

NOVÉ POSTUPY PŘÍPRAVY KOVOVÝCH NANOČÁSTIC A JEJICH PŮSOBENÍ V BIOLOGICKÝCH SYSTÉMECH

JAKUB SIEGEL, MAREK STASZEK,
MARKÉTA KAIMLOVÁ a VÁCLAV ŠVORČÍK

Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha
jakub.siegel@vscht.cz

Došlo 2.10.19, přijato 22.10.19.

Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby urychleného publikování.

Klíčová slova: nanočástice, naprašování, glycerol, antibakteriální aktivita

Obsah

1. Úvod
2. Antropogenní výskyt nanočástic v životním prostředí
3. Působení nanočástic v biologických systémech
4. Příprava kovových nanočástic
 - 4.1. Katodové naprašování do kapalin
 - 4.2. Katodové naprašování do glycerolu
5. Antibakteriální vlastnosti nanočástic Ag, Au, Pd a Pt
6. Závěr

1. Úvod

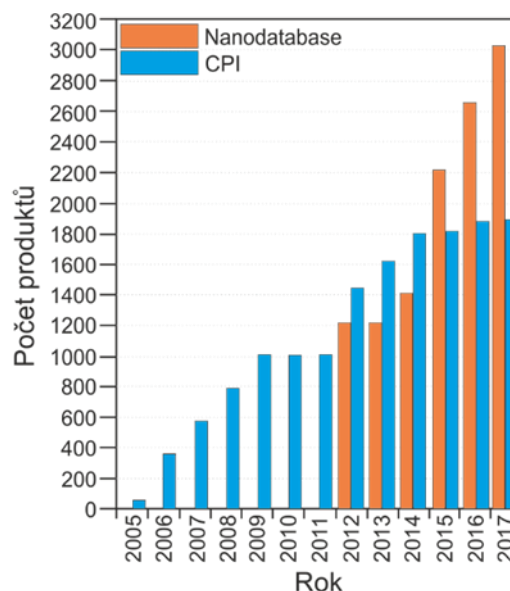
Je zřejmé, že v posledních dvou dekadách jsme svědky globální invaze struktur obsahujících předponu nano (z řeckého nanos – trpaslík) ve všech technických a přírodovědných oborech. Příroda však těchto nanostruktur, tedy struktur, jejichž alespoň jeden rozměr je omezen v rozsahu 1 až 100 nm, využívá v podstatě od počátku života na Zemi. Jako příklad mohou posloužit listy a květy protěže alpské. Ty jsou pokryty ochrannou vrstvou, která je tvořena hustě naskládanými dutými vlákny, majícími v průměru okolo 100 nm. Právě toto nanostrukturování poskytuje této horské rostlině ochranu před chladem a UV zářením¹.

Přeneseme-li se do živočišné říše, tak jako příklad nám mohou posloužit tlapy čeledi gekonovitých. Ty jsou tvořeny mikroskopickými výběžky s nanometrickými zpětnými háčky. Tyto háčky nejenže dobře vnikají do nerovností na povrchu, ale zároveň povrchové molekuly na těchto háčcích interagují s molekulami povrchu, za vzniku silné Van der Waalovy interakce. V součtu je tato přitažlivá síla silnější než gravitační, a tak umožňuje gekonům bezproblémový pohyb po hladkých stěnách a stropech².

Přestože lidstvo mohlo tyto a mnohé další přírodní úkazy pozorovat od pradávna, teprve rozvoj moderních analytických technik nám umožnil pochopit pravou podstatu těchto jevů. Zároveň se nám tak naskytla možnost tyto materiály se strukturou v řádu nanometrů připravovat a kontrolovat řadu jejich fyzikálně-chemických vlastností nebo připravovat nanomateriály s vlastnostmi zcela novými. Při výzkumu těchto inovativních materiálů je ovšem nezbytné současně zkoumat a kategorizovat jejich potenciální toxické chování a zaručit tak, aby tyto nanomateriály nepostihl podobný osud jako např. masově využívaný azbest, či insekticidy na bázi DDT.

2. Antropogenní výskyt nanočástic v životním prostředí

Jak je patrné z obr. 1, zažívá trh s nanotechnologiemi v posledních letech intenzivní rozmach. Tento obtížně kontrolovatelný rozvoj vede v poslední době různé organizace ke snaze inventarizovat produkty obsahující nanostrukturované složky, avšak často pouze s omezeným úspěchem nebo s nedostatečnou četností aktualizace příslušných databází. Např. spotřební inventář produktů (CPI), spravovaný databází Project of Emerging Nanotech-



Obr. 1. Vývoj počtu produktů obsahující nanostrukturovanou složku od roku 2005. Data za rok 2017 jsou aktuální k 30.8.2017, čerpáno z databází CPI a Nanodatabase. Barevně dostupný v online podobě

nologies (PEN) mapuje především trhy severní Ameriky. Navíc, poslední aktualizace této databáze se uskutečnila v prosinci 2014. Jiná databáze (Nanoproduktdatenbank), zaštiťovaná německým sdružením pro životní prostředí a ochranu přírody (BUND), se pak zaměřuje pouze na trh německý. Další inventář je vytvořený Evropskou společností spotřebitelů (BEUC) společně s Evropským sdružením pro koordinaci spotřebitelů a normalizaci (ANEC). Ten ale poskytuje především přehled o použití nanostrukturovaného stříbra v Evropě. Zmíněné tři databáze jsou však zřídka aktualizovány a v současné době zahrnují i již neprodávané produkty. Tyto nedostatky sice vedly k vytvoření volně přístupné a relativně často aktualizované „nanodatabase“ (www.nanodb.dk), avšak jejím nedostatkem je úzká specializace především na evropský trh. Navíc obsahuje pouze produkty, u nichž výrobce (nebo prodejce) uvádí obsah nanostrukturované složky, což však nemusí být potvrzeno nezávislou akreditovanou laboratoří. Kromě počtu produktů samozřejmě roste i objem výroby jejich nanostrukturovaných složek, zejména na trhu s automobilovými katalyzátory (11,5 tun/rok), chemicko-mechanickými abrazivy (9,4 tun/rok), magnetickými paměťovými médii (3,1 tun/rok) a opalovacími krémy (1,5 tun/rok)³. Tento postupný nárůst v komerční produkci nevyhnutelně nese i zvýšené riziko úniku nanostrukturovaných komponent do životního prostředí. Toto již bylo pozorováno na konci životního cyklu širokého spektra produktů (např. uhlíkové nanotrubic v televizorech při recyklaci⁴), v průběhu jejich používání (praní textilií obsahujících nanočástice Ag, cit.⁵), ale i v produkovaných průmyslových odpadech⁶. Největším zdrojem antropogenních nanostruktur ovšem zůstává provoz automobilové dopravy, a to i přes stále se zpřísnující emisní normy⁷.

Pro komplexnost je potřeba zmínit, že nanočástice (NP) se v životním prostředí vyskytují i přirozenou přírodní činností, přičemž tento výskyt je běžný a široce rozšířený v celé zemské atmosféře, oceánech, povrchových a podzemních vodách, půdě a dokonce i v žijících organismech. Hlavními zdroji emitujícími NP do atmosféry jsou lesní požáry, vulkanická činnost, půdní eroze způsobená vodou a větrem, glacieustatickými pohyby ledovců a pouštní bouře⁸, přičemž se odhaduje, že jen v atmosféře vznikne za rok několik tun přírodních prachových nanočástic⁹. Tyto NP v ovzduší jsou schopny se rozptýlit až na vzdálenost několik tisíců kilometrů než se samovolně usadí.

Tyto nanostrukturované složky, nezávisle na zdroji, pak působí na lidský organismus. Nedávná studie již prokázala souvislost mezi astmatem pařížských dětí a výskytem uhlíkových nanotubic v jejich dolních cestách dýchacích. Vzhledem k tomu, že se tyto děti nesetkaly s uhlíkovými nanotubicemi při jejich výrobě nebo výzkumu, je zřejmé, že se do jejich plic dostaly z prostředí, ve kterém se běžně pohybují, nejpravděpodobněji z emisí automobilového provozu¹⁰.

