatný. Při srovnání s *Grafem 4.1*, kde by průběh grafu měl být opačný, protože se jedná o bakterii *Escherichia Coli*, avšak grafy jdou stejným směrem, nelze tuto hodnotu pokládat za věrohodnou. Lze tedy říci, že i v tomto případě teplota stabilizace nemá prokazatelný vliv na rozměry halo zón a schopnost silanizace.

*Graf 4.3* již porovnává skupiny řady B, testované na bakterii *Escherichia Coli*. Opět se zde jeví rozdíl rozměru halo zón mezi jednotlivými teplotami dané skupiny nevýznamný. I zde lze tedy říci, že teplota stabilizace nemá prokazatelný vliv na schopnost silanizace.

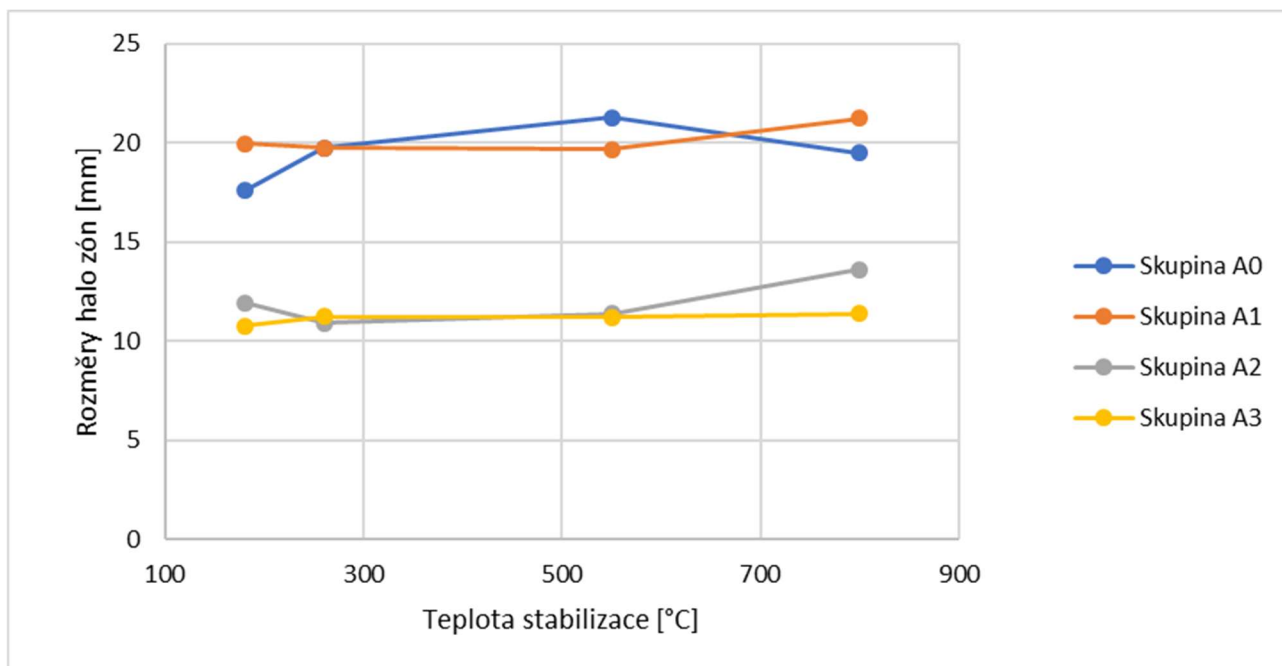
*Grafu 4.4* porovnává vzorky řady B testované na bakterii *Staphylococcus aureus*. Z *Grafu 4.4* je patrné, že hodnoty halo zón u jednotlivých skupin se nijak zvláště neliší. Jedinou odchylkou je vzorek skupiny B2, stabilizovaný na teplotu 800 °C. U tohoto vzorku došlo k velkým odchylkám a nerovnoměrnému rozmístění. Po zanedbání odchýlených hodnot by zbyla pouze jedna jediná hodnota, proto i zde byly ponechány dva rozměry, z nichž jeden svojí hodnotou nespadal do rozmezí dvojnásobku směrodatné odchylky (celé skupiny). To se však odrazilo na výsledcích, kde potom docházelo ke skoku a zvýšení hodnoty. Při srovnání stejného vzorku testovaného na bakterii *Escherichia Coli* by průběh grafu měl být opačný, ale nebyl. Lze usoudit, že je tato hodnota opravdu zavádějící a nelze se jí řídit. Proto i v tomto případě je možno tvrdit, že teplota stabilizace nemá prokazatelný vliv na schopnost silanizace.

Z těchto předešlých faktů, kde se pohybujeme v odchylkách řádů milimetrů, lze tedy říci, že teplota opravdu nijak významně neovlivňuje schopnost silanizace. Toto bylo potvrzeno téměř u všech testovaných vzorků. Z tohoto důvodu již není nutno teplotu stabilizace dále zahrnovat do grafů a vyhodnocovat ji.

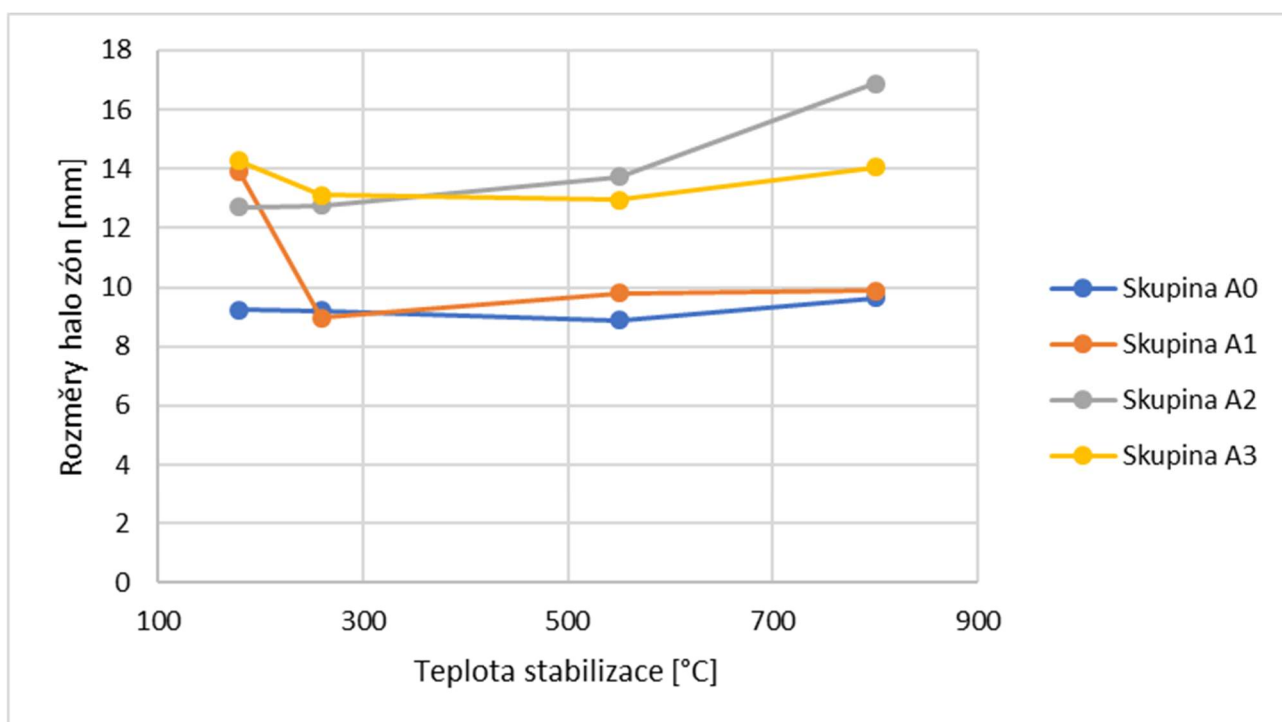
Důvodem, proč teplota stabilizace nemá průkazný vliv na schopnost silanizace může být, že námi provedená silanizace probíhá ve vodném prostředí. Zde dochází k hydrolyze a tím spojené přeměně alkoxy skupin u APTES na –OH skupiny. Tato reakce je zobrazena na *Obr. 4.5*. Následně tedy může dojít k polykondenzaci a propojování jednotlivých molekul APTES ještě v roztoku na oligomery. Tyto polymerní molekuly se potom mohou připojovat k povrchu. Z tohoto důvodu dané množství –OH skupin na povrchu nanovláken nemá rozhodující funkci. Také může dojít k adsorpci oligomerů na povrch, což je opět spojeno s větším množstvím APTES na povrchu vláken. Zjevně proto rozdílné množství –OH skupin na povrchu křemičitých nanovláken pro jednotlivé teploty není u silanizace klíčové. Je možno se domnívat, že pokud by silanizace probíhala v bezvodném prostředí, docházelo by k tvorbě monovrstev a množství –OH skupin a s tím spojená teplota stabilizace by již měla významný vliv na schopnost silanizace.



