

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní program – Nanotechnologie



Disertační práce

**Biosyntetizované metalické nanočástice a jejich potenciál při degradaci
organických látek**

Metallic bionanoparticles and their potential in degradation of organic compounds

Ing. Veronika Holišová

Školitel: doc. Ing. Daniela Plachá, Ph.D.

Školitel specialista: Ing. Gabriela Kratošová, Ph.D.

Studijní program: Nanotechnologie

Ostrava, 2019

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: **Ing. Veronika Holišová**

Název disertační práce: **Biosyntetizované metalické nanočástice a jejich potenciál při degradaci organických látek**

Název disertační práce v anglickém jazyce: **Metallic bionanoparticles and their potential in degradation of organic compounds**

Fakulta: **Centrum nanotechnologií**

Studijní program: **Univerzitní studijní program Nanotechnologie**

Školitel: **doc. Ing. Daniela Plachá, Ph.D.**

Školitel specialista: **Ing. Gabriela Kratošová, Ph.D.**

Rok obhajoby: **2019**

Klíčová slova česky: bionanotechnologie, biosyntéza, nanočástice zlata, nanokompozit, katalýza, soman, ibuprofen

Klíčová slova anglicky: bionanotechnology, biosynthesis, gold nanoparticles, nanocomposite, catalysis, soman, ibuprofene

Prohlášení

Já, Veronika Holišová, prohlašuji tímto, že jsem disertační práci vypracovala samostatně. Veškerou literaturu a ostatní prameny, z nichž jsem čerpala, řádně cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

Datum a podpis

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své školitelce doc. Ing. Daniele Plaché, Ph.D., za odborné vedení v průběhu doktorandského studia, věnovaný čas a podnětné připomínky při řešení zadané problematiky disertační práce.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Gabriele Kratošové, Ph.D. za podporu, pomoc a odborné konzultace v rámci disertační práce, Ing. Martinovi Urbanovi za poskytnutí spolupráce při testování degradace somanu, Ing. Barboře Thomasové, Ph.D. za charakterizaci vzorků metodou XRFS, Mgr. Pavlíně Peikertové, Ph.D. za konzultace týkající se infračervené spektroskopie, Mgr. Kateřině Mamulové Kutlákové, Ph.D. za konzultace ohledně RTG difrakční analýzy a Ing. Šárce Tomisové za analýzu vzorků metodou atomové emisní spektroskopie s indukčně vázanou plazmou.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým kolegům a kamarádům Ing. Zuzaně Konvičkové, Ing. Kateřině Škrlové, Ing. Ondřejovi Dutkovi, a Ing. Marcelovi Mikeskovi za pomoc, jejich pochopení a povzbuzení v průběhu celého mého studia. Nakonec velké poděkování patří mé rodině a Ing. Matějovi Krbečkovi za jejich podporu a důvěru.

Disertační práce vznikla za finanční podpory projektů SP2019/23, SP2018/122, SP2017/78, SP2018/72, SP2017/52 a SP2016/72 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy.

Abstrakt

Teoretická část disertační práce shrnuje biosyntetickou přípravu nanomateriálů a jejich aplikaci jako katalyzátory při degradaci organických látek. Hlavním cílem této práce byla příprava nanočástic zlata biosyntézou za použití odpadní křemeliny z filtrace piva a rostlinného výluhu z lípového květu *Tilia* sp. S ohledem na použité biomasy byly připraveny dva typy nanomateriálů, a to nanokompozit obsahující nanočástice zlata ukotvené na povrchu křemeliny a koloid nanočástic zlata fytosyntetizovaných rostlinným výluhem. V závislosti na dosažených výsledcích byly dále optimalizovány parametry biosyntézy, sledována stabilita biosyntetizovaného nanomateriálu v čase a ověřena opakovatelnost biosyntézy nanočástic. V závěru práce je experimentálně potvrzen podíl nanočástic zlata na degradaci 4-nitrofenolu, farmaceutické látky ibuprofenu a nervově paralytického jedu somanu. Z výsledků vyplývá, že biosyntéza nanočástic kovů může být za optimalizovaných podmínek opakovatelnou metodou přípravy stabilních bionanomateriálů v čase za optimalizovaných podmínek. Na základně provedených experimentů bylo potvrzeno, že je možné environmentálně přijatelnou metodou připravit nanočástice kovů s aplikačním potenciálem v katalýze.

Klíčová slova: bionanotechnologie, biosyntéza, nanočástice zlata, nanokompozit, katalýza, 4-nitrofenol, soman, ibuprofen

Abstract

The theoretical part of this dissertation thesis summarizes biosynthetic preparation of nanoparticles and their application as catalysts in the degradation of organic compounds. The aim of this work was to biosynthesize gold nanoparticles using the waste diatomite earth from beer filtration and plant extract from linden flower *Tilia* sp. With respect to used biomass, two types of nanomaterials were prepared, namely nanocomposite containing nanogold embedded on the silica surface and colloidal solution of gold nanoparticles. Depending on the obtained results, the task was to optimize biosynthesis conditions, study biosynthesized nanomaterials stability during the time and verify repeatability of nanogold biosynthesis. Finally, biosynthesized nanoparticles functionality was experimentally confirmed in catalysis, namely in degradation of 4-nitrophenol, pharmaceutical compounds ibuprofen and nervous paralytic poison soman. The results show that biosynthesis of nanometals can be repeatable method for stable nanoparticles preparation under optimized conditions. On the basis of performed experiments it was approved that applying an environmentally acceptable method metal nanoparticles with potential in catalysis could be prepared.

Keywords: bionanotechnology, biosynthesis, gold nanoparticles, nanocomposite, catalysis, 4-nitrophenol, soman, ibuprofene

Prohlášení o využití výsledků práce

Prohlašuji, že:

- jsem byla seznámena, že na moji disertační práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména § 35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního a § 60 – školní dílo.

- beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen „VŠB – TUO“) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě disertační práci užít (§ 35 odst. 3).

- souhlasím s tím, že disertační práce bude v elektronické podobě uložena v Ústřední knihovně VŠB – TUO k nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího disertační práce. Souhlasím s tím, že údaje o kvalifikační práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB – TUO.

- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.

- bylo sjednáno, že užít své dílo – disertační práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB - TUO, která je oprávněná v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

- beru na vědomí, že odevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1988 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě dne

.....

jméno a příjmení studenta

J. Kavky 3112, Frýdek – Místek, 738 01

adresa trvalého pobytu studenta

Seznam použitých zkratk

BET – Brunauer-Emmett-Teller analýza

BSTFA – *N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid

CR – kongo červeň (Congo Red)

DAD – detektor s diodovým polem

DB 24 – direct blue 24

DDT – dichlorodifenyltrichlorethan

DESI – desorpční elektrosprejová ionizace

EDS – energiově disperzní spektrometr

EDX – energiově disperzní rentgenová mikroanalýza

FIA – průtoková vstřikovací analýza

FTIR – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

GD – soman

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IBU – ibuprofen

ICP - AES – atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem

LSPR – lokalizovaná kolektivní oscilace volných plasmonů

MB – methylenová modř (Methylene Blue)

MR – methylčerveň (Methyl Red)

MO – methyloranž (Methyl Orange)

NČ – nanočástice

OK – odpadní křemelina

PBT – perzistentní, bioakumulativní a toxické chemikálie

RhB – Rhodamin B

RTG – rentgenová prášková difrakce

SAED – elektronová difrakce

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

SPE – extrakce tuhou fází

SPME – mikroextrakce tuhou fází

SPR – kolektivní oscilace volných plasmonů

SÚJCHBO – státní ústav jaderné, chemické a biologické obrany

TCE – trichlorethen

TEM – transmisní elektronová mikroskopie

UPLC – ultraúčinná kapalinová chromatografie

UV-VIS – spektroskopie ve viditelné a ultrafialové oblasti světla

XRFS – rentgenová fluorescenční spektroskopie

Obsah

1 TEORETICKÁ ČÁST	17
1.1 Biosyntéza kovových nanočástic	17
1.2 Mechanismus biosyntézy nanočástic kovů	21
1.3 Stabilita biosyntetizovaných nanočástic kovů	24
1.4 Použité biomasy pro biosyntézu nanočástic zlata	26
1.4.1 Odpadní křemelina z filtrace piva	27
1.4.2 Lípa malolistá (<i>Tilia cordata</i>).....	28
1.5 Katalýza a katalyzátory	29
1.5.1 Princip katalytického účinku nanočástic zlata	30
1.6 Literární přehled - degradace organických látek bionanočásticemi kovů.....	33
1.6.1 Degradace nitroaromatických sloučenin.....	34
1.6.2 Odbourávání azobarviv	35
1.6.3 Dehalogenace chlorovaných organických sloučenin	37
1.6.4 Odbourávání léčiv.....	38
1.7 Charakteristika vybraných organických látek	39
1.7.1 Nervově paralytický jed soman.....	39
1.7.2 Léčivo ibuprofen	40
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	42
2.1 Použité chemikálie a biomasy	43
2.2 Použité přístroje	43
2.3 Nanokompozit na bázi odpadní křemeliny a nanozlata	44
2.3.1 Biosyntéza nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva.....	44
2.3.2 Studium stability ukotvení nanočástic zlata na povrchu odpadní křemeliny.....	47

2.3.3	<i>Testování pivních kvasinek a čisté filtrační křemeliny jako redukčních činidel pro biosyntézu nanočástic zlata</i>	48
2.3.4	<i>Použité analytické metody pro charakterizaci nanokompozitu</i>	48
2.4	Fytosyntéza nanočástic zlata vodným výluhem z lípy.....	50
2.4.1	<i>Příprava výluhu z lípy Tilia cordata</i>	50
2.4.2	<i>Fytosyntéza nanočástic zlata</i>	50
2.4.3	<i>Charakterizace fytosyntetizovaných nanočástic</i>	51
2.5	Detekce odbourávání 4-nitrofenolu za přítomnosti nanočástic zlata	52
2.6	Degradace somanu za přítomnosti nanočástic zlata.....	52
2.6.1	<i>Postup testování katalytické aktivity vzorků při degradaci somanu</i>	52
2.6.2	<i>Plynová chromatografie</i>	53
2.6.3	<i>Analýza degradačních produktů</i>	53
2.7	Sledování odbourávání ibuprofenu za přítomnosti nanočástic zlata.....	54
2.7.1	<i>Testování katalytické aktivity vzorků pro odbourání ibuprofenu</i>	54
2.7.2	<i>Ultraúčinná kapalinová chromatografie</i>	56
3	VÝSLEDKY A DISKUZE	57
3.1	Nanokompozit na bázi křemeliny a nanočástic zlata	57
3.1.1	<i>Charakterizace nanočástic zlata biosyntetizovaných odpadní křemelinou</i>	57
3.1.2	<i>Vliv teploty na biosyntézu nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva</i>	63
3.1.3	<i>Návrh mechanismu biosyntézy nanočástic zlata</i>	64
3.1.4	<i>Biosyntéza nanočástic zlata kvasinkami a filtrační křemelinou</i>	67
3.1.5	<i>Ověření opakovatelnosti dynamické biosyntézy nanočástic zlata</i>	70
3.2	Fytosyntetizovaný koloidní roztok nanočástic zlata	78
3.2.1	<i>Charakterizace fytosyntetizovaných nanočástic zlata</i>	78
3.2.2	<i>Fytosyntéza nanočástic zlata vodným výluhem z listenu a vijanů lípy</i>	80
3.2.3	<i>Sledování stability nanočástic zlata a ověření opakovatelnosti fytosyntézy</i>	85

3.2.3.1	<i>Návrh mechanismu fyto­syntézy nanočástic zlata výluhem listenu lípy</i>	93
3.3	Odbourávání 4-nitrofenolu.....	95
3.4	Hydrolyza somanu za přítomnosti nanočástic zlata.....	97
3.5	Odbourávání ibuprofenu za přítomnosti nanomateriálu s nanočásticemi zlata	103
4	ZÁVĚR	105
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	108
	SEZNAM OBRÁZKŮ	128
	SEZNAM TABULEK	132
	SEZNAM PUBLIKACÍ	134
	PŘÍLOHA	138

ÚVOD

Nanotechnologie je oblast vědy zabývající se mimo jiné přípravou materiálů o rozměrech v rozmezí 1 až 100 nm [1]. Do současnosti bylo pro přípravu nanomateriálů vyvinuto a použito mnoho různých metod. Patří mezi ně například laserová ablace, sol-gel metoda, kulové mletí a biosyntéza. Podle principu mohou být tyto metody děleny na fyzikální, chemické, mechanické a biologické. Vyšší pozornost věnovaná nanomateriálům je dána jejich unikátními chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Materiály stejného chemického složení vykazují v nanorozměrech odlišné vlastnosti ve srovnání s jejich objemovou formou. Nanočástice mají například o mnoho větší reakční specifický povrch, a tím i lepší specifické katalytické vlastnosti, které se obecně zlepšují se zmenšující se velikostí nanočástic.

V posledních letech se v syntéze nanomateriálů uplatňuje tzv. zelená chemie (green chemistry). Do této oblasti patří biosyntéza nanočástic, která zahrnuje přípravu anorganických nanočástic působením biomolekul organismů. Pro biosyntézu nanočástic byly již experimentálně využity bakterie, kvasinky, řasy, ale i rostliny a jejich extrakty, izolované biomolekuly, potravinové a výživové doplňky a v poslední době byly použity také odpadní biomasy – druhotné suroviny ze zpracování zemědělských plodin a z potravinářství. Vzhledem k širokému výběru biomas, mohou být připravovány nanomateriály nejen v koloidní formě z rostlinných extraktů, ale i v podobě nanokompozitů. V tomto případě jsou nanočástice nejen syntetizovány a stabilizovány biomasou v jednom kroku, ale také současně kotveny na jejím povrchu. Ve své podstatě lze biosyntézu nanočástic zařadit také mezi metody chemické, ale biologická složka (tzv. biofáze) hraje v procesu biosyntézy a současné stabilizace nanočástic významnou roli. Tyto bionanotechnologické postupy se staly rovnocenným partnerem klasických metod používaných pro přípravu nanočástic především proto, že mohou být energeticky, ekonomicky a ekologicky méně náročné.

Nanomateriály připravované chemickou, fyzikální, mechanickou, ale i biologickou cestou, nacházejí uplatnění například v katalýze, lékařských, elektrochemických nebo optických aplikacích. Biosyntetizované nanočástice jsou testovány jako efektivní katalyzátory při degradaci nebezpečných organických látek vyskytujících se dlouhodobě v životním prostředí. Mezi tyto látky se například řadí organická barviva, nitroaromatické sloučeniny, chlorované aromatické sloučeniny atd. Existuje již mnoho vědeckých prací, které popisují přípravu efektivních nanokatalyzátorů. Pro jejich reálnou aplikaci je rozhodující stabilita,

životnost katalyticky aktivního materiálu a ekonomická i ekologická náročnost technologického procesu jeho výroby.

Tato práce se zabývá možnostmi biotechnologických syntéz, které představují alternativní cestu, po nichž lze také dospět k funkčním nanomateriálům s aplikačním potenciálem v heterogenní katalýze. Předmětem praktické části práce je optimalizace přípravy nanočástic zlata biosyntetizovaných i) odpadní křemelinou použitou pro filtraci piva a ii) vodným výluhem z lípy *Tilia* sp. Byly tak připraveny nanomateriály ve formě nanokompozitu a ve formě koloidu. Zvolené biomasy byly vybrány pro snadnou dostupnost. V případě přípravy nanokompozitu byla využita pro biosyntézu nanočástic zlata a jejich následné kotvení na křemelinu druhotná surovina z potravinářského průmyslu.

Vzhledem k tomu, že se pro biosyntézu nanočástic využívají biologické materiály, které jsou druhově specifické, nelze obecně definovat opakovatelnost biotechnologického postupu, stabilitu nanomateriálu a mechanismus biosyntézy. Proto se práce dále zabývá i) studiem pravděpodobného mechanismu bioredukce zlatitých iontů z prekurzoru za přítomnosti vybraných biomas, ii) ověřením opakovatelnosti přípravy nanomateriálu a iii) studiem stability biosyntetizovaného nanomateriálu v čase. Katalytický účinek nanozlata ukotveného na odpadní křemelině byl testován při degradaci 4-nitrofenolu, farmaceutické látky ibuprofenu a nervově paralytického jedu somanu. Nanočástice zlata fyto-syntetizované rostlinným výluhem byly testovány při degradaci ibuprofenu a somanu. Na základě diskuze a porovnání výsledků měření byl stanoven nanomateriál, který vykazoval lepší stabilitu, byla u něj potvrzena opakovatelnost metody jeho přípravy a vykazoval vyšší katalytickou aktivitu při odbourávání organických látek.

Cíle disertační práce:

- 1) provedení rešerše z dostupné literatury a vypracování přehledové studie o biosyntézách nanomateriálů na bázi kovů,
- 2) na základě rešerše vyhodnocení aplikačního potenciálu nanomateriálů na bázi kovů při degradaci problematických organických látek,
- 3) biosyntéza nanočástic zlata,
- 4) charakterizace biosyntetizovaných nanočástic,
- 5) optimalizace parametrů biosyntézy,
- 6) ověření opakovatelnosti metody a sledování stability připraveného nanomateriálu,
- 7) navržení možného mechanismu biosyntézy nanočástic zlata odpadní křemelinou a výluhem z lípy *Tilia* sp.,
- 8) experimentální ověření funkčnosti nanočástic v modelových reakcích degradace organických látek.

1 TEORETICKÁ ČÁST

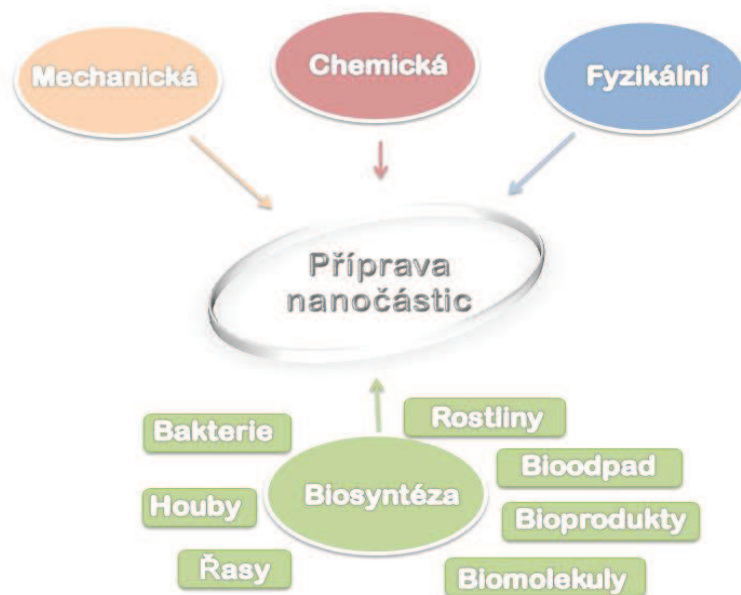
1.1 Biosyntéza kovových nanočástic

V současné době se mnoho vědeckých disciplín inspiruje biochemickými a biomineralizačními procesy, biomateriály a designem vyskytujícími se v přírodě. Široká škála „bio“ materiálů, struktur a procesů představuje vědecký přínos nejen pro bionano- a nanobiotechnologické obory. Živé organismy jsou schopny vytvářet nejrůznější funkční materiály a struktury z organických biomolekul a anorganických látek dostupných v jejich okolním prostředí. Proces, při kterém dochází k samoorganizaci anorganických a bioorganických látek do specifické formy, se nazývá biomineralizace [2]. Příkladem biomineralizovaných struktur mohou být křemičité schránky hnědých řas, vápenaté schránky korálů nebo mikroskopické krystalky křemene zpevňující rostlinné tkáň, tzv. fytolity [3–5].

Jedním ze směrů, kterým se bionanotechnologie zabývají, je využití interakcí mezi buňkou a kovovými ionty pro přípravu nových metalických materiálů v nanorozměrech. Již bylo uvedeno, že organismy cíleně využívají určité disociované složky ze svého okolí pro konstrukci životně důležitých struktur a organel se specifickými funkcemi (např. magnetosomů nebo křemičitých schránek) [3, 6]. Pokud se ale v jejich okolí nachází potenciálně toxické kovy ve formě kationtů, dochází k nastartování obranných mechanismů, které mají za cíl kationty zredukovat do nulamocné formy, případně je vyvázat do méně rozpustných sloučenin, které již nepředstavují pro organismus významné riziko [7]. Právě procesu biokrystalizace se cíleně využívá při biosyntéze nanočástic.

Termín biosyntéza představuje vznik a stabilizaci anorganických nanočástic působením molekul biologického systému. Takto lze syntetizovat nanočástice kovů (Au, Pd, Pt, Ag, příp. Au/Ag), oxidů kovů (ZnO, Mn₃O₄, ZrO₂, Fe_xO_y) i dalších sloučenin, např. CdS, ZnS, PbS, MnS, AgCl [8–10]. Zdrojem biomolekul mohou být bakterie, houby, řasy, viry, části rostlin, jejich extrakty nebo i biologické odpadní materiály [9].

Zatímco fyzikální, chemické a mechanické metody (Obrázek 1) využívané pro přípravu nanomateriálů mohou být spojené s použitím toxických sloučenin, vysokou energetickou spotřebou a jistou ekonomickou náročností, mikroorganismy, rostlinné extrakty nebo bioodpady mohou být snadno dostupné a mohou působit jako ekoiniciátory nukleace a stabilizace nanočástic v laboratorních podmínkách.



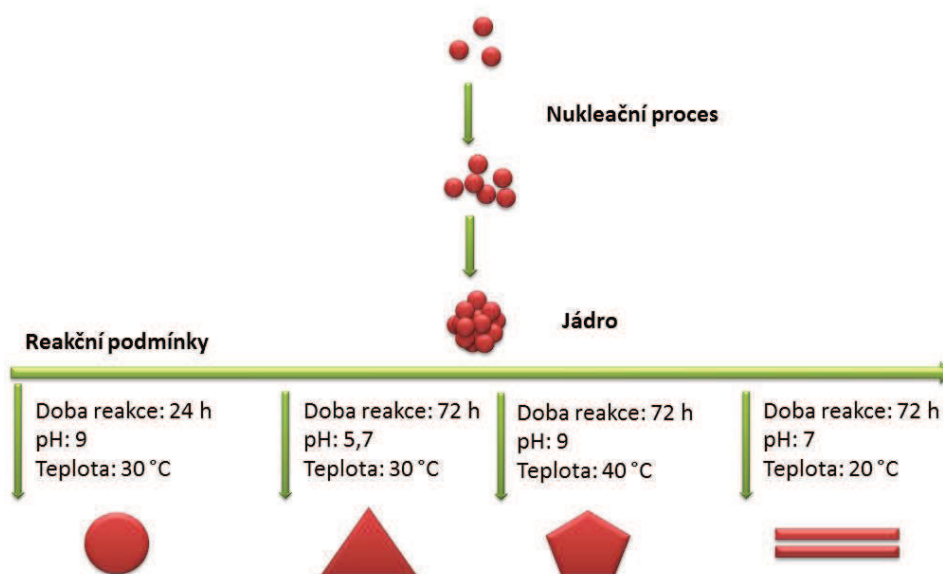
Obrázek 1: Dělení metod přípravy nanočástic na mechanické, chemické, fyzikální a biosyntézu

Může se tedy jednat o jednodušší, levnější a z environmentálního hlediska přijatelnější metodu přípravy nanomateriálů [11, 12]. Na druhou stranu v případě biosyntézy je nutné zohlednit několik faktorů. Jelikož je biosyntéza nanočástic kovů druhově specifická, výběr i odběr biomasy, její stav a zpracování může významně ovlivnit finální vlastnosti nanomateriálu. Biologický materiál může reagovat na vnější podmínky, jako jsou například pH prostředí, teplota, vzdušná vlhkost, ozáření, atd. Tyto okolnosti mohou ovlivňovat výsledné složení obsahových látek v biomase a její kvalitu. Je tedy důležité ošetřit nejen reakční podmínky biosyntézy, ale také zajistit stejné podmínky kultivace/růstu biomasy či její odběr. Vzhledem k těmto vlivům je nutné zajistit opakovatelnost biosyntézy nanočástic tak, aby při definovaném použití za stejných podmínek přípravy nanočástic se stejným experimentálním zařízením byl získán produkt se shodnými vlastnostmi [13]. Rozdíly mezi biosyntetickými a ostatními metodami přípravy nanočástic (NČ) jsou shrnuty v Tabulce 1 [14].

Tabulka 1: Rozdíly mezi nebiosyntetickou a biosyntetickou metodou přípravy NČ

Nebiosyntetické metody přípravy NČ	Biosyntetické metody přípravy NČ
Definovaný postup → definovaná velikost a tvar NČ	Pilotní testy → optimalizace → definované NČ
Definovaná homogenita NČ	NČ mohou mít větší velikostní rozptyl → optimalizace metody přípravy
Dodatečná stabilizace	Redukce, stabilizace a ukotvení v jednom kroku
Známé složení reaktantů a produktů	Nutnost charakterizace biomolekul v systému před a po biosyntéze → porovnání výsledků → návrh mechanismu
Toxické chemikálie, náročné experimentální podmínky a zařízení	„Eko“ metoda, mírné laboratorní podmínky, nenáročné provedení
Není možnost zpracovávat druhotné suroviny, nebo jen omezeně	Možnost využití odpadních biomas

Prostřednictvím biosyntézy lze připravit kovové nanočástice různého chemického složení, velikostí, tvaru a koncentrace. Tyto vlastnosti lze optimalizovat změnou reakčních podmínek, jako jsou pH, teplota, koncentrace prekursoru, množství biomasy, míchání, ozáření atd. Na obrázku 2 je uvedeno schéma biosyntézy nanočástic zlata a závislost výsledného tvaru nanočástic na teplotě, pH a reakčním čase [15].



Obrázek 2: Závislost výsledného tvaru nanočástic zlata na reakčních podmínkách biosyntézy

[15]

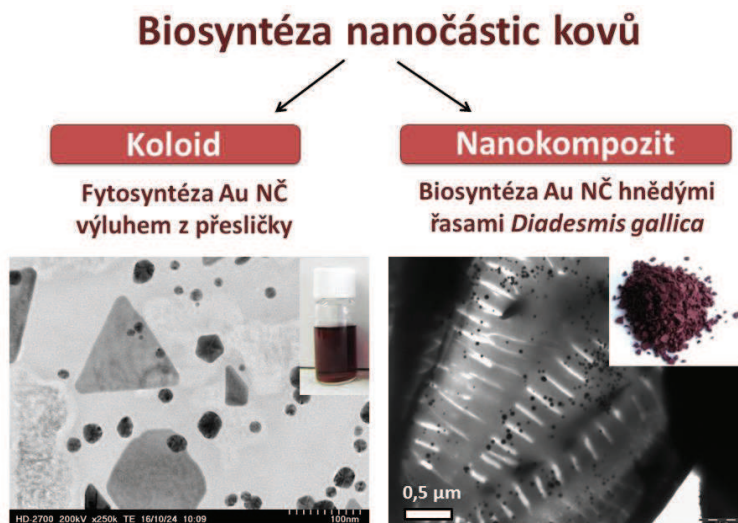
Pro biosyntézu nanočástic byla již využita široká škála biologických materiálů. Tabulka 2 uvádí některé příklady mikroorganismů, rostlinných extraktů a odpadních biomateriálů, které byly experimentálně testovány pro biosyntézu různých nanočástic kovů.

Tabulka 2: Příklady biomasy použité pro biosyntézu nanočástic kovů

Organismus	Nanočástice	Velikost [nm]	Tvar	Ref.
Bakterie				
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Pd	9-12	kulovitý	[16]
<i>Escherichia coli</i>	Au	50	kulovitý	[17]
<i>Bacillus marisflavi</i>	Au	14	kulovitý	[18]
<i>Corynebacterium</i> sp.	Ag	15	kulovitý	[19]
Řasy				
<i>Sargasum wightii</i>	Au	8-12	kulovitý	[20]
<i>Diademesmis gallica</i>	Au	20	kulovitý	[21]
<i>Mallomonas kalinae</i>	Au	10	kulovitý	[22]
<i>Spirulina platensis</i>	Ag	12	kulovitý	[23]
Houby				
<i>Cylindrocladium floridanum</i>	Au	25	kulovitý	[24]
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Au	15	kulovitý	[25]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ag	2-20	kulovitý	[26]
Rostliny a extrakty				
<i>Anogeissus latifolia</i>	Pd	5	kulovitý	[27]
<i>Phoenix dactylifera</i>	Au	32	kulovitý	[28]
<i>Polygonum hydropiper</i>	Ag	60	kulovitý	[29]
<i>Momordica charantia</i>	Au/Ag/AgCl	20-25	kulovitý	[30]
Odpadní materiály				
Melounové slupky	Pd	96	kulovitý	[31]
Slupky manga	Au	6-18	kulovitý	[32]
Cukrovarské řízky	Au	20 160	kulovitý trojúhelník	[33]

Vhodný výběr biomasy a zajištění optimálních reakčních podmínek jsou důležitými parametry pro přípravu biosyntetizovaných nanočástic kovů. Pro produkci bionanočástic v průmyslovém měřítku je také nutné posoudit vhodnost zvolené biomasy, rychlost bioredukce a budoucí aplikaci nanomateriálu. V současné době se do popředí zájmu dostávají *i)* fytyosyntéza s extrakty a výluhy z rostlin a *ii)* biosyntéza kovů odpadními materiály [34]. V těchto případech biosyntézy není potřebná např. dlouhodobá kultivace mikroorganismů

a mohou být snadněji zajištěny větší výtěžky procesu. Nanočástice lze syntetizovat jako volné v koloidu nebo je kotvit na použité biomasě za vzniku nanokompozitu (Obrázek 3).