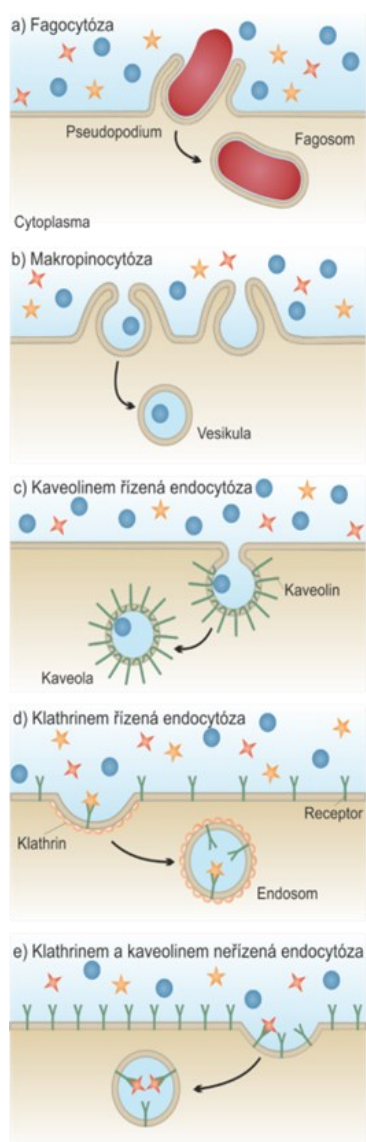
3. Působení nanočástic v biologických systémech

Výzkum interakce nanočástice-buňka je důležitý nejen z hlediska nanotoxikologie, ale i nanomedicíny, protože NP mohou sloužit jako terapeutická či diagnostická činidla v biomedicínských aplikacích^{11,12}. Cílem těchto nanostruktur je proniknutí do konkrétních buněk, kde pasivně nebo aktivně plní svoji terapeutickou úlohu. Společným základem pro tyto dva nové vědní obory (nanotoxikologie, nanomedicina) je pochopení základního mechanismu buněčného působení NP¹³. I v tomto případě je výsledný účinek určen fyzikálně-chemickými parametry nanočástic. Z hlediska uchycení NP na buněčné membráně (a jejich následnému průniku) sehrává pravděpodobně nejdůležitější roli povrchová funkcionalizace částic či jejich povrchový náboj. Povrch buněk je totiž obvykle pokryt vrstvou karbohydrátů, známou jako glykokalyx, které nesou negativní náboj. Proto jsou buněčné membrány obecně považovány za negativně nabitě. Z toho důvodu prostupují kladně (nebo neutrálně) nabitě NP buněčnou membránou podstatně snadněji než NP se záporným povrchovým nábojem¹⁴, a proto jsou kladně nabitě NP voleny jako nosiče léků¹⁵. Tento poněkud zjednodušený model ovšem neuvazuje samotné prostředí, ve kterém jsou NP k buňkám transportovány.

V biologickém prostředí jsou NP obklopeny různými typy biomolekul, které se mohou adsorbovat na jejich povrch a vytvořit kolem nich ochrannou vrstvu tzv. proteínovou korónu. Tvorba této koróny je dynamický proces, při kterém se na povrch NP nejdříve adsorbují biomolekuly, které jsou v daném prostředí nejhodněji zastoupeny. Časem pak dochází k obměně biomolekul za proteiny, které mají k povrchu NP větší afinitu, tzv. Vromanovým efektem¹⁶. Tato nová vrstva obklopující NP pak může výrazně modifikovat výsledné vlastnosti (např. povrchový náboj), ale také usnadnit průchod NP přes buněčnou membránu.

Vzhledem k velkému množství průmyslově vyráběných NP a velké škále druhů buněk v lidském těle neexistuje jednoznačný popis průchodu NP buněčnou membránou. Jednotlivé buňky mohou používat různé zachytávací mechanismy NP či jejich kombinace. Z přehledových studií vyplývá, že byl pozorován přenos NP do buňky pomocí fagocytózy, makropynocytózy, endocytózy řízené klathrinem, endocytózy řízené kaveolinem, ale i klathrinem a kaveolinem neřízené endocytózy¹⁷. Možné typy přenosu NP do intracelulárního prostoru jsou zobrazeny na obr. 2.

Po vstupu NP do intracelulárního prostoru buňky dochází k jejich interakci zejména s mitochondriemi, kde mohou způsobit změnu jejich tvaru a funkce, což může vést až k apoptóze či nekróze buněk¹⁸. U těchto energetických jednotek buněk může docházet vlivem NP k rozšiřování pórů na vnější membráně, což vyvolává snížení membránového potenciálu. Na tento stav reaguje mitochondrie uvolňováním cytochromu C pomocí kaspáz do cytosolu, který je pro buňku signálem k zahájení programované smrti buňky – apoptóze¹⁹. Předpokládá se, že NP



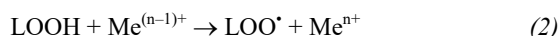
Obr. 2. Schematické znázornění transportu nanočástic do intracelulárního prostoru

interagují i s dalšími organelami, ale v současné době se jedná o málo prozkoumanou oblast²⁰.

Nanočástice jsou během svého působení (jak v extracelulárním, tak v intracelulárním matrix) schopny po celou dobu vytvářet tzv. reaktivní formy kyslíku (ROS – z angl. reactive oxygen species). Tyto reaktivní formy kyslíku jsou klíčové pro vzájemnou komunikaci buněk a homeostázy. ROS konkrétně zahrnují radikály superoxidový anion (O_2^-), hydroxylový radikál (OH^\bullet), peroxyly (ROO^\bullet), alkoxyly (RO^\bullet), hydroperoxyly (HO_2^\bullet) a oxidační činidla, peroxid vodíku (H_2O_2), kyselinu chlornou ($HClO$), ozon (O_3) a singletový kyslík (1O_2). Při standardním chování jsou ROS produkovány ve stopovém množství buněčným dýcháním, mikrosomy a peroxisomy²¹. Pokud se

v prostoru *in vivo* nachází NP, dochází ke vzniku ROS i dalšími mechanismy.

Tyto mechanismy silně závisí na chemickém složení NP a probíhají zpravidla (a) na povrchu částic nebo (b) jejich rozpouštěním. Např. u NP tvořených přechodnými kovy dochází na jejich povrchu k reakcím Fentonova typu²², při nichž dochází k redukcí peroxidu vodíku na hydroxylový radikál, kde povrch NP slouží jako katalyzátor. Při uvolňování přechodných kovů do okolního prostředí dochází k jejich reakci s hydroperoxydy lipidů za vzniku radikálů tzv. redoxním cyklováním:



kde Me označuje kov a L lipidový řetězec. Z uvedených reakcí je patrné, že nanočástice mohou způsobit nadměrnou produkci ROS, která následně vede k oxidativnímu stresu ve tkáních.

Oxidativní stres znamená nerovnováhu mezi produkcí ROS a schopností biologického systému detoxifikovat tyto reaktivní meziprodukty, či opravovat způsobená poškození. Organismus na zvýšenou produkci ROS reaguje tvorbou antioxidantů enzymatické i neenzymatické povahy. Mezi významné zástupce neenzymatických antioxidantů patří zejména kyselina askorbová (vitamin C), karotenoidy a thiolové antioxidanty (glutathion, thioredoxiny, kyselina lipoová). V organismu se (podle své chemické povahy) podílejí na zastavení radikálové řetězové reakce tím, že se samy stanou radikály. Tím přerušují tuto řetězovou reakci za vzniku méně toxických produktů, které se z organismu poměrně snadno vyloučí přímo nebo dalším odbouráním metabolickými drahami, které organismus tolik nezatěžují²³. U enzymově antioxidantních systémů je proces antioxidantace složitější a obvykle zahrnuje celou kaskádu na sebe navazujících reakcí. Nejdůležitějšími zástupci těchto enzymů jsou superoxidismutasa, katalasa a 2 typy glutathion peroxidas (GST a GPx). Antioxidativní účinky superoxidismutasy způsobuje přechodný kov v aktivním centru. Tento enzym katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku, který je pak následně pomocí glutathionin peroxidas, či katalasy přeměněn na vodu, potažmo vodu a kyslík²⁴.