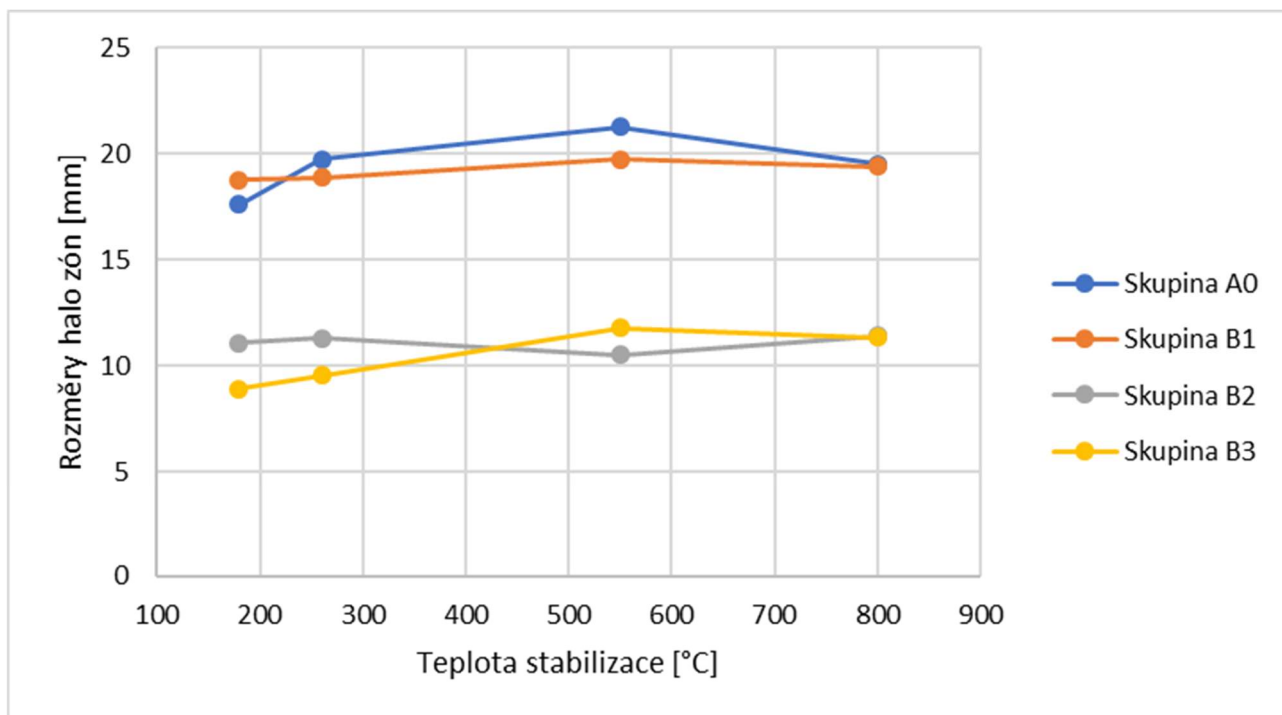
*Obr. 4.4 Průběh připojování APTES na povrch křemičitých nanovláken. Výměna alkoxy skupin - OH skupinou [41].*



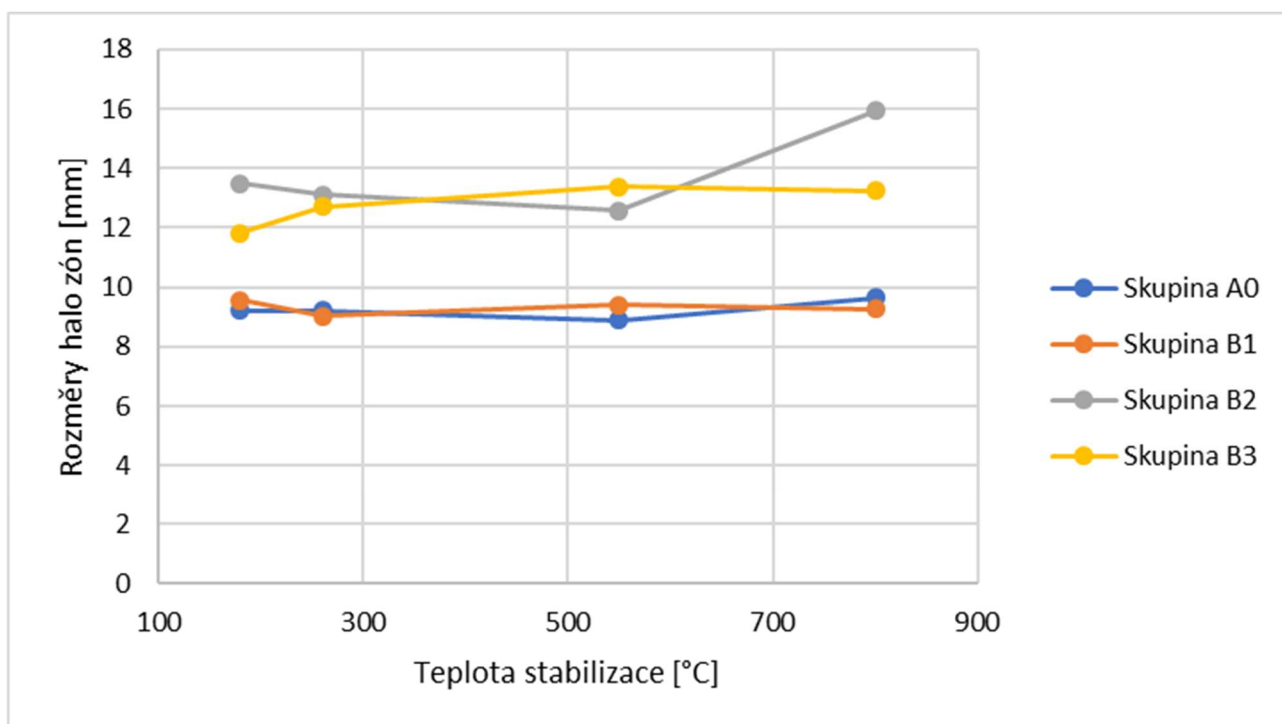
Graf 4.1 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady A, testovaných na bakterii *Escherichia Coli*.



Graf 4.2 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady A, testovaných na bakterii *Staphylococcus aureus*.