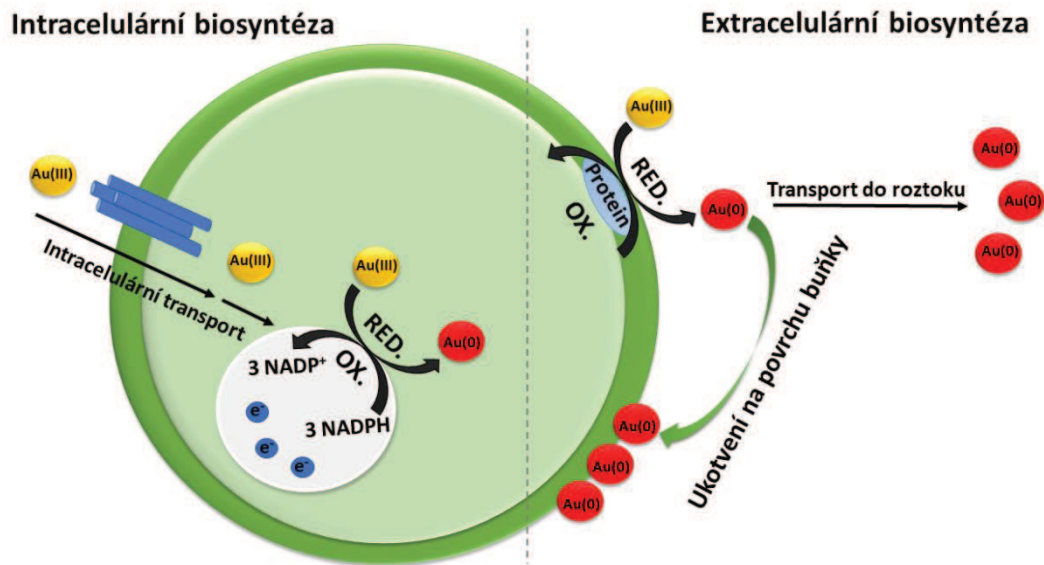


Obrázek 3: Biosyntetizované nanočástice zlata (Au NČ) v koloidu nebo ukotvené na povrchu křemičité schránky *Diademes gallica* [35, 36]

1.2 Mechanismus biosyntézy nanočástic kovů

Biosyntéza je ve své podstatě považována za chemický proces probíhající v těsné blízkosti zvolené biomasy. Principiálně probíhá tak, že ke zvolené biomase je přidán prekursor obsahující ionty kovů (např. HAuCl_4 , AgNO_3 , Na_2PdCl_4 , atd.) [37, 38], jehož nanočástice jsou připravovány. Každý biologický systém je unikátní a specifický svým komplexním složením, a proto je obtížné mechanismus biosyntézy nanočástic kovů definovat.

V zobecněném, nikoli konečném modelu, jsou kovové ionty zachyceny elektrostatickými interakcemi, které se vyskytují mezi kladně nabitými ionty kovů a negativně nabitými ionty na povrchu nebo uvnitř buňky, kde se následně redukují [39]. Podle toho, kde bioredukce probíhá, ji lze rozdělit na extra- a intracelulární (Obrázek 4). Jestliže je redukce kovových iontů způsobena funkčními skupinami (např. karboxylovou, aminovou, hydroxylovou, atd.) na povrchu buňky, probíhá extracelulární biosyntéza nanočástic kovů. Následně mohou být nanočástice kotvené na povrchu buňky anebo jsou uvolněny přímo do roztoku. Jedná-li se o intracelulární biosyntézu, ionty kovů difundují dovnitř buňky, kde jsou redukovány působením biomolekul, např. enzymy (NADPH reduktáza) [40]. V některých případech může docházet k extracelulární a intracelulární biosyntéze současně.



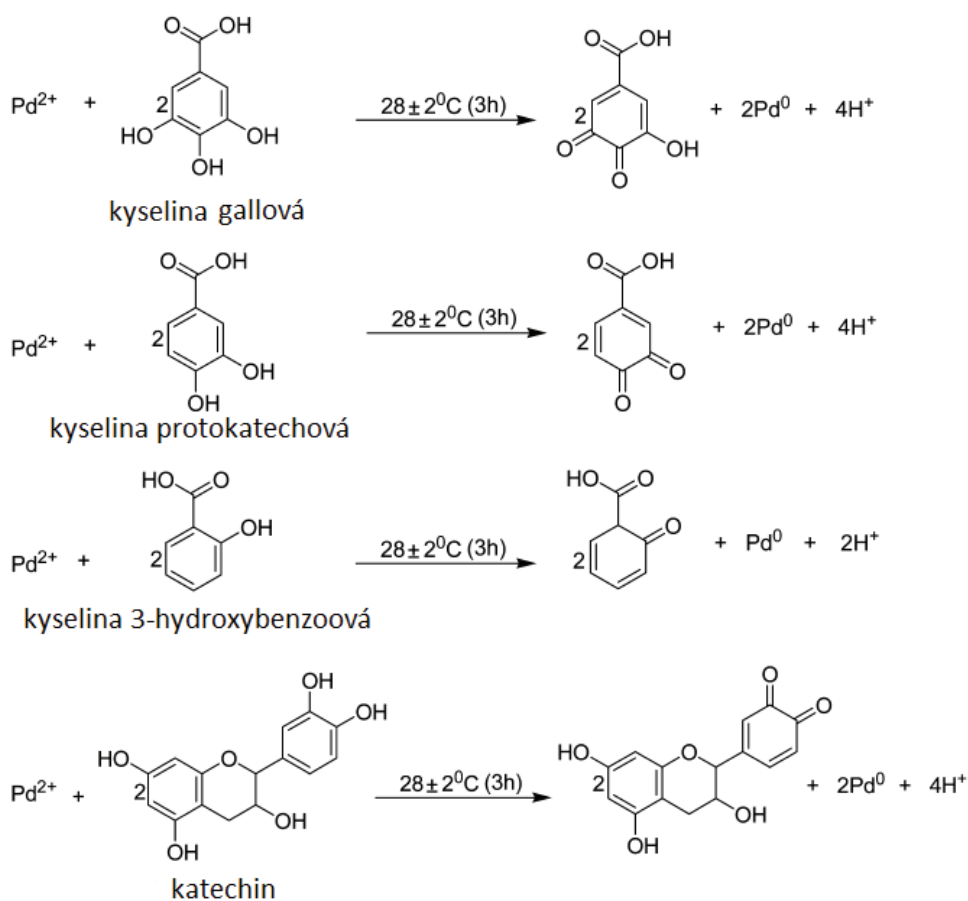
Obrázek 4: Extracelulární a intracelulární biosyntéza nanočástic zlata [34]

Existuje již několik studií, které se zaměřují na biosyntézu nanočástic kovů izolovaným bioredukčním činidlem ze zvolené biomasy nebo na biosyntézu nanočástic za přítomnosti komerčně dostupných biomolekulárních látek [41, 42]. 1-6- β -D-glukan izolovaný z houby *Pleurotus florida* byl použit jako redukující sacharid pro biosyntézu nanočástic stříbra a zlata. Biosyntetizované nanočástice stříbra byly dále testovány jako antibakteriální činidlo. Nanočástice zlata byly použity jako katalyzátor v modelové reakci degradace 4-nitrofenolu [43, 44]. Jiná práce byla zaměřena na izolaci proteinu ze zelené řasy *Chlorella vulgaris*, který byl pojmenován jako „gold shape-directing protein“ a využit pro biosyntézu nanočástic zlata [45].

Pro biosyntézu nanočástic zlata byl použit komerčně dostupný enzym serapeptáza. Výsledným produktem reakce byl nanokompozit složený z enzymu a nanozlata [46]. Nanočástice zlata o velikosti kolem 10 nm byly biosyntetizovány enzymem NADH-reduktázou (dodavatel MP Biomedicals) [47]. Jiná práce se zabývala biosyntézou nanočástic stříbra za přítomnosti disacharidů sacharózy a maltózy a studiem morfologie a krystalografie biosyntetizovaných nanočástic [48]. Práce Choi a kol. byla zaměřena na zelenou syntézu nanočástic zlata za přítomnosti katechinu, který sloužil také jako stabilizační činidlo [49].

V poslední době se velice populární stává takzvaná fytosyntéza nanočástic kovů neboli biosyntéza nanočástic za účasti fytochemikálií v rostlinných výluzích a extraktech. Na bioredukci kovových iontů v extraktu se podílejí funkční skupiny (např. -OH, -NH₂, -CO)

nacházející se např. v sacharidech, terpenoidech, flavonoidech nebo fenolických kyselinách [15]. Flavonoidy patří mezi velkou skupinu polyfenolických látek, které mohou redukovat kovové ionty. Při tautomerizaci flavanoidů z enol do keto formy může docházet k uvolnění atomu vodíku, který se podílí na redukcí kovových iontů [50]. Jiným příkladem a vysvětlením přibližujícím mechanismus fyto-syntézy nanočástic kovů může být redukce stříbrných iontů a současně oxidace karbonylových skupin sekundárních metabolitů v rostlinném výluhu. Při redukcí kovových iontů na nanočástice může také docházet k oxidaci aldehydických skupin monosacharidů (např. glukózy, fruktózy) [51]. Na obrázku 5 je uveden návrh mechanismu biosyntézy nanočástic Pd za přítomnosti kyseliny gallové, protokatechové, 3-hydroxy benzoové a katechinu nacházejících se v rostlinném extraktu *Delonix regia*. Fenolické sloučeniny mají schopnost uvolňovat elektrony a oxidovat se do chinonové formy. V průběhu reakce dochází k redukcí iontů Pd na jeho nulamocnou formu díky přítomnosti volných elektronů a uvolňujících se vodíků [52].



Obrázek 5: Pravděpodobný mechanismus fyto-syntézy Pd nanočástic za přítomnosti kyseliny gallové, protokatechové, 3-hydroxybenzoové a katechinu [52]

Hojně využívanou metodou pro nástin principu biosyntézy nanočástic kovů je infračervená spektroskopie. Ta nám umožňuje charakterizovat funkční skupiny vyskytující se v biomase (řasy, bakterie nebo rostlinné extrakty) a v reakční směsi po biosyntéze. Výsledkem je infračervené spektrum biomasy, které je dále porovnáváno se spektrem biomasy po expozici kovového prekursoru. Pro bližší charakterizaci rostlinných výluhů je používána kapalinová chromatografie s hmotnostní nebo UV-VIS detekcí, která dokáže identifikovat jednotlivé fytochemikálie v extraktu [51, 53, 54] a tím více odhalit daný mechanismus.

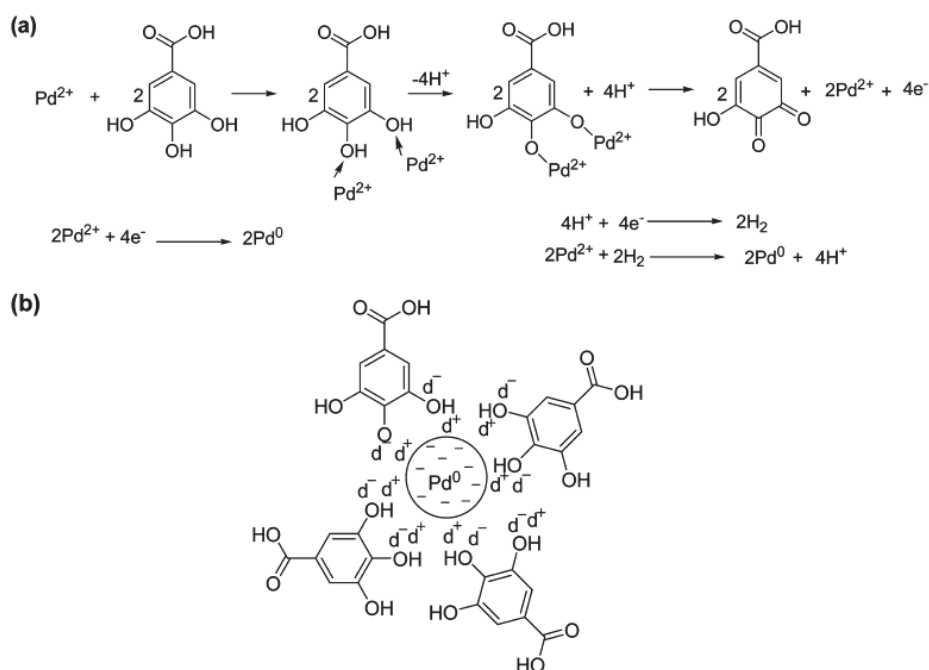
1.3 Stabilita biosyntetizovaných nanočástic kovů

Jedním z nejdůležitějších aspektů přípravy nanočástic je jejich následná stabilizace v médiu. Koloidní soustavy jsou zajímavé díky svým specifickým fyzikálně chemickým vlastnostem, např. závislosti absorpce světla na velikosti částic. Z pohledu stability jsou koloidní soustavy v tzv. metastabilním stavu – existují ve stavu se zvýšenou energií danou existencí nadbytku povrchové energie. Na fázovém rozhraní mezi disperzním podílem a disperzním prostředím vzniká elektrická dvojvrstva jako důsledek schopnosti elektricky nabitého povrchu nanočástice přitahovat opačně nabitě ionty z disperzního prostředí. Vrstva iontů obklopující nanočástici se dělí na vnitřní (Sternovu) vrstvu, kde jsou ionty silně vázané a tvoří hydratační obal a vnější difúzní vrstvu [55]. Zde jsou ionty slabě vázané a tvoří pohyblivou část hydratačního obalu. Rozhraní oddělující pohyblivou a nepohyblivou část elektrické dvojvrstvy se nazývá pohybové rozhraní. A právě potenciál, existující ve vzdálenosti od povrchu částice k pohybovému rozhraní je zodpovědný za její interakci s vnějším elektrickým polem. Tento potenciál je nazýván zeta-potenciálem. O jeho velikosti rozhodují adsorbované ionty a iontová síla roztoku [55]. Tabulka 3 specifikuje hodnoty zeta-potenciálu k jednotlivým stupňům stability [56].

Tabulka 3: Stupně stability koloidů nanočástic v závislosti na velikosti zeta-potenciálu [56]

Zeta-potenciál	Stupeň stability
±0-10 mV	Vysoce nestabilní systém
±10-20 mV	Relativně stabilní systém
±20-30 mV	Středně stabilní systém
±30 mV	Vysoce stabilní systém

Nanomateriály připravené chemickými nebo fyzikálními metodami se stabilizují činidly, jako jsou např. polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon nebo citrátový anion [57]. Biosyntetizované nanočástice jsou nejprve syntetizovány a následně stabilizovány v jednom kroku organickými látkami pocházejícími pouze z biomasy (např. enzymy, flavonoidy). Další povrchově aktivní látky pro stabilizaci již není nutné použít [39, 51]. Příkladem mohou být nanočástice stříbra připravené výluhem ze šťovíku *Rumex hymenosepalus*, které byly syntetizovány a stabilizovány polyfenoly katechinem a stilbenem [58]. V jiné práci bylo nanostříbro stabilizováno proteinem z plísně *Rhizopus stolonifer* [59]. Na obrázku 6 je uveden návrh mechanismu biosyntézy i stabilizace nanočástic Pd za přítomnosti kyseliny gallové nacházející se v rostlinném extraktu *Delonix regia* [52].



Obrázek 6: Pravděpodobný mechanismus a) biosyntézy a b) stabilizace Pd nanočástic kyselinou gallovou [52]

I když jsou nanočástice kovů ve většině případů stabilizovány biomolekulami vyskytující se v biomase, existují studie, které jsou zaměřeny na dodatečnou stabilizaci biosyntetizovaného nanomateriálu, například arabskou gumou, iontovou kapalinou nebo ferrofluidem [60–62].

Pro studium stability koloidních systémů nanočástic kovů je využíváno několik analytických metod. Jednou z nich je UV-VIS spektroskopie. U kovových nanočástic, např. Au, Ag, Cu, se na jejich povrchu projevuje kolektivní oscilace vodivostních elektronů.

Kolektivní oscilace vodivostních elektronů neboli povrchová oscilace plasmonů (SPR – surface plasmon resonance) na rozhraní mezi kovem a dielektrikem je vybuzena vnějším elektromagnetickým zářením. Při vybuzení povrchového plasmonu elektromagnetickým zářením dochází k výrazné absorpci světla o specifické vlnové délce [63]. Například maximální absorpční vlnová délka u sférických nanočástic stříbra se pohybuje kolem 450 nm, u kulovitých nanočástic zlata je to kolem 560 nm a u nanočástic oxidu mědi je to 650 nm [64]. UV-VIS spektroskopie umožňuje sledovat posuvy maximální absorpční vlnové délky nanomateriálů v čase a rovněž změny šířky a výšky pozorovaného píku ve spektru v závislosti na velikosti, tvaru a koncentraci nanočástic v koloidu.

Dalším parametrem, který určuje stabilitu koloidů, je již zmiňovaný zeta-potenciál. Mezi povrchovou vrstvou nanočástice a okolním prostředím je sledována změna elektrokinetického potenciálu. Jestliže je zeta-potenciál větší než +30 mV a menší než -30 mV, můžeme hovořit o stabilním koloidním systému (Tabulka 3). Právě nižší zeta potenciál, než je -30 mV, byl naměřen u suspenze nanočástic CdS biosyntetizovaných bakteriemi *Escherichia coli*. Zeta-potenciál suspenze nanočástic činil -34,21 mV [65]. V případě nanočástic stříbra, které byly biosyntetizované houbou *Aspergillus oryzae*, byl zeta-potenciál -14,3 mV, což znamená, že se jedná o relativně stabilní systém (Tabulka 3) [66]. Hodnota -25,3 mV byla naměřena u koloidu fyto-syntetizovaných nanočástic stříbra extraktem z plodů dubu *Quercus* sp. [67].

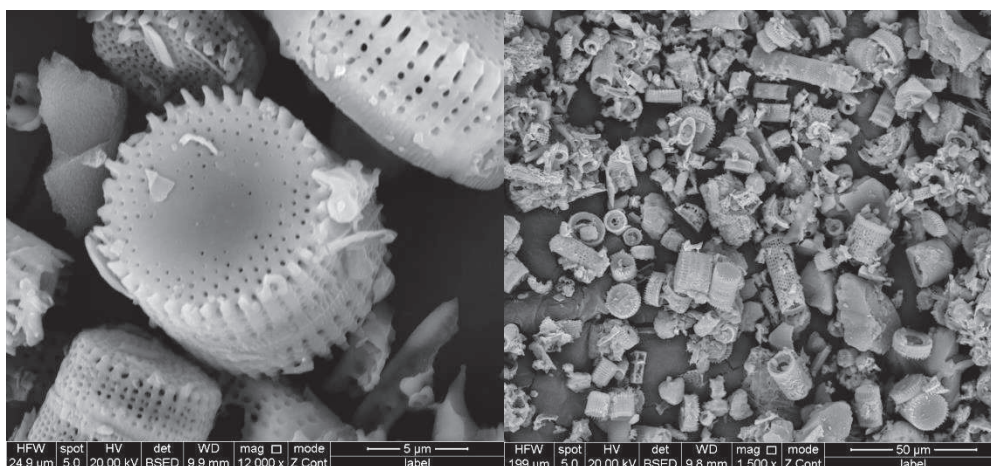
Další metoda používaná pro sledování stability nanočástic kovů je transmisní elektronová mikroskopie (TEM). Ta určuje reálný tvar a velikost metalických nanočástic pozorovaných v různých časových intervalech. Navíc lze na snímcích v transmisním režimu pozorovat morfologii obalu kolem nanočástic a jeho případné změny v čase a také lze pomocí metody SAED (difrakce z vybrané oblasti vzorku) ověřit krystalický charakter nanočástic. Ze snímků TEM mohou být dále pomocí obrazové analýzy vypočteny velikostní distribuce nanočástic, které podávají informaci o disperzitě ve vztahu k velikosti a tvaru nanočástic.

1.4 Použití biomasy pro biosyntézu nanočástic zlata

Pro naplnění cílů experimentální části disertační práce byly pro biosyntézu nanočástic zlata vybrány biomateriály - odpadní křemelina z filtrace piva a vodný výluh z listenů a květenství sušené lípy *Tilia* sp. Jedná se o ekonomicky nenáročné a ve velkých objemech snadno dostupné biomateriály.

1.4.1 Odpadní křemelina z filtrace piva

Odpadní křemelina z filtrace piva obsahuje především buněčné zbytky pivních kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*), biomolekulární látky z extraktu chmele a z kvasného procesu (α - a β -glukany) a SiO_2 [68]. Čistá filtrační křemelina je tvořena křemičitými schránkami hnědých řas - rozsivek. Dále může křemelina obsahovat Al_2O_3 (2 – 10 hmot. %) a také malá množství oxidů K, Fe, Ca, P, Na a Mg. Filtrační křemelina se získává těžbou sedimentu odumřelých rozsivek na dně moří (popřípadě jezer a rybníků), poté je upravována drcením, sušením nebo kalcinováním při teplotě 1000-1200 °C s nebo bez přídavku tavidla (např. Na_2CO_3) [69]. Při procesu kalcinace za přítomnosti tavidla může docházet ke spékání schránek do větších shluků. Při tepelné úpravě křemeliny dochází k tvorbě krystalického SiO_2 - kristobalitu [70]. Na obrázku 7 jsou snímky odpadní křemeliny, které dokumentují tvarovou a velikostní různorodost křemičitých schránek rozsivek.



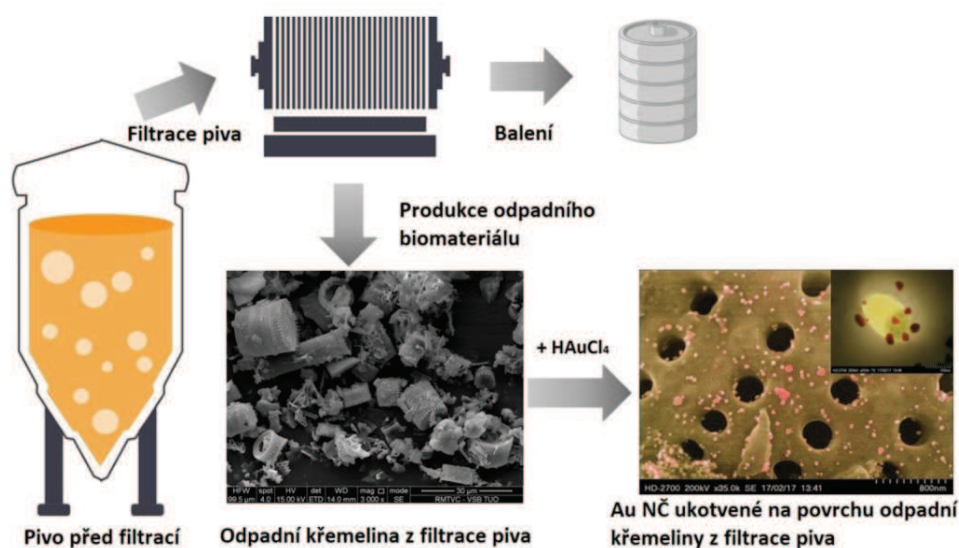
Obrázek 7: Filtrační křemelina pro filtrace piva

Jednou z hlavních aplikací upravené křemeliny je její už dříve zmiňované využití v nejrůznějších stupních filtrace, např. v kvasném průmyslu (zejména vinném a pivním) za účelem úpravy jakosti a čirosti alkoholických nápojů [71]. Jednou z nevýhod filtrační křemeliny je její jednorázové použití, kdy pro filtrace 1 l piva je zapotřebí 1-2 g filtrační křemeliny. Proto je zde snaha nalézt způsob její recyklace, např. kalcinací, která je ovšem stále energeticky nevýhodná. Dalším řešením se jeví zaorávání a zlehčování půdy křemelinou [71].

Při filtrace piva dochází k mechanickému odstranění pivních kvasinek, které se zachytávají na filtrační křemelině. Buněčná sušina stěny kvasinek, která představuje

podstatnou část hmotnosti buňky kvasinky (asi 25 %), je tvořena z 80 % polysacharidy, 6-10 % bílkoviny a malým množstvím lipidů a fosfolipidů (3-10 %). Hlavní složkou polysacharidů v buněčné stěně kvasinek jsou glukany. Stavebními jednotkami glukanu jsou glukosa a mannany. Také mohou obsahovat malé množství glukosaminu a chitinu (polysacharid obsahující N-acetylglukosamin) [72].

Složky obsažené v pivních kvasinkách a obecně v odpadní křemelině z filtrace piva přispívají v bioredukci zlatitých iontů. Kromě toho chemicky stabilní a porézní povrch křemeliny může být vhodný pro ukotvení nanočástic zlata a následné katalytické aplikace [73]. Obrázek 8 uvádí schéma vzniku a využití odpadní křemeliny z filtrace piva pro přípravu nanokompozitního materiálu.



Obrázek 8: Schéma produkce odpadní křemeliny z filtrace piva a jejího využití pro biosyntézu nanočástic zlata ukotvených na povrchu křemíčitých schránek [34]

1.4.2 Lípa malolistá (*Tilia cordata*)

Lípa malolistá, také srdčitá (*Tilia cordata*), je strom z říše Plantae (rostlin), oddělení Magnoliophyta (krytosemenné), třídy Rosopsida (vyšší dvouděložné rostliny), řádu Malvales (slezotvaré), čeledi Malvaceae (slezovitých) a rodu *Tilia* (lípa). Lípa malolistá (Obrázek 9) se vyskytuje na celém území České republiky. Má listy nesouměrně okrouhle srdčité. Z úžlabí listů vyrůstají dlouze stopkatá květenství (vijany) s velkým jazykovitým listenem [74]. Roste

hojně v listnatých a smíšených lesích. Její výskyt je limitován jen nadmořskou výškou okolo 900 m n. m., kde se již nenachází [75].



Obrázek 9: Stopkatá květenství (vijany) s jazykovitým listenem

Listy a hlavně květy lípy malolisté slouží pro přípravu vodných výluhů. Účinné látky v lipovém výluhu mají široké použití, neboť působí protinádorově a protizánětlivě, jako sedativum, anxiolytikum, proti křečím, bolestem, nebo snižují krevní tlak [76]. Některé obsahové látky vyskytující se v lipovém výluhu jsou uvedeny v tabulce 4. Jedná se o flavonoidy, fenoly nebo organické kyseliny. Lipový květ obsahuje především sacharidy [77–79]. Všechny tyto látky v lipovém extraktu obsahují ve své struktuře hydroxylové funkční skupiny, které mohou být zodpovědné za bioredukci zlatitých iontů na nanočástice a jejich následnou stabilizaci.

Tabulka 4: Obsahové látky lipového výluhu [73]

Flavonoidy	Fenoly	Sacharidy	Organické kyseliny
kempferol	eugenol	galaktosa	jantarová kyselina
rutin	kamferol	rhamnosa	jablečná kyselina
astragalin	tokoferol	manosa	protokatechová kyselina
hyperosid		glukosa	ferulová kyselina
hesperidin			gallová kyselina

1.5 Katalýza a katalyzátory

Rychlost chemických procesů lze ovlivnit přítomností některých látek, a to i v nepatrném množství. Takto působící látky jsou nazývány katalyzátory a obecně proces, ve kterém je katalyzátor využíván, je označován jako katalýza. Je vhodné zmínit, že chemické

reakce v živých organismech urychlují a řídí tzv. biokatalyzátory (např. enzymy). Jsou důležité především při metabolických procesech v tělech organismů [80].