V případě, že obranné mechanismy již nestačí kompenzovat produkci ROS, dochází vlivem oxidativního stresu zejména k poškození jaderné a mitochondriální DNA, lipidní peroxidaci a oxidativnímu poškození proteinů. Při oxidativním poškození DNA dochází k tvorbě jedno- a dvou-řetězových zlomů, modifikaci bází a vzniku příčné vazby mezi jednotlivými řetězci. Výsledkem těchto poškození je pak mutagenita a karcinogenita DNA²⁵.

U proteinů pak oxidativní stres může způsobit modifikaci postranních řetězců aminokyselin a změny struktury proteinu. Působením ROS dále vznikají alkoxylové radikály, které následně napadají peptidovou vazbu v proteinech. Tyto modifikace indukují změny funkčních vlastností proteinu, které mají vliv na buněčný metabolismus, konkrétně dochází ke změnám katalytické aktivity, modifikaci aminokyselin, tvorbě karbonylové skupiny, příčných vazeb mezi jednotlivými proteiny a vytvoření S-S můstků²⁶.

U takto oxidovaných proteinů dochází k jejich akumulaci a k dalšímu toxickému chování, které může vyústit až v několik patogenických stavů, jako jsou neurodegenerativní onemocnění, diabetes, ateroskleróza, atd.²⁷. ROS se ovšem na oxidaci proteinů mohou podílet i nepřímo, prostřednictvím oxidačních produktů cukrů a lipidů. Schematicky je proces toxického chování NP zobrazen na obr. 3.

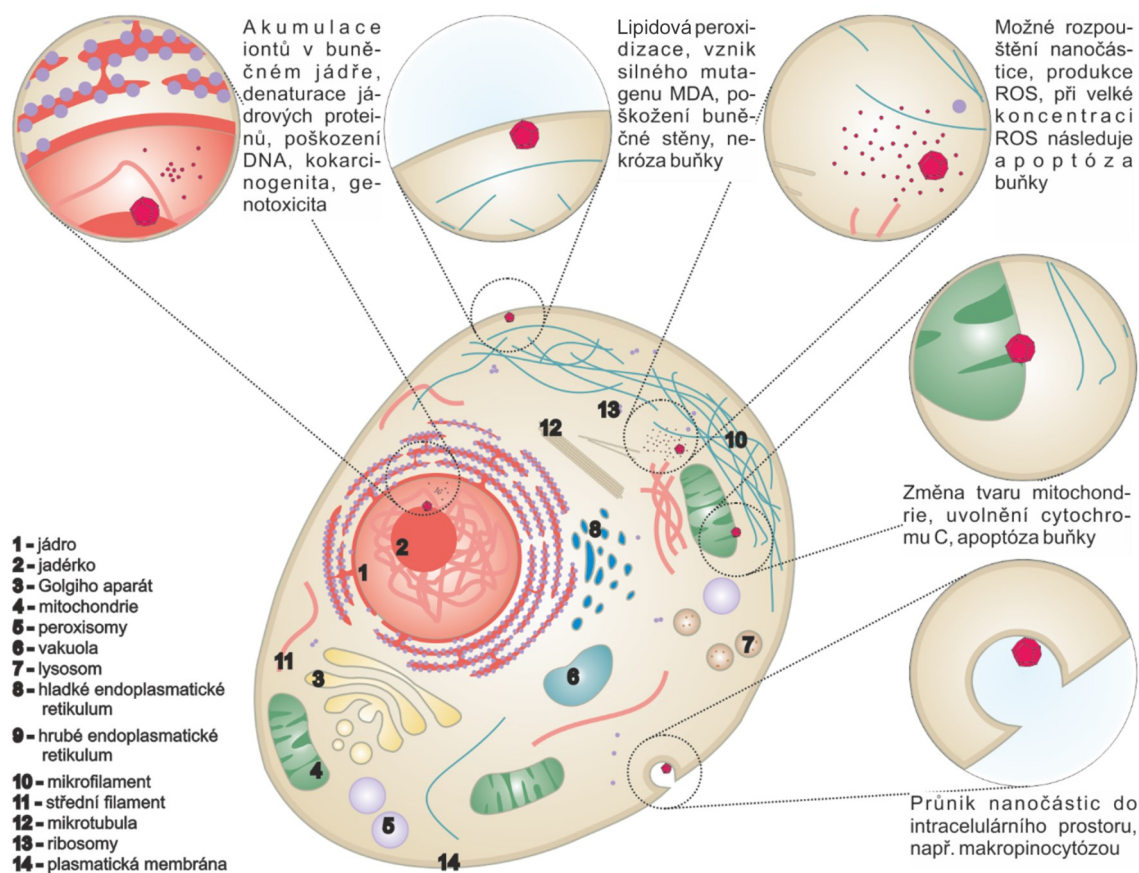
Je zřejmé, že NP mohou mít dalekosáhlé následky na lidské zdraví, a proto je výzkum biologických vlastností nanočástic nezbytný pro jejich bezpečné používání a nakládání s nimi^{28–38}. Většina antibakteriálních a cytotoxických testů (*in vitro* i *in vivo*) vychází z NP, které byly připraveny často velmi toxickým způsobem nebo jsou pro zaručení jejich stability použity surfaktanty, které mohou často zkruslovat výsledné toxické účinky. Proto je pro evaluaci biologických účinků NP nutné vzít v úvahu i samotnou syntézu tak, aby stanovení těchto vlastností nebylo ovlivněno³⁹.

4. Příprava kovových nanočástic

Možností, jak připravit NP o konkrétní velikosti a tvaru, je v dnešní době velké množství a jsou o nich vydávány celé monografie^{40–43}. Vzhledem k velkému množství těchto metod usnadňuje orientaci jejich členění na metody „top-down“ a „bottom-up“. Jak napovídají anglické názvy těchto metod, u „top-down“ (neboli shora dolů) se jedná o způsob přípravy, při kterém je objemový materiál postupně rozměňován až do nanorozměrů. Naopak u strategií „bottom up“ (zdola nahoru) dochází k vytváření nanostruktur jejich postupným skládáním z jednotlivých atomů. Další, méně používanou kategorizací těchto příprav, je kategorizace na základě povahy dějů při syntéze NP. Podle typu děje tak rozlišujeme metody fyzikální, chemické a speciální podmnožinu chemických metod – metody biologické.

4.1. Katodové naprašování do kapalin

První příprava NP naprašováním stříbra do silikonového oleje byla provedena v roce 1996 zcela náhodně. Ve



Obr. 3. Schematické znázornění možných účinků nanočástic na buňku

svém experimentu se Gao-xiang a spol.⁴⁴ zaměřili na přípravu kovových vrstev formovaných na povrchu kapaliny. Při depozicích s výkonem nižším než 30 W tato vrstva nevznikala a namísto ní vznikaly koloidní roztoky NP. Tyto ovšem charakterizovány nebyly, neboť výzkum se soustředil pouze na přípravu zmíněných vrstev⁴². Další výzkumy se soustředily opět na přípravu kovových vrstev na kapalinách s cílem jejich použití v lunárních teleskopech. Teprve až v roce 1999 se Wagener a spol.⁴⁵ úspěšně zaměřili na přípravu NP touto metodou. Bylo tak potvrzeno, že naprašování do kapalin může sloužit i k přípravě NP, nikoliv pouze vrstev. Od té doby došlo k progresivnímu zkoumání této problematiky, neboť umožňuje přípravu NP bez redukčních činidel a dalších surfaktantů. Výsledný systém je tak tvořen zpravidla pouze dvěma složkami – použitý kapalný substrát a připravené NP.