Graf 4.3 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady B, testovaných na bakterii *Escherichia Coli*.



Graf 4.4 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých vzorků řady B, testovaných na bakterii *Staphylococcus aureus*.

Je možno také předpokládat, že v tomto případě dochází ke změně poměru kovalentních vazeb a slabých interakcí (adsorpce). Proto mohou nanovlákná vykazovat téměř stejnou schopnost silanizace bez rozdílu množství – OH skupin na jejich povrchu (teplotě stabilizace).

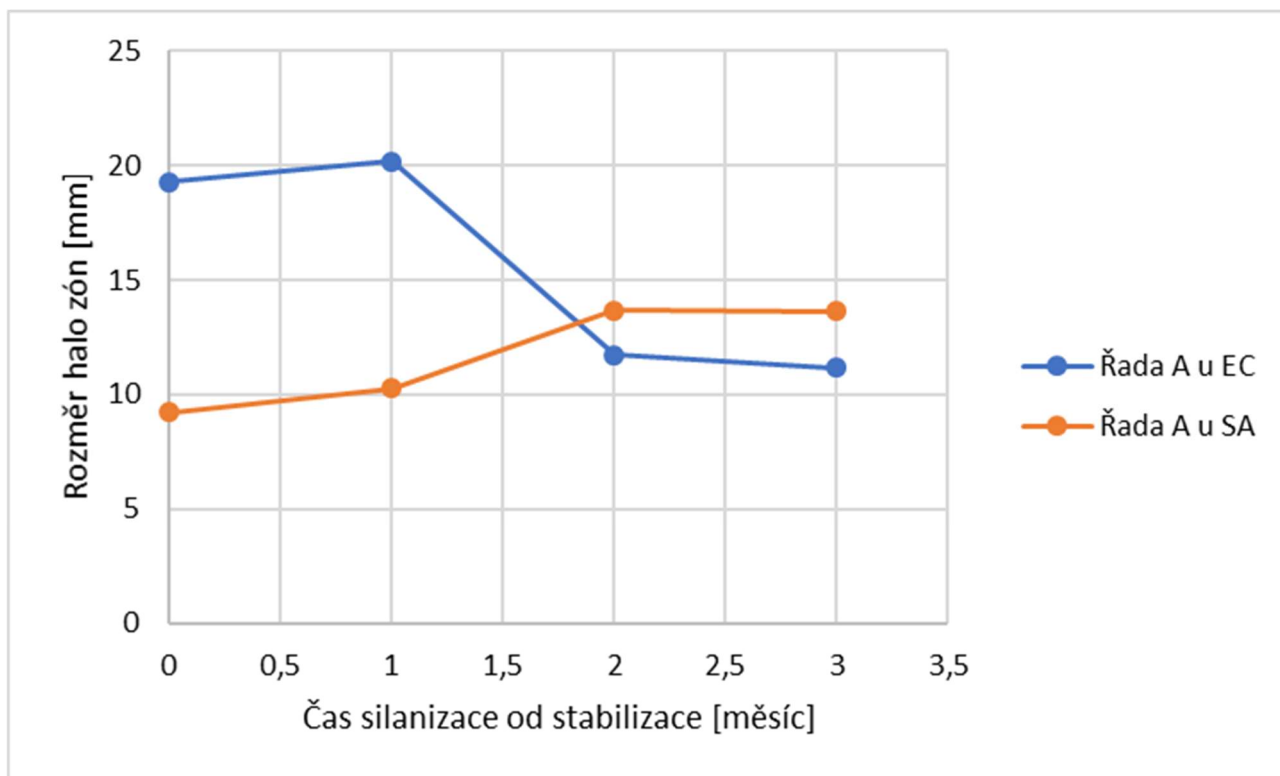
### **4.3 Porovnání vzorků řady A, testovaných na bakteriích *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus* z hlediska časového odstupu silanizace a stabilizace**

Vzorky řady A byly stabilizovány ihned po zvláknování. Hodnoty, které byly vynášeny do grafu jsou průměrnou hodnotou všech teplot jednotlivých skupin. Je to z důvodu toho, že teplota nemá na silanizaci téměř žádný vliv, a proto jí nemusíme rozlišovat a hodnoty jednotlivých teplot dané skupiny lze pouze zprůměrovat. Toto je patrné v *Tab. 6.3* a *Tab. 6.7* v Příloze.

Nejvhodnější je provedení silanizace co nejdříve od stabilizace a zvláknování. Nejdelší posuzovaný časový rozestup mezi stabilizací a silanizací v délce tří měsíců vykazoval nejhorší výsledky. Za pozitivní lze však považovat to, že dle *Grafu 4.5* nanovlákná s navázaným tetracyklinem vykazují i po této době stále dostačující antibakteriální účinky na testované bakterie.

Jak již bylo řečeno výše, průběh grafů u jednotlivých bakterií je opačný. Grafy vzorků, testovaných na jednotlivých bakteriích se po době okolo 1,8 měsíce protínají. Zde by mělo docházet k tomu, že navázané antibiotikum má na obě bakterie stejný účinek.

Pokles schopnosti silanizace vzhledem k časovému odstupu silanizace, který je zaznamenán v *Grafu 4.5*, je pravděpodobně způsoben stárnutím vláken. To může být způsobeno kontaminací nanovláken z okolního prostředí. Pokud jsou totiž nanovlákná vyrobena a ponechána delší dobu bez zpracování, dochází k adsorpci vody a plynu z okolního prostředí a k nachytání částic prachu a jiných nečistot na jejich povrch. Z tohoto důvodu je nejvhodnější silanizaci provést co nejdříve od zvláknování a stabilizace, protože postupem času nanovlákná stárnou a množství silanu, které lze na povrch navázat či naadsorbovat již není tak velké.



Graf 4.5 Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých bakterií v závislosti na časovém odstupu silanizace od stabilizace.

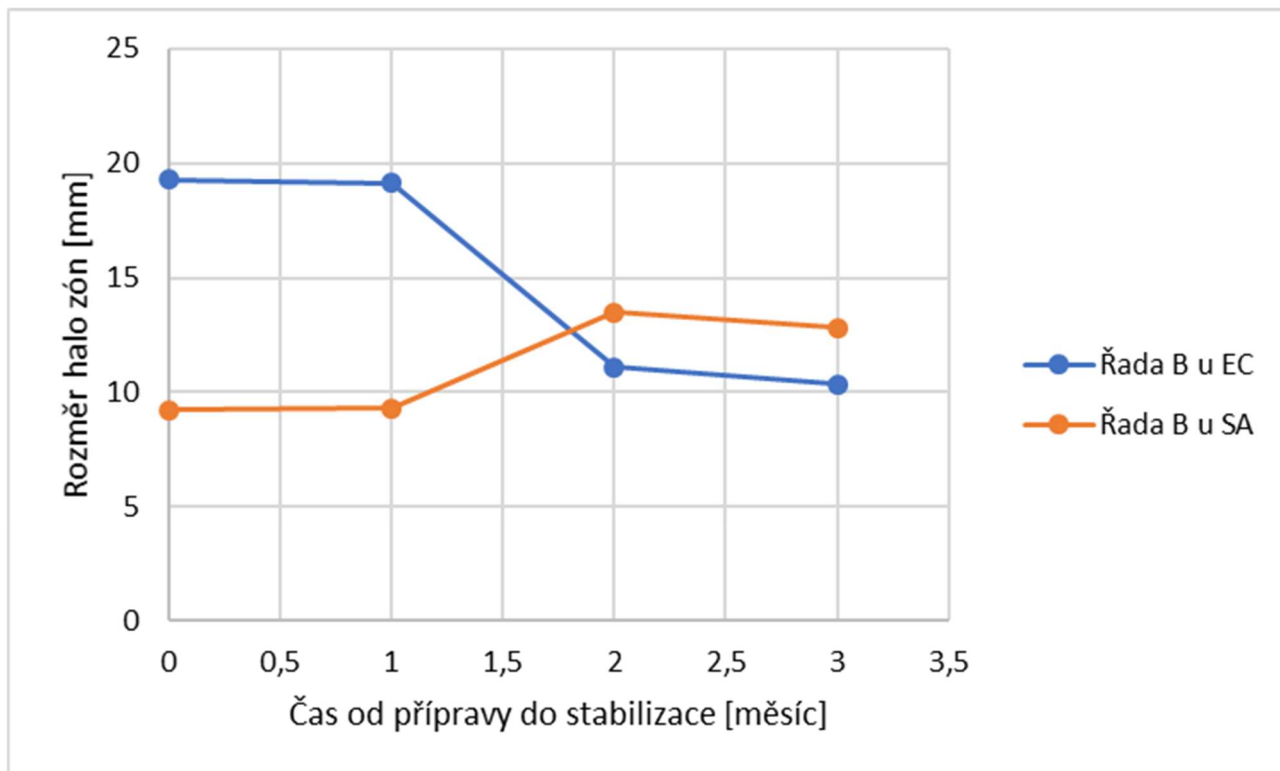
#### 4.4 Porovnání vzorků řady B, testovaných na bakteriích *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus* z hlediska časového odstupu silanizace a stabilizace