Katalyzátory vycházejí z chemické reakce nezměněny. Můžeme je dělit na negativní, chemickou reakci zpomalující, nebo na pozitivní, které reakci urychlují. Podle prostředí se katalytické pochody dělí na katalýzu homogenní (reagující látky a katalyzátor jsou ve stejné fázi) a heterogenní (katalyzátor je v odlišné fázi než látky reagující). Vlivem pozitivního katalyzátoru výchozí látky interagují nejdříve s katalyzátorem za vzniku komplexů (při homogenní katalýze) nebo komplexů adsorbovaných na povrchu tuhého katalyzátoru (při heterogenní katalýze). V dalším kroku se komplexy rozkládají na produkty reakce a katalyzátor se uvolňuje ve svém původním složení a formě. Reakce v přítomnosti katalyzátorů probíhají v několika dílčích pochodech a reakční mechanismus je odlišný než u reakce nekatalyzované. Pozitivní katalyzátory snižují aktivační energii všech dílčích pochodů reakce [81].

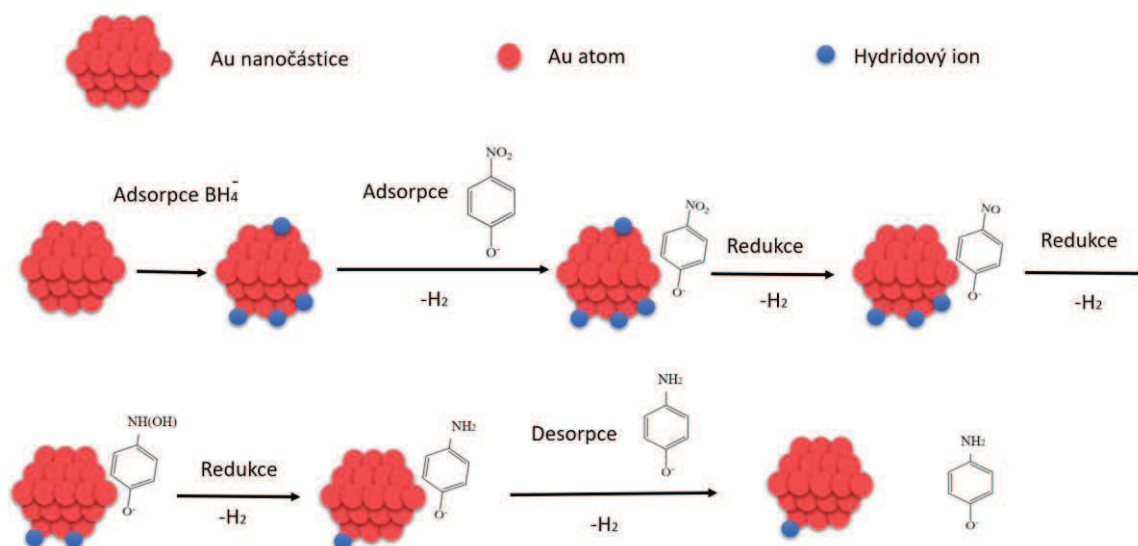
Rychlostí chemických reakcí a faktory, kterými lze tuto rychlost ovlivnit, se zabývá chemická kinetika. Cílem reakční kinetiky je kvantitativní popis rychlosti průběhu a zjištění mechanismů chemických reakcí. Rychlost chemické reakce závisí nejen na přidavku katalyzátoru, ale také na koncentraci reagujících látek, teplotě atd. [81]

Z důvodu odlišných chemických a fyzikálních vlastností nanostrukturovaných materiálů, jako jsou extrémně vysoká reakční plocha, kterou nanomateriály disponují, krystalinita nebo exponované hranice zrn, mají nanočástice veliký aplikační potenciál v katalýze [82]. Bylo prokázáno, že nanomateriály, jejichž objemová, tzv. „bulk“ forma, není katalyticky aktivní (např. elementární zlato), získávají v nanorozměrech výjimečné katalytické vlastnosti [83, 84]. Kromě toho mohou látky, které ve své „bulk“ formě běžně slouží jako dobrý katalyzátor (např. elementární palladium nebo platina), v nanoformě katalyzovat s ještě vyšší účinností [85]. Obecně závisí katalytické vlastnosti nanočástic na jejich velikosti, tvaru, koncentraci, matici atd. [86].

1.5.1 Princip katalytického účinku nanočástic zlata

V souvislosti s katalytickou aktivitou nanočástic zlata je publikováno několik studií, které se zaměřují na osvětlení principů katalytické účinnosti nanozlata. Pro ověření katalytické aktivity nanočástic jsou práce často zaměřeny na oxidačně-redukční reakce.

Příkladem může být degradace 4-nitrofenolu na 4-aminofenol za přítomnosti redukčního činidla NaBH_4 a katalyzátoru. Tato katalytická reakce probíhá za nadbytku NaBH_4 , jelikož značná část adsorbovaného hydridového iontu pocházejícího z NaBH_4 z povrchu nanozlata uniká jako plynný vodík. Na obrázku 10 je znázorněna degradace 4-nitrofenolu. V průběhu reakce je 4-nitrofenol převeden na 4-nitrofenolátový aniont a je adsorbován na povrchu nanozlata. Spolu s ním jsou adsorbovány i hydridové ionty. Na povrchu nanočástice pak dochází k přenosu elektronů a k redukci nitroskupiny na aminoskupinu. Výsledným produktem je 4-aminofenol, který je následně z povrchu nanočástice uvolněn [87]. Na podobném principu mohou pracovat i katalyzátory nanočástic stříbra, platiny nebo paládia [88].

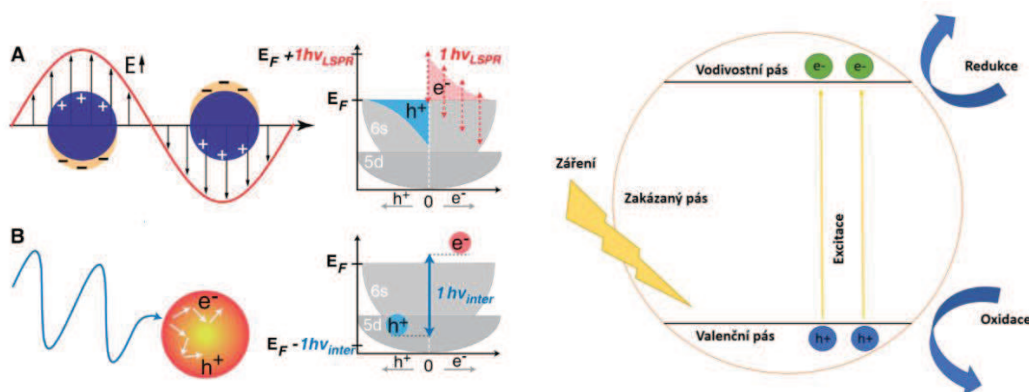


Obrázek 10: Návrh mechanismu katalytického účinku nanočástic zlata při redukci 4-nitrofenolu za přítomnosti redukčního činidla NaBH_4 [87]

Dalším možným principem katalytického efektu nanočástic zlata, stříbra nebo mědi je jejich fotodegradační účinek. Obecně platí, že plasmony v nanomateriálech (dříve diskutovány v podkapitole 1.3) se nešíří do okolí, ale jsou vázány na omezený prostor, který jim nanomateriál poskytuje, jedná se o plasmony lokalizované (LSPR – located surface plasmon resonance). Pokud jsou elektrony v lokalizovaném plasmonu vybudeny (v závislosti na typu materiálu a velikosti nanomateriálu) zářením o frekvenci viditelného světla, projeví se LSPR změnou zbarvení materiálu. V případě sférických nanočástic zlata je frekvence záření příslušná energetické hladině plasmonu o vlnové délce cca 520–580 nm (v závislosti

na velikosti nanočástic). Absorpce se projevuje u nanočástic o velikostech v rozmezí kolem 2–100 nm. Z tohoto důvodu mají koloidy sférických nanočástic zlata fialovou barvu [63, 89].

Při ozáření nanočástic zlata UV-VIS světlem jsou elektrony ze základního energetického pásu vybuzeny a přechází do pásu energeticky vyššího. V případě osvětlení UV zářením dochází k přechodu elektronů z hladiny 5d do hladiny 6s. Při ozáření nanozlata zářením ve viditelné oblasti světla dochází k přechodu elektronů z hladiny 6s do Fermiho hladiny E_F (Obrázek 11). V elektronové konfiguraci nanočástic zlata nastane přerozdělení záporných elektronů (e^-) a kladných děr (h^+). Podobné přerozdělení nastává i u polovodičových nanomateriálů s tím rozdílem, že polovodiče mají vodivostní a valenční pásmo oddělené zakázaným pásmem. Valenční pás polovodičů je plně obsazen elektrony. Vodivostní pás s vyšší energií bývá zpravidla neobsazený. Mezi těmito pásy je oblast zakázané energie E_g , ve které se nenachází žádné elektronové vlnové stavy. Absorbací fotonu s energií ekvivalentní nebo větší než je zakázané pásmo polovodiče dochází k excitaci elektronů z valenčního pásma do vodivostního. Následkem tohoto procesu vzniká pár excitovaný elektron-pozitivní díra (Obrázek 11). Po ozáření se mohou polovodičové nebo kovové (Au, Ag) částice katalyzátoru k okolním molekulám chovat buď jako elektronové donory nebo akceptory [63].

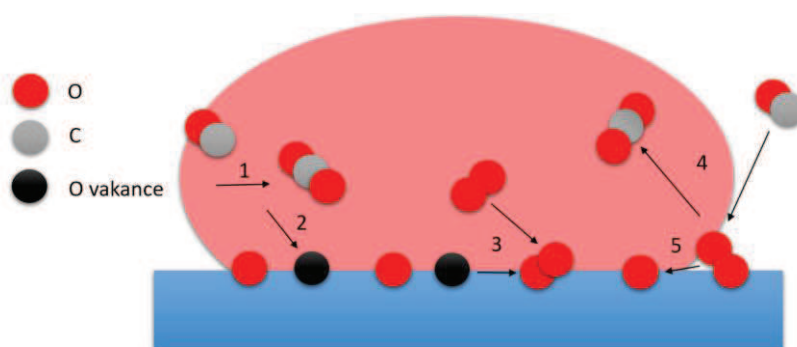


Obrázek 11: Schéma mechanismu fotokatalytické degradace za přítomnosti zlatých nanočástic: A) při VIS záření¹, B) při UV záření² a princip fotokatalytického účinku u polovodičů vpravo) [63]

¹ h – Planckova konstanta, ν – frekvence záření

² inter – energetický pas mezi hladinami s h^+ a e^-

V neposlední řadě jsou nanočástice zlata využívány jako katalyzátor při konverzi anorganických látek, např. při oxidaci CO nebo NO_x. Pro tyto reakce se nanozlato ukotvuje na oxidickou matici (SiO₂, FeO_x, atd.). V případě konverze molekuly CO na CO₂ dochází k sorpci plynu na nanočástici zlata (Obrázek 12) a po reakci s dostupným atomem kyslíku vznikne CO₂ (1), což zapříčiní vznik kyslíkové vakance, která se objeví na rozhraní Au/matrice (2). Molekula kyslíku z okolního prostředí se naváže na vzniklou vakanci (3) a interaguje s CO adsorbovaným na povrchu zlaté nanočástice (4) za vzniku molekuly CO₂ (5), tím se katalytický cyklus uzavírá [90].



Obrázek 12: Schematické znázornění katalytického cyklu adsorpce molekul, CO a O₂ a desorpce CO₂ na zlaté nanočástici kotvené na oxidické matici [90]

1.6 Literární přehled - degradace organických látek bionanočásticemi kovů

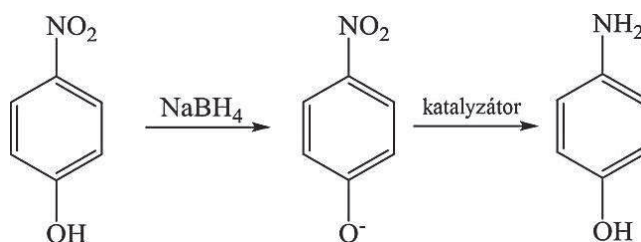
Množství aktuálních příkladů demonstruje značný aplikační potenciál kovových bionanočástic Au, Ag, Pt nebo Pd v heterogenní katalýze; jmenovitě při degradaci aromatických nitrosloúčenin, organických barviv nebo dehalogenaci chlorovaných aromatických látek [88]. Organické biomolekuly původem z použité biomasy jednak nanočástice stabilizují a jednak mohou také přispívat ke zvýšení výsledné katalytické účinnosti. V mnoha případech není potřeba oddělovat nanočástice od biomasy nebo buněk použitých na bioredukci. Nanočástice ukotvené na biomase tvoří tzv. bionanokompozit, který může být přímo použit v katalýze [91, 92].

Podkapitoly níže jsou dále věnovány využití biosyntetizovaných nanočástic kovů v katalýze při odbourávání vybraných problematických organických látek, které se v důsledku lidské činnosti dlouhodobě kumulují v životním prostředí.

1.6.1 Degradace nitroaromatických sloučenin

Nitroaromatické sloučeniny tvoří skupinu látek, které nacházejí své uplatnění při přípravě pesticidů (např. parathionu a methylparathionu), výbušnin nebo farmaceutických látek (paracetamolu). Nitroaromatické látky se dostávají do půdy, podzemních a povrchových vod z antropogenních zdrojů a narušují tak přirozenou rovnováhu v ekosystému. Mononitrofenoly (např. 4-nitrofenol) spolu s 2,4-dinitrofenolem jsou řazeny na listině prioritních polutantů evidovaných agenturou pro ochranu životního prostředí USA (US-EPA) [24, 88].

Princip katalyzované degradace 4-nitrofenolu nanočásticemi kovů byl popsán v podkapitole 1.5.1. 4-nitrofenol je převeden na 4-nitrofenolátový aniont (Obrázek 13), který je detekován UV-VIS spektroskopií při vlnové délce 400 nm. Po přidavku katalyzátoru se snižuje aktivační energie reakce a detekuje se snižující se intenzita absorpčního maxima 4-nitrofenolátového iontu. Za přítomnosti nanokatalyzátoru dochází k urychlení příjmu elektronu do akceptoru (4-nitrofenolátový ion) z donoru (v tomto případě je donorem anion BH_4^-). Degradacním produktem reakce je 4-aminofenol, který je pozorován při vlnové délce 300 nm [93, 94].



Obrázek 13: Redukce 4-nitrofenolu za přítomnosti NaBH_4 a katalyzátoru

Kora a Rastogi připravili nanočástice Pd o velikosti 5 nm pomocí rostliny *Anogeissus latifolia*. Katalytický účinek nanočástic palladia byl dále testován při degradaci 4-nitrofenolu ve vodném prostředí za přítomnosti alkalického činidla NaBH_4 . Testy potvrdily katalytickou aktivitu bionanočástic Pd. Rychlostní konstanta redukce nitroaromatické sloučeniny činila $0,11 \text{ min}^{-1}$ [27]. V jiné studii byla publikována bioredukce Pt iontů pomocí výluhu z kůry *Punica granatum*. Sférické nanočástice Pt o velikostním rozsahu 13 až 16 nm byly použity při dekontaminaci 3-nitrofenolu. Rychlostní konstanta degradace 3-nitrofenolu byla $0,192 \text{ min}^{-1}$. Bylo pozorováno, že rychlostní konstanta reakce se zvyšovala s rostoucím množstvím katalyzátoru [95]. Dalším příkladem je biosyntéza a stabilizace nanočástic Pd sférického tvaru o průměrné velikosti 7 nm připravených pomocí pryskyřice ze stromu *Boswellia serrata*.

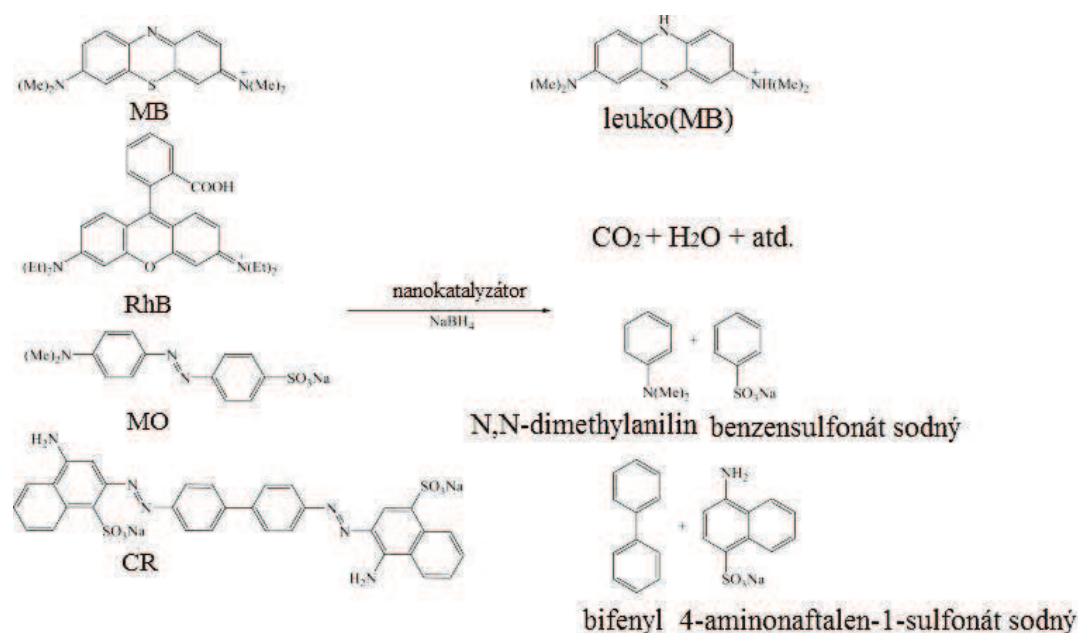
Katalytická aktivita nanočástic byla pozorována při konverzi 4-nitrofenolu za přítomnosti NaBH_4 . Po přidavku nanokatalyzátoru byla nitroaromatická sloučenina redukována v průběhu 2 minut [96]. V jiné práci Zayed a Eisa publikovali fytyosyntézu nanočástic Au o velikosti 32 nm extraktem z listů *Phoenix dactylifera*. Rychlostní konstanta konverze 4-nitrofenolu činila $0,186 \text{ min}^{-1}$. Byly také testovány nanočástice Au o velikosti 36 nm, které byly připraveny smícháním prekursoru zlata s rostlinným extraktem v poměru 1:1. V případě fytyosyntézy nanozlata o velikosti 32 nm byl poměr mezi prekuzorem a extraktem 1:2. Testy prokázaly, že katalytická aktivita klesá s rostoucí velikostí nanočástic. Rychlostní konstanta reakce byla za přítomnosti větších nanočástic $0,09 \text{ min}^{-1}$ [28]. V publikaci Narayanan a kol. popsali extracelulární tzv. mykosyntézu nanočástic Ag pomocí houby *Cylindrocladium floridanum*. Koloid obsahující sférické nanočástice stříbra o velikosti kolem 25 nm byl použit při dekontaminaci 4-nitrofenolu. Rychlostní konstanta reakce za přítomnosti Ag nanočástic dosahovala $6,7 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ [94].

1.6.2 Odbourávání azobarviv

Azobarviva jsou největší skupinou vysoce účinných syntetických barviv používaných pro barvení různých spotřebních výrobků, jako jsou potraviny, kosmetika, oděvy, kůže atd. Mezi organická azobarviva patří např. methylenová modř (MB – methylene blue), methylořanž (MO – methyl orange), methylčerveně (MR – methyl red), Eosin Y, atd. [53, 97, 98]. Bylo odhadnuto, že azobarviva představují největší skupinu barviv průmyslově používaných v textilních aplikacích (60 až 70 %). Asi 10 až 15 % azobarviv zůstává v odpadních vodách, ve kterých mají negativní vliv na vodní ekosystémy [99]. Z těchto důvodů jsou vyvíjeny metody a materiály pro odstranění těchto organických látek z životního prostředí. I zde mohou nacházet své uplatnění biosyntetizované nanočástice, jak je popsáno v následujících případových studiích.

Pro bioredukci zlatitých iontů byl použit protein separovaný ze skořápek vajec druhu *Anas platyrhynchos*. Biosyntézou byly připraveny nanočástice Au a testovány jako katalyzátor při fotodegradaci Eosinu Y. Konverze organického barviva činila 96 % v průběhu 60 minut [100]. Jiná studie se zaměřila na přípravu bionanokompozitního materiálu, který byl tvořen z fytyosyntetizovaných nanočástic mědi a oxidu železa ukotvených na povrchu skořápek vajec. Finální nanokompozit s magnetickými vlastnostmi byl testován pro odbourávání barviv kongo červeně (CR – congo red), rhodaminu B (RhB), methylořanže

(MO) a methylenové modře (MB) za přítomnosti redukčního činidla NaBH_4 . Redukční činidlo slouží jako donor elektronů, podobně jako je tomu u redukce 4-nitrofenolu (viz kapitola 1.6.1.). Pro kontrolní experimenty byly připraveny 2 nanokompozity. První nanokompozit byl tvořen pouze nanočásticemi Cu. Druhý nanomateriál obsahoval pouze nanočástice Fe_3O_4 . Nejlepší katalytická aktivita při degradaci barviv byla pozorována u kompozitu pouze s nanočásticemi Cu asociovanými na povrchu skořápek. CR, RhB a MO byly odbourány v průběhu 1 až 2 minut. MB byla degradována během 10 sekund. Schéma degradace organických barviv a její produkty jsou uvedeny na obrázku 14 [101].



Obrázek 14: Schéma katalytické degradace organických barviv za přítomnosti NaBH_4 a nanokatalyzátoru [101]

Další bio-anorganický nanokatalyzátor zlata byl získán biosyntézou pomocí výluhu z ořechů *Areca* při pokojové teplotě, teplotě $100\text{ }^\circ\text{C}$ a mikrovlnném ozařování. Z TEM analýzy vyplynulo, že nejmenší, sférické, homogenně distribuované nanočástice byly připraveny při mikrovlnném ozařování. Byly tak biosyntetizovány nanočástice zlata o velikosti $13,7\text{ nm}$, které byly dále použity při degradaci organických barviv – MB, MO a Eosin Y. Barviva byla odbourána v průběhu 10 až 12 minut. V publikaci je uveden pouze degradační produkt MO. Při redukci MO dochází ke vzniku aminosloučeniny, která je pozorována UV-VIS spektroskopii při vlnové délce 247 nm [97].

Využitím fytochemikálií z rostlinného výluhu *Stericulia acuminata* bylo připraveno nanozlato sférického tvaru o velikosti nanočástic v rozmezí 10 až 40 nm. Katalytická aktivita koloidu nanočástic zlata byla pozorována při dekontaminaci MB, MO a DB 24 (direct blue 24). 100% konverze v případě MB a MO proběhla v průběhu 12 minut. Degradacním produktem MB byla leuko-MB. DB 24 byla degradována během 8 minut [53]. Nanočástice stříbra byly použity při degradaci MO za přítomnosti redukčního činidla NaBH₄. Nanostříbro bylo připraveno smícháním AgNO₃ s výluhem z rostliny *Polygonum hydropiper*. Katalytická aktivita nanočástic stříbra byla porovnávána s kontrolním experimentem bez přídavku nanokatalyzátoru. Degradace MO se v přítomnosti pouze redukčního činidla neprojevila. Po přídavku bionanočástic stříbra k odbourání barviva došlo v průběhu 13 minut. Leuko-MB byla detekována jako degradační produkt reakce [29].

Nanočástice Pd, které byl diskutovány v předchozí kapitole 1.6.1., nebyly využity jen při katalýze 4-nitrofenolu, ale také při degradaci směsi MO a MB. Organická barviva ve směsi s redukčním činidlem (NaBH₄) a nanokatalyzátorem Pd byla odbourána v průběhu 2 minut [27].

1.6.3 Dehalogenace chlorovaných organických sloučenin

Chlorované organické sloučeniny dominují na seznamu bioakumulativních a toxických znečišťujících látek (PBT – persistent, bioaccumulative and toxic chemicals). Podle definice jsou PBT sloučeniny, které se přirozeně v prostředí nerozkládají. Mezi tyto organické sloučeniny patří pesticidy jako dichlorodifenyltrichlorethan (DDT), hexachlorbenzen, dále polychlorované bifenyly atd. Také jsou zde řazeny polychlorované dibenzodioxiny, které se průmyslově nevyrábí a vznikají jako vedlejší produkt při syntéze jiných chlorovaných aromatických látek nebo při spalovacích procesech. Chlorované aromatické sloučeniny jsou již ve velmi nízkých koncentracích nepříznivé pro živé organismy [88].

Baxter-Plant a kolektiv vyvinuli konjugovaný katalyzátor z nanočástic palladia ukotvených na povrchu 3 různých druhů bakterií - *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio vulgaris* a *Desulfovibrio* sp. Nanočástice byly na povrchu buněk bakterií vyloučeny při jejich kontaktu s prekurzorem (Na₂PdCl₄). Experimentálně pak byl ověřen katalytický účinek těchto tří konjugátů při dehalogenaci chlorofenolu a polychlorovaných bifenyly, přičemž čisté bakterie nevykazovaly v kontrolních testech významné katalytické schopnosti [102].

Za přítomnosti dalších redukčních činidel (např. H₂, mravenčan, laktát, pyruvát a ethanol) se pro přípravu „bioPd“ katalyzátorů často využívá také bakterie *Shewanella oneidensis*. Získaný biokonjugát s nanočásticemi palladia ukotvenými na buňkách bakterií byl použit pro dechloraci polychlorovaných bifenyků obsažených v odpadních kalech. Koncentrace 2,3,4-trichlorbifenyku klesla o 90 % v průběhu 5 hodin při teplotě 28 °C [103]. Jiná studie ukázala rozdíly mezi katalytickou aktivitou nanokrystalů Fe a bimetalických nanočástic Fe/Pd. Nanočástice byly fyto-syntetizovány výluhem ze zeleného čaje a imobilizovány kyselinou polyakrylovou na membráně z polyvinylidenfluoridu. Katalytická aktivita asociovaných nanočástic byla testována při degradaci trichlorethenu (TCE). Bylo zjištěno, že rychlost degradace TCE lineárně vzrůstá s vyšším množstvím Fe ukotveného na membráně. Přidáním druhého katalyticky aktivního kovu Pd za vzniku bimetalických částic Fe/Pd, rychlostní konstanta degradace TCE opět vzrostla. Katalytická účinnost u fyto-syntetizovaných nanočástic v membráně byla zachována i po 3 měsících [104].

1.6.4 Odbourávání léčiv

V současné době jsou léčiva další velkou zátěží pro životní prostředí, zejména v oblasti vod. Farmaceutické produkty jsou využívány v humánním lékařství a veterinářství a metabolity a rezidua těchto léčiv se dostávají do prostředí a znečišťují tak povrchové a podzemní vody. I přes nízké koncentrace mají negativní vliv na živé organismy [105]. Mezi diskutovanými farmaceutickými sloučeninami jsou například estrogeny, ibuprofen, kyselina klofibrová, sulfamethoxazol a ciprofloxacin [30, 106, 107]. Mnohé studie prokázaly, že tyto látky nejsou zcela degradovány během obvyklého postupu čištění odpadních vod a mohou pronikat až do povrchových či podzemních vod nebo se kumulovat ve vrchních vrstvách půdy [105].

Fyto-syntézou z extraktu *Momordica charantia* byly připraveny nanočástice složené ze dvou ušlechtilých kovů. Jádro nanočástice tvořilo zlato. Povrch nanočástice kryla dvojitá vrstva: vnitřní povlak tvořilo stříbro a vnější povrch chlorid stříbrný. Katalytickou aktivitu nanočástice potvrdily nejen v případě redukce 2,4,6-trinitrofenolu, ale také při odbourávání farmaceutických sloučenin jako jsou ibuprofen a kyselina klofibrová. Byla detekována 97% konverze ibuprofenu a 98% konverze kyseliny klofibrové v průběhu 60 minut za přítomnosti připraveného bionanokatalyzátoru. Reaktivní složky, jako jsou například O²⁻ a Cl⁰, obsažené v reakční směsi, přispívají pravděpodobně k fotodegradaci ibuprofenu a kyseliny klofibrové

[30]. V jiné publikaci se Martins a kolektiv zaměřili na degradaci sulfamethoxazolu, ciprofloxacinu, 17 β -estradiolu a ibuprofenu pomocí bionanočástic Pd a Pt. BioPd-nanočástice prokázaly katalytickou aktivitu v případě degradace sulfamethoxazolu v přítomnosti H₂ v průběhu 25 hodin. Katalytická aktivita pro další léčiva nebyla pozorována. V případě nanočástic platiny byla katalytická aktivita pozorována pro sulfamethoxazol, ciprofloxacin, 17 β -estradiol opět za přítomnosti H₂ po dobu 25 hodin [106]. Jiná práce byla zaměřena na fyto syntézu nanočástic železa z výluhu grepu, černého čaje a vinných listů. Biosyntetizované nanočástice pak byly použity pro degradaci ibuprofenu ve vodném prostředí. Při testech byla pozorována 50 - 65% konverze ibuprofenu v průběhu 8 dnů [107].