K přípravě NP lze použít libovolnou kapalinu, která má dostatečně nízký tlak nasycených par (depozice probíhá za sníženého tlaku) a ideálně je schopna dostatečně stabilizovat vznikající NP. Pro tyto účely jsou nejčastěji voleny iontové kapaliny, makromolekulární kapaliny (např. rostlinné oleje⁴⁶) nebo naopak nízkomolekulární kapaliny (glycerol⁴⁷). Jako obzvláště vhodné se jeví iontové kapaliny – tedy kapaliny, které jsou tvořeny organickým kationtem a anorganickým či organickým aniontem, přičemž bod tuhnutí této kapaliny nesmí být vyšší než 100 °C. Mezi přednosti iontových kapalin patří téměř nulový tlak nasycených par (např. [Bmim]PF₆ má při pokojové teplotě hodnotu tlaku nasycených par 0,1 nPa, cit.⁴⁸), vysoká teplotní stabilita, široké elektrochemické okno (rozmezí napětí, při kterém může být substance jak redukována, tak oxidována), nehořlavost a solvatační vlastnosti⁴⁹. Pro přípravu NP je také výhodné, že iontové kapaliny mají obecně nízké povrchové napětí, což urychluje nukleaci a mohou tak být připravovány NP o velikostech řádu jednotek nm (cit.⁵⁰). Na druhou stranu jsou kapalně elektrolyty často toxické⁵¹, a tudíž příprava NP s využitím těchto kapalin není pro potřeby evaluace jejich biologických vlastností vhodná.

Vhodnější je druhá nejhorněji používaná skupina makromolekulárních kapalin – rostlinných olejů. Ty jsou oproti iontovým kapalinám příznivější nejen z toxikologického hlediska, ale jsou i levnější a není nutné je složitě připravovat. Možnými nevýhodami jsou pak jejich vyšší tlak nasycených par (např. 0,26 kPa a 0,45 kPa pro ricinový, resp. sójový olej za pokojové teploty) a horší schopnost stabilizovat NP (cit.⁴⁶). Mezi používané makromolekulární substráty se řadí i polyethylenglykol (PEG) a jeho deriváty. PEG rovněž vyniká svou nízkou toxicitou. Výhoda použití tohoto substrátu je především v tom, že lze připravit PEG o volitelné velikosti řetězců s poměrně úzkou distribucí. To pak určuje výsledné vlastnosti PEG, jako jsou tlak nasycených par, viskozita, a schopnost NP stabilizovat⁵².

Posledním používaným substrátem, který nelze charakterizovat ani jako iontovou kapalinu, ani jako makro-

molekulární látku, je glycerol. Poprvé byl úspěšně použit v roce 2012 pro přípravu Ag a Au NP (cit.⁴⁷). Velkou předností oproti předchozím popsaným substrátům je přirozená biokompatibilita glycerolu, neboť je ve formě svých esterů součástí tuků. Další nespornou výhodou glycerolu je jeho časté používání v kosmetickém a mýdlařském průmyslu, což má za následek jednak jeho nízkou výrobní cenu, ale i dostupné a velmi dobře proměřené hodnoty všech důležitých fyzikálně-chemických parametrů⁵³. Mírnou nevýhodou je však tlak nasycených par glycerolu, který je oproti běžně používaným rostlinným olejům o řád vyšší (22 mPa při pokojové teplotě).

Nezávisle na volbě substrátu byly naprašováním připravovány NP o různých velikostech. Otázkou zůstává, kde v kapalině dochází k růstu NP a jak se použité kapaliny na tomto růstu podílí. Z fyzikálního hlediska může docházet pouze ke třem scénářům: (a) k nukleaci NP a k jejich růstu dochází výlučně na povrchu kapaliny, (b) nukleace probíhá na povrchu kapaliny, kdežto samotný růst již v jejím objemu a (c) naprašované atomy mají dostatečnou energii, aby pronikly do objemu kapaliny, kde pak probíhají oba procesy (nukleace i růst)⁵⁴. V tomto případě je hloubka penetrace naprašovaných atomů funkcí jejich kinetické energie a lze tak na základě tohoto modelu vysvětlit závislost výsledné velikosti NP na parametrech depozice. U mechanismů (a) a (b) mají parametry depozice (pracovní proud, napětí) pouze význam rychlosti sycení povrchu kapaliny.

To, který z daných scénářů nastane, je podle jedné části vědecké komunity dáno především povrchovou a objemovou kompozicí kapaliny⁵⁵, podle druhé viskozitou kapaliny a tlakem nasycených par⁵⁶. Zastánci první teorie předpokládají, že po tvorbě nukleí na rozhraní kapalina/vakuum dochází k růstu nanoostrůvků na povrchu kapaliny, které následně difundují do objemu kapaliny. Zde dojde k samouspořádání struktury zaujímající energeticky nejvýhodnější tvar⁵⁷. Podstatou druhé teorie je tzv. difuzní délka, tedy délka, v jaké se mohou naprašované atomy nebo vzniklá nukleia pohybovat. Při vyšších viskozitách (nižších difuzních délkách) je možnost migrace těchto entit menší a výsledný koloidní roztok tak obsahuje částice o menší velikosti a užší distribuci⁵⁸.

Detailnější pohled na mechanismus tvorby NP při naprašování poskytli Anantha a spol.⁵⁹. Popisují proces přípravy uniformních NP pomocí tzv. sdíleného hrubnutí. Tento pohled je založen na klasické teorii nukleace a růstu krystalů. Při dopadu naprašovaných atomů na rozhraní kapalina/vakuum (nebo na krátkou vzdálenost pod hladinu kapaliny) je nejdříve dosaženo koncentrace, při které je v tomto objemu roztok satureován. Atomy jsou homogenně rozmístěny v celém objemu a při překročení kritické koncentrace dochází ke spontánní tvorbě nukleí. V okolí těchto nukleí pak dochází k vytvoření tzv. vyloučených zón*. Všechny naprašované atomy, které dopadají do této zóny, se

* V odborné anglosaské literatuře je tento pojem označován jako „exclusion zone“ (možné přeložit jako „vyloučená zóna“), ale lze se také setkat s označením „denuded zone“ (v doslovném překladu „obnažená zóna“).

podílejí na růstu nuklea. Protože tyto zóny mají polokulovitý tvar, dochází k tvorbě sekundárních nukleí, které jsou tvořeny naprašovanými atomy, které nedopadly do žádné vyloučené zóny. Následně dochází k růstu primárních nukleí na úkor sekundárních – ke sdílení hrubnutí. Pokud je naprašování ukončeno v době tvorby sekundárních nukleí, výsledný koloidní roztok obsahuje uniformní NP. Při delších naprašovacích dobách dochází k dalšímu růstu částic až do doby, kdy se začnou dotýkat navzájem. Začne docházet ke změně tvaru NP, jejich aglomeraci k nežádoucímu jevu tzv. Ostwaldovu zrání.