Vzorky řady B jsou stabilizovány a silanizovány až po určité době od zvlákňování. I zde byly vynášeny do grafu pouze zprůměrované hodnoty všech teplot dané skupin. Teplota totiž nijak zvláště neovlivňuje schopnost silanizace. Tyto údaje jsou zaznamenány v *Tab. 6.5* a *Tab 6.9* v Příloze.

Přesto, že skupina A0 stylem značení spadá do řady A, je zapotřebí ji také porovnat s řadou B, protože spadá i do této řady. Dalo by se říci, že je to vlastně společný základ pro obě řady.

Nejvhodnější doba stabilizace a silanizace je ihned po zvlákňování. Naopak nejméně vhodný posuzovaný časový odstup stabilizace a silanizace od zvlákňování je tři měsíce.

I zde lze za pozitivní považovat právě to, že dle *Grafu 4.6* nanovláknna s navázaným tetracyklinem vykazují i po této době stále dostačující antibakteriální účinky na bakterie.



*Graf 4.6* Porovnání rozměrů halo zón jednotlivých bakterií v závislosti na časovém odstupu silanizace a stabilizace od zvlákňování.

I zde je patrný pokles schopnosti silanizace vzhledem k časovému odstupu silanizace od zvlákňování, který je zaznamenán v *Grafu 4.6*. Tento pokles je pravděpodobně způsoben stárnutím nanovláken spojeným s jejich kontaminací z okolního prostředí. Proto je zapotřebí s nanovláknny pracovat co nejdříve po zvlákňování. Pokud jsou totiž nanovláknna vyrobena a ponechána delší dobu bez zpracování, dochází k adsorpci vody a plynů z okolního prostředí a k nachytání částic prachu a jiných nečistot na jejich povrch. To způsobuje pokles schopnosti silanizace, jelikož nelze na povrch nanovláken navázat či naadsorbovat již tak velké množství silanů.

Oproti teplotě, která tedy zjevně nemá žádný vliv na schopnost silanizace, časový odstup silanizace od zvlákňování má na rozměry halo zón vliv značný. Testování však nebylo možno z časových důvodů provést opakovaně, a proto je nutno toto tvrzení podložit dalšími experimenty a zkoumáním.



## 4.5 Porovnání vzorků jednotlivých skupin řady A a řady B při testování na bakteriích *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus*

Lze pozorovat drobné odchylky u jednotlivých skupin řad A a B. Mělo by docházet k tomu, že skupiny řady A mají lepší schopnost silanizace, než skupiny řady B. Je to z toho důvodu, že provedení stabilizace až po určité době vede k větší degradaci nanovláken. Oproti tomu, pokud je stabilizace provedena ihned po zvlákňování, dochází, jak již název procesu napovídá, k zvýšení stability takto zpracovaných nanovláken a tím i k potlačení jejich degradace. Z toho lze tedy usuzovat, že nanovlákná, která jsou stabilizována ihned, by měla mít o trochu lepší schopnost silanizace než nanovlákná stabilizovaná až po určité době. Avšak vzorky řad A a B se v jednotlivých skupinách svými rozměry halo zón liší jen mírně. Při srovnání řad A a B mezi sebou nejsou patrné význačné odchylky. Proto se můžeme domnívat, že ani doba, kdy byla provedena stabilizace vzorků, nemá velký vliv na schopnost silanizace oproti době, kdy byla silanizace provedena.

Opět i zde je patrné, že silanizaci je nutno provést co nejdříve od zvlákňování. Tím se zamezí zanesení povrchu nanovláken nečistotami z okolního prostředí a možné adsorpci vody na povrch nanovláken.

Proto lze říci, že spíše než na teplotě stabilizace a době, kdy byla provedena, záleží více na časovém odstupu mezi silanizací a zvlákňováním.

Z těchto faktů je možno usoudit, že i zde zaznamenáváme nejlepší schopnost silanizace u vzorků, které jsou silanizovány co nejdříve bez ohledu na teplotu stabilizace. Ta totiž nemá tak velký vliv oproti časovému rozestupu silanizace od stabilizace či zvlákňování. Naopak nejhorší výsledky z testovaných vzorků, vykazují ty, které jsou silanizovány až třetí měsíc od zvlákňování.

## 5. ZÁVĚR

V této práci byly provedeny testy tepelného zpracování křemičitých nanovláken na schopnost jejich silanizace. Křemičitá nanovláknata byla stabilizována na čtyři různé teploty a byl zkoumán vliv časového rozestupu mezi stabilizací a silanizací, vliv časového rozestupu mezi zvlákňováním a stabilizací a vliv tepelného zpracování na schopnost silanizace. Výsledky byly vyhodnocovány pomocí množství navázaného antibiotika na vláknech, a to u dvou typů bakterií, jimiž byly *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus*.

Těmito testy bylo zjištěno, že tepelná úprava křemičitých nanovláken nemá prokazatelný vliv na schopnost silanizace. Toto je zjevně způsobeno tím, že provedená silanizace probíhá ve vodném prostředí, kde dochází k hydrolyze a tím spojené přeměně alkoxy skupin molekuly APTES na -OH skupiny. Po této přeměně se již mohou molekuly APTES díky polykondenzaci propojovat na oligomery. Tyto polymerní molekuly se následně mohou připojit k povrchu křemičitých nanovláken. Z tohoto důvodu dané množství -OH skupin na povrchu nanovláken nemá velký vliv na schopnost jejich silanizace. Dále může docházet ke změně poměru kovalentních vazeb a slabých interakcí (adsorpce). Také proto mohou nanovláknata vykazovat téměř stejnou schopnost silanizace bez rozdílu množství -OH skupin na jejich povrchu (teplotě stabilizace).

Dále bylo zjištěno, že časový odstup stabilizace od zvlákňování nemá velký vliv na schopnost silanizace křemičitých nanovláken. Jsou pozorovány jen mírné změny, kde nanovláknata stabilizovaná ihned mají lepší schopnost silanizace než nanovláknata, která byla stabilizována až po určité době. Jedná se zde pravděpodobně o to, že pokud jsou nanovláknata stabilizována ihned po zvlákňování omezí se jejich možná degradace.