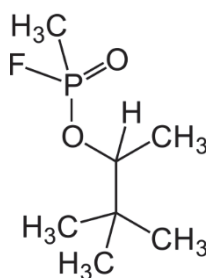
Z literárního přehledu vyplynulo, že v heterogenní katalýze byla již použita široká škála biosyntetizovaných nanomateriálů. Avšak vzhledem k rozmanitým reakčním podmínkám použitým v katalytických reakcích v uvedených publikacích je obtížné porovnat a vyhodnotit efektivitu jednotlivých nanokatalyzátorů.

1.7 Charakteristika vybraných organických látek

Podkapitoly níže jsou věnovány charakteristice organických látek, které byly degradovány nanočásticemi zlata biosyntetizovanými odpadní křemelinou z filtrace piva a rostlinným výluhem *Tilia* sp. Vzhledem k provedené literární rešerši byly vybrány tyto organické látky – farmaceutická léčivá látka ibuprofen (IBU) a nervově paralytický jed soman (GD). Značná část publikací se zaměřuje na katalýzu oxidačně-redukčních reakcí, jako je degradace 4-nitrofenolu nebo azobarviv za přítomnosti NaBH₄. Minoritní podíl publikací se věnuje studiu degradaci léčiv biosyntetizovanými kovovými nanočásticemi. Testování degradace somanu za přítomnosti biosyntetizovaného materiálu navazuje na předchozí práce uvedené v Holišová a kol., 2017 [108].

1.7.1 Nervově paralytický jed soman

Chemický vzorec somanu je O-pinakolylmethylfosfonofluoridát (Obrázek 15). Je to extrémně toxická látka řadící se mezi organofosfáty a nervově paralytické jedy. Je to bezbarvá až mírně nahnědlá kapalina se slabým zápachem. Je omezeně rozpustný ve vodě a dobře rozpustný v organických rozpouštědlech.

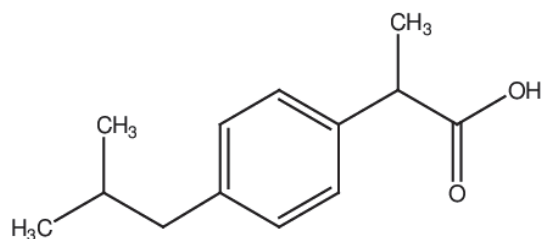


Obrázek 15: Strukturní vzorek somanu (O-pinakolylmethylfosfonofluoridát)

Hydrolyza somanu je nejjednodušší dekontaminační metodou, nemusí však patřit mezi nejučinnější. Hydrolyzu somanu lze urychlit zvýšením pH. Rozkládá se při teplotě 140 °C a je jedovatější a perzistentnější než jiné nervově paralytické jedy jako sarin, či tabun, ovšem méně než cyklosarin. Soman patří mezi zbraně hromadného ničení a jeho výroba je přísně regulována a hromadění je zakázáno [109]. Již bylo testováno široké spektrum nanomateriálů pro degradaci somanu, například metalické nanočástice a oxidy, uhlíkaté nanotrubičky, fotokatalytické nanomateriály nebo jíly dopované nanočásticemi [109–111]. Všechny tyto materiály byly připraveny standardní chemickou cestou, která může být spojována s vyššími ekonomickými a energetickými nároky. Metody tzv. zelené chemie, které jsou svou jednoduchostí stále více populární, mohou být využity i v této oblasti. Dřívější experimenty degradace somanu pomocí nanočástic zlata biosyntetizovaných hnědými řasami *Mallomonas kalinae* nebyly v porovnání s jinými materiály dostatečně účinné [108].

1.7.2 Léčivo ibuprofen

Ibuprofen je derivátem kyseliny propionové, konkrétně (RS)-2-(4-isobutylfenyl) propionová kyselina (Obrázek 16). Je to bílá krystalická látka, případně bezbarvá. Jedná se o látku ve vodě málo rozpustnou [112, 113]. Rozpouští se v acetonu, etheru, methanolu a dichlormethanu. Ibuprofen je řazen do skupiny NSAIDs (Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs). Je volně prodejným léčivem. Je obsažen v lécích s obchodním názvem Brufen, Ibalgin, Ibuprofen, Modafen, Nurofen a Panafen [114].



Obrázek 16: Strukturní vzorek ibuprofenu (RS)-2-(4-isobutylfenyl) propionová kyselina

Léčivo Ibuprofen se vyskytuje v odpadních vodách v koncentracích řádově od ng/l až po µg/l. Vzhledem jeho k nízkým koncentracím v prostředí je vyloučena jeho akutní toxicita. Problémem je chronická toxicita, jelikož fauna a flóra ve vodě jsou nepřetržitě vystaveny přítomnosti ibuprofenu. Proto se stále vyvíjí nové metody pro jeho odbourávání. Ibuprofen může být odbouráván oxidačními procesy zahrnující fotolýzu, sonolýzu, sonokatalýzu, Fentonovou a foto-Fentonovou oxidaci atd. [115]. Rovněž biosyntetizované nanočástice mohou najít uplatnění jako katalyzátory při degradaci léčiv (kapitola 1.6.4).

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimenty navazují na práci, ve které byla studována biosyntéza nanočástic zlata a stříbra hnědými řasami – *Diadesmis gallica* a *Mallomonas kalinae* [22, 116, 36]. Jedná se o vodní mikroorganismy, jejichž buněčný obsah je pokryt amorfním oxidem křemičitým. Bylo experimentálně ověřeno, že biosyntetizované nanočástice zlata a stříbra jsou asociovány na povrchu křemičitých schránek řas [21, 22]. Kultivace křemičitých řas je v laboratorních podmínkách bez možnosti využití kontinuálního kultivačního zařízení poměrně zdlouhavá a výtěžnost statické kultivace je nízká. Proto byla pro experimenty biosyntézy vytipována alternativní biomasa – odpadní křemelina, která by v principu měla umožnit biosyntézu většího množství podobného materiálu tvořeného oxidem křemičitým (rozsivkovou křemelinou) a biosyntetizovanými nanočásticemi zlata.

Z literární rešerše (viz kapitola 1.6) vyplynulo, že fytyosyntéza nanočástic kovů je jedním z dalších jednoduchých, levných a efektivních biotechnologických postupů přípravy nanočástic. Připravené nanočástice se vyskytují převážně v koloidní formě. Z tohoto důvodu byl vodný výluh z rostliny *Tilia cordata* zvolen jako další bio redukční a stabilizační činidlo pro fytyosyntézu nanočástic zlata.

Připravené biosyntetizované nanočástice zlata byly charakterizovány dostupnými analytickými metodami. Byl navržen pravděpodobný mechanismus biosyntézy nanočástic zlata za přítomnosti vybraných biomas, byla ověřena opakovatelnost přípravy nanočástic zlata a studována stabilita biosyntetizovaných nanočástic v čase. Nanokompozit tvořený nanočásticemi zlata ukotvenými na povrchu odpadní křemeliny byl testován jako katalyzátor při odbourávání organických látek 4-nitrofenolu, ibuprofenu a somanu. Fytyosyntetizované nanočástice zlata v koloidní formě byly testovány při odbourávání ibuprofenu a somanu. Degradace 4-nitrofenolu katalyzována nanokompozitem byla realizována jako vstupní modelová reakce. Testování degradace nervově paralytického jedu somanu navazuje na práci uvedenou v publikaci Holišová a kol. 2017 [108]. Ta se zabývá hydrolýzou somanu za přítomnosti biosyntetizovaných nanočástic zlata připravenými s využitím řas *Mallomonas kalinae*. Jako další modelová organická látka byl zvolen ibuprofen na základě jeho výskytu v odpadních vodách a negativního vlivu na životní prostředí.

2.1 Použité chemikálie a biomasy

Kyselina tetrachlorozlatitá (99,9 %, Sigma Aldrich)

4-nitrofenol (99 %, TCI America)

Tetrahydridoboritan sodný (>95%, TCI America)

Methanol (čistota HPLC, Sigma Aldrich)

Kyselina mravenčí (čistota HPLC, Sigma Aldrich)

Acetonitril (čistota HPLC, Sigma Aldrich)

Směs čisté křemeliny FW14 a FP3 EP Minerals (Radegast a.s.), složení křemeliny je uvedeno v bezpečnostním listu v Příloze 1

Směs odpadní křemeliny FW14 a FP3 z filtrace piva (Radegast a.s.)

Sušené květenství lípy *Tilia cordata* (oblast sběru Nová Ves u Frýdlantu nad Ostravicí)

Ultračistá voda Merck Millipore (0,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$)

Zásobní standard ibuprofenu v methanolu o koncentraci 4,052 mg/l, původní materiál Ibuprofen (> 97%, Sigma Aldrich), methanol (čistota HPLC, Sigma Aldrich)

Soman o koncentraci 341 $\mu\text{g}/\text{ml}$, připraven v laboratoři SÚJCHBO v.v.i.

2.2 Použité přístroje

Analytické váhy (Kern, ABT 220-4M)

Míchadlo (NeoTec, IKA C-MAG HS7)

Odstředivka (Centrifuge 5702, Eppendorf)

Laboratorní inkubátor (Mini incubator, Labnet)

Generátor dusíku (NM32LA Peak Scientific Instruments)

Ultra účinný kapalinový chromatograf s detektorem diodového pole (UPLC Waters Acquity I-class)

Infračervený spektrometr (Nicolet 6700 FTIR)

Rentgenový difraktometr (Bruker D8 Advance, Bruker AXS, Billerica)

Rentgenový fluorescenční spektrometr (SPECTRO XEPOS new)

TOC analyzátor (Multiphase Carbon analyzer, RC612, LECO)

Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem (Agilent GC systém 7890A a MS detektor 5975C)

Skenovací elektronový mikroskop (Quanta FEG 450, FEI) s EDS analyzátozem

Transmisní elektronový mikroskop (1200 EX, JEOL)

Skenovací transmisní elektronový mikroskop (STEM HD2700, Hitachi)

Porosimetr (Thermo Scientific Surfer)

Atomový emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (SPECTRO Analytical Instruments Inc., Kleve)

UV-VIS spektrometr (LAMBDA 11)

Analyzátor Zeta-potenciálu (Horiba LA950)

HRMS Orbitrap Elite s DESI imaging (ThermoFisher Scientific)

pH metr (EUTECH ph 5+)

2.3 Nanokompozit na bázi odpadní křemeliny a nanozlata

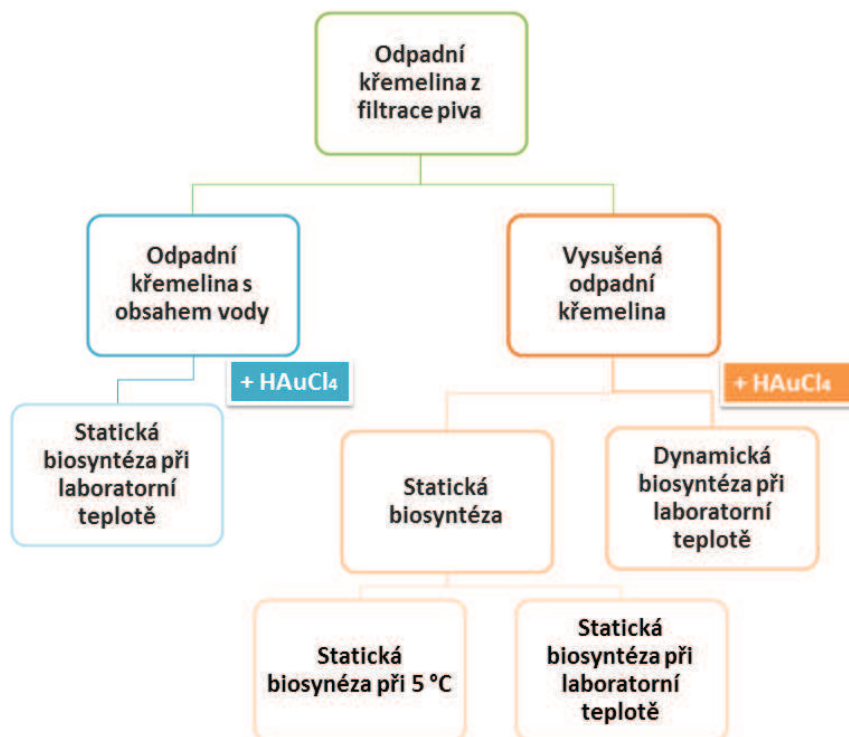
2.3.1 Biosyntéza nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva

Pro přípravu nanočástic zlata byla použita odpadní křemelina, která byla dodána firmou Radegast a.s., Česká republika a poté byla uchovávána v lednici při teplotě 5 °C. Při vstupních experimentech byla odpadní křemelina pouze zahuštěna tak, že přebytečný roztok nad sedlinou byl odlit a pro vlastní postup byla použita hustá suspenze. Vzorek s obsahem nanočástic zlata byl připraven smícháním 10 ml suspenze křemeliny, 190 ml demineralizované vody a 200 ml kyseliny tetrachlorozlatité o koncentraci 1 mM. Suspenze odpadní křemeliny s prekurzorem zlata byla uchovávána při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin za občasného promíchání. Poté byla odlita přebytečná kapalina nad sedimentem a odpadní křemelina s nanočásticemi zlata byla sušena při teplotě 36 °C po dobu 24 hodin. Označení vzorku je dále v textu uvedeno jako Au/OK.

Při biosyntéze nanočástic zlata nebylo možné definovat přesné množství odpadní křemeliny, vzhledem k proměnlivému poměru vody a křemeliny při každém odběru. Proto byla odpadní křemelina před provedením vlastních experimentů vysušena při teplotě 36 °C po dobu 24 hodin do konstantní hmotnosti. Dále se již pracovalo pouze se sušinou odpadní křemeliny.

Pro optimalizaci metody přípravy nanočástic s využitím odpadní křemeliny byly studovány 3 metody přípravy. Pro přípravu nanokompozitu byly použity 2 způsoby biosyntézy, a to bioredukce zlatitých iontů ve statickém režimu při dvou různých teplotách (laboratorní, tzn. 24 a 5 °C) a za kontinuálního míchání (dynamicky). Vzorek s obsahem nanočástic zlata byl připraven smícháním 2,5 g sušiny odpadní křemeliny a 400 ml kyseliny tetrachlorozlatité o koncentraci 0,5 mM. Suspenze odpadní křemeliny s prekurzorem zlata byla ponechána při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin. Poté byla odlita přebytečná kapalina nad sedimentem a odpadní křemelina s nanočásticemi zlata byla sušena při teplotě 36 °C po dobu 24 hodin. Označení vzorku je v textu dále jako statAu/OK. Další vzorek byl připraven stejným způsobem s tím rozdílem, že byl ponechán v lednici při teplotě 5 °C po dobu 24 hodin. V textu dále je pojmenován jako statAu/OK5.

Třetí postup byl proveden podobným způsobem, jak je popsáno výše, s tím rozdílem, že bioredukce Au(III) iontů probíhala za kontinuálního míchání (450 rpm) po dobu 24 hodin při laboratorní teplotě. Označení vzorků dále v textu je dynAu/OK. Obrázek 17 shrnuje různé podmínky přípravy nanočástic zlata odpadní křemelinou.



Obrázek 17: Schéma procesu využití odpadní křemeliny z filtrace piva pro přípravu nanočástic zlata za různých podmínek

Za účelem studia opakovatelnosti metody přípravy nanočástic a stability připraveného nanokompozitu byla vybrána na základě zjištěných výsledků dynamická metoda přípravy nanočástic zlata. Výše popsanou dynamickou metodou bylo připraveno 5 vzorků. Po 30 dnech uskladnění odpadní křemeliny za laboratorních podmínek byl experiment opakován a opět bylo připraveno 5 vzorků. Kontrolním vzorkem byla vysušená odpadní křemelina bez přídavku prekurzoru. Tabulka 5 uvádí shrnutí označení všech připravených vzorků. Výše popsané vzorky byly po celou dobu uskladněny za laboratorních podmínek. Připravené vzorky byly dále charakterizovány metodami uvedenými v kapitole 2.3.4.

Tabulka 5: Shrnutí označení připravených vzorků

Označení vzorku	Popis vzorku
Au/OK	Odpadní křemelina s nanočásticemi zlata připravená suspenzí odpadní křemelinou za statických podmínek
statAu/OK	Odpadní křemelina s nanočásticemi zlata připravená vysušenou odpadní křemelinou za statických podmínek
statAu/OK5	Odpadní vysušená křemelina s Au prekurzorem za statických podmínek při 5 °C
dynAu/OK	Odpadní křemelina s nanočásticemi zlata připravená vysušenou odpadní křemelinou za dynamických podmínek
1dynAu/OK_1-5dynAu/OK_1	Odpadní křemelina s nanočásticemi zlata připravena dynamickou biosyntézou na počátku měsíce – 1. série vzorků 1 až 5
1dynAu/OK_2-5dynAu/OK_2	Odpadní křemelina s nanočásticemi zlata připravena dynamickou biosyntézou na konci měsíce – 2. série vzorků 1-5

2.3.2 Studium stability ukotvení nanočástic zlata na povrchu odpadní křemelinou

V průběhu optimalizace metody přípravy nanokompozitu bylo také testováno uvolňování nanočástic zlata z povrchu odpadní křemelinou. Z obou vzorků připravených statickou (statAu/OK) a dynamickou (dynAu/OK) metodou (viz kapitola 2.3.1) byly odebrány 2 g, které byly smíchány s 400 ml demineralizované vody. Suspenze byly kontinuálně míchány (450 rpm) po dobu 60 minut za laboratorních podmínek. Přebytečný roztok nad sedlinami byl odlit a vzorky byly sušeny při teplotě 36 °C po dobu 24 hodin. U vysušených vzorků byl stanoven obsah zlata metodou ICP-AES.

Na základě plánovaného experimentu odbourávání ibuprofenu za přítomnosti nanokompozitu (podkapitola 2.7) po dobu 24 hodin, byl čas míchání při testování stability prodloužen na 24 hodin. 1 g odpadní křemelinou s nanočásticemi zlata byl smíchán s 200 ml demineralizované vody a míchán při 450 rpm po dobu 24 hodin za laboratorních podmínek. Po 24 hodinách byla směs centrifugována při 3500 rpm po dobu 3 minut. Přebytečný roztok nad sedlinou byl odlit a nanokompozit byl sušen při teplotě 36 °C po dobu 24 hodin. Tento

postup byl proveden pro každý vzorek z 1. série experimentu (1dynAu/OK_1 až 5dynAu/OK_1).

2.3.3 Testování pivních kvasinek a čisté filtrační křemeliny jako redukčních činidel pro biosyntézu nanočástic zlata

Pro potvrzení redukčních vlastností pivních kvasinek a vyloučení těchto vlastností u čisté křemeliny byly připraveny následující experimenty. Pro potvrzení bioredukce iontů A(III) byly použity kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* odebrané při filtraci piva. 20 ml suspenze kvasinek bylo smícháno s 20 ml 1 mM prekursoru zlata a suspenze byla ponechána při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin. Vznik nanočástic zlata byl potvrzen změnou barvy suspenze a analýzou TEM.

V dalším experimentu byla pro syntézu nanočástic zlata použita čistá filtrační křemelina využívána pro filtraci piva, která se skládá z 65 % hrubé křemeliny (FW4, zrnitost >20 μm) a 35 % střední křemeliny (FP3, zrnitost 7-20 μm). 2,5 g filtrační křemeliny bylo smícháno s 400 ml prekursoru zlata (0,5 mM). Směs byla míchána 24 hodin. Pro analýzu obsahu Au ve filtrační křemelíně metodou ICP-AES byl přebytečný roztok nad křemelínou odlit a suspenze byla sušena opět při 36 °C po dobu 24 hodin. Vzorek byl dále charakterizován pomocí metod TEM, SEM a XRFS.

2.3.4 Použité analytické metody pro charakterizaci nanokompozitu

Analýza skenovací elektronovou mikroskopií (SEM) byla provedena pomocí Quanta FEG 450 (FEI) s EDS analyzátozem (EDAX). Účelem analýzy bylo studium morfologie nanokompozitu a ověření prvkového složení ve vybraných pozicích na kompozitu. Transmisní elektronová mikroskopie (TEM, JEOL, 1200 EX, urychlovací napětí 80 kV) a skenovací transmisní elektronová mikroskopie (STEM, Hitachi, HD2700, urychlovací napětí 200 kV) jsou další zobrazovací techniky, které byly použity pro hodnocení tvaru a velikosti nanočástic zlata a jejich disperze na povrchu křemeliny. Velikostní distribuce nanočástic byla vyhodnocena pomocí softwaru JMicroVision (www.jmicrovision.com) ze souboru 150 nanočástic zlata zobrazených pomocí TEM. Hodnoty specifického povrchu vzorků byly stanoveny Brunauer-Emmett-Teller (BET) metodou na přístroji Thermo Scientific Surfer.

Pro studium chemických změn před a po biosyntéze nanočástic zlata byla na spektrometru NICOLET G700 FT-IR změřena spektra připravených vzorků v oblasti 4000-400 cm^{-1} s rozlišením 0,4 cm^{-1} . Analýzou rentgenové práškové difrakce (RTG) byla charakterizována krystalická struktura vzorků. Měření probíhalo na RTG difraktometru Bruker D8 Advance (Bruker AXS, Billerica, USA) v rozsahu 30-80° 2 θ s databází EVA software. Jako zdroj rentgenového záření sloužila kobaltová lampa $\text{CoK}\alpha$ ($\lambda = 1,7889 \text{ \AA}$). Celkový obsah zlata ve vzorcích byl stanoven pomocí atomové emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES) Ciro Vision (SPECTRO Analytical Instruments Inc., Kleve). Energiově disperzní RTG fluorescenční spektrometr SPECTRO XEPOS new (XRFS) byl použit pro celkové kvalitativní a kvantitativní stanovení prvků ve vzorcích na bázi křemeliny. Organický uhlík ve vzorcích byl stanoven na přístroji Multiphase Carbon analyzer (RC612, LECO), pro zjištění množství organických látek vyjádřených jako organický uhlík. Veškeré grafy byly vytvořené prostřednictvím softwaru MATLAB.

Obsah vody ve vzorcích byl stanoven gravimetricky, dusíkaté látky pomocí Kjeldahlovy metody a beta-glukany metodou FIA. Analýzy byly provedeny na pracovišti Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského a.s. Podle Bradfordova testu byla analyzována přítomnost proteinu ve vzorcích čisté křemeliny a odpadní křemeliny. Tento test byl proveden na pracovišti Tohoku university ústavu Biomolekulárního inženýrství. Uvedené analýzy byly použity po návrh mechanismu biosyntézy nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva.

2.4 Fytosyntéza nanočástic zlata vodným výluhem z lípy

2.4.1 Příprava výluhu z lípy *Tilia cordata*

Pro fytosyntézu nanočástic zlata byly použity dva typy výluhů ze směsi vysušených listů a květenství lípy *Tilia cordata* (V1, V2). Vysušené listy a květenství lípy o hmotnosti 1 g byly louhovány v 50 ml demineralizované vody o teplotě 80 °C po dobu 5 minut. Druhý typ vodného výluhu byl připraven z navážky 2 g a louhování v demineralizované vodě (50 ml) při teplotě 80 °C trvalo 15 minut. Následně byly výluhy filtrovány přes mikrofiltr o průměru pórů 0,22 μm.

Pro optimalizaci metody a návrh mechanismu fytosyntézy byly připraveny další dva výluhy (V3, V4). Pro jeden z nich byly použity 2 g sušených květů a druhý byl připraven z 2 g sušených listů. Obě navážky byly louhovány v 50 ml demineralizované vody o teplotě 80 °C po dobu 15 minut a filtrovány přes mikrofiltr o průměru pórů 0,22 μm.

V tabulce 6 je uveden přehled připravených rostlinných výluhů. Tyto výluhy byly následně použity pro fytosyntézu nanočástic zlata.

Tabulka 6: Přehled rostlinných výluhů

Označení výluhu	Biomasa	Navážka	Doba louhování
V1	Květenství a listen	1 g	5 min
V2	Květenství a listen	2 g	15 min
V3	Květenství	2 g	15 min
V4	Listen	2 g	15 min

2.4.2 Fytosyntéza nanočástic zlata

Fytosyntézou byly připraveny 2 koloidy o nižší a vyšší koncentraci nanočástic zlata. Koloid Au1V1 byl připraven smícháním výluhu V1 a roztoku prekurzoru zlata o koncentraci 1 mM v poměru 1:1 (v/v). Při přípravě koloidu Au5V2 byl k výluhu V2 přidán 5 mM roztok prekurzoru zlata v poměru 1:1 (v/v). Další dva koloidy nanočástic zlata (Au5V3, Au5V4) byly fytosyntetizované výluhem z květenství V3 a výluhem z listů V4 za stejných podmínek.

Pro studium stability nanočástic v čase a opakovatelnosti metody bylo paralelně připraveno 5 koloidů nanočástic zlata fyto-syntetizovaných pouze výluhem V2 (označení koloidů Au5V2_1-Au5V2_5) a série 5 koloidů nanočástic zlata fyto-syntetizovaných pouze výluhem z listenů V4 (označení koloidů Au5V4_1-Au5V4_5). Tabulka 7 uvádí přehled připravených vzorků fyto-syntetizovaných nanočástic zlata. Všechny vzorky byly uchovávány v lednici při teplotě 5 °C.

Tabulka 7: Přehled připravených fyto-syntetizovaných nanočástic zlata

Označení vzorku	Vstupní koncentrace Au	Typ výluhu	Výsledná koncentrace Au
Au1V1	1 mM	V1	0,5 mM
Au5V2	5 mM	V2	2,5 mM
Au5V3	5 mM	V3	2,5 mM
Au5V4	5 mM	V4	2,5 mM
Au5V2_1-Au5V2_5	5 mM	V2	2,5 mM
Au5V4_1-Au5V4_5	5 mM	V4	2,5 mM

2.4.3 Charakterizace fyto-syntetizovaných nanočástic

Pro naměření spekter absorbance připravených koloidních roztoků nanozlata byl použit UV-VIS spektrometr LAMBDA 11. Vzorky byly před každým měřením ředěny destilovanou vodou v poměru 1:5 a protřepány. 0,5 ml naředěného roztoku bylo pipetováno do skleněné kyvety. Morfologie a velikost nanočástic zlata byly dokumentovány transmisí elektronovou mikroskopií JEOL 1011 při urychlovacím napětí 80 kV. Pro měření zeta potenciálu koloidního systému nanočástic zlata byl použit analyzátor Horiba LA950. Absorpční spektra a hodnoty zeta potenciálů koloidů zlata byly pravidelně měřeny jednou týdně po dobu 5 týdnů za účelem sledování jejich stability. Pomocí pH metru EUTECH Ph 5+ s teplotní sondou a kalibračního roztoku Hamilton Duracal Butter $7,00 \pm 0,01$ byly měřeny hodnoty pH jak výluhů, tak i koloidů zlatých nanočástic. Infračervená spektra výluhů sušeného květu a listenu byla měřena spektrometrem NICOLET G700 FT-IR. Fytochemikálie obsažené v sušeném listenu a květu lípy byly analyzovány HRMS Orbitrap Elite s DESI imaging (ThermoFisher Scientific) na pracovišti ústavu Chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně.

2.5 Detekce odbourávání 4-nitrofenolu za přítomnosti nanočástic zlata

Katalytické vlastnosti připravených vzorků byly testovány při redukci 4-nitrofenolu v přítomnosti redukčního činidla NaBH_4 . Testování probíhalo následovně: demineralizovaná voda, 4-nitrofenol (TCI America – výsledná koncentrace 0,1 mM) a NaBH_4 (TCI America – výsledná koncentrace 100 mM) byly smíchány do objemu 15 ml ve 25 ml skleněné vialce. Do takto připravené směsi bylo přidáno 5 mg vzorku Au/OK. Ze vzniklé suspenze byla každé 2 minuty část odebírána a analyzována ve čtvercových kyvetách UV-VIS spektrometrem (Hitachi U-3900). V průběhu měření byly sledovány změny v absorpčním spektru 4-nitrofenolu. Kontrolní pokusy byly provedeny za stejných podmínek s čistou odpadní křemelinou.