Tento model považuje dobu naprašování za jeden z důležitých parametrů pro přípravu uniformních NP. To je ale v přímém rozporu s řadou výzkumů, které dospěly k závěru, že doba naprašování nemá na velikost a distribuci zásadní vliv⁶⁰. To lze vysvětlit tím, že model publikovaný Ananthou a spol. neuvažuje změny koncentrace v celém objemu kapaliny. Během depozice dochází k hromadění deponovaného materiálu na rozhraní kapalina/vakuum, potažmo v malé hloubce pod hladinou. Je tedy zřejmé, že od počátku depozice bude narůstat i difuzní tok vznikajících NP, který lze charakterizovat prvním Fickovým zákonem pro jednosměrnou difuzi ve tvaru:

$$J = -D \frac{dc}{dx} \quad (3)$$

kde J značí difuzní tok, D difuzní koeficient, c koncentraci naprašovaného materiálu a x směr toku (v tomto případě hloubku kapaliny). Vystupující difuzní koeficient (D) je teplotně závislou veličinou a pro sférické částice je popsán pomocí Stokesovy-Einsteinovy rovnice:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad (4)$$

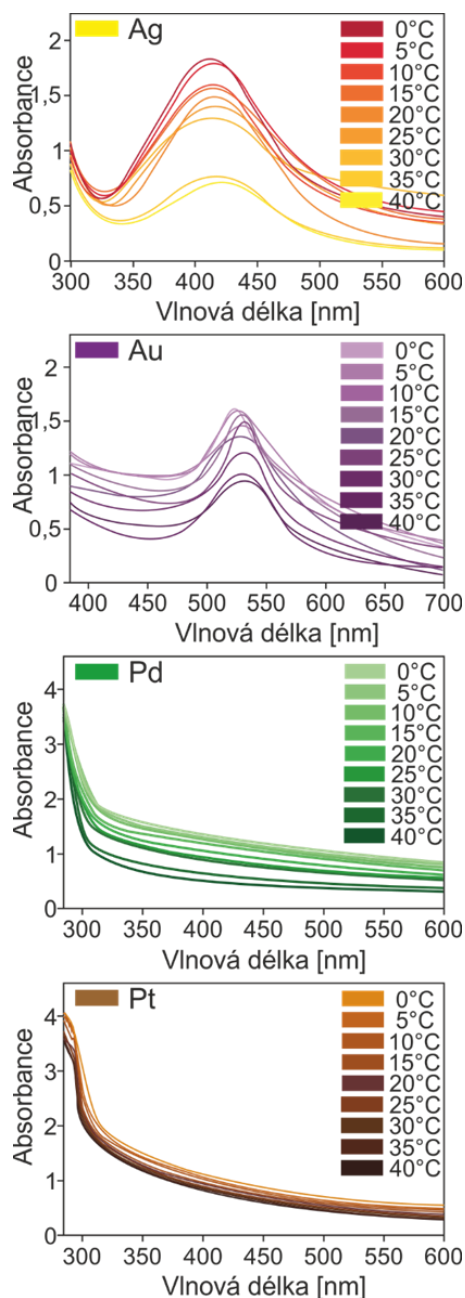
kde k_B je Boltzmanova konstanta, η viskozita média, T teplota a r poloměr NP. Teoreticky může nastat situace, ve které difuzním tokem J proudí vytvořené NP z rozhraní kapalina/vakuum, na kterém pak mohou vznikat nová nuklea a NP. V tomto případě by pak s postupující dobou depozice nemuselo docházet k zhoršení distribuce velikosti připravených NP.

Vzhledem k tomu, že difuzní koeficient je parametr závislý také na viskozitě použitého média, je zřejmé, že nejdůležitější proměnnou při přípravě NP naprašováním je volba použité kapaliny a její teplota během depozice. Publikované výsledky naznačují, že právě viskozita nejvíce ovlivňuje výslednou velikost NP a umožňuje připravovat nanočástice o požadované velikosti. Tuto velikost lze ovlivnit i dalšími parametry depozice (pracovní napětí, proud, tlak, vzdálenost elektrod, teplota terče). Studium vlivu těchto parametrů přineslo prozatím rozporuplné a často protichůdné výsledky. Např. v případě pracovního proudu někteří autoři uvádějí, že velikost NP lineárně stoupá s vyšším pracovním proudem⁶¹. Toto pozorování však rozporuje jiná vědecká skupina, která tuto závislost nepozorovala⁶². Ta si vysvětluje tento nesoulad tím, že před-

chozí dvě práce neměly během depozice pevně zafixovány jiné parametry, zejména teplotu terče.

4.2. Katodové naprašování do glycerolu

I přes nemožnost stanovení difuzního koeficientu, který je považován za jeden z klíčových parametrů, je možné nepřímo studovat jeho vliv v rámci jednoho kovu. Z toho důvodu byl zkoumán vliv závislosti velikosti NP na



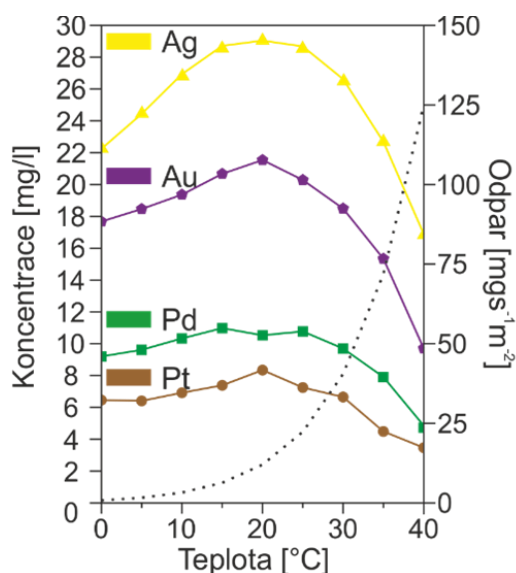
Obr. 4. UV-Vis spektra nanočástic ušlechtilých kovů v systému glycerol/voda, naprašovaných při různých teplotách glycerolu. Barevně dostupný v online podobě

viskozitě a teplotě glycerolu při přípravě nanočástic Ag, Au, Pd, Pt na přístroj SputterCoater Q150T při teplotách glycerolu v rozmezí 0 až 40 °C. Po depozici byla u AgNP pozorována změna zabarvení z červené na světle žlutou, u AuNP z červené na fialovou, až fialově-modrou. Překvapivě nebyla pozorována žádná změna zabarvení u Pt a PdNP. Pro kvantifikaci barevných změn byla provedena UV-Vis spektrometrická měření ihned po depozici (obr. 4). Jak je patrné na spektrech Ag a AuNP dochází v intervalu 0 až 20 °C se vzrůstající teplotou k posunu plasmonových píků k vyšším vlnovým délkám, zatímco nad 20 °C dochází k posunu píku k hodnotě cca 425 nm pro AgNP, resp. 540 nm pro AuNP. Další zvyšování teploty během depozice již nemá na výsledné spektrum vliv. V případě Pt a PdNP nejsou píky povrchové plazmonové rezonance (SPR) patrné z toho důvodu, že leží mimo měřenou oblast^{63,64}.

Z UV-Vis spektrometrie je dále patrné, že s rostoucí teplotou klesá celková absorbance koloidního roztoku. Ze znalosti Lambertova-Beerova zákona:

$$A = \epsilon bc \quad (5)$$

kde A je výsledná absorbance, ϵ absorpční koeficient, b délka, na které dochází k absorpci světla, a c koncentrace absorbující látky. Je patrné, že k poklesu absorbance dochází na základě změny absorpčního koeficientu nebo nižší koncentrace absorbující látky. Sice byl pozorován nárůst absorpčního koeficientu Au s rostoucí velikostí AuNP, ale zároveň byl pro stejný systém naměřen i posun SPR píku k vyšším vlnovým délkám⁶⁵. To by mělo mít za následek, že s rostoucí teplotou bude celková absorbance



Obr. 5. Koncentrace kovů stanovené metodou AAS při použití různých kovových terčů a za různé teploty depozice. Tečkovaná čára indikuje rychlost odpařování glycerolu při dané teplotě a tlaku