U tohoto testování byl zaznamenán jediný významný vliv na schopnost silanizace, a to v případě časového rozestupu mezi silanizací a zvlákňováním. Tento pokles hodnot v závislosti na časovém odstupu, může být způsoben tím, že dochází k adsorpci vody a nečistot z okolí na povrch vláken, který díky tomu ztrácí svoji schopnost silanizace. Proto je potřeba vzorky před silanizací řádně očistit. Pokud by se jednalo o sklo s rovným povrchem, nebyl by to takový problém jako v našem případě, kdy se jedná o nanovláknata.

Přesto, že rozměr testovaného čtverce nanovláken byl velice malý, a to o velikosti 18 x 18 mm, došlo u velkého množství vzorků k nerovnoměrnému rozmístění halo zón. To značně ovlivnilo určité hodnoty, které musely být vyloučeny a průměry přepočítány. Nepravidelnosti rozměrů

halo zón okolo čtverce nanovláken mohou být způsobeny nerovnoměrným rozmístěním tetracyklinu na jejich povrchu.

Pro přesnější a důvěryhodnější výsledky by bylo nutno provést větší soubor měření a náš experiment několikrát opakovat. Na to však v rámci této bakalářské práce nebyl vyhrazen dostatečný časový prostor. Dále by též bylo vhodné ověřit takto získané výsledky jinou nezávislou metodou. Jednou z možností by mohlo být analytické testování vzorků. Dále by bylo zajímavé testovat tato nanovlákná v delším časovém rozmezí, což zůstává zájmem našeho dalšího výzkumu. Těmto tématům se budu i nadále věnovat v rámci své diplomové práce.

# LITERATURA

[1] National Nanotechnology Initiative: What is Nanotechnology?, National Nanotechnology Initiative: What is Nanotechnology? [online]. United States [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <https://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition>

[2] Nanomateriály. In: ECHA: European chemical agency [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/regulations/nanomaterials>

[3] Nanotechnologie, nanočástice a nanomateriály, [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <http://www.nanocastice.cz/>

[4] The future of human evolution: History of Nanotechnology, The future of human evolution: History of Nanotechnology [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <http://futurehumanevolution.com/history-of-nanotechnology-updated>

[5] Historie a současnost nanotechnologií, NANOPROTECH [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <http://www.nanoprotech.cz/historie-a-soucasnost-nanotechnologie/>

[6] Key features of nanofibers, ELMARCO [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <http://www.elmarco.com/electrospinning/key-features-of-nanofibers/>

[7] Nanotechnology in Electronics: Nanoelectronics, UnderstandingNano [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <http://www.understandingnano.com/nanotechnology-electronics.html>

[8] PEDERSEN, K., 2006. Quantum size effects in nanostructures: Organic and inorganic nanostructures [online]. [cit. 2017-03-10]. Dostupné z: <http://homes.nano.aau.dk/kp/Quantum%20size%20effects%20in%20nanostructures.pdf>.

[9] Nanotechnologie a nanomateriály, 2009. Krajská hygienická stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: [https://www.khsova.cz/01\\_aktuality/nanotechnologie.php?datum=2009-03-18](https://www.khsova.cz/01_aktuality/nanotechnologie.php?datum=2009-03-18)

- [10] YAO, D., et al. 2013. Limitation and challenge faced to the researches on environmental risk of nanotechnology. *Procedia Environmental Sciences* [online]. **18**, s. 149-156 [cit. 2017-03-09]. DOI: 10.1016/j.proenv.2013.04.020. ISSN 18780296. Dostupné z: [http://ac.els-cdn.com/S1878029613001527/1-s2.0-S1878029613001527-main.pdf?\\_tid=83637608-04c6-11e7-ad26-00000aab0f26&acdnat=1489063811\\_f5a9273bfb82af0a226421091ed9a67](http://ac.els-cdn.com/S1878029613001527/1-s2.0-S1878029613001527-main.pdf?_tid=83637608-04c6-11e7-ad26-00000aab0f26&acdnat=1489063811_f5a9273bfb82af0a226421091ed9a67)
- [11] Interní sdělení: doc. Ing. Petr Exnar, CSc.
- [12] GELTMEYER J., et al., 2016. The influence of tetraethoxysilane sol preparation on the electrospinning of silica nanofibers. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* [online]. **77(2)**, 453-462 [cit. 2017-03-10]. DOI: 10.1007/s10971-015-3875-1. ISSN 0928-0707. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10971-015-3875-1>
- [13] EXNAR, P. a LOVĚTINSKÁ-ŠLAMBOROVÁ, I., 2015. Silica nanofibers, their preparation and properties. In: *Nanofibers, Applications and Related Technologies, 2015. NART 2015: Nanofibers, Applications and Related Technologies : August 31 - September 2, 2015, Liberec, Czech Republic : conference proceedings. Liberec: Technical University of Liberec*, s. 197 - 202. ISBN 978-80-7494-265-5.
- [14] VEVERKOVÁ, I., et al., 2015. Inorganic-organic nanofibrous materials for biomedical applications. In: *Preparation of ceramic materials: Proceedings of the XI. international conference : Herľany June 9th - 11th, 2015. I. edition. Kosice: Technical University of Kosice*, s. 140-141. ISBN 978-80-553-2122-6.
- [15] STUDNIČKOVÁ, J., et al., 2007. Thermal properties of silicon oxide nanofibers. In: *6th International Conference - TEXSCI 2007. , Book of Abstracts. Liberec, June 5.-7, 2007. Liberec: Technical University in Liberec, 2007*, s. 117-118. Celý text na přiloženém CD-ROM, 21studnickova\_full.pdf, 6 s. ISBN 978-80-7372-207-4.
- [16] O nanovlákněch, NAFIGATE corporation [online]. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <http://www.nafigate.info/cs/content/o-nanovl%C3%A1knech>
- [17] STUDNIČKOVÁ, J., 2008. Anorganická nanovláknina na bázi oxidu křemičitého. [Disertační práce]. Technická univerzita v Liberci.
- [18] CHO, H., et al., 2013. Electrospun Organic Nanofiber Electronics and Photonics. *Macromolecular Materials and Engineering* [online]. **298(5)**, 475-486 [cit. 2017-03-09]. DOI:

10.1002/mame.201200364. ISSN 14387492. Dostupné z:

<http://doi.wiley.com/10.1002/mame.201200364>

[19] KJELSTRUP-HANSEN, J., et al., 2006. Mechanical Properties of Organic Nanofibers. *Small* [online]. 2(5), 660-666 [cit. 2017-03-09]. DOI: 10.1002/sml.200500457. ISSN 1613-6810. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/sml.200500457>

[20] GELTMEYER, J. et al., 2016. The influence of tetraethoxysilane sol preparation on the electrospinning of silica nanofibers. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* [online]. 77(2), 453-462 [cit. 2017-03-11]. DOI: 10.1007/s10971-015-3875-1. ISSN 0928-0707. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10971-015-3875-1>

[21] STUDNIČKOVÁ, J., et al., 2007. Preparation and Characterization of Silicon Oxide Nanofibers. In: PLEŠINGEROVÁ, B. a KUFFA, T., eds. *Proceedings of VIIIth Int. Conference "Preparation of Ceramic Materials"*, Herlany, 18.-20.6.2007. Košice: Hutnícká fakulta TU v Košiciach, 2007, s. 108-112. ISBN 978-80-8073-806-8.

[22] EXNAR, P., 2006. *Metoda sol-gel*. Liberec: Technická univerzita v Liberci. ISBN 80-737-2063-9.