2.6 Degradace somanu za přítomnosti nanočástic zlata

2.6.1 Postup testování katalytické aktivity vzorků při degradaci somanu

Do 20 ml vialek s uzavíratelným víčkem se septem byly namíchány vzorky. Každý vzorek obsahoval 15 ml nanokompozitu nebo koloidu s obsahem nanočástic zlata a roztok somanu o koncentraci 341 $\mu\text{g/ml}$. Jednotlivé vzorky jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 8: Vzorky s obsahem somanu o koncentraci 341 $\mu\text{g/ml}$ a definovaného nanokompozitu, koloidu nebo kontroly v objemu 15 ml

Materiál	Koncentrace Au
0,6 g OK	-
0,6 g 3dynAu/OK_1	2,5 mM
V1	-
V2	-
V4	-
Au1V1	0,5 mM
Au5V2	2,5 mM
Au5V4_1	2,5 mM
HAuCl ₄	2,5 mM

Roztoky byly před pipetováním ručně homogenizovány/roztřepány. Příprava vzorků probíhala v ochranných podmínkách v laboratořích Ústavu státní jaderné, chemické a biologické obrany (SÚJCHBO v.v.i.) v Kamenné u Příbrami. Byla připravena sada vzorků, které byly pravidelně odebírány a dávkovány v hodinových intervalech po dobu 24 hodin s cílem sledovat průběh degradace somanu.

2.6.2 Plynová chromatografie

Rozklad somanu byl sledován plynovou chromatografií na pracovišti SÚJCHBO v.v.i. Analýzy byly provedeny pomocí metody SPME (CTC PAL Thermo Scientific) ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostním detektorem (Agilent Technologies, 7890A/5975C). Pro mikroextrakci na tuhou fázi bylo použito vlákno 65 μm PDMS/DVB (polydimethylsiloxan/divinylbenzen) Stableflex Supelco, jako nosný plyn bylo použito hélium.

Plynový chromatograf byl vybaven kolonou HP-5MS (5% fenyl 95% dimethylpolysiloxan), 0,25 mm x 0,25 μm x 30 m. Analýza probíhala při teplotním programu 45 °C (1 min.) --- 15°C/min --- 80 °C (1 min.) --- 25 °C/min --- 280 °C (5 min.). Nástřik vzorku byl proveden metodou „headspace“ s využitím CTC sampleru (agitátoru). Teplota v agitátoru byla nastavena na 30 °C. Vzorek byl umístěn autosamplermem do agitátoru, kde byl třepán po dobu 300 s při 500 ot/min. Po ustavení rovnováhy ve vialce bylo propíchnuto teflonové septum v uzávěru jehlou nástřikové stříkačky a došlo k sorpci somanu na vlákno umístěné v jehle stříkačky po dobu 300 s. Následně byla celá jehla vsunuta do nástřikového prostoru chromatografu, kde došlo k desorpci somanu z vlákna po dobu 300 s při teplotě 250 °C. Vstupní koncentrace somanu byla 341 $\mu\text{g/ml}$ (5 μl somanu v 15 ml demineralizované vody).

2.6.3 Analýza degradačních produktů

Do doby extrakce byly všechny vzorky uloženy v lednici při teplotě cca 5 °C. Vzorky (vodný roztok) byly po realizaci dvacetičtyřhodinového experimentu (sledování úbytku somanu s využitím techniky SPME) extrahovány do 2 x 3ml $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1). Odebraná organická fáze byla následně vysušena přidávkem Na_2SO_4 . Z vysušené organické fáze byl odebrán alikvot 1 ml a provedena derivatizace přidávkem 25 μl derivatizačního činidla BSTFA (*N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid). Reakční směs byla ručně protřepána,

následná derivatizace probíhala cca 2 hodiny při teplotě 40-50 °C. Po provedení derivatizace byl z každé reakční směsi odebrán 1 µl pro GC/MS analýzu.

2.7 Sledování odbourávání ibuprofenu za přítomnosti nanočástic zlata

2.7.1 Testování katalytické aktivity vzorků pro odbourání ibuprofenu

Při prvním experimentu byly připraveny vzorky do 25 ml vialek s uzavíratelným víčkem. Každý vzorek se skládal z 10 ml ibuprofenu o koncentraci 10 mg/l a definovaného množství nanokompozitu a odpadní křemeliny. Tabulka 9 uvádí jednotlivé vzorky a jejich množství. Experiment probíhal za občasného promíchání vzorku po dobu 24 hodin za laboratorních podmínek.

Tabulka 9: Vzorky s obsahem nanokompozitu nebo odpadní křemeliny a 10 ml ibuprofenu o koncentraci 10 mg/l

Materiál	Množství	Množství Au
dynAu/OK	0,08 g	1 mg
dynAu/OK	0,4 g	5 mg
dynAu/OK	0,8 g	10 mg
OK	0,08 g	-
OK	0,4 g	-
OK	0,8 g	-

Vzhledem k získaným výsledkům byl obsah ibuprofenu optimalizován. 0,09 g nanokompozitu (3dynAu/OK_1) s 1 mg obsahem nanočástic zlata byl smíchán s methanoličným roztokem ibuprofenu o koncentraci 100 µg/l a objemu 10 ml. Pro kontrolní experimenty byly připraveny vzorky, které obsahovaly 0,09 g odpadní křemeliny a 10 ml roztoku ibuprofenu o stejné koncentraci. Vzorky byly protřepávány 24 hodin za laboratorní teploty. Pro studium fotodegradačního účinku byla připravena stejná sada vzorků, která byla ponechána za podobných podmínek jako předchozí vzorky s tím rozdílem, že celý proces probíhal za nepřítomnosti světla. Vzorky byly analyzovány v 1., 2., 3., 4. a 24. hodině.

Podobné testování proběhlo u vzorků s obsahem ibuprofenu o koncentraci 100 µg/l a koloidního roztoku fyto-syntetizovaných nanočástic (Au5V4_2) s obsahem 1 mg

zlata v objemu 10 ml. Jako kontrolní experimenty byly připraveny vzorky, které obsahovaly roztok ibuprofenu a vodného výluhu z listenu lípy V4. I u těchto vzorků byl testován fotodegradační účinek nanočástic zlata a stejné sady vzorků byly testovány za nepřítomnosti světla. Tabulka 10 uvádí jednotlivé typy vzorků pro degradaci ibuprofenu.

Tabulka 10: Přehled jednotlivých vzorků pro degradaci ibuprofenu

Materiál	Množství	Koncentrace Au
Za dne		
4dynAu/OK_1	0,09 g v 10 ml	1 mg
OK	0,09 g v 10 ml	-
Au5V4_2	10 ml	1 mg
V4	10ml	-
Za tmy		
4dynAu/OK_1	0,09 g v 10 ml	1 mg
OK	0,09 g v 10 ml	-
Au5V4_2	10 ml	1 mg
V4	10ml	-

Před chromatografickou analýzou byly použity SPE kolonky (Oasis HLB 3cc) pro extrakci a zakoncentrování ibuprofenu pro analýzu pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie (UPLC). Před extrakcí byly kolonky aktivovány 5 ml methanolu a 5 ml demineralizované vody o pH 2. Po takto provedené aktivaci bylo prosáto celé množství vzorku, následně byly SPE kolonky promyty 5 ml demineralizované vody o pH 7. Dalším krokem bylo vysušení SPE kolonek v proudu inertního plynu dusíku. Po vysušení byla provedena eluce sledovaných látek z kolonek 10 ml methanolu. Vzorky byly následně odpařeny do sucha inertním plynem. Do takto připravených vzorků byly nadávkovány 1 nebo 2 ml mobilní fáze (2 ml bylo nutné použít u vzorků, kde sedimentace centrifugací byla nedostatečná a hrozilo riziko ucpání kolony) a roztoky byly homogenizovány v ultrazvukové lázni. Připravené extrakty byly dále analyzovány kapalinovou chromatografií UPLC a vyhodnoceny metodou kalibrační křivky.

2.7.2 *Ultraúčinná kapalinová chromatografie*

Připravené nanokompozity a koloidní roztoky nanočástic zlata byly použity pro degradaci ibuprofenu. Vzorky uvedené v tabulce 10 byly analyzovány ultraúčinnou kapalinovou chromatografií UPLC s detektorem diodového pole. K separaci byla použita kolona BEH Shield RP18 1,7 μm . Mobilní fáze byla připravena přidáním 10 μl kyseliny mravenčí ke směsi vody a acetonitrilu (600 ml vody a 400 ml acetonitrilu). Analýza probíhala v isokratickém režimu. Průtok kolonou činil 0,4 ml/min. Nástřik vzorku byl 5 μl a celková analýza trvala 6 min (doba analýzy byla určena pilotními testy). Teplota kolony byla udržována na 30 °C. Ibuprofen byl detekován při vlnové délce 210-350 nm. Pro kvantifikaci ibuprofenu byla použita vlnová délka 222 nm. Všechny vzorky byly před nástřikem filtrovány stříkačkovým filtrem o velikosti pórů 0,22 μm . Analýza byla provedena dle validované metody Centra nanotechnologií VŠB-TUO.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Nanokompozit na bázi křemeliny a nanočástic zlata

3.1.1 Charakterizace nanočástic zlata biosyntetizovaných odpadní křemelinou

V prvotních experimentech byla při biosyntéze nanočástic zlata použita suspenze odpadní křemeliny z filtrace piva (vzorek Au/OK). Tento postup se ukázal jako nevhodný, jelikož nebylo možné určit přesné množství odpadní křemeliny využitelné pro biosyntézu nanočástic zlata. Vzhledem k opakovatelnosti celého postupu, který zahrnuje i odběr odpadní křemeliny kvalifikovaným personálem dodavatele, bylo stanoveno, že v dalších experimentech se bude pracovat s vysušenou odpadní křemelinou do konstantní hmotnosti (vzorky statAu/OK a dynAu/OK). Dalšími výhodami tohoto postupu je lepší manipulace, uskladnění a stabilita biomateriálu v čase. V závislosti na obsahu vody a jejím následném odstranění ze suspenze byla stanovena přibližná navážka vysušené odpadní křemeliny pro optimalizovanou biosyntézu nanočástic zlata.

První indikací dokazující přítomnost zlatých nanočástic ve vzorcích Au/OK, statAu/OK a dynAu/OK po biosyntéze je barevná změna suspenze po expoziční době. Obrázek 18 ilustruje barevné změny vysušených vzorků před a po biosyntéze nanočástic zlata.

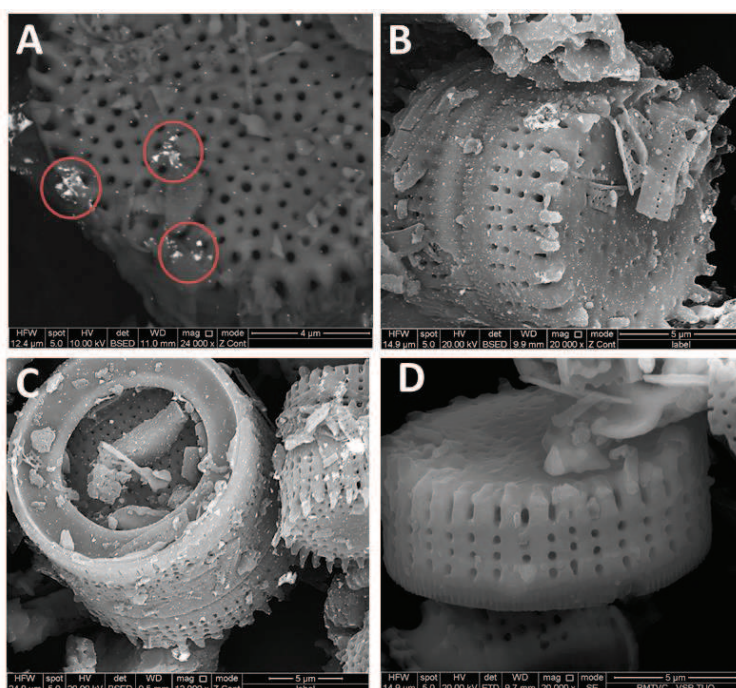


Obrázek 18: Vysušené vzorky A) odpadní křemeliny, B) Au/OK, C) statAu/OK a D) dynAu/OK

Změna barvy odpadní křemeliny z béžové na cihlovou v případě Au/OK a na barvu fialovou v případě vzorků statAu/OK a dynAu/OK je způsobena přítomností nanočástic zlata a kolektivní oscilací volných elektronů na jejich povrchu [117]. Biosyntéza nanozlata při 5 °C pravděpodobně neproběhla, jelikož nebyla pozorována barevná změna vzorku statAu/OK5.

Tato hypotéza byla dále potvrzena obrazovou analýzou skenovacím elektronovým mikroskopem (Obrázek 19D). Nanokompozity Au/OK a statAu/OK, které byly připraveny za statických podmínek, mají světlejší barvu než vzorek připravený dynamickou metodou. To může být způsobeno nižší koncentrací nanočástic zlata ve vzorcích, jelikož v průběhu biosyntézy byla směs suspenze a prekursoru zlata ponechána za statických podmínek a mohlo docházet k nižšímu počtu srážek mezi ionty Au a redukčními činidly odpadní křemeliny [81].

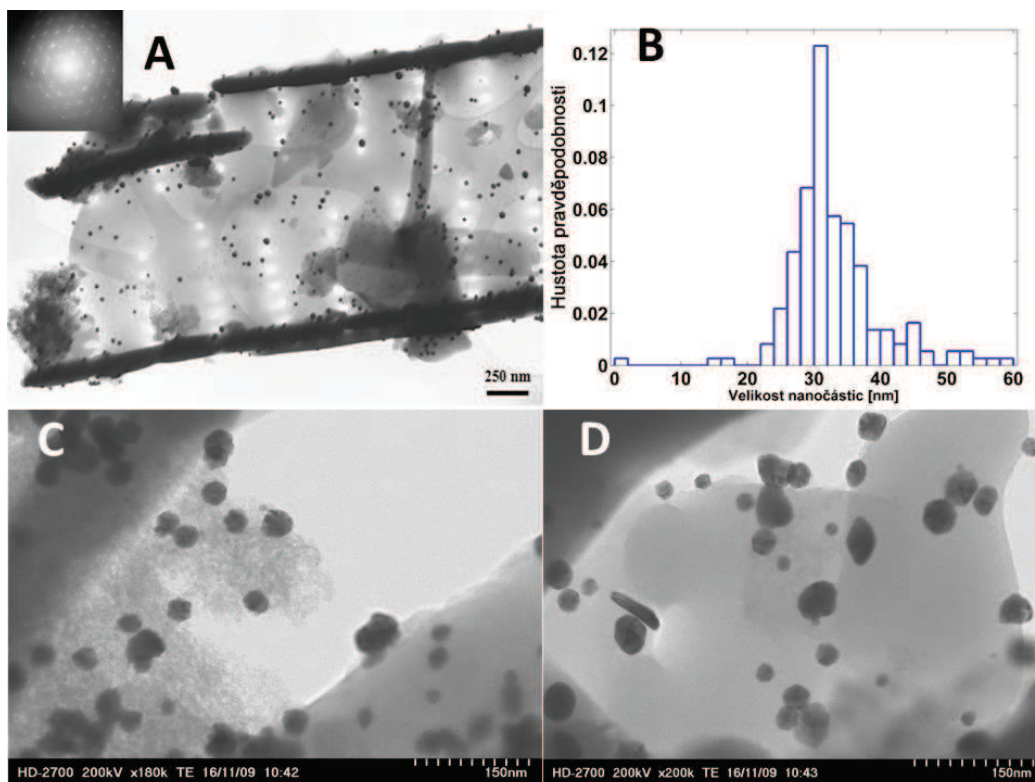
Morfologie všech vzorků (Au/OK, statAu/OK, statAu/OK5 a dynAu/OK) byla studována pomocí skenovacího elektronového mikroskopu. Snímky SEM samotné odpadní křemeliny byly diskutovány v podkapitole 1.4.1. Na obrázku 19 jsou dokumentovány vzorky Au/OK, statAu/OK, dynAu/OK a statAu/OK5. Na základě fázového kontrastu na snímku 19A lze pozorovat nerovnoměrně distribuované nanočástice zlata ukotvené na povrchu křemeliny. Na obrázku 19B a 19C jsou nanočástice na povrchu vzorků statAu/OK a dynAu/OK distribuovány již rovnoměrněji. Na snímku 19D fázový kontrast mezi nanočásticemi zlata a křemelinou není pozorován, tudíž lze předpokládat, že k biosyntéze nanočástic nedošlo.



Obrázek 19: SEM analýza vzorků A) Au/OK, B) statAu/OK, C) dynAu/OK
a D) statAu/OK5

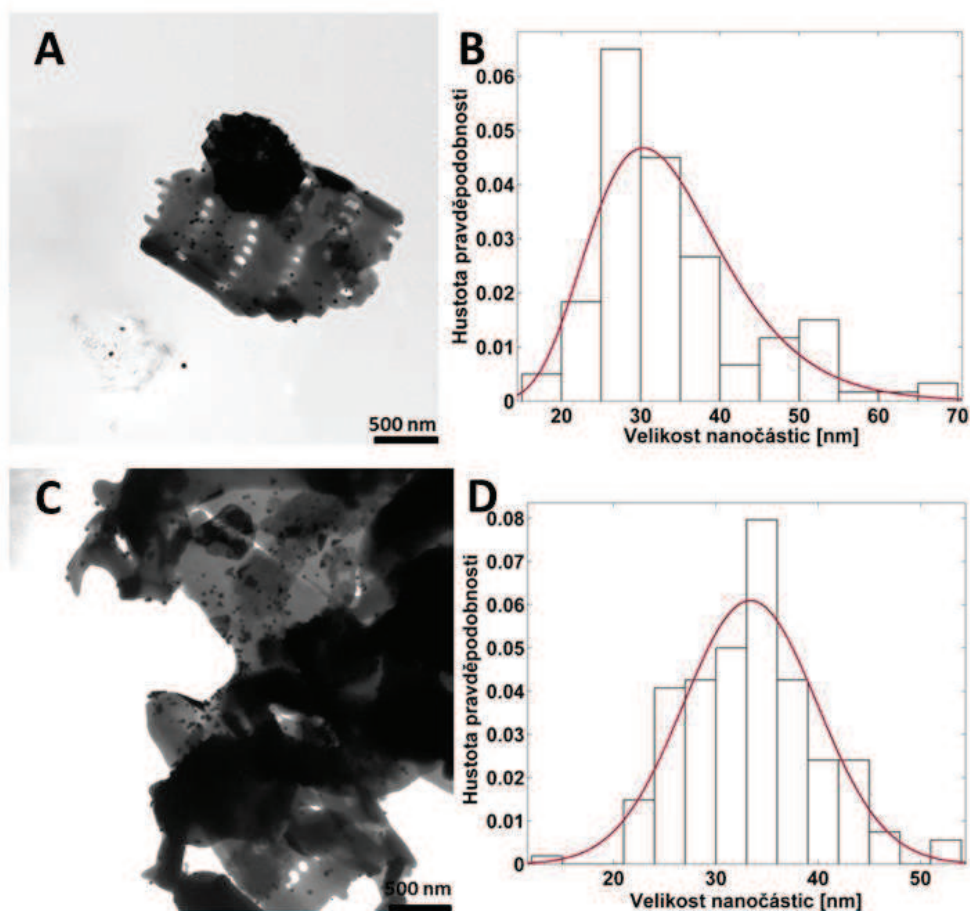
Nanočástice zlata byly dále charakterizovány metodou TEM a STEM, které více přibližují reálný tvar a velikost nanočástic ve vzorcích. Ukázalo se, že povrch schránek u vzorků Au/OK, statAu/OK a dynAu/OK je pokryt sférickými, pseudosférickými

a trojúhelníkovitými nanočásticemi (Obrázek 20 a 21). Na základě snímku z TEM (Obrázek 20) byla stanovena velikostní distribuce nanočástic zlata vzorku Au/OK. Průměrná hodnota velikosti nanočástic zlata činila 30 nm. Velikosti nanočástic se pohybují v rozmezí 20 až 60 nm. Elektronový difraktogram (SAED – Obrázek 20 výřez) potvrzuje krystalický charakter nanočástic zlata, který byl dále upřesněn metodou práškové rtg-difrakce.



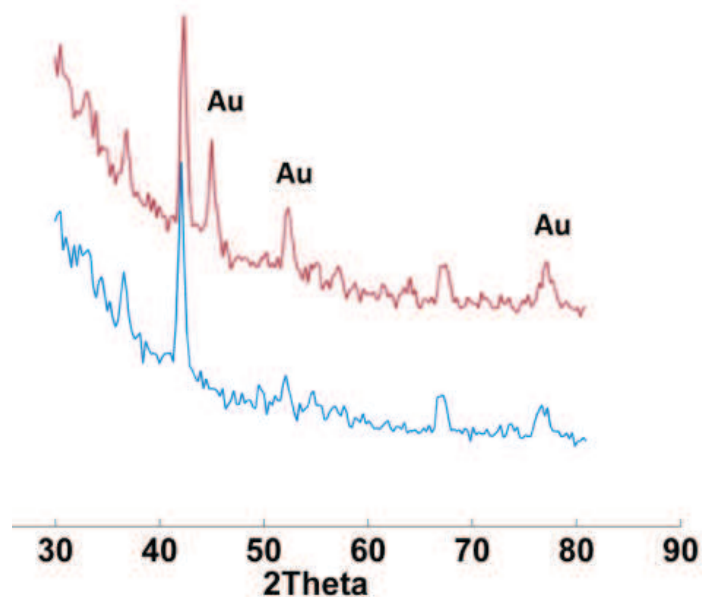
Obrázek 20: TEM a STEM snímky Au/OK s difrakční analýzou potvrzující krystalický charakter nanozlata a histogram velikostní distribuce nanočástic zlata

Pomocí TEM analýzy byla studována také velikostní distribuce nanočástic připravených za statických a dynamických podmínek (Obrázek 21). Průměrná velikost nanočástic zlata u vzorku statAu/OK se pohybuje okolo 34 nm. Vyskytují se zde nanočástice o velikosti 20 až 70 nm. Průměrná velikost nanočástic u vzorku dynAu/OK je 32 nm. Velikosti nanočástic se zde pohybují od 10 do 60 nm. Histogramy jsou proloženy asymetrickou distribuční funkcí popisující polydisperzitu velikosti nanočástic. V obou případech je velikost nanočástic rozdělena do 11 velikostních tříd (Obrázek 21B a 21D).



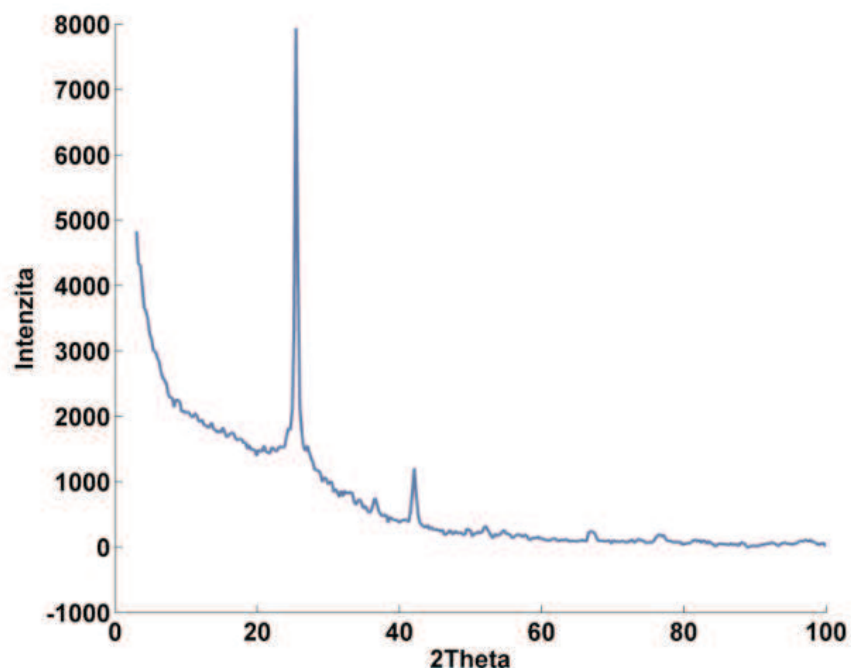
Obrázek 21: TEM analýza (měřítko 500 nm) A) statAu/OK a B) histogram velikostní distribuce nanočástic vzorku statAu/OK a C) dynAu/OK a D) histogram velikostní distribuce nanočástic dynAu/OK

Rentgenovou strukturální analýzou byla potvrzena přítomnost zlata v kubické krystalové soustavě u vzorku Au/OK (Obrázek 22). Vzhledem k povaze všech vzorků bylo předpokládáno, že RTG difraktogramy statAu/OK a dynAu/OK budou podobné, proto jsou dále uvedena pouze data vzorku Au/OK. Krystalická struktura Au nanočástic se projevila při úhlu $45^\circ 2\theta$ pro difraktující krystalografickou rovinu (1 1 1), $52^\circ 2\theta$ pro rovinu (2 0 0) a $77^\circ 2\theta$ pro rovinu (2 2 0) (Obrázek 22). Nízké difrakční pásy zlata mohou být způsobeny jeho nízkou koncentrací ve vzorcích. Difrakční pík projevující se při úhlu nad $40^\circ 2\theta$ náleží krystalické fázi SiO_2 [69].



Obrázek 22: RTG difraktogram nanočástic zlata (červená křivka) a odpadní křemeliny z filtrace piva (modrá křivka)

Na obrázku 23 je uveden RTG difraktogram pouze odpadní křemeliny. Difrakční píky projevující se při úhlech 25° , 37° a 42° 2θ náleží krystalické fázi kristobalitu. Přítomnost kristobalitu je způsobena procesem kalcinace, které je nutná pro úpravu křemeliny pro filtraci v potravinářském průmyslu [69]. Existují studie, které se zaměřují na přípravu kristobalitu přímo z rozsivkové křemeliny. Ta může být dále použita jako adsorbent, např. pro 4-formaminoantipyrin nebo methylovou modř. Kristobalit je vyráběn pro jeho odolnost vůči tepelnému šoku, nízkému koeficientu roztažnosti, nízké hustotě a chemické odolnosti [118–120]. Ve spojení s kovovým nanokatalyzátorem se může jednat o zajímavý materiál aplikovatelný v katalyzovaných reakcích.



Obrázek 23: RTG difraktogram odpadní křemeliny z filtrace piva

Na základě teoretického výpočtu bylo zjištěno, že maximální možný obsah nanočástic zlata ve vzorcích při použitých množstvích prekursoru odpovídá hodnotě 1,55 hm. %. V surové odpadní křemelíně obsah zlata metodou ICP-AES nebyl detekován. Tabulka 11 uvádí obsah zlata ve vzorku Au/OK a ve vzorcích nanokompozitu připravených statickou a dynamickou cestou před a po jejich promytí. Účinnost přípravy nanozlata dosáhla 52 % v případě vzorku Au/OK, 59 % v případě vzorku připraveného za statických podmínek. Nejvyšší účinnosti 85 % bylo dosaženo u vzorku dynAu/OK. Po promytí vzorků se obsah Au významně nemění. Z výsledků vyplývá, že způsob přípravy má vliv na obsah Au ve vzorcích. Následné promytí křemeliny demineralizovanou vodou nemá na obsah Au ve vzorcích již významný vliv.

Tabulka 11: Obsah Au před a po promytí nanokompozitů

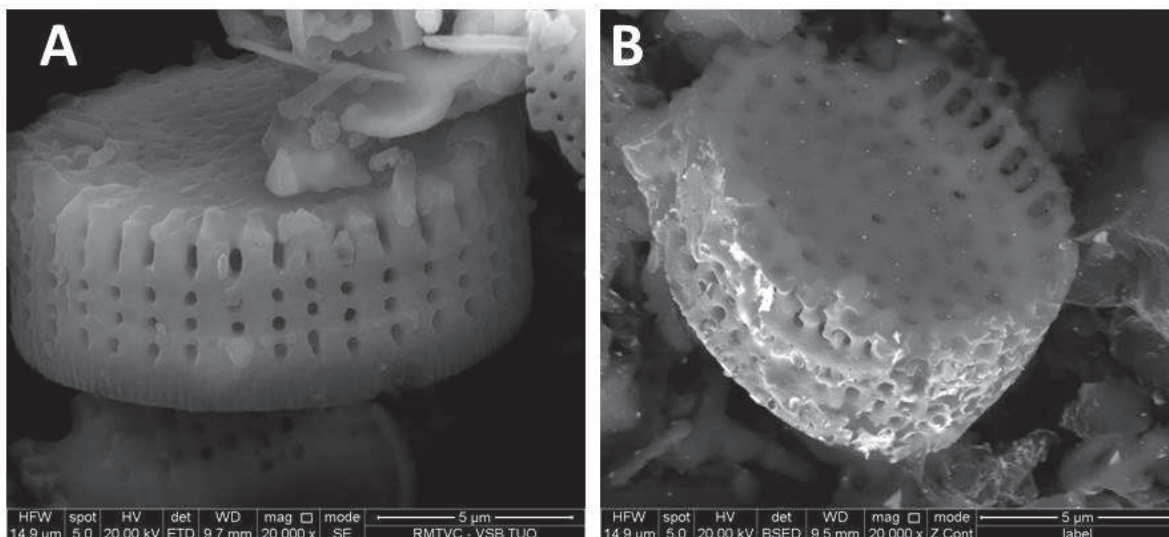
Vzorek	Au [hm. %] před promytím	Au [hm. %] po promytí
Au/OK	0,81±0,08	-
statAu/OK	0,92±0,09	0,92±0,09
dynAu/OK	1,32±0,13	1,26±0,13

Uchycení nanočástic zlata na podkladu z oxidu křemičitého může být realizováno pomocí nekovalentních vazeb. Imobilizované přechodné kovy mohou být na povrchu křemelinu vázány vodíkovými vazbami a iontovými interakcemi. Díky poréznímu povrchu oxidu křemičitého může docházet k omezení a zastavení růstu nanočástic. Existuje několik publikací, které se zabývají přípravou nanokompozitu tvořeného nanočásticemi zlata ukotvenými na oxidu křemičitém. Příkladem může být práce Wanga a kol., kteří využili tento nanokompozit pro etherefikaci silanů [121]. Další práce byla zaměřena na ukotvení nanozlata na povrchu kulovité mikročástice oxidu křemičitého. Potenciální aplikace tohoto materiálu může být nalezena v chemo-radioaktivní terapii [122]. V publikaci Kaliese a kol. je uvedena modifikace mikročástice oxidu křemičitého nanočásticemi zlata pro terapeutické aplikace [123]. V neposlední řadě jsou imobilizované nanočástice zlata na oxidu křemičitém využívány jako katalyzátor při oxidaci CO [36].