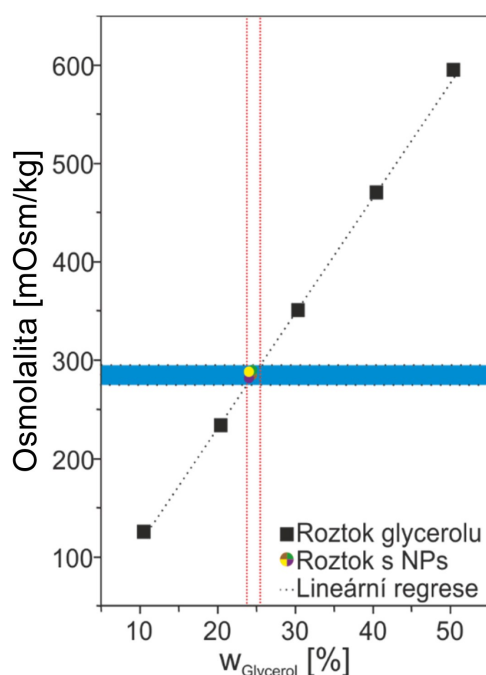
vyšší, což nenastalo. K ověření, že při vyšších teplotách depozice dochází ke změně koncentrace absorbující látky, byla stanovena koncentrace nanočástic (resp. daného kovu v roztoku) pomocí atomové absorpční spektrometrie (obr. 5). Jelikož docházelo při vyšších teplotách depozice k značnému odpařování glycerolu, byla míra odparu na teplotě vypočítána a je patrná na obr. 5. Výpočet byl proveden pomocí Hertzovy-Knudsenovy-Langmuirovy rovnice za použití známých parametrů pro glycerol⁶⁶ a tlak nasycených par, který byl vypočten pomocí empirické rovnice pro glycerol, publikovanou Cammenganem a spol.⁶⁷.

Jak je patrné z obr. 5, dochází do 20 °C k nárůstu koncentrace kovu v roztoku a nad touto teplotou pak koncentrace klesá. Průběh křivek lze interpretovat následovně. V první polovině dochází ke zvyšování koncentrace zejména v důsledku mírného odpařování glycerolu, kdežto v druhé polovině je již toto odpařování natolik významné, že páry glycerolu začínou unášet deponované atomy kovu, což se projeví sníženou rychlostí depozice. Z naměřených dat dále vyplývá, že míra odpařování glycerolu určuje spíše pravděpodobnost, s jakou dojde k unesení deponovaného atomu jeho parami, než že odpařování sníží rychlost depozice o konstantní počet atomů.

5. Antibakteriální vlastnosti nanočástic Ag, Au, Pd a Pt

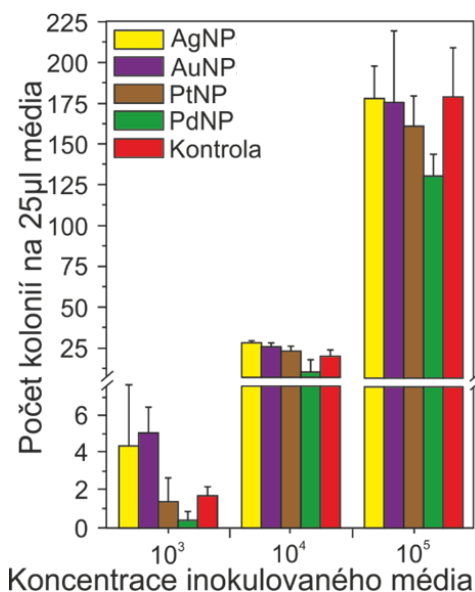
Použití NP v samotném glycerolu pro stanovení biologických vlastností není možné kvůli vysoké hypertonicitě glycerolu. To se v biologických systémech projeví snahou buňky vyrovnat osmotický tlak uvolňováním vody z intracelulárního prostoru. Dochází tak ke svaštění buňky, což může vést až k odchlípení cytoplasmatické membrány. Tento děj se nazývá plazmolýza a končí smrtí buňky⁶⁸. Z toho důvodu byly připravené koloidní roztoky NP v glycerolu naředěny ve vhodném poměru s vodou. Protože přílišné naředění destilovanou vodou by naopak vyústilo v hypotonické prostředí, ve kterém by buňky umíraly prasknutím tzv. plasmoptýzou⁶⁹, byl stanoven ideální poměr glycerol:voda pomocí měření osmolalít připravených roztoků o hmotnostním zlomku glycerolu v rozmezí 0,1 až 0,5. Výsledky těchto měření jsou uvedeny na obr. 6. Modrý pruh indikuje oblast fyziologického isotonického prostředí, za které se v literatuře běžně považuje osmolalita v rozmezí 275 až 295 mOsm/kg (cit.⁷⁰). Proložení experimentálně zjištěných dat (černé čtverečky) byl lineární regresí a znalostí intervalu osmolalít pro isotonické prostředí určen ideální hmotnostní poměr glycerol:voda a to 1:3. Následně byly katodovým naprašováním připraveny nanočástice Ag, Au, Pd a Pt v glycerolu a tyto roztoky byly naředěny dle zjištěného poměru s vodou. Protože byla celková hmotnost deponovaného kovu v poměru s hmotností glycerolu zanedbatelná, nebyl na ni při ředění brán ohled. Jak je z obr. 6 patrné, přítomné NP mají na výslednou isotonicitu žádný nebo zanedbatelný vliv.

U takto upravených koloidních roztoků byla před samotnou biologickou analýzou stanovena velikost nanočástic (AgNP – 5,7±2,3 nm; AuNP – 4,5±0,9 nm, PdNP –

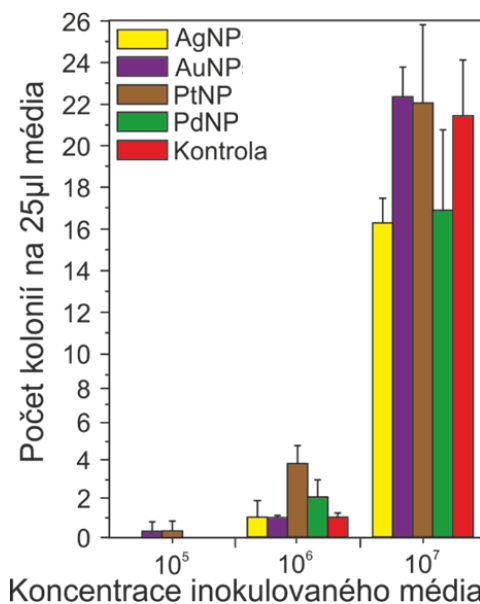


Obr. 6. Stanovení osmolality v systému glycerol/voda. Modrý pás vyznačuje isotonickou oblast, červená hranice pak vyznačuje experimentálně stanovený ideální hmotnostní poměr glycerolu a vody

1,7±0,3 nm a PtNP – 2,1±0,4 nm) i koncentrace příslušného kovu v daném roztoku. Ta byla stanovena primárně pro možnost porovnání výsledných účinků s dostupnými výsledky v odborných periodikách. Hodnoty koncentrace kovů v daných roztocích byly $9,2 \pm 0,3 \text{ mg l}^{-1}$, $13,2 \pm 0,4 \text{ mg l}^{-1}$, $11,8 \pm 0,4 \text{ mg l}^{-1}$ a $16,6 \pm 1,6 \text{ mg l}^{-1}$, a to pro Ag, Au, Pd a PtNP. Výsledky kapkového testu na studovaný gramnegativní kmen bakterií *Escherichia coli* jsou na obr. 7. Z tohoto diagramu je zřejmé, že inkubace PdNP s *E. coli* výrazně ovlivňuje růst tohoto kmene bakterií v porovnání s kontrolním vzorkem až do 10^5 CFU (z angl. Colony Forming Unit – jednotky tvořící kolonie). Při vyšších koncentracích bakterií nebylo možné antibakteriální aktivitu již vyhodnotit, neboť jednotlivé CFU ve vzorcích splývají (tzv. konfluentní vzorky). V případě nanočástic Pt byly pozorovány pouze nepatrné baktericidní účinky při koncentraci 10^5 CFU u *E. coli* a nanočástice Au a Ag již žádné účinky nevykazovaly. Zatímco u Pd a PtNP jsou pozorované výsledky v dobré shodě s dostupnou literaturou^{71,72}, absence baktericidních účinků u Au a AgNP o podobné velikosti nikoli^{34,38}. Tento nesoulad výsledků s odbornou literaturou může mít několik příčin. (a) Koncentrace připravených NP je nízká, a tudíž se jejich antibakteriální účinky nemohou naplno projevit. V odborné literatuře tato koncentrace často ani nebývá stanovena, neboť se výzkum soustředí pouze na kvalitativní vyhodnocení testů (např. práce⁷²). (b) Pozorované baktericidní cho-