[23] BUCKLEY, A.M., et al., 1994. Sol-gel preparation of silica gels. *Journal of Chemical Education* [online]. 71(7), 599-602 [cit. 2017-03-11]. Dostupné z: <http://macro.lsu.edu/CoreCourses/MSweb4/IE/PreparingAerogels.pdf>

[24] Přednáška doc. Ing. Petra Exnara, CSc.

[25] LOVĚTINSKÁ-ŠLAMBOROVÁ, I., et al., 2016. Silica nanofibers with immobilized tetracycline for wound dressing. *Journal of Nanomaterials* [online]. Hindawi Publishing Corporation, 6 [cit. 2017-04-06]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2485173>

[26] VASITA, R., et al., 2006. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*, 1(1), s. 15–30.

[27] Přednášky prof. RNDr. Davida Lukáše, CSc.

[28] Technologie: Technologie Nanospider, ELMARCO [online]. [cit. 2017-03-10]. Dostupné z: <http://www.elmarco.cz/technologie/technologie/>

- [29] Elektrostatické zvlákňování, NANOPHARMA [online]. [cit. 2017-03-28]. Dostupné z: <http://www.nanopharma.cz/cs/produkty-a-technologie/technologie>
- [30] JIRSÁK O., et al., 2003. Způsob výroby nanovláken z polymerního roztoku elektrostatickým zvlákňováním a zařízení k provádění způsobu.CZ 294274. 08.09.2003, 14.09.2004.
- [31] BRÁZDA, L., et al., 2007. Simulace rozpouštění vláken SiO<sub>2</sub> v plicním prostředí. In: PLEŠINGEROVÁ, B. a KUFFA, T., eds. Proceedings of VIIth Int. Conference "Preparation of Ceramic Materials", Herlany, 18.-20.6.2007. Košice: Hutnická fakulta TU v Košiciach, 2007, s. 139-143. ISBN 978-80-8073-806-8.
- [32] STUDNIČKOVÁ, J., et al., 2007. Health aspects of silicon oxide nanofibers. In: 14th International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics), Liberec, November 2007. Liberec: Technical University of Liberec, 2007, s. 263-268. ISBN 978-80-7372-271-5. Celý text na příloženém CD-ROM, StudnickovaF.pdf, 6 s.
- [33] LOVĚTINSKÁ-ŠLAMBOROVÁ, I., et al., 2015. Medical and biochemical applicability of silica nanofibers. In: Petřík, S. (Ed.), NART 2015 – Nanofibers, Applications and Related Technologies, Conference Proceedings, Liberec, Aug. 31 – Sep. 2.2015. Liberec: Technical University of Liberec, 2015, s. 263-269. ISBN 978-80-7494-265-5.
- [34] LUŠTICKÁ, I., et al., 2013. Funkcionalizace mezopórních silikátových materiálů. Chemické listy [online]. 107, s. 114-120 [cit. 2017-04-22]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013\\_02\\_114-120.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013_02_114-120.pdf)
- [35] 2001. Silylation of silica. Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2017-04-22]. Dostupné z: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Silylation\\_of\\_silica.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Silylation_of_silica.svg)
- [36] HUA, Y., et al., 2015. Reductive arene ortho-silanolization of aromatic esters with hydridosilyl acetals. Chem. Commun [online]. **51**(18), 3778-3781 [cit. 2017-04-23]. DOI: 10.1039/C4CC09850A. ISSN 1359-7345. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4CC09850A>
- [37] ŠLAMBOROVÁ, I., et al., 2011. Possibilities of immobilisation of selected bioactive compounds on nanofibers. In: PAZOUREK, A. a PROKOPČÁKOVÁ, P., eds. Book of Extended Abstracts, PANMS (Potential and Application of Nanotreatment of Medical

Surfaces), Liberec, 5.-7. September 2011. Liberec: Technical University of Liberec, 2011, s. 24-27. ISBN 978-80-7372-756-7.

[38] CRAS, J.J., et al., 1999. Comparison of chemical cleaning methods of glass in preparation for silanization. *Biosensors and Bioelectronics*. **14**(8-9), s. 683-688.

[39] LABIT, H., et al. 2008. A simple and optimized method of producing silanized surfaces for FISH and replication mapping on combed DNA fibers. *BioTechniques*. **45**(6), s. 649-658.

[40] PHANER-GOUTORBE, M., et al., 2011. Silanization of silica and glass slides for DNA microarrays by impregnation and gas phase protocols: A comparative study. *Materials Science and Engineering C*, **31**(2), s. 384-390.

[41] GAN, S., et al., 2009. Photoactivation of Alkyl C–H and Silanization: A Simple and General Route to Prepare High-Density Primary Amines on Inert Polymer Surfaces for Protein Immobilization. *Biomacromolecules* [online]. 10(5), 1238-1243 [cit. 2017-05-04]. DOI: 10.1021/bm900011h. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm900011h>

[42] PINKAS, J. et al., Stanovení měrného povrchu metodou BET. Dostupné z: [http://www.sci.muni.cz/chemsekce/c8870/pdf/Uloha7\\_BET.pdf](http://www.sci.muni.cz/chemsekce/c8870/pdf/Uloha7_BET.pdf)

[43] LI, G., et al., 2014. Effect of silanization on chitosan porous scaffolds for peripheral nerve regeneration. *Carbohydrate Polymers*, **101**, s. 718–726.

[44] CARAVACA, C., et al., 2016. Direct silanization of zirconia for increased biointegration. *Acta Biomaterialia*, **46**, s. 323-335.

[45] LIU, Y., et al., 2013. Kinetics of (3-Aminopropyl)triethoxysilane (APTES) Silanization of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Langmuir* [online]. **29**(49), s. 15275-15282 [cit. 2017-05-04]. DOI: 10.1021/la403269u. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la403269u>.

[46] VISTAS, C. R., et al., 2013. Silanization of glass chips—A factorial approach for optimization. *Applied Surface Science*, **286**, s. 314–318.



- [47] KRASNOSLOBODTSEV, A. V., et al., 2002. Effect of Water on Silanization of Silica by Trimethoxysilanes. *Langmuir* [online]. **18**(8), s. 3181-3184 [cit. 2017-04-20]. DOI: 10.1021/la015628h. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la015628h>
- [48] ZHU, M., et al., 2012. How To Prepare Reproducible, Homogeneous, and Hydrolytically Stable Aminosilane-Derived Layers on Silica. *Langmuir* [online]. **28**(1), s. 416-423 [cit. 2017-04-20]. DOI: 10.1021/la203638g. ISBN 10.1021/la203638g. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la203638g>
- [49] HU, M., et al., 2001. Structure and morphology of self-assembled 3-mercaptopropyltrimethoxysilane layers on silico oxide. *Applied Surface Science*, **181**, s. 307-316.
- [50] QIAO, B., et al., 2015. High density silanization of nano-silica particles using -aminopropyltriethoxysilane (APTES). *Applied Surface Science*, **351**, s. 646-654.
- [51] KOŇARIKOVÁ, J., et al., 2011. Silanization of surfaces and its application to the esterase enzyme immobilisation on the surface of nanofibers. In: KUFFA, T. a kol., eds. *Proceedings of IXth Int. Conference „Preparation of Ceramic Materials“*, Herľany, 14.-16. June, 2011. Košice: Technical University of Košice, 2011, s. 53-56. ISBN 978-80-553-0678-0.
- [52] LOVĚTINSKÁ – ŠLAMBOROVÁ, I., et al., 2013. Silica dioxide nanofibers – properties and applications. In: *Sborník Workshop studentských prací 2013, Elektromembránové a tlakové membránové procesy*. 10.-11.10. 2013, Liberec. Česká Lípa: Česká membránová platforma, 2013, s.48-49, celý text (7 s.) na příloženém CD. ISBN 978-80-904517-1-1, ISSN 2336-1670.
- [53] VEVERKOVÁ, I., et al., 2015. Inorganic-organic nanofibrous materials for biomedical applications. In: *Proceedings of 11th International Conference „Preparation of Ceramic Materials“*, Herľany, Slovakia, June 9-11, 2015. Košice: Technical University of Košice, 2015, s. 140-141. ISBN 978-80-553-2122-6.
- [54] BEDNÁŘ, M., et al. 1996. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie virologie parazitologie*. Marvil. ISBN 10-2380-297-6.