3.1.2 Vliv teploty na biosyntézu nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva

Při biosyntéze nanočástic zlata byl sledován vliv teploty na velikosti nanočástic zlata. Byly připraveny dvě suspenze sušené odpadní křemelinu a prekurzoru zlata o stejných koncentracích, které byly ponechány při dvou rozdílných teplotách (viz podkapitola 2.3.1). V případě biosyntézy při 5 °C reakce pravděpodobně neproběhla, jelikož suspenze po 24 hodinách nezměnila barvu. Na rozdíl od suspenze, která byla ponechána při laboratorní teplotě a její barevná změna proběhla do 24 hodin. Rozdíl výsledků reakce lze vysvětlit sníženou enzymatickou aktivitou buněčných zbytků kvasinek v roztoku při nižší teplotě, jelikož po vytažení suspenze z lednice a zahřátí roztoku na laboratorní teplotu proběhla barevná změna vzorku statAu/OK5 do 24 hodin. Na obrázku 24 jsou SEM snímky vzorku statAu/OK5 před (24A) a po (24B) zahřátí na laboratorní teplotu. Na snímku 24A nanočástice zlata na povrchu křemelinu nejsou viditelné na rozdíl od obrázku 24B, kde jsou nanočástice zlata ukotveny na SiO₂ matici (velmi malé světlé body).

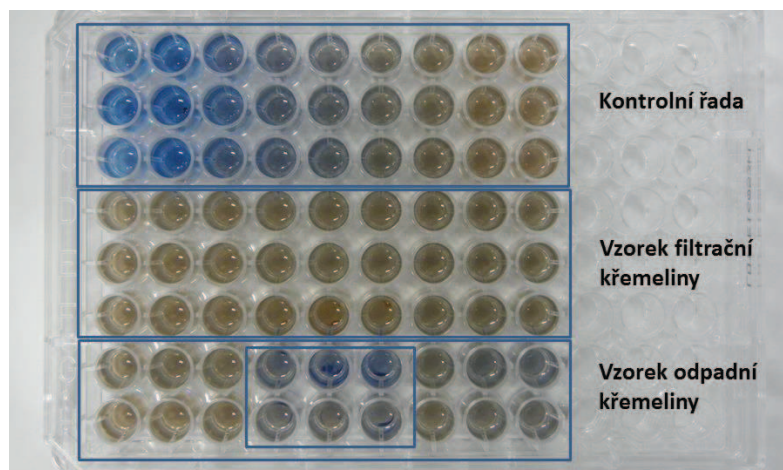
Obecně je proces kvašení teplotně závislý. Nízké teploty proces kvašení a enzymatickou aktivitu zpomalují, až zastavují, naopak při vyšších teplotách ji mohou urychlovat [124]. Rychlost biosyntézy může být v případě odpadní křemelinu z filtrace piva teplotně závislá a za nízkých teplot k bioredukci nanočástic z prekurzoru nemusí docházet. V tomto případě se mohou na bioredukci iontů Au podílet enzymy nacházející se v pivních kvasinkách.



Obrázek 24: A) OK po expozici prekursoru zlata při 5 °C B) OK s Au nanočásticemi po vytažení z lednice a temperování na laboratorní teplotu po 24 hodinách

3.1.3 Návrh mechanismu biosyntézy nanočástic zlata

Pomocí Bradfordovy metody byla provedena analýza na přítomnost proteinů ve vzorcích odpadní a čisté filtrační křemeliny. Principem této metody je adsorpční vazba barviva Coomassie Brilliant Blue G-250 na molekulu proteinu. Samotné činidlo je hnědé, po reakci s proteinem intenzivně modrá v závislosti na koncentraci proteinů ve vzorku. Modře zbarvené vzorky lze pozorovat pouze v případě odpadní křemeliny z filtrace piva (Obrázek 25). U čisté (kontrolní) křemeliny změna barvy neproběhla. Lze předpokládat, že vyšší obsah proteinů (enzymů), které se mohou podílet na biosyntéze nanočástic zlata, se nachází v odpadní křemelíně. V práci Shabaniho a kol. je uvedena enzymatická biosyntéza nanočástic zlata sulfid reduktázou extrahovanou z *E. coli* [125]. Pravděpodobný mechanismus bioredukce Au iontů za přítomností enzymů je popsán v kapitole 1.2.



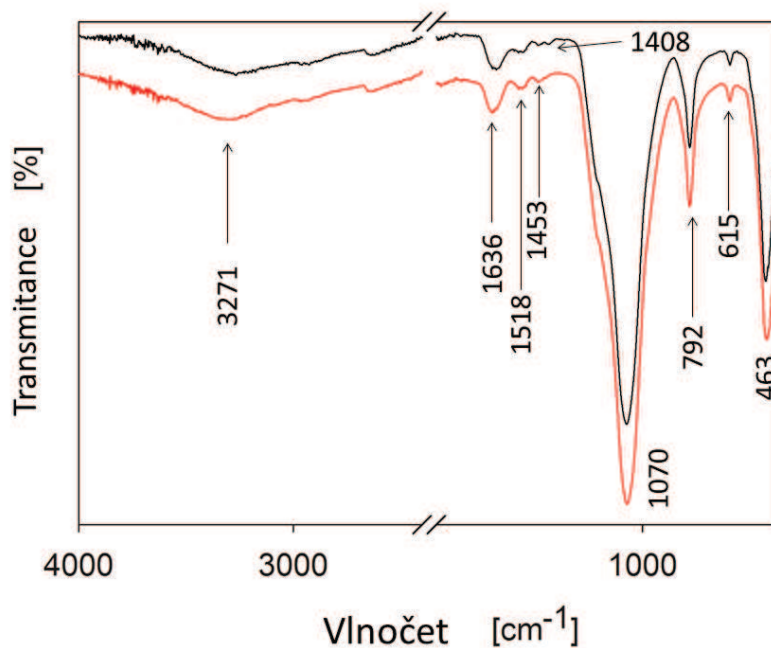
Obrázek 25: Bradfordův test na obsah bílkovin ve vzorcích čisté filtrační křemeliny a odpadní křemeliny

Obsah vody ve vzorcích byl stanoven gravimetricky, dusíkaté látky pomocí Kjeldahlovy metody a beta-glukany metodou FIA. Tabulka 12 uvádí obsahy analytů ve filtrační křemelíně před a po použití k filtraci piva. Z ní vyplývá, že odpadní křemelina obsahuje větší množství rozpustného dusíku, dusíkatých látek a organického uhlíku, než je tomu v případě čisté filtrační křemeliny před použitím k filtraci. Dusík obsažený v odpadní křemelíně může být součástí aminokyselin, které jsou stavební složkou enzymů [126]. Dále lze vyloučit podíl beta-glukanu na syntéze nanočástic, jelikož ve vzorcích nebyl detekován (Tabulka 12).

Tabulka 12: Obsah látek ve filtrační a odpadní křemelíně

	Filtrační křemelina	Odpadní křemelina
Obsah vody	0,2 % ±5,6 %	1,5% ±5,6 %
Dusíkaté látky v sušině	<0,5 %	9,75%±8 %
Rozpustný dusík	<5,0 mg/100 ml	97,7 mg/100 ml ±6%
Beta-glukany	<5,0 %	<5,0%
Organický uhlík	<5,0 %	6-6,5 hm. %

Ve FTIR spektru odpadní křemeliny je množství organické složky pod detekčním limitem metody (Obrázek 26).



Obrázek 26: FTIR spektra odpadní křemeliny před (černá křivka) a po biosyntéze nanočástic zlata (červená křivka)

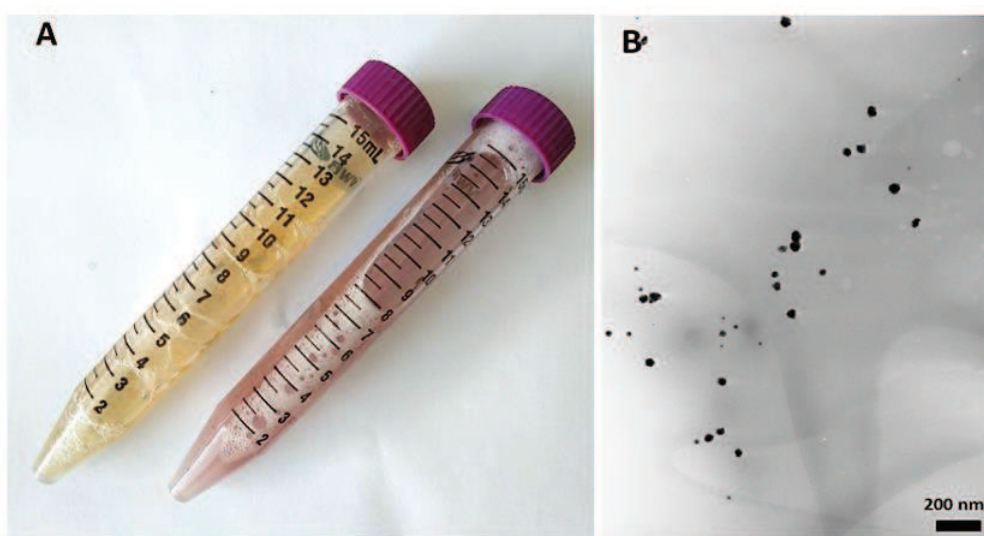
Primárně nejintenzivnější pásy na pozicích 1070, 792, 615 a 463 cm^{-1} odpovídají přítomnosti křemičitých schránek rozsivek (Obrázek 26) [127]. Objevují se zde také pásy na pozicích 1518, 1453 a 1408 cm^{-1} , kdy pravděpodobně pásy 1453 cm^{-1} a 1408 cm^{-1} odpovídají přítomnosti uhličitánů [128]. Pás 1518 cm^{-1} může odpovídat organickým látkám obsahující C-N (např. bílkoviny) [129]. Identifikace pásů ve spektrech jsou uvedeny v tabulce 13.

Tabulka 13: Identifikace pásů ve spektrech odpadní křemeliny

Pozice [cm^{-1}]	Vazby
3271	O-H valenční
1636	O-H deformační
1518	C-N
1453	$-\text{CO}_3^{2-}$
1408	$-\text{CO}_3^{2-}$
1070	Si-O-Si
792	Si-O
615	Si-O-Al
463	Si-O

3.1.4 Biosyntéza nanočástic zlata kvasinkami a filtrační křemelinou

Pro ověření, která složka odpadní křemelinou může být zodpovědná za biosyntézu nanočástic zlata byla provedena biosyntéza s pivními kvasinkami a čistou filtrační křemelinou jakožto dvěma majoritními složkami tvořící odpadní křemelinou. Obrázek 27A ilustruje suspenzi pivních kvasinek před a po expozici prekursoru zlata. Změna zabarvení suspenze pivních kvasinek je opět způsobena přítomností nanočástic zlata. Nanočástice zlata byly dále charakterizovány transmisí elektronovou mikroskopií (Obrázek 27B). Schopnost pivních kvasinek a obecně kvasinek redukovat kovové ionty (Au, Ag, Cu, atd.) do nanoformy je již experimentálně ověřena v několika publikacích [26, 130–132].



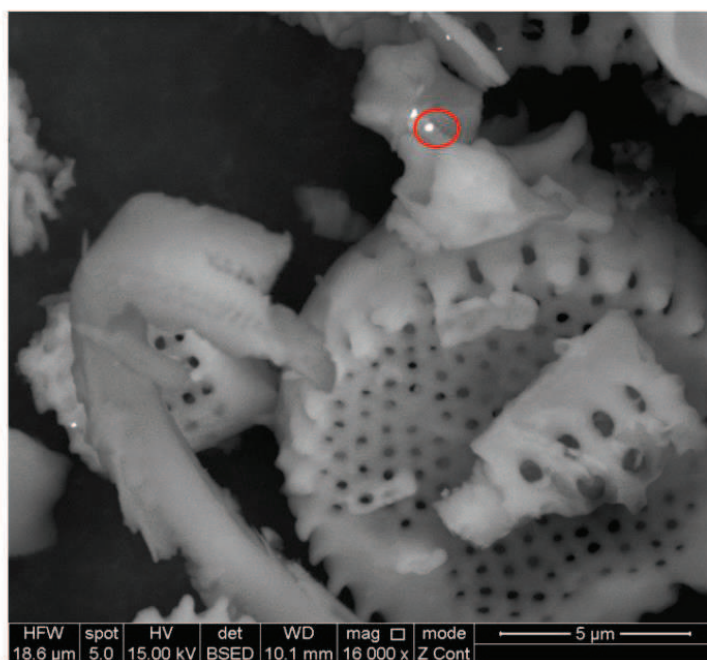
Obrázek 27: A) Suspenze kvasinek z filtrace před (vlevo) a po (vpravo) přidavku prekursoru zlata a B) TEM snímek nanočástic zlata syntetizovaných pivovarskými kvasinkami

V případě syntézy nanočástic zlata čistou filtrační křemelinou po 24 hodinách nedošlo k barevné změně suspenze, tudíž nepředpokládáme obsah nanočástic zlata (Obrázek 28). Navíc roztok nad křemelinou zůstal nažloutlý, což indikuje vysoký obsah Au(III) iontů v roztoku. Suspenze odpadní křemelinou po biosyntéze zřívověla a roztok nad odpadní křemelinou zůstal čirý (Obrázek 28).

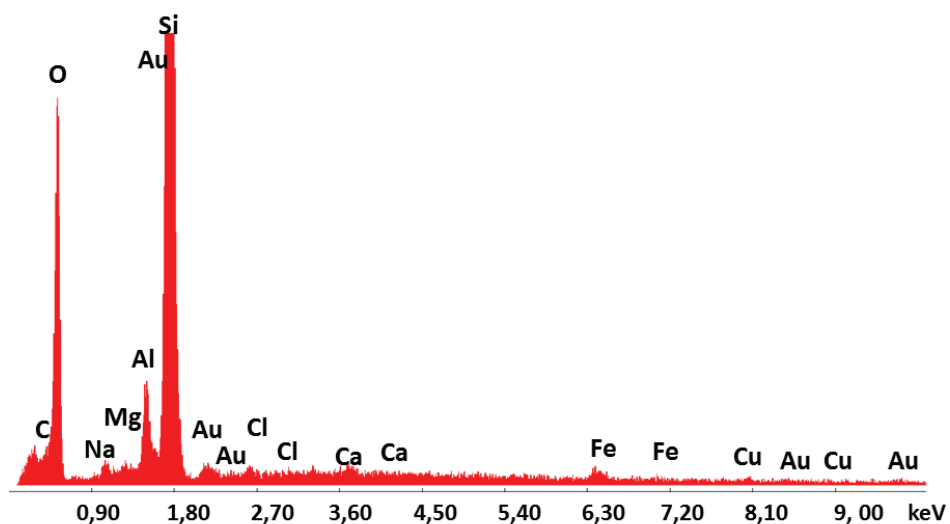


Obrázek 28: Porovnání odpadní křemeliny s nanočásticemi zlata (vlevo) a filtrační křemeliny s Au prekurzorem (vpravo) po 24 hodinách

Na obrázku 29 je uveden SEM snímek čisté křemeliny po přidavku prekurzoru zlata (analyzováno bez naprášení vzorku zlatem). Na povrchu čisté křemeliny je pozorováno několik svítících oblastí, které byly dále analyzovány bodovou EDS analýzou (Obrázek 30). Krystalické zlato je v čisté křemelíně po expozici prekurzoru přítomné, ovšem ve velice malém množství. Může se jednat o zlatité soli.



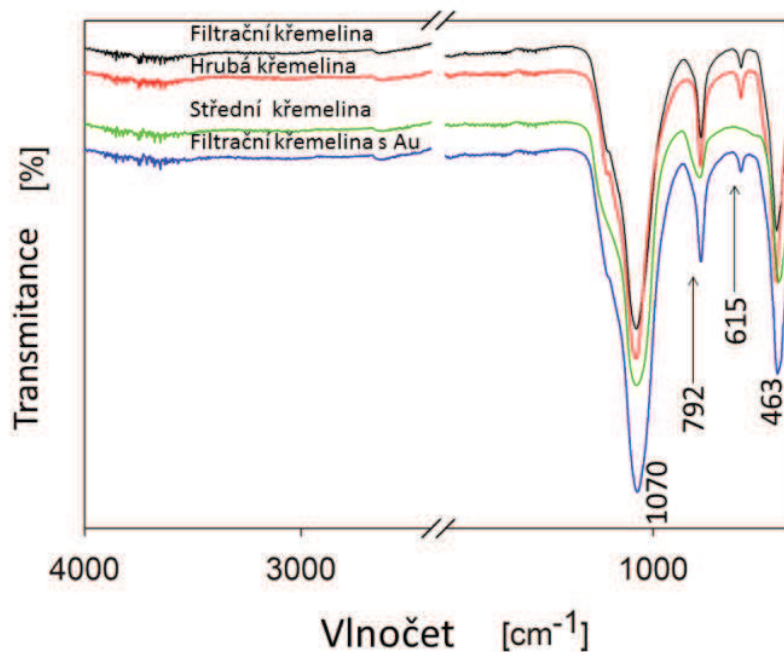
Obrázek 29: SEM snímek filtrační křemeliny po expozici zlatitého prekurzoru



Obrázek 30: Bodová analýza filtrační křemeliny po přidavku HAuCl_4

Analýza ICP-AES potvrdila nízký obsah zlata ve vysušeném vzorku čisté křemeliny po přidavku kyseliny tetrachlorozlatité, který činil 0,018 hm. %, na rozdíl od vzorku dynAu/OK, který obsahoval přibližně 1,2 hm. % Au.

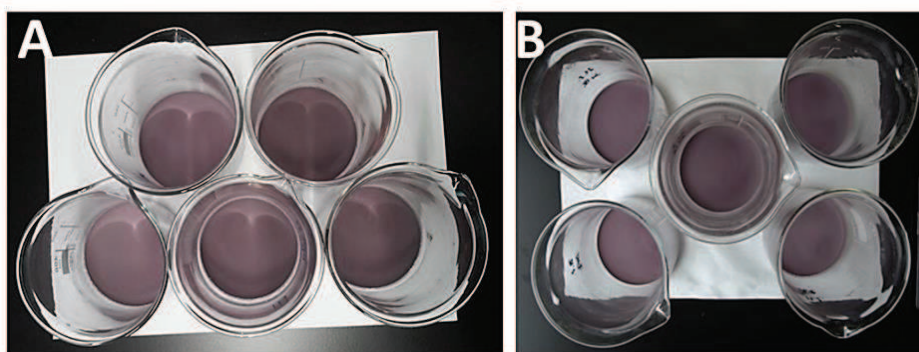
Křemelina pro filtraci piva je složena ze dvou frakcí křemeliny a to hrubé a střední. FTIR spektrum směsi křemeliny (Obrázek 31) odpovídá spektru hrubé křemeliny. Spektrum střední křemeliny je více amorfního charakteru (hlavní pás Si-O-Si je širší) a chybí pás 615 cm^{-1} (Si-O-Al). Ve spektru čisté křemeliny s obsahem Au se nachází jen pásy odpovídající přítomnosti vazeb Si-O. Po přidavku prekurzoru Au nenastává ve spektrech změna.



Obrázek 31: FTIR spektra filtrační křemeliny, hrubé, střední směsi a směsi po přidavku Au prekurzoru

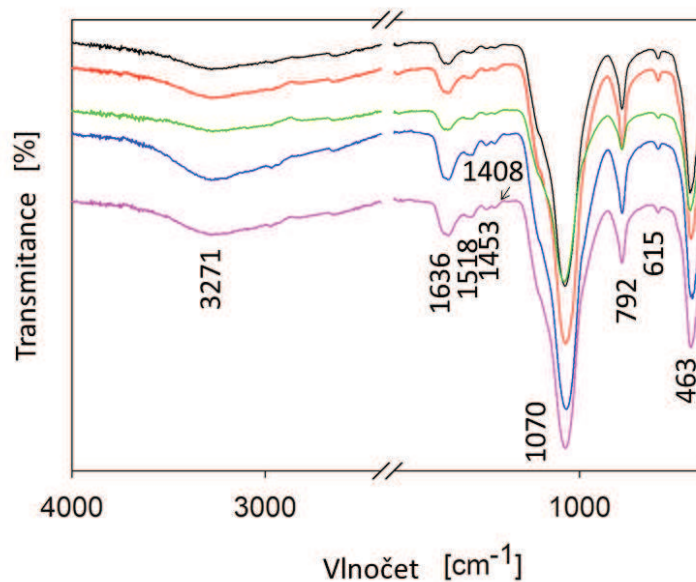
3.1.5 *Ověření opakovatelnosti dynamické biosyntézy nanočástic zlata*

Na základě předchozích výsledků byla pro přípravu nanokompozitu vybrána dynamická metoda přípravy (postup podle kapitoly 2.3.1.). Dynamickou biosyntézou bylo dosaženo vyššího obsahu Au ve vzorku, navíc s nejmenší průměrnou velikostí nanočástic zlata. Na obrázku 32 jsou fotografie nanokompozitů připravených v první a druhé sérii experimentů. Všechny vzorky po vysušení tvoří homogenní vrstvu tmavě fialového zbarvení.



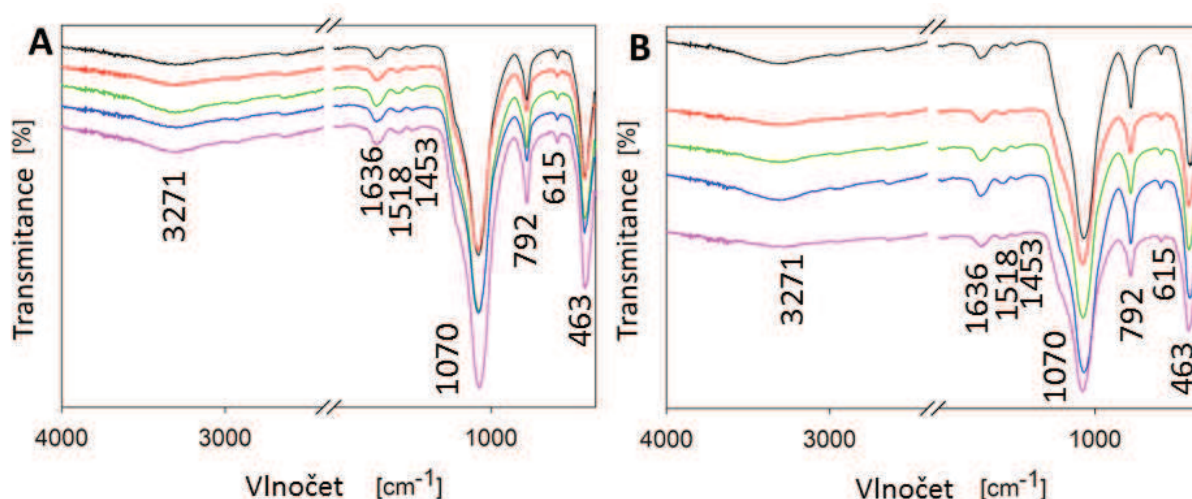
Obrázek 32: A) Vysušená odpadní křemelina s obsahem zlatých nanočástic v první a B) druhé sérii vzorků

Na obrázku 33 je uvedena FTIR analýza čisté odpadní křemeliny odebrána z 5 různých míst vzorku. Spektra se mezi sebou výrazně neliší. Identifikované pásy jsou uvedeny v předchozí kapitole 3.1.2.



Obrázek 33: FTIR analýza odpadní křemeliny z pěti různých míst vzorku

Na obrázku 34 jsou uvedeny FTIR spektra odpadní křemeliny s nanočásticemi zlata v 1. a v 2. sérii experimentů. Ze srovnání vyskytujících se pásů všech vzorků je vidět, že nedochází k významným odlišnostem ve spektrech. Nachází se zde stejné absorpční pásy diskutované v kapitole 3.1.2.



Obrázek 34: FTIR analýza odpadní křemeliny s Au nanočásticemi v A) první sérii a B) druhé sérii vzorků

XRFS analýzou bylo ověřeno a potvrzeno složení chemických látek obsažených v odpadní křemelině z 5 různých míst vzorku (Tabulka 14). Po biosyntéze nanočástic zlata byla ověřena a potvrzena podobnost všech 5 vzorků v první sérii a druhé sérii experimentů (Tabulka 14). Ve všech vzorcích se nachází v minoritním množství Al_2O_3 , P_2O_5 , SO_3 , K_2O , CaO , TiO_2 , MnO a Fe_2O_3 . Jsou to anorganické látky nacházející se v přirozeném prostředí rozsivek potřebné pro stavbu jejich schránek v průběhu růstu. Majoritní podíl tvoří SiO_2 .

Tabulka 14: XRFS analýza odpadní křemeliny před a po biosyntéze nanočástic zlata

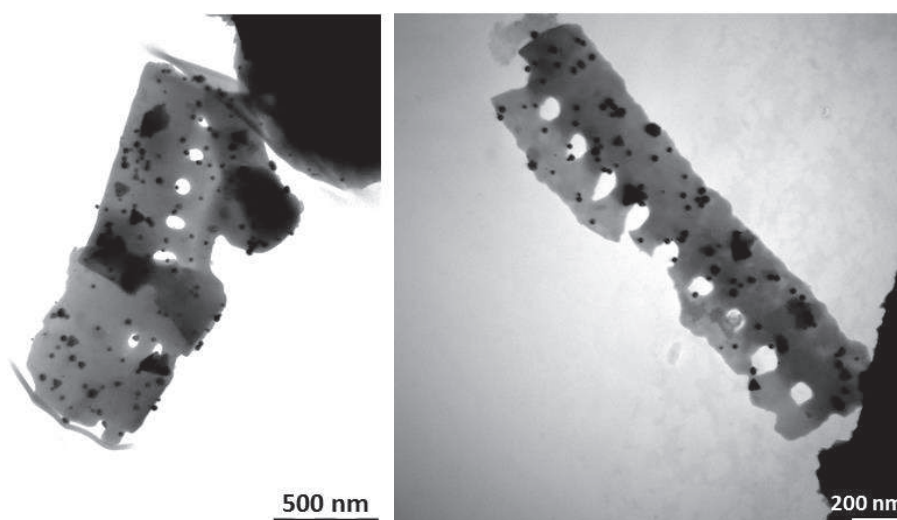
	Al_2O_3	SiO_2	P_2O_5	SO_3	K_2O	CaO	TiO_2	MnO	Fe_2O_3
Hm. %									
OK_1	1,89	81,2	0,245	0,194	0,285	0,280	0,125	0,008	0,932
OK_2	1,68	81,5	0,277	0,237	0,291	0,258	0,121	0,007	0,965
OK_3	1,84	80,9	0,267	0,198	0,274	0,262	0,121	0,008	0,918
OK_4	1,90	81,2	0,239	0,194	0,276	0,265	0,121	0,007	0,919
OK_5	1,84	81,2	0,244	0,204	0,282	0,268	0,123	0,008	0,935
1OK/Au_1	2,41	81,8	<0,001	<0,005	0,096	0,162	0,078	0,004	0,545
2OK/Au_1	2,47	81,5	<0,001	<0,005	0,098	0,162	0,078	0,004	0,567
3OK/Au_1	2,37	81,9	<0,001	<0,005	0,088	0,150	0,074	0,004	0,551
4OK/Au_1	2,35	82,1	<0,001	<0,005	0,089	0,154	0,077	0,004	0,568
5OK/Au_1	2,36	81,9	<0,001	<0,005	0,091	0,150	0,076	0,004	0,541
1OK/Au_2	2,52	81,6	<0,001	<0,005	0,101	0,165	0,079	0,004	0,564
2OK/Au_2	2,36	81,7	<0,001	<0,005	0,092	0,149	0,074	0,004	0,534
3OK/Au_2	2,36	81,7	<0,001	<0,005	0,090	0,145	0,074	0,004	0,498
4OK/Au_2	2,49	81,5	<0,001	<0,005	0,89	0,145	0,073	0,004	0,517
5OK/Au_2	2,37	81,6	<0,001	<0,005	0,094	0,153	0,076	0,004	0,550

Výsledky testů AES-ICP (Tabulka 15) v 1. a 2. sérii vzorků potvrdily přibližně shodný obsah zlata ve všech vzorcích odpadní křemeliny s ukotvenými nanočásticemi zlata. Výsledky vypovídají o opakovatelnosti metody biosyntézy Au nanočástic odpadní křemelinou z filtrace piva v 1. a 2. sérii vzorků (Tabulka 15), a také potvrzují stabilitu vysušené odpadní křemeliny, která byla uchována při laboratorních podmínkách po dobu 30 dní. Vzorky z první série testů byly promývány destilovanou vodou po dobu 24 hodin. Následná prvková analýza potvrdila stabilitu ukotvení nanočástic, jelikož obsah Au se ve vzorcích před a po promytí významně nezměnil (Tabulka 15).