Obr. 7. Výsledky kapkového testu na gramnegativní bakterie kmene *Escherichia coli*. Barevně dostupný v online podobě



Obr. 8. Výsledky kapkového testu na grampozitivní bakterie kmene *Staphylococcus epidermidis*. Barevně dostupný v online podobě.

vání NP je způsobené residui z jejich přípravy, kdy zejména před samotnými antibakteriálními testy není ověřena čistota zkoumaného koloidního roztoku. (c) Antibakteriální aktivita těchto částic je více určena interakcí povrch nanočástice/surfaktant, neboť většina příprav NP využívá povrchově aktivních látek k jejich stabilizaci.

Při studiu baktericidní aktivity NP proti grampozitivnímu kmenu *S. epidermidis* (obr. 8) byl pozorován vliv NP od koncentrace bakterií 10^6 CFU. Nejvýrazněji se pak projevovaly nanočástice Pd a Ag. PtNP se překvapivě projevovaly spíše jako promotér růstu bakterií při nižších koncentracích (do 10^6 CFU). Zmíněné tři druhy NP vykazují antibakteriální účinky v dobré shodě s literaturou^{71–73}. AuNP podobně jako PtNP nevykazovaly baktericidní efekt ani na tento kmen bakterií, ačkoliv pozorování jiných vědeckých skupin hovoří o tom, že AuNP o podobné velikosti (5 nm) by antibakteriální chování vykazovat měly^{38,74}. I zde je možné vysvětlit nesoulad s literaturou obdobně jako u gramnegativního kmene *E. coli*.

6. Závěr

V současnosti nacházejí nanočástice ušlechtilých kovů široké uplatnění v materiálovém inženýrství, především v biomedicině, a to díky svým jedinečným vlastnostem při interakci s biologickým prostředím. Tento příspěvek pojednává o unikátních vlastnostech nanostruktur, zejména nanočástic, jejich antropogenním výskytu v přírodě a možných účincích nanočástic na živé organismy na buněčné úrovni včetně jejich přímé expozice. Detailně je popsán především současný stav problematiky naprašování do kapalin a dosavadní úspěchy, příp. limity této techniky.

Je demonstrován potenciál glycerolu pro přípravu nanočástic Ag, Au, Pd a Pt. Práce ukazuje, že v případě Ag a AuNP lze úspěšně ovlivnit velikost vznikajících nanočástic v závislosti na teplotě glycerolu (v rozsahu teplot od 0 do 20 °C). Pro vyhodnocení antibakteriálních účinků nanočástic byl stanoven ideální objemový poměr glycerolu a vody pro vytvoření isotonického prostředí. V případě *E. coli* se jako nejvíce baktericidní jeví PdNP, méně pak AgNP a AuNP a nejméně PtNP. PtNP pak dokonce působily jako promotéry růstu u grampozitivního bakteriálního kmene *S. epidermidis*, kde byl opět pozorován nejvyšší antibakteriální účinek u PdNP.

Autoři děkují za finanční podporu Grantové agentuře ČR v projektu 18-07619S.

LITERATURA

- Kertész K., Bálint Z., Vértesy Z., Márk G. I., Lousse V., Vigneron J. P., Biró L. P.: *Current Appl. Phys.* 6, 252 (2006).
- Watson G. S., Green D. W., Schwarzkopf L., Li X., Cribb B. W., Myhra S., Watson J. A.: *Acta Biomater.* 21, 109 (2015).
- Tsuzuki T.: *Int. J. Nanotechnol.* 6, 567 (2009).
- Lowry G. V., Hotze E. M., Bernhardt E. S., Dionysiou D. D., Pedersen J. A., Wiesner M. R., Xing B.: *J. Environ. Qual.* 39, 1867 (2010).
- Benn T., Cavanagh B., Hristovski K., Posner J. D., Westerhoff P.: *J. Environ. Qual.* 39, 1875 (2010).
- Bystrzejewska-Piotrowska G., Golimowski J., Urban P. L.: *Waste Manage.* 29, 2587 (2009).
- Wahlina P., Palmgren F., Van Dingenen R.: *Atmos. Environ.* 35, S63 (2001).
- Roy R., Kumar S., Tripathi A., Das M., Dwivedi P. D.: *Immunol. Lett.* 158, 79 (2014).
- Kellogg C. A., Griffin D. W.: *Trends Ecol. Evol.* 21, 638 (2006).
- Kolosnjaj-Tabi J., Just J., Hartman K. B., Laoudi Y., Boudjemaa S., Alloeyau D., Szwarc H., Wilson L. J., Moussa F.: *EBioMedicine* 2, 1697 (2015).
- Peterbauer T., Yakunin S., Siegel J., Hering S., Fahrner M., Romanin C., Heitz J.: *J. Nanomater.* (2011).
- Barb R. A., Hrelescu C., Dong L., Heitz J., Siegel J., Slepicka P., Vosmanska V., Svorcik V., Magnus B., Marksteiner R., Scherthner M., Groschner K.: *Appl. Phys. A* 117, 295 (2014).
- Zhao F., Zhao Y., Liu Y., Chang X., Chen C., Zhao Y.: *Small* 7, 1322 (2011).
- Forest V., Cottier M., Pourchez J.: *Nano Today* 10, 677 (2015).
- Yue Z.-G., Wei W., Lv P.-P., Yue H., Wang L.-Y., Su Z.-G., Ma G.-H.: *Biomacromolecules* 12, 2440 (2011).
- Izak-Nau E., Voetz M., Eiden S., Puentes V. F.: *Part. Fibre Toxicol.* 10, 56 (2013).
- Marano F., Guadagnini R., Rodrigues-Lima F., Dupret J.-M., Baeza-Squiban A., Boland S.: *Cellular mechanisms of nanoparticle's toxicity*, v knize: *Encyclopedia of nanotechnology*, str. 404. Springer, Dordrecht 2012.
- Sabella S., Carney R. P., Brunetti V., Malvindi M. A., Al-Juffali N., Vecchio G., Janes S. M., Bakr O. M., Cingolani R., Stellacci F.: *Nanoscale* 6, 7052 (2014).
- Piao M. J., Kang K. A., Lee I. K., Kim H. S., Kim S., Choi J. Y., Choi J., Hyun J. W.: *Toxicol. Lett.* 201, 92 (2011).
- Iversen T.-G., Skotland T., Sandvig K.: *Nano Today* 6, 176 (2011).
- Manke A., Wang L., Rojanasakul Y.: *BioMed Res. Int.* 2013, (2013).
- Risom L., Møller P., Loft S.: *Mutat. Res., Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 592, 119 (2005).
- Nimse S. B., Pal D.: *RSC Adv.* 5, 27986 (2015).
- Sousa T., Afonso J., Albino-Teixeira A., Carvalho F.: *Lipid peroxidation and antioxidants in arterial hypertension*, v knize *Lipid peroxidation*, str. 86. InTech, Rijeka 2012.
- Kasai H.: *Mutat. Res., Rev. Mutat. Res.* 387, 147 (1997).
- Cabiscol E., Tamarit J., Ros J.: *Int. Microbiol.* 3, 3 (2010).
- Stadtman E. R.: *Science* 257, 1220 (1992).
- Siegel J., Nemogová I., Polívková M., Švorčík V.: *Chem. Listy* 113, 23 (2019).