[55] SPÍŽEK, J., 1999. Resistence na antibiotika: Je třeba hledat nové látky a nové postupy. Vesmír [online]. **78**(1), s. 27-32 [cit. 2017-04-26]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/rezistence-na-antibiotika>

# PŘÍLOHY

Tab. 6.1 Datумы, kdy byly provedeny jednotlivé práce na křemičitých nanovláčkách.

Označení vzorku	Datum stabilizace	Silanizace	Navázání tetracyklinu
K180A0	3. 11. 2016	-	-
K180A0ST	3. 11. 2016	9. 11. 2016	10. 11. 2016
K180A1ST	3. 11. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K180A2ST	3. 11. 2016	10. 1. 2017	11. 1. 2017
K180A3ST	3. 11. 2016	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K180B1ST	2. 12. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K180B2ST	9. 1. 2017	10. 1. 2017	11. 1. 2017
K180B3ST	2. 2. 2017	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K260A0	4. 11. 2016	-	-
K260A0ST	4. 11. 2016	9. 11. 2016	10. 11. 2016
K260A1ST	4. 11. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K260A2ST	4. 11. 2016	11. 1. 2017	11. 1. 2017
K260A3ST	4. 11. 2016	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K260B1ST	2. 12. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K260B2ST	10. 1. 2017	11. 1. 2017	11. 1. 2017
K260B3ST	2. 2. 2017	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K550A0	3. 11. 2016	-	-
K550A0ST	3. 11. 2016	9. 11. 2016	10. 11. 2016
K550A1ST	3. 11. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K550A2ST	3. 11. 2016	10. 1. 2017	11. 1. 2017
K550A3ST	3. 11. 2016	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K550B1ST	2. 12. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K550B2ST	2. 1. 2017	10. 1. 2017	11. 1. 2017
K550B3ST	3. 2. 2017	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K800A0	4. 11. 2016	-	-
K800A0ST	4. 11. 2016	9. 11. 2016	10. 11. 2016
K800A1ST	4. 11. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016

K800A2ST	4. 11. 2016	10. 1. 2017	11. 1. 2017
K800A3ST	4. 11. 2016	6. 2. 2017	6. 2. 2017
K800B1ST	5. 12. 2016	7. 12. 2016	8. 12. 2016
K800B2ST	9. 1. 2017	10. 1. 2017	11. 1. 2017
K800B3ST	2. 2. 2017	6. 2. 2017	6. 2. 2017

Tab. 6.2 Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii *Staphylococcus aureus*.

Řada A	Staphylococcus Aureus									
	Skupina	Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny
A0	180	1	9,4	9,5	9,1	8,9	9,2	0,3	9,2	0,8
	260	8	9,5	7,7	8,9	10,8	9,2	1,3		
	550	15	9,0	9,5	8,4	8,8	8,9	0,5		
	800	22	8,8	9,0	10,2	10,6	9,6	0,9		
A1	180	2	9,8	20,6	30,6	18,0	19,7	8,6	13,0	6,6
	260	9	9,1	8,5	24,0	9,3	12,7	7,5		
	550	16	9,8	11,9	8,7	8,9	9,8	1,4		
	800	23	9,0	9,1	10,8	10,6	9,9	1,0		
A2	180	3	22,7	12,7	12,6	12,8	15,2	5,0	16,3	5,3
	260	10	12,4	13,3	12,9	12,4	12,8	0,5		
	550	17	20,4	12,9	12,0	16,3	15,4	3,8		
	800	24	27,2	26,1	13,6	20,2	21,8	6,3		
A3	180	4	25,2	16,5	11,9	14,4	17,0	5,8	15,6	4,9
	260	11	17,7	13,8	11,5	14,0	14,3	2,6		
	550	18	12,8	12,8	29,6	13,3	17,1	8,3		
	800	25	15,2	13,7	13,3	14,0	14,1	0,8		

Tab. 6.3 Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii *Staphylococcus aureus*.

Řada B	Staphylococcus Aureus									
Skupina	Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny	sx skupiny
A0	180	1	9,4	9,5	9,1	8,9	9,2	0,3	9,2	0,8
	260	8	9,5	7,7	8,9	10,8	9,2	1,3		
	550	15	9,0	9,5	8,4	8,8	8,9	0,5		
	800	22	8,8	9,0	10,2	10,6	9,6	0,9		
B1	180	5	9,6	8,9	9,2	10,6	9,6	0,8	10,1	3,3
	260	12	8,3	8,5	8,9	10,5	9,0	1,0		
	550	19	9,2	9,9	9,0	22,0	12,6	6,3		
	800	26	8,1	10,4	9,8	8,8	9,3	1,0		
B2	180	6	30,4	15,8	12,2	12,5	17,7	8,6	16,4	5,9
	260	13	27,0	13,8	12,5	13,1	16,6	7,0		
	550	20	12,3	12,3	13,2	12,5	12,6	0,4		
	800	27	19,4	19,4	12,5	23,3	18,6	4,5		
B3	180	7	27,8	12,1	11,8	11,6	15,8	8,0	14,0	3,9
	260	14	12,1	13,4	13,5	11,9	12,7	0,8		
	550	21	14,0	12,6	16,9	13,5	14,3	1,9		
	800	28	13,6	13,3	13,6	12,5	13,3	0,5		

Tab. 6.4 Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočtení průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii *Staphylococcus aureus*.

Výběr	Řada A	Staphylococcus Aureus									Meze pro odchylné body
Skupina	Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny	sx skupiny	ku = 2
A0	180	1	9,4	9,5	9,1	8,9	9,2	0,3	<b>9,2</b>	0,8	10,8
	260	8	9,5	7,7	8,9	10,8	9,2	1,3			7,7
	550	15	9,0	9,5	8,4	8,8	8,9	0,5			
	800	22	8,8	9,0	10,2	10,6	9,6	0,9			
A1	180	2	9,8			<b>18,0</b>	13,9	5,9	<b>10,3</b>	2,5	15,3
	260	9	9,1	8,5		9,3	9,0	0,4			5,2
	550	16	9,8	11,9	8,7	8,9	9,8	1,4			
	800	23	9,0	9,1	10,8	10,6	9,9	1,0			
A2	180	3		12,7	12,6	12,8	12,7	0,1	<b>13,7</b>	2,3	18,4
	260	10	12,4	13,3	12,9	12,4	12,8	0,5			9,0
	550	17		12,9	12,0	16,3	13,7	2,3			
	800	24			13,6	<b>20,2</b>	16,9	4,7			
A3	180	4		<b>16,5</b>	11,9	14,4	14,3	2,3	<b>13,6</b>	1,3	16,3
	260	11		13,8	11,5	14,0	13,1	1,4			11,0
	550	18	12,8	12,8		13,3	12,9	0,3			
	800	25	15,2	13,7	13,3	14,0	14,1	0,8			

Tab. 6.5 Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočet průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii *Staphylococcus aureus*.