Tabulka 15: ICP-AES analýza nanokompozitů s obsahem zlata

Vzorek	dynAu/OK_1 [hm. %]	dynAu/OK_1 promyté [hm. %]	dynAu/OK_2 [hm. %]
1.	1,22±0,12	1,11±0,11	1,09±0,10
2.	1,08±0,11	1,16±0,12	1,13±0,11
3.	1,17±0,12	1,14±0,11	1,14±0,11
4.	1,17±0,12	1,09±0,10	1,15±0,12
5.	1,18±0,12	1,15±0,12	1,17±0,12

Pro ověření opakovatelnosti metody biosyntézy nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva byla použita i metoda transmisní elektronové mikroskopie (Obrázek 35). Ze snímků (Příloha 2) byly vypočteny průměrné velikosti nanočástic zlata ukotvených na povrchu oxidu křemičitého (Tabulka 16). Všechny vzorky obsahovaly převážně sférické nanočástice. Ve všech nanokompozitech se nacházely minoritně nanočástice i trojúhelníkovitého a tyčinkovitého tvaru.



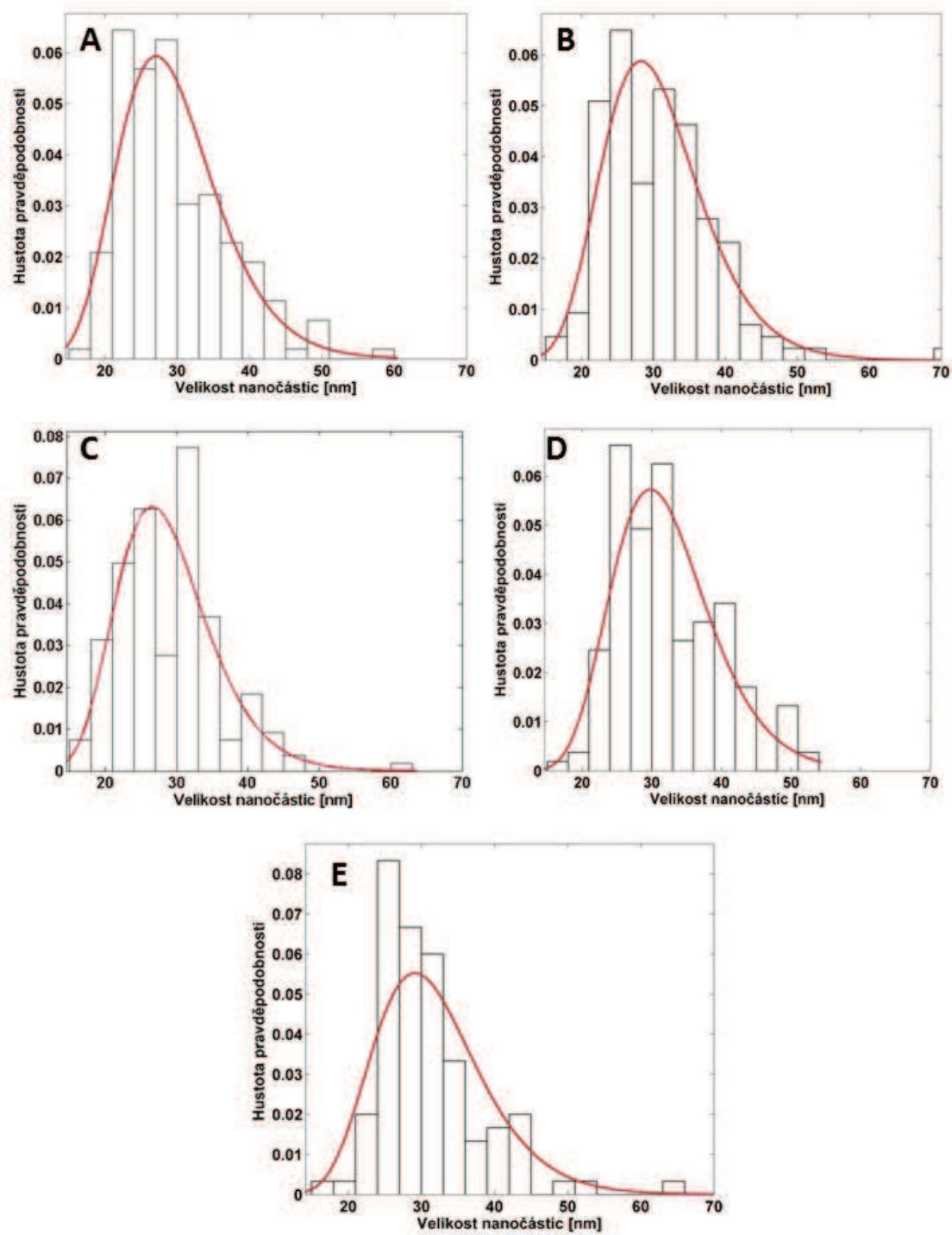
Obrázek 35: TEM snímky odpadní křemeliny s nanočásticemi zlata

Na obrázku 36 a 37 jsou uvedeny histogramy velikostní distribuce nanočástic zlata všech vzorků. Jsou vypočteny ze snímků uvedených v Příloze 2. Všechny histogramy jsou proloženy asymetrickou distribuční funkcí popisující polydisperzitu velikosti nanočástic. Průměrná velikost nanočástic se pohybuje v rozmezí 29 až 32 nm. Průměrné velikosti

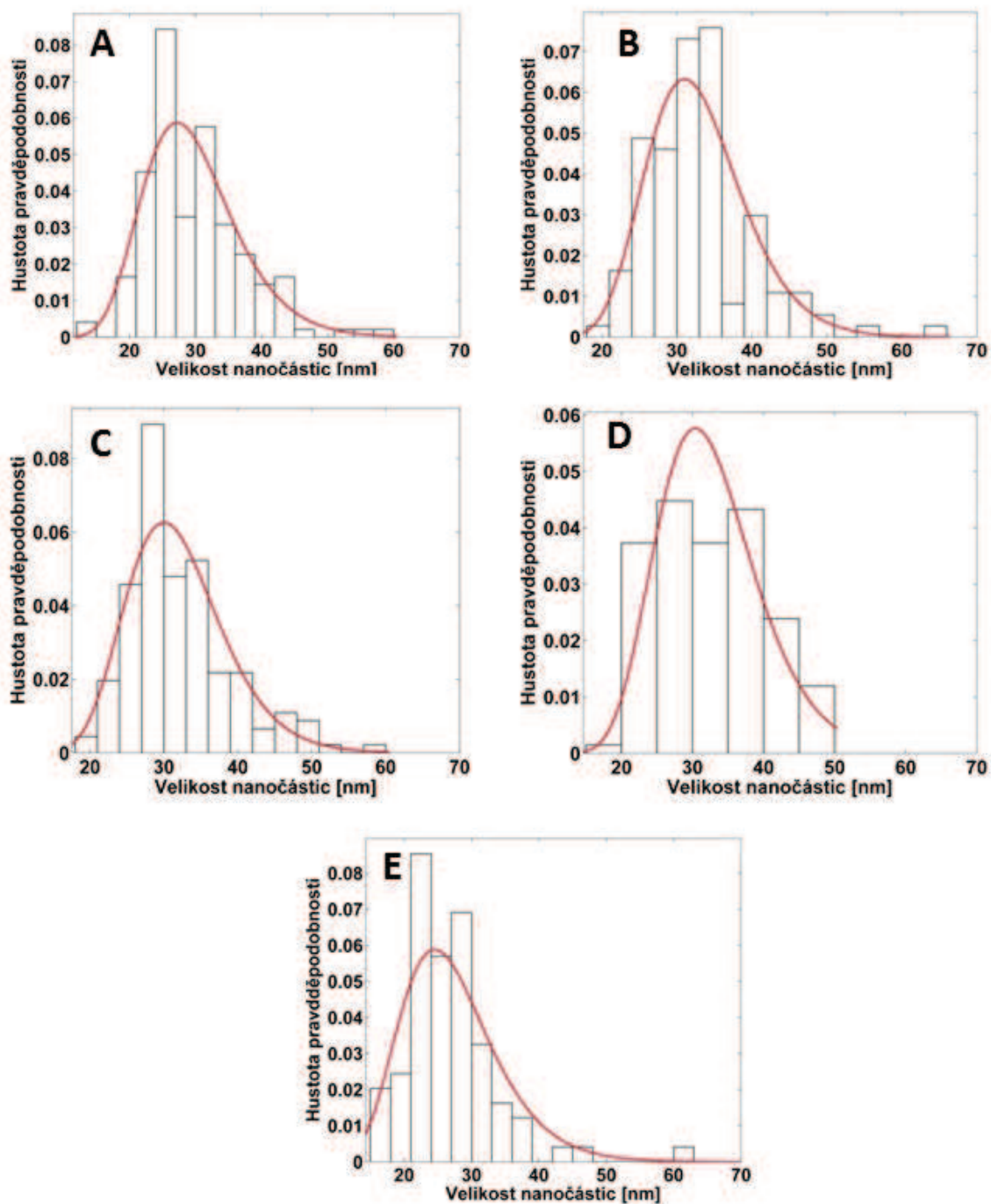
nanočástic všech vzorků jsou uvedeny v tabulce 16. Nejčastěji se vyskytující velikost nanozlata je v rozmezí 20-30 nm.

Tabulka 16: Průměrné hodnoty velikosti nanočástic zlata

Vzorek	Průměrná velikost [nm]	Vzorek	Průměrná velikost [nm]
1dynAu/OK_1	30	1dynAu/OK_2	30
2dynAu/OK_1	31	2dynAu/OK_2	33
3dynAu/OK_1	29	3dynAu/OK_2	32
4dynAu/OK_1	32	4dynAu/OK_2	33
5dynAu/OK_1	32	5dynAu/OK_2	27

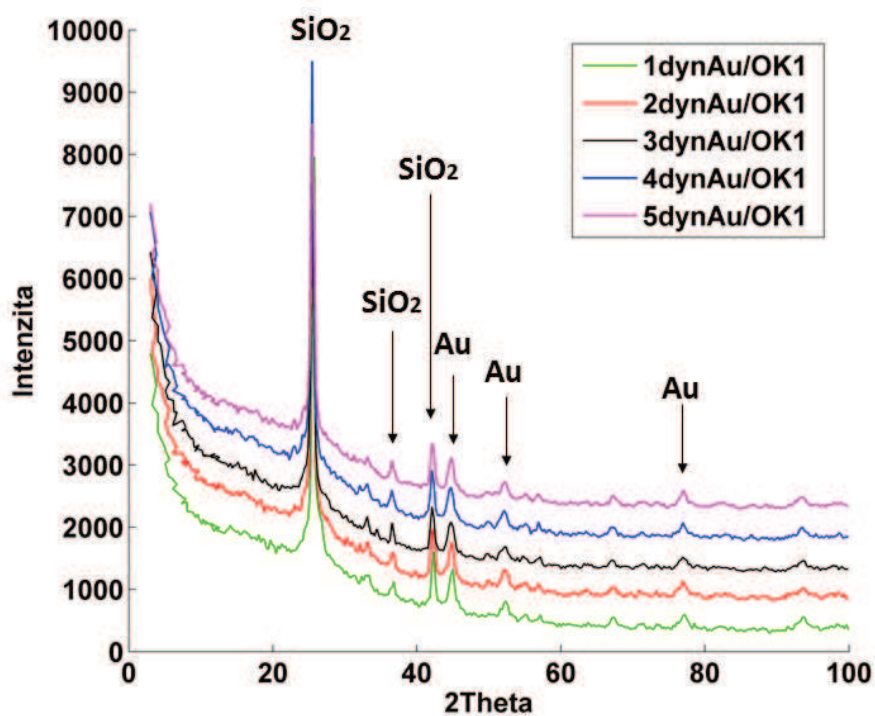


Obrázek 36: Velikostní distribuční histogramy nanočástic zlata vzorků A) 1dynAu/OK_1, B) 2dynAu/OK_1, C) 3dynAu/OK_1, D) 4dynAu/OK_1 a E) 5dynAu/OK_1

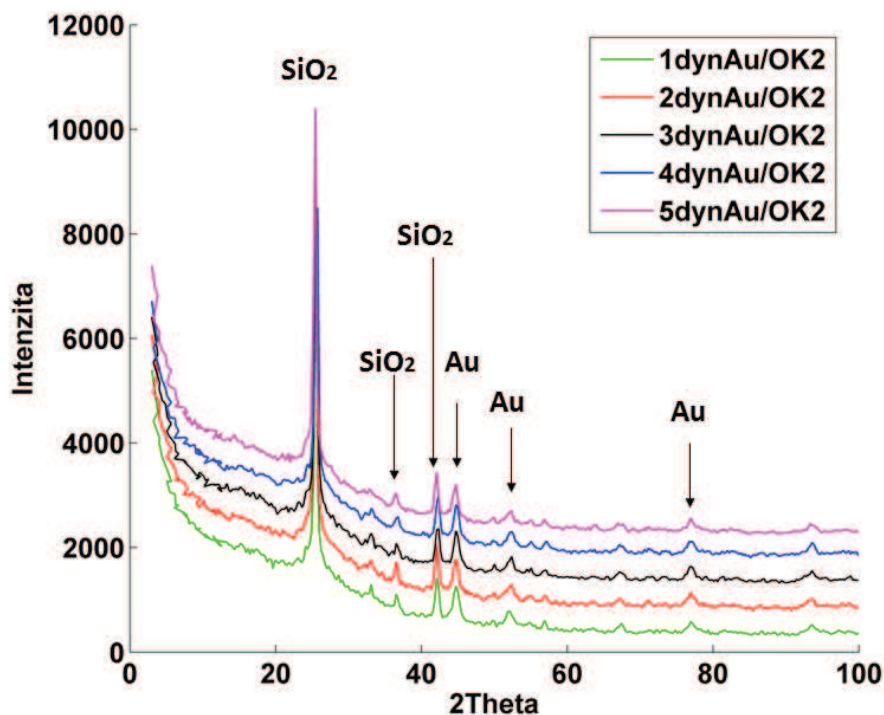


Obrázek 37: Velikostní distribuční histogramy nanočástic zlata vzorků A) 1dynAu/OK_2, B) 2dynAu/OK_2, C) 3dynAu/OK_2, D) 4dynAu/OK_2 a E) 5dynAu/OK_2

Pro všechny vzorky z první a druhé série byly naměřeny RTG difraktogramy (Obrázek 38 a 39), které se od sebe liší jen minimálně. Byla potvrzena přítomnost nanočástic zlata při úhlech $45^\circ 2\theta$ pro difraktující krystalografickou rovinu (1 1 1), $52^\circ 2\theta$ pro rovinu (2 0 0) a $77^\circ 2\theta$ pro rovinu (2 2 0). Difrakční píky projevující se při úhlech 25° , 37° a $42^\circ 2\theta$ náleží krystalické fázi kristobalitu.



Obrázek 38: RTG difraktogramy nanokompozitů s obsahem nanočástic zlata z první série vzorků



Obrázek 39: RTG difraktogramy nanokompozitů s obsahem nanočástic zlata z druhé série vzorků

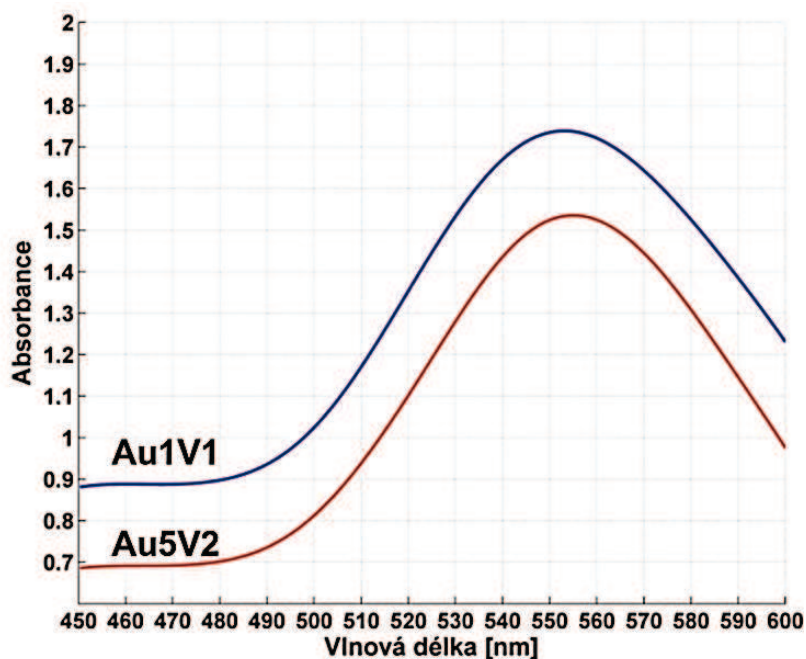
Podle výše provedených analýz lze potvrdit opakovatelnost metody přípravy nanočástic zlata sušenou odpadní křemelinou z filtrace piva. Bylo připraveno 5 vzorků z první série experimentů a 5 vzorků z druhé série experimentů. Tyto vzorky se od sebe chemicky ani fyzikálně výrazně neliší. Neliší se vzorky připravené i po měsíci skladování vysušené odpadní křemeliny při laboratorních podmínkách.

3.2 Fytosyntetizovaný koloidní roztok nanočástic zlata

3.2.1 Charakterizace fytosyntetizovaných nanočástic zlata

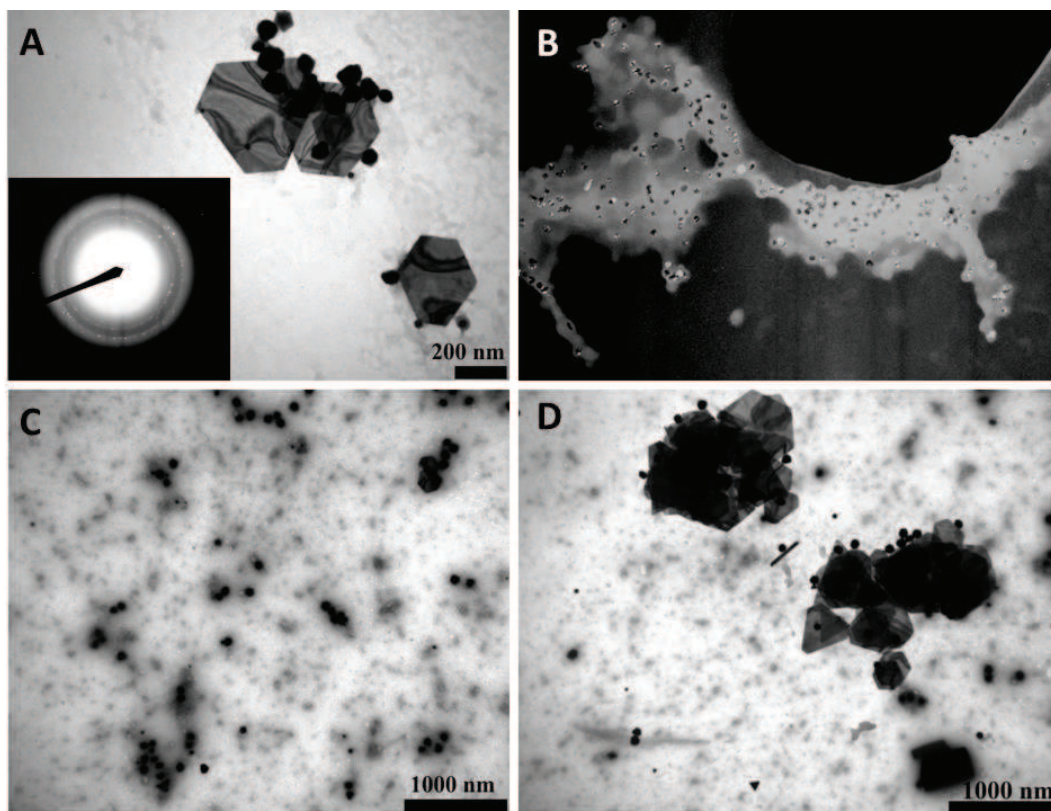
Barevná změna po bioredukci zlatitých iontů indikovala přítomnost nanočástic zlata v koloidech Au1V1 a Au5V2. UV-VIS spektroskopií byla potvrzena přítomnost nanočástic zlata o přibližně stejné velikosti maxima absorpce. Maxima absorpce u obou vzorků byla detekována při vlnové délce 560 nm (Obrázek 40). Vzhledem k vysoké koncentraci nanočástic zlata v případě vzorku Au5V2 byl roztok pro UV-VIS měření 3x zředěn, proto je intenzita píku nižší, než je tomu u vzorku Au1V1. Dále byl u koloidních systémů měřen zeta-potenciál, který u vzorku Au1V1 činil -17 mV a u Au5V2 byl -15,7 mV. Dle definice se

v obou případech jedná o relativně stabilní koloidní systémy. Ovšem u koloidního vzorku o koncentraci 0,5 mM došlo k mikrobiální kontaminaci a znehodnocení vzorku po 1 měsíci. V případě 2,5 mM koloidu Au k znehodnocení nedošlo ani po 3 měsících.



Obrázek 40: Absorpční spektra vzorků Au1V1 a Au5V2

Pomocí TEM analýzy byla provedena tvarová a velikostní charakterizace nanočástic (Obrázek 41). V obou vzorcích se nachází sférické nanočástice, polygony a trojúhelníky nanočástic zlata. Elektronovou difrakcí a zobrazením v tmavém poli byla potvrzena krystalická struktura nanočástic zlata (Obrázek 41A-B). Průměrná velikost sférických nanočástic vzorku Au1V1 byla kolem 96 nm a polygonů 70-134 nm. Průměrná velikost nanočástic vzorku Au5V2 činila 89 nm a velikost polygonů se pohybovala od 50 do 117 nm (Obrázek 41C-D). V koloidech se také nachází polygony částic zlata o velikostech od 300 do 700 nm. V obou případech se jedná o polydisperzní systémy.



Obrázek 41: A) snímek TEM vzorku Au1V1 a elektronová difrakce nanozlata, B) zobrazení vzorku Au1V1 v tmavém poli, C) snímek sférických nanočástic zlata vzorku Au5V2, D) snímek polygonů nanozlata vzorku Au5V2

3.2.2 Fytosyntéza nanočástic zlata vodným výluhem z listenu a vijanů lípy

Pro ověření opakovatelnosti přípravy nanočástic zlata fytosyntézou byl experiment opakován 5x. Bylo připraveno 5 vzorků nanočástic zlata Au5V2_1-Au5V2_5 fytosyntetizovaných výluhem V2 (Obrázek 42). Vzorky Au5V2_1 a Au5V2_5 byly zbarveny do fialova na rozdíl od vzorků Au5V2_2 až Au5V2_4, které měly hnědé zbarvení. Z těchto důvodů byla provedena biosyntéza s výluhem V3 (pouze z květů) a V4 (pouze z listenů). Bylo pozorováno, že fytochemikálie z listenů a z květů mají odlišný vliv na fytosyntézu nanočástic zlata. Koloid zlata fytosyntetizovaný výluhem z květů byl zbarven do hněda, na rozdíl od koloidu fytosyntetizovaného výluhem z listenů, který měl barvu vždy fialovou (Obrázek 42 dole).

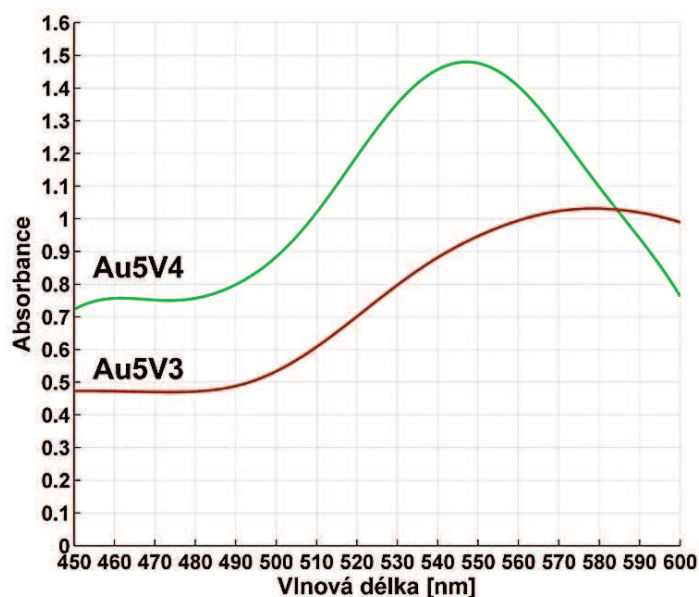
Na fytosyntéze nanočástic u vzorků Au5V2_2 až Au5V2_4 (Obrázek 42) se pravděpodobně podílely především fytochemikálie nacházející se v lipovém květu. U vzorků Au5V2_1 a Au5V2_5 se na fytosyntéze podílely fytochemikálie pocházející z lipového

listenu. Podle experimentů uvedených výše poměr fytochemikálií z listenů a květů v extraktu má vliv na výsledný tvar a koncentraci fyto-syntetizovaných nanočástic zlata, jak bylo dále potvrzeno zobrazovací metodou (TEM).



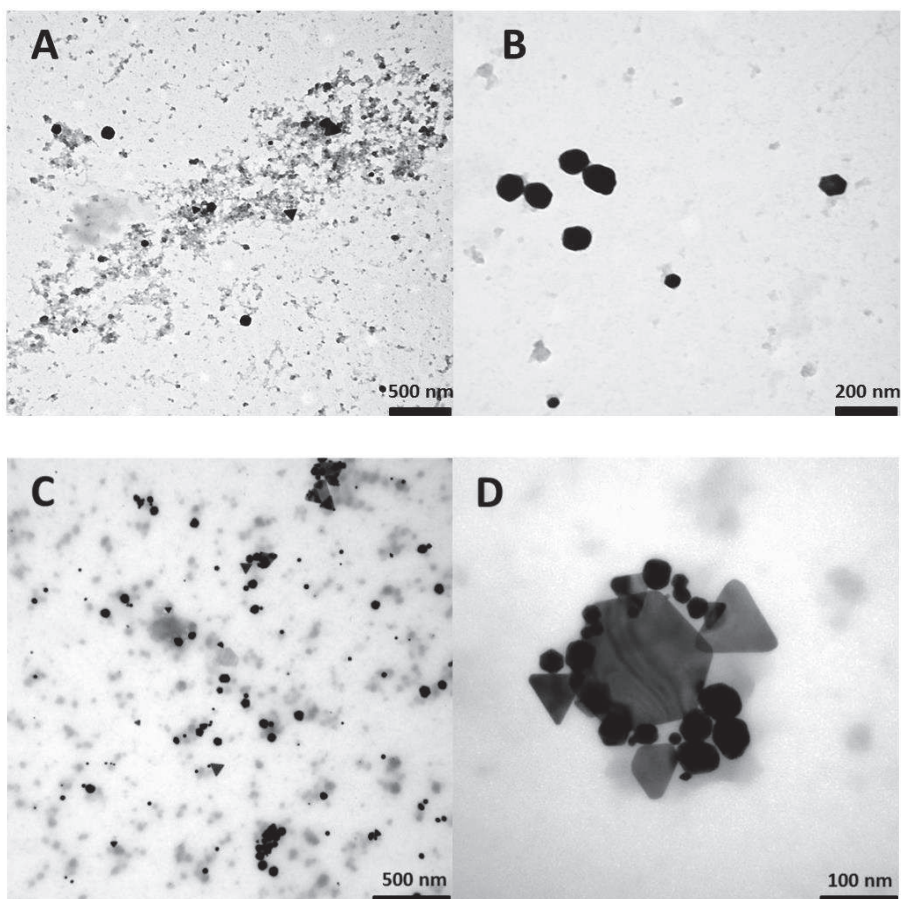
Obrázek 42: Snímek nahoře ilustruje 5 vzorků fyto-syntetizovaných nanočástic zlata z květů a listenu lípy, snímek dole ilustruje Au koloid připravený smícháním prekurzoru s A) výluhem z vijanů a B) výluhem z listenů

UV-VIS spektroskopie potvrdila i rozdílnost v absorpčních spektrech koloidů zlata Au5V3 a Au5V4 (Obrázek 43). Maximum absorbance u vzorku Au5V4 byla naměřena při vlnové délce 545 nm. Naopak větší vlnová délka, 577 nm, byla zjištěna u koloidu fyto-syntetizovaném výluhem z květů. Z naměřených spekter lze předpokládat větší nanočástice v koloidu Au5V3, který byl připraven z extraktu V3 a menší nanočástice u vzorku syntetizovaného z výluhu V4. Kromě vlnové délky se liší i intenzity jednotlivých pásů zelené a modré křivky. Vyšší intenzita píku je pozorována u vzorku Au5V4, který byl připraven z výluhu V4. To znamená, že tento vzorek obsahuje vyšší koncentraci nanočástic. Výluh z listenů má pravděpodobně vyšší redukční potenciál pro fyto-syntézu nanočástic zlata než výluh V3.