29. Slepicka P., Siegel J., Lyutakov O., Kasalkova N. S., Kolska Z., Bacakova L., Svorcik V.: *Biotechnol. Adv.* **36**, 839 (2018).
30. Siegel J., Zaruba K., Svorcik V., Kroumanova K., Burketova L., Martinec J.: *Nanoscale Res. Lett.* **13**, (2018).
31. Staszek M., Siegel J., Polivkova M., Svorcik V.: *Mater. Lett.* **186**, 341 (2017).
32. Siegel J., Lyutakov O., Polívková M., Staszek M., Hubáček T., Švorčík V.: *Appl. Surf. Sci.* **420**, 661 (2017).
33. Polivkova M., Hubacek T., Staszek M., Svorcik V., Siegel J.: *Int. J. Mol. Sci.* **18**, (2017).
34. Siegel J., Staszek M., Polívková M., Řezníčková A., Rimpelová S., Švorčík V.: *Mater. Today: Proc.* **3**, 608 (2016).
35. Reznickova A., Siegel J., Slavikova N., Kolska Z., Staszek M., Svorcik V.: *React. Funct. Polym.* **105**, 1 (2016).
36. Staszek M., Siegel J., Kolarova K., Rimpelova S., Svorcik V.: *Micro Nano Lett.* **9**, 778 (2014).
37. Siegel J., Staszek M., Švorčík V.: *Chem. Listy* **108**, 1102 (2014).
38. Siegel J., Kolarova K., Vosmanska V., Leitner J., Svorcik V.: *Mater. Lett.* **113**, 59 (2013).
39. Polivkova M., Hubacek T., Staszek M., Svorcik V., Siegel J.: *Int. J. Mol. Sci.* **18**, (2017).
40. Schmid G., v knize: *Nanoparticles: From theory to application*, str. 149. J. Wiley, Weinheim 2011.
41. Altavilla C., Ciliberto E., v knize: *Inorganic nanoparticles: Synthesis, applications, and perspectives*, str. 44. CRC Press, Boca Raton 2010.
42. Rai M., Posten C., v knize: *Green biosynthesis of nanoparticles: Mechanisms and applications*, str. 184. CABI, Wallingford 2013.
43. Bhatia S., v knize: *Natural polymer drug delivery systems: Nanoparticles, plants*, str. 38. Springer, New York 2016.
44. Gao-xiang Y., Chun-mu F., Qi-rui Z., Hong G., Xuan-jia Z.: *Chin. Phys. Lett.* **13**, 772 (1996).
45. Wagener M., Günther B.: *J. Magn. Magn. Mater.* **201**, 41 (1999).
46. Wender H., Migowski P., Feil A. F., Teixeira S. R., Dupont J.: *Coord. Chem. Rev.* **257**, 2468 (2013).
47. Siegel J., Kvitek O., Ulbrich P., Kolska Z., Slepicka P., Svorcik V.: *Mater. Lett.* **89**, 47 (2012).
48. Paulechka Y. U., Kabo G. J., Blokhin A. V., Vydrov O. A., Magee J. W., Frenkel M.: *J. Chem. Eng. Data* **48**, 457 (2003).
49. Hanusek J.: *Chem. Listy* **99**, 265 (2005).
50. Antonietti M., Kuang D., Smarsly B., Zhou Y.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, 4988 (2004).
51. Thuy Pham T. P., Cho C.-W., Yun Y.-S.: *Water Res.* **44**, 352 (2010).
52. Gref R., Lück M., Quellec P., Marchand M., Müller R. H.: *Colloids Surf. B* **18**, 301 (2000).
53. Association G. P., v knize: *Physical properties of glycerine and its solutions*, str. 236. Glycerine Producers' Association, New York 1963.
54. Wender H., de Oliveira L. F., Migowski P., Feil A. F., Lissner E., Prechtel M. H., Teixeira S. R., Dupont J.: *J. Phys. Chem. C* **114**, 11764 (2010).
55. Wender H., de Oliveira L. F., Feil A. F., Lissner E., Migowski P., Meneghetti M. R., Teixeira S. R., Dupont J.: *Chem. Commun.* **46**, 7019 (2010).
56. Hatakeyama Y., Takahashi S., Nishikawa K.: *J. Phys. Chem. C* **114**, 11098 (2010).
57. Richter K., Birkner A., Mudring A.-V.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 2431 (2010).
58. Hatakeyama Y., Morita T., Takahashi S., Nishikawa K.: *J. Phys. Chem. C* **115**, 3279 (2011).
59. Anantha P., Cheng T., Tay Y. Y., Wong C. C., Ramanujan R. V.: *Nanoscale* **7**, 16812 (2015).
60. Ali M., Abarca G., Eberhardt D., Gual A., Bernardi F., Dupont J.: *Tetrahedron* **73**, 5593 (2017).
61. Wender H., de Oliveira L. F., Migowski P., Feil A. F., Lissner E., Prechtel M. H. G., Teixeira S. R., Dupont J.: *J. Phys. Chem. C* **114**, 11764 (2010).
62. Hatakeyama Y., Onishi K., Nishikawa K.: *RSC Adv.* **1**, 1815 (2011).
63. Bigall N. C., Härtling T., Klose M., Simon P., Eychmüller A.: *Nano Lett.* **8**, 4588 (2008).
64. Chen Y., Frey H., Thomann R., Stiriba S.-E.: *Inorg. Chim. Acta* **359**, 1837 (2006).
65. Liu X., Atwater M., Wang J., Huo Q.: *Coll. Surf. B* **58**, 3 (2007).
66. Glycerine Producers A., v knize: *Physical properties of glycerine and its solutions*, str. 44. Glycerine Producers' Association, New York 1963.
67. Cammenga H. K., Schulze F. W., Theuerl W.: *J. Chem. Eng. Data* **22**, 131 (1977).
68. Oparka K. J.: *New Phytol.* **126**, 571 (1994).
69. Hardy P. H., Nell E. E.: *J. Bacteriol.* **82**, 967 (1961).
70. Sperelakis N., v knize: *Cell physiology source book: Essentials of membrane biophysics*, str. 87. Elsevier, Amsterdam 2012.
71. Adams C. P., Walker K. A., Obare S. O., Docherty K. M.: *PLoS One* **9**, e85981 (2014).
72. Cho K.-H., Park J.-E., Osaka T., Park S.-G.: *Electrochim. Acta* **51**, 956 (2005).
73. Staszek M., Siegel J., Rimpelova S., Lyutakov O., Svorcik V.: *Mater. Lett.* **158**, 351 (2015).
74. Polívková M., Siegel J., Kolářová K., Rimpelová S., Švorčík V.: *Chem. Listy* **110**, 139 (2016).

J. Siegel, M. Staszek, M. Kaimlová, and V. Švorčík
(Department of Solid State Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague): **New Preparation Procedures of Metal Nanoparticles and Their Activities in Biological Systems**

This review describes new procedures of preparation of nanoparticles into liquid media, possible ways of their action on cellular level and testing of antimicrobial activity of metal nanoparticle-glycerol system. Basic requirements on liquid media and conditions affecting parameters of

colloidal solutions are specified. Advantages of glycerol based nanoparticle solutions from the point of view of their biological effects are discussed. In particular the silver, gold, palladium, and platinum nanoparticles are considered with emphasis on their antimicrobial activity. The paper presents original experimental data and summarizes mechanisms of antimicrobial action of these nanoparticles towards grampositive and gramnegative bacteria strains together with supposed passage of nanoparticles to intracellular space and processes triggered within this milieu.

Keywords: nanoparticles, sputtering, glycerol, antibacterial activity

Acknowledgements

Authors are thankful to Grant Agency of the CR for financial support of this work under the project No. 18-07619S.



8. mezinárodní chemicko-technologická konference

8th International Conference on Chemical Technology

6. – 8. 4. 2020
Mikulov



www.icct.cz