Výběr	Řada B	Staphylococcus Aureus									Meze pro
		Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny	sx skupiny
A0	180	1	9,4	9,5	9,1	8,9	9,2	0,3	<b>9,2</b>	0,8	10,8
	260	8	9,5	7,7	8,9	10,8	9,2	1,3			7,7
	550	15	9,0	9,5	8,4	8,8	8,9	0,5			
	800	22	8,8	9,0	10,2	10,6	9,6	0,9			
B1	180	5	9,6	8,9	9,2	10,6	9,6	0,8	<b>9,3</b>	0,8	10,9
	260	12	8,3	8,5	8,9	10,5	9,0	1,0			7,7
	550	19	9,2	9,9	9,0		9,4	0,5			
	800	26	8,1	10,4	9,8	8,8	9,3	1,0			
B2	180	6		15,8	12,2	12,5	13,5	2,0	<b>13,5</b>	2,1	17,7
	260	13		13,8	12,5	13,1	13,1	0,6			9,3
	550	20	12,3	12,3	13,2	12,5	12,6	0,4			
	800	27		19,4	12,5		15,9	4,9			
B3	180	7		12,1	11,8	11,6	11,8	0,3	<b>12,8</b>	0,8	14,5
	260	14	12,1	13,4	13,5	11,9	12,7	0,8			11,2
	550	21	14,0	12,6		13,5	13,4	0,7			
	800	28	13,6	13,3	13,6	12,5	13,3	0,5			

Tab. 6.6 Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii *Escherichia Coli*.

Vše	Řada A	Escherichia Coli								
		Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny
A0	180	1	17,7	18,0	16,5	18,2	17,6	0,8	20,1	2,8
	260	8	18,8	19,9	19,9	20,3	19,7	0,6		
	550	15	19,9	28,0	24,0	22,6	23,6	3,3		
	800	22	19,7	18,6	19,6	20,2	19,5	0,7		
A1	180	2	19,2	20,2	19,2	21,3	20,0	1,0	23,3	5,9
	260	9	33,1	20,8	18,6	19,8	23,1	6,7		
	550	16	36,0	27,2	19,5	19,8	25,6	7,8		
	800	23	21,1	22,4	20,2	34,4	24,5	6,6		
A2	180	3	11,9	12,0	12,0	11,9	11,9	0,0	12,6	3,1
	260	10	9,3	15,5	8,1	10,9	10,9	3,2		
	550	17	12,7	11,1	11,4	10,4	11,4	1,0		
	800	24	18,9	15,7	18,9	11,6	16,3	3,5		
A3	180	4	10,4	10,5	10,9	11,5	10,8	0,5	11,2	0,9
	260	11	11,9	12,4	9,6	11,1	11,3	1,2		
	550	18	12,1	10,4	10,2	12,1	11,2	1,1		
	800	25	12,4	11,3	10,3	11,6	11,4	0,9		

Tab. 6.7 Jednotlivé rozměry halo zón a jejich průměr před úpravou hodnot a zanedbání některého z rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii Escherichia Coli.

Vše	Řada B	Escherichia Coli								
Skupina	Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny	sx skupiny
A0	180	1	17,7	18,0	16,5	18,2	17,6	0,8	20,1	2,8
	260	8	18,8	19,9	19,9	20,3	19,7	0,6		
	550	15	19,9	28,0	24,0	22,6	23,6	3,3		
	800	22	19,7	18,6	19,6	20,2	19,5	0,7		
B1	180	5	20,1	17,7	20,1	17,2	18,8	1,6	21,2	6,1
	260	12	17,9	19,7	18,6	19,4	18,9	0,8		
	550	19	40,9	20,9	18,5	30,9	27,8	10,2		
	800	26	19,9	18,9	21,4	17,5	19,4	1,7		
B2	180	6	11,5	10,5	13,7	11,1	11,7	1,4	11,4	0,9
	260	13	10,7	11,9	11,6	11,0	11,3	0,5		
	550	20	12,5	10,7	10,1	10,8	11,0	1,0		
	800	27	11,3	10,6	11,7	12,0	11,4	0,6		
B3	180	7	10,3	7,9	10,1	7,3	8,9	1,5	12,4	6,9
	260	14	9,8	9,8	9,1	16,0	11,2	3,2		
	550	21	36,9	12,1	12,1	11,1	18,1	12,6		
	800	28	12,0	11,8	9,9	11,8	11,3	1,0		

Tab. 6.8 Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočítání průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady A, testované na bakterii Escherichia Coli.

Výběr	Řada A	Escherichia Coli									Meze pro odchýlné body
Skupina	Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny	sx skupiny	ku = 2
A0	180	1	17,7	18,0	16,5	18,2	17,6	0,8	<b>19,3</b>	1,5	22,2
	260	8	18,8	19,9	19,9	20,3	19,7	0,6			16,3
	550	15	19,9			22,6	21,3	1,9			
	800	22	19,7	18,6	19,6	20,2	19,5	0,7			
A1	180	2	19,2	20,2	19,2	21,3	20,0	1,0	<b>20,2</b>	1,1	22,3
	260	9		20,8	18,6	19,8	19,7	1,1			18,0
	550	16			19,5	19,8	19,7	0,2			
	800	23	21,1	22,4	20,2		21,2	1,1			
A2	180	3	11,9	12,0	12,0	11,9	11,9	0,0	<b>11,7</b>	2,0	15,8
	260	10	9,3	15,5	8,1	10,9	10,9	3,2			7,7
	550	17	12,7	11,1	11,4	10,4	11,4	1,0			
	800	24		15,7		11,6	13,6	2,9			
A3	180	4	10,4	10,5	10,9	11,5	10,8	0,5	<b>11,2</b>	0,9	12,9
	260	11	11,9	12,4	9,6	11,1	11,3	1,2			9,4
	550	18	12,1	10,4	10,2	12,1	11,2	1,1			
	800	25	12,4	11,3	10,3	11,6	11,4	0,9			

Tab. 6.9 Porovnání jednotlivých rozměrů s dvojnásobkem směrodatné odchylky a zanedbání rozměrů, které se svými hodnotami nepohybovaly v tomto rozmezí. Přepočet průměru bez odchýlených hodnot rozměrů. Vzorky řady B, testované na bakterii Escherichia Coli.

Výběr	Řada B	Escherichia Coli									Meze pro
		Teplota (°C)	vzorek	Rozměr 1 (mm)	Rozměr 2 (mm)	Rozměr 3 (mm)	Rozměr 4 (mm)	Průměr teploty	sx teploty	Průměr skupiny	sx skupiny
A0	180	1	17,7	18,0	16,5	18,2	17,6	0,8	<b>19,3</b>	1,5	22,2
	260	8	18,8	19,9	19,9	20,3	19,7	0,6			16,3
	550	15	19,9			22,6	21,3	1,9			
	800	22	19,7	18,6	19,6	20,2	19,5	0,7			
B1	180	5	20,1	17,7	20,1	17,2	18,8	1,6	<b>19,1</b>	1,3	21,7
	260	12	17,9	19,7	18,6	19,4	18,9	0,8			16,5
	550	19		20,9	18,5		19,7	1,7			
	800	26	19,9	18,9	21,4	17,5	19,4	1,7			
B2	180	6	11,5	10,5		11,1	11,1	0,5	<b>11,1</b>	0,6	12,2
	260	13	10,7	11,9	11,6	11,0	11,3	0,5			10,0
	550	20		10,7	10,1	10,8	10,5	0,4			
	800	27	11,3	10,6	11,7	12,0	11,4	0,6			
B3	180	7	10,3	7,9	10,1	7,3	8,9	1,5	<b>10,4</b>	1,6	13,5
	260	14	9,8	9,8	9,1		9,5	0,4			7,3
	550	21		12,1	12,1	11,1	11,8	0,6			
	800	28	12,0	11,8	9,9	11,8	11,3	1,0			