Obrázek 43: UV-VIS spektra koloidů nanozlata fyto-syntetizovaných výluhem z květů V3 a listenů V4 lípy *Tilia* sp.

Snímky z transmisní elektronové mikroskopie ukazují tvarové a velikostní rozdíly mezi vzorky Au5V3 a Au5V4 (Obrázek 44). V obou případech jsou fyto-syntetizovány sférické nanočástice. Průměrná velikost sférických nanočástic u vzorku Au5V4 je 60 nm. Ve vzorku se nachází i nanočástice hexagonálního a trojúhelníkovitého tvaru. Na rozdíl od nanočástic fyto-syntetizovaných výluhem z květů, kde převažují sférické nanočástice zlata o velikost cca 70 nm. Na snímcích 44A a C lze pozorovat organický obal z fytochemikálií, který stabilizuje nanočástice zlata. V případě velikosti nanočástic vzorku Au5V3 se jedná o orientační hodnotu, jelikož se na síťce nacházel nízký počet nanočástic. Obecně z obrazové analýzy vyplynulo, že nižší koncentrace nanočástic je obsažena v koloidu nanozlata připraveného z výluhu květů než u vzorku připraveného z výluhů z listenů.



Obrázek 44: Snímky TEM nanočástic zlata fytosyntetizovaných *Tilia* sp.

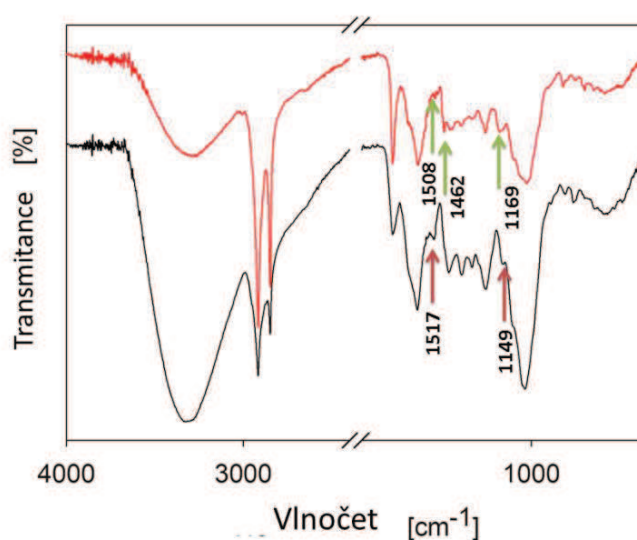
A-B výluhem pouze z květů a C-D výluhem pouze z listů

FTIR analýzou byly charakterizovány funkční skupiny organických látek nacházejících se ve vysušeném listenu a v květenství lípy (Tabulka 17 a Obrázek 45). Pásky v oblasti 3325 a 3286 cm^{-1} náležejí OH- skupině. $-\text{CH}_2$ funkční skupina dlouhých alifatických řetězců byla analyzována v oblasti pásek 2916 a 2848 cm^{-1} , další CH_2 vazba byla detekována v oblasti 1472 a 1463 cm^{-1} . Široké pásky v oblasti 1617 a 3336 cm^{-1} náležejí OH skupině. Karbonylovou funkční skupinu ($\text{C}=\text{O}$) můžeme pozorovat při vlnětu 1733 cm^{-1} a $\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}$ při 1168 cm^{-1} [10].

Tabulka 17: FTIR analýza funkčních skupin sušeného květu a listenu lípy

Květ [cm^{-1}]	Listen [cm^{-1}]	Vazby
3325	3286	O-H
2917	2917	C-H
2849	2849	C-H
1735	1735	C=O (amid I.)
1605	1601	N-H, C-N (amid II.)
1438	1431	C-H deformační
1370	1370	C-H deformační
1314	1315	C-H deformační
1242	1244	C-C valenční vibrační v sacharidové struktuře
1149	1169	C-O valenční vibrační
1104	1094	C-O pás C-O-C vazby
1035	1026	C-O valenční vibrační v C-OH

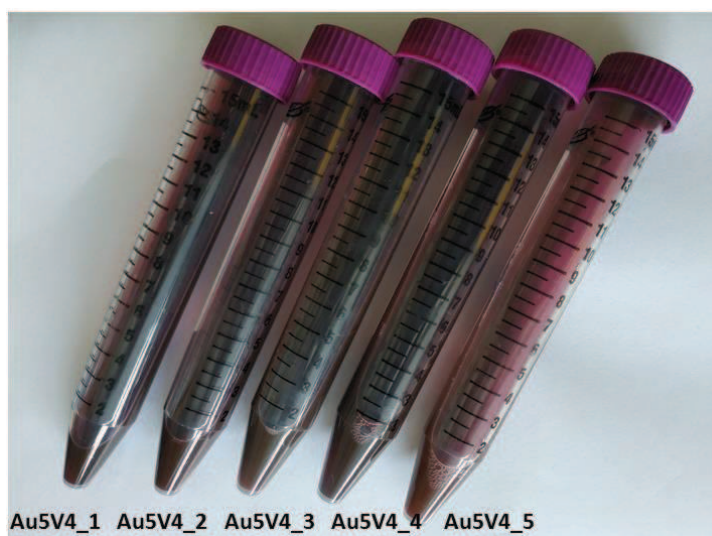
Rozdíly ve spektrech sušeného listenu a květenství lípy můžeme pozorovat v oblasti 1517 a 1149 cm^{-1} . Tyto pásy se nachází v sušeném květu. Pásy v oblasti 1508 , 1462 a 1169 cm^{-1} se nachází pouze ve spektru sušeného listenu.



Obrázek 45: FTIR analýza sušených květů (černá křivka) a listenu (červená křivka) lípy *Tilia* sp.

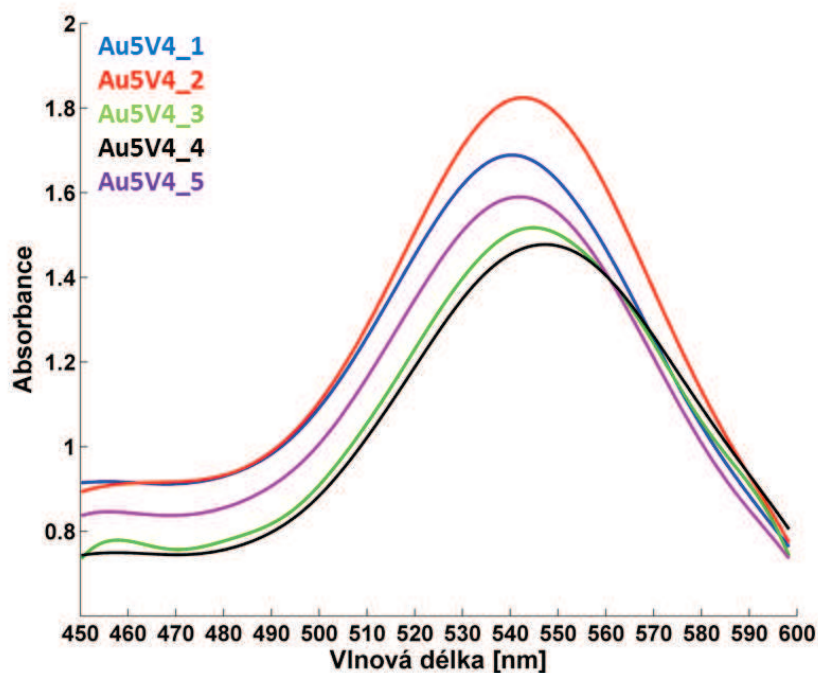
3.2.3 Sledování stability nanočástic zlata a ověření opakovatelnosti fyto syntézy

Pro ověření opakovatelnosti přípravy nanočástic zlata byl pro fyto syntézu vybrán výluh pouze z listenu lípy. U tohoto vzorku bylo při vstupních experimentech naměřeno maximum absorbance o vyšší intenzitě při nižší vlnové délce, než tomu bylo v případě vzorku fyto syntetizovaného z výluhu květu. To predikuje přítomnost vyššího počtu nanočástic o menší velikosti. Obrázek 46 ilustruje barevné zbarvení všech fyto syntetizovaných koloidů s označením Au5V4_1-Au5V4_5. Nyní již nedošlo k viditelné barevné rozdílnosti u všech vzorků.



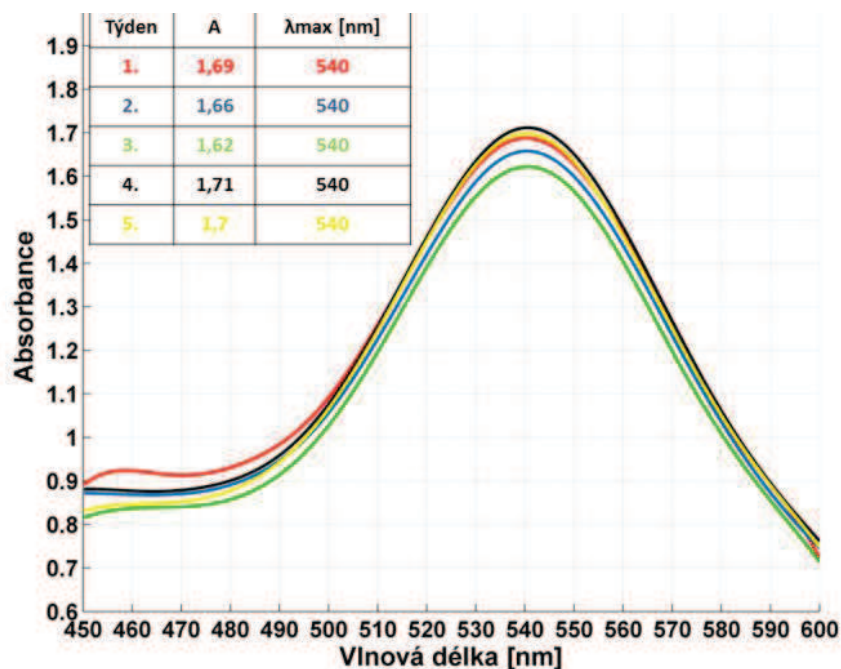
Obrázek 46: Fotografický záznam 5 koloidů nanočástic zlata připravených vždy za stejných podmínek fyto syntézy

Pro všechny koloidy byly naměřeny UV-VIS spektra (Obrázek 47). Typické pásy nanočástic zlata se liší především svou intenzitou, která se pohybovala od 1,59 do 1,86 u změřených vzorků. Maximum absorbance je v rozmezí vlnových délek od 540 do 548 nm. Pásy všech vzorků jsou široké, proto je zde předpoklad vzniku polydisperzních systémů. Tato hypotéza byla potvrzena transmisní elektronovou mikroskopií. Odlišná absorbance spekter vzorků Au5V4_1-Au5V4_5 je způsobena odlišnou koncentrací nanočástic zlata ve vzorcích. Odlišná vlnová délka může být způsobena rozdílnou distribucí velikosti nanočástic. Při vyluhování 5 extraktů, i za dodržení stejných experimentálních podmínek, nemuselo dojít k rozpuštění stejného/podobného množství fytochemikálií obsažených v listenu lípy. Tím by byly vysvětleny i rozdílné vlnové délky a intenzity jednotlivých spekter.

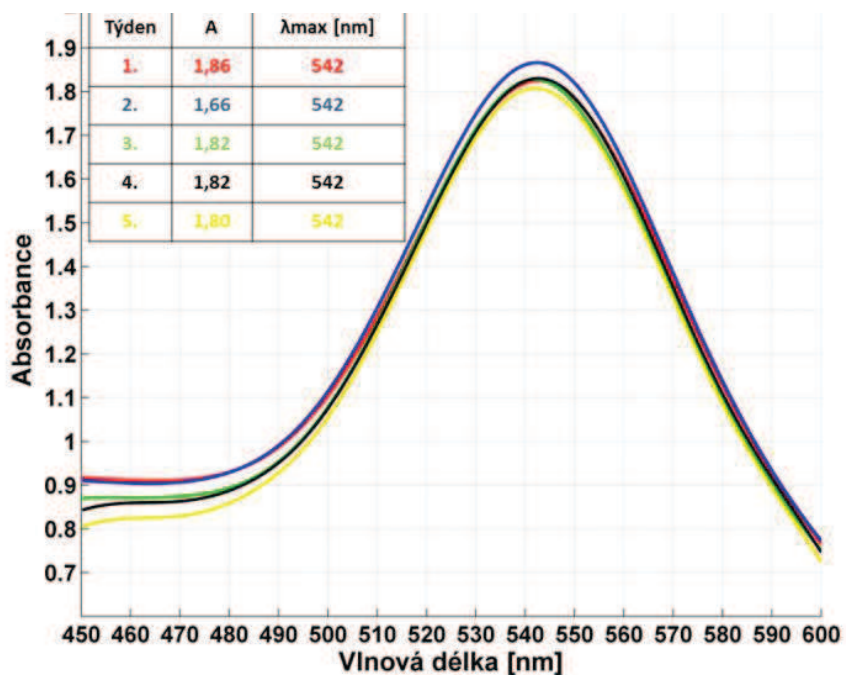


Obrázek 47: UV-VIS spektra koloidů nanočástic zlata Au5V4_1 - Au5V4_5

Pro sledování stability koloidů nanočástic zlata byly v průběhu 5 týdnů vzorky pravidelně monitorovány měřením UV-VIS spekter, pH a zeta potenciálu. V případě vzorku Au5V4_1 nedošlo v průběhu 5 týdnů ke změně v hodnotě maxima absorpčního pásu 540 nm (Obrázek 48). Intenzita se v průběhu sledování výrazně nemění. Rovněž nedošlo v průběhu 5 týdnů k agregaci nanočástic. V případě vzorku Au5V4_2 bylo maximum absorbance po dobu 5 týdnů detekováno při 542 nm (Obrázek 49). To znamená, že zde mohou převažovat větší nanočástice než u vzorku Au5V4_1. K posunu vlnových délek nedochází a rovněž nebyla pozorována agregace nanočástic ve vzorku.



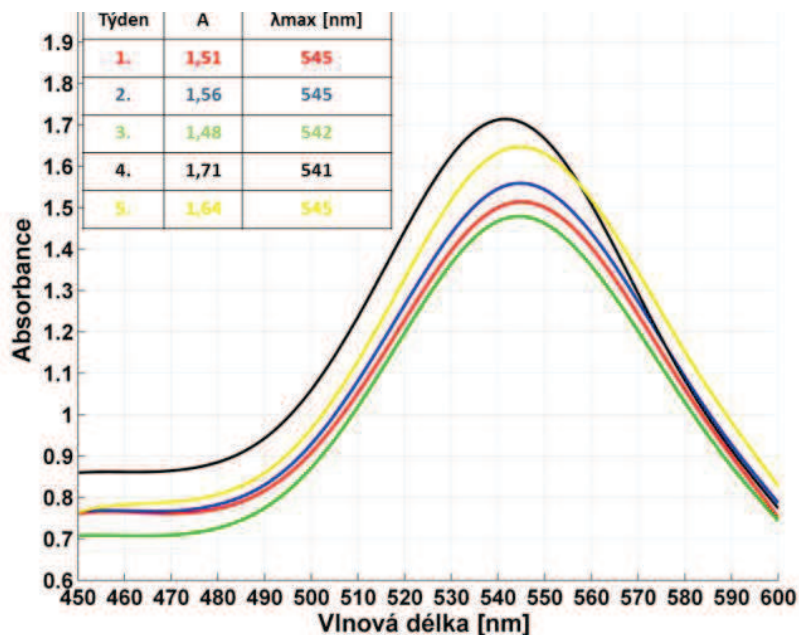
Obrázek 48: Vývoj závislosti absorbance (A) na vlnové délce (λ) pro vzorek Au5V4_1



Obrázek 49: Vývoj závislosti absorbance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_2

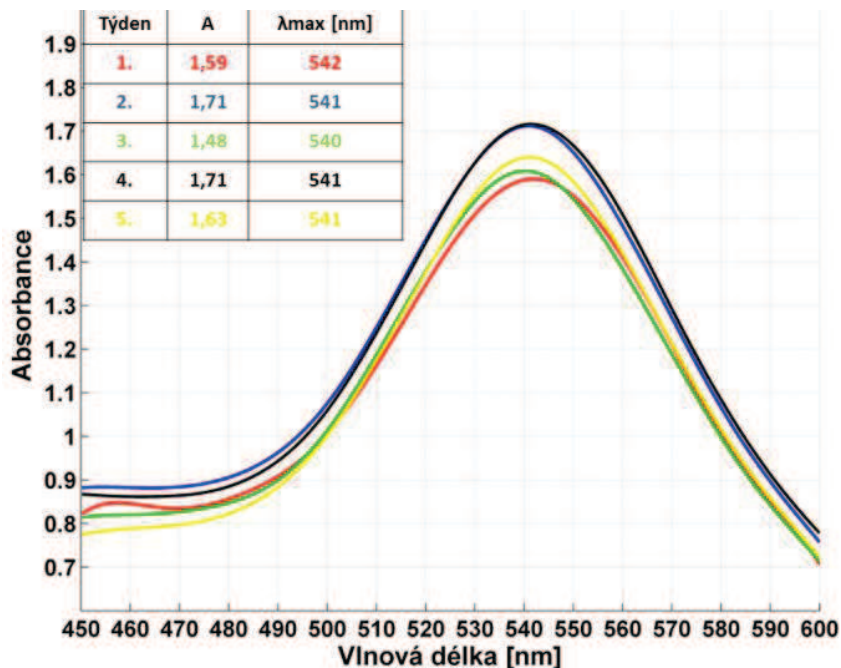
U vzorku Au5V4_3 byla pozorována výraznější změna vlnové délky i absorbance v průběhu 5 týdnů (Obrázek 50). V 1. a 2. týdnu byla vlnová délka 545 nm. V 3. a 4. se vlnová délka snížila na 542 a 541 nm. Ve 4. týdnu se absorbance zvýšila, to by mohlo

znamenat rozpad aglomerátů. Ovšem v 5. týdnu došlo k navýšení vlnové délky na 545 nm a poklesu absorbance. Opět mohlo dojít k aglomeraci nanočástic zlata v koloidu.



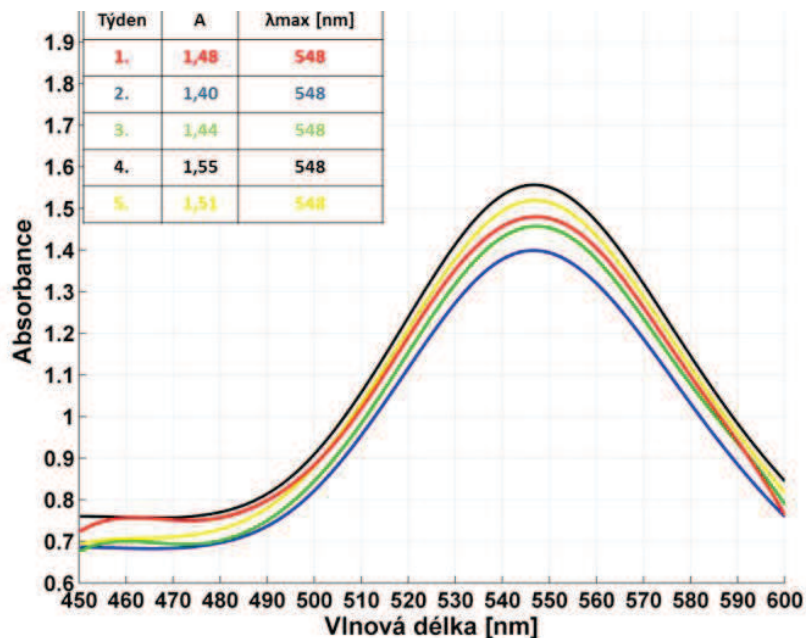
Obrázek 50: Vývoj závislosti absorbance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_3

V případě vzorku Au5V4_4 (Obrázek 51) také došlo ke změnám absorbance a vlnové délky. Jak u předchozího vzorku, může v průběhu sledování stability nanočástic docházet k rozpadu aglomerátů nanočástic zlata a jejich opětného vzniku.



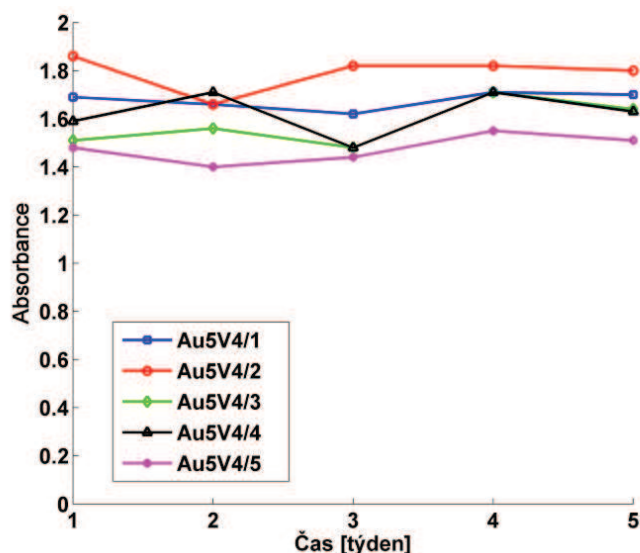
Obrázek 51: Vývoj závislosti absorbance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_4

Hodnota vlnové délky maxima absorpce vzorku Au5V4_5 byla v průběhu sledování konstantní 548 nm (Obrázek 52). Intenzita absorpce se mění v rozmezí 1,40 – 1,55. Velikost nanočástic se nemění, ale může docházet ke vzniku aglomerátů a jejich rozpadu v průběhu měření.



Obrázek 52: Vývoj závislosti absorpce na vlnové délce pro vzorek Au5V4_5

Na obrázku 53 je zobrazeno porovnání intenzit vzorků v průběhu 5 týdnů. Nejvýraznější změny absorpce lze pozorovat u vzorku Au5V4_4.



Obrázek 53: Změna intenzity absorpce vzorků Au5V4_1- Au5V4_5 v průběhu 5 týdnů

Pro všechny vzorky byl pravidelně měřen zeta-potenciál (Tabulka 18). U vzorku Au5V4_1 a Au5V4_5 je pozorován pozvolný pokles zeta-potenciálu po dobu 5-ti týdnů. U vzorku Au5V4_2, Au5V4_4 a Au5V4_5 je sledováno střídání hodnot zeta-potenciálu. Vzhledem k naměřeným hodnotám, spadají koloidy do relativně až středně stabilních systémů. V průběhu měření nejsou pozorovány viditelné shluky v koloidech nanočástic zlata, pouze aglomeráty usazené na dně zkumavek, které se rozpadají po protřepání koloidu. Vzhledem k chybě měření se zeta-potenciál u všech vzorků výrazně nemění.

Tabulka 18: Zeta-potenciál [mV] koloidů nanočástic zlata v průběhu 5-ti týdnů

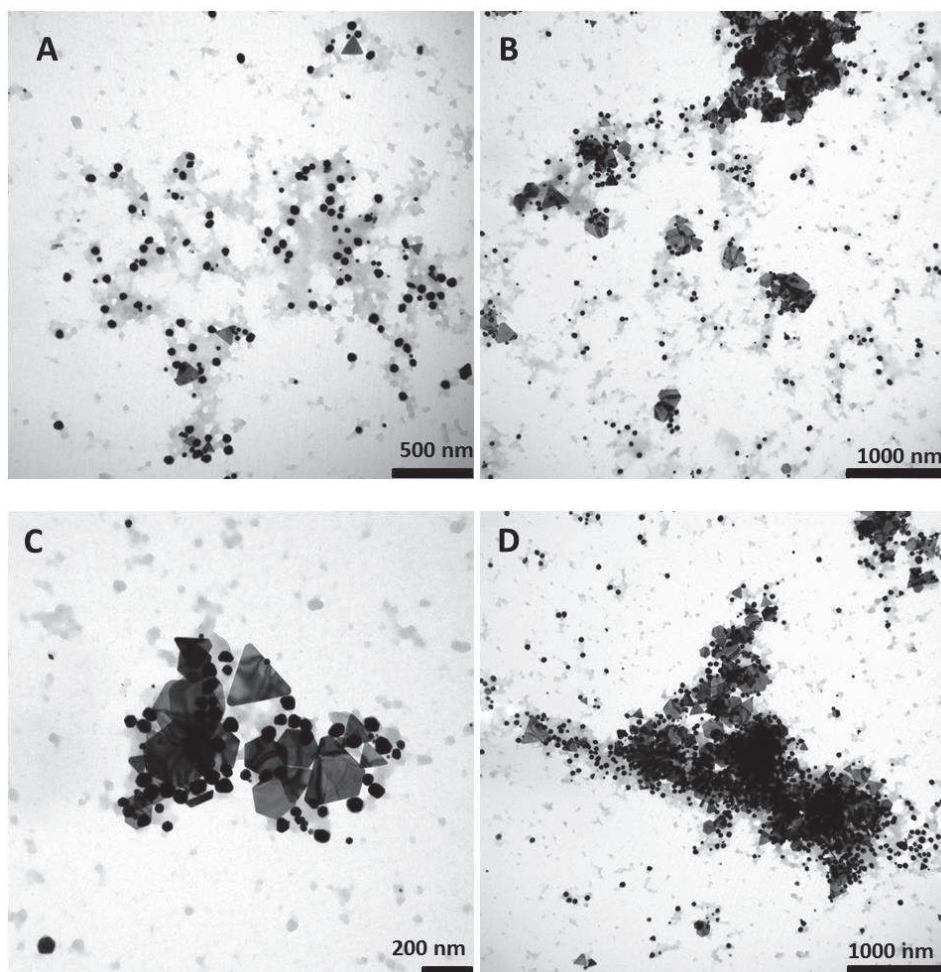
	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden
Au5V4_1	-24,1±0,5	-21,9±1,7	-20,8±0,6	-20,2±1,4	-19,9±1,4
Au5V4_2	-22,9±1,0	-20,2±2,1	-21,9±0,6	-22,6±0,9	-19,6±1,4
Au5V4_3	-23,3±0,9	-22,2±0,9	-22,5±0,7	-20,5±1,6	-18,7±1,8
Au5V4_4	-22,9±1,1	-20,5±0,9	-20,4±1,2	-22,1±0,8	-18,6±2,1
Au5V4_5	-18,4±1,9	-23,3±0,7	-18,9±1,3	-22,9±1,1	-19,9±1,1

Hodnota pH má významný vliv na hodnotu zeta-potenciálu a proto bylo pH pravidelně sledováno (Tabulka 19). Významnější změna pH v průběhu skladování roztoků nastala v 3. týdnu, kdy byl u všech vzorků pozorován pokles pH. Tato změna neměla vliv na hodnoty zeta potenciálu. Průběžně byla sledována i hodnota pH kontrolních vzorků čistého vodného výluhu z listenu pro každý vzorek.

Tabulka 19: pH koloidů nanozlata a jejich kontrolních vzorků v průběhu 5-ti týdnů

	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden
Au5V4_1	2,19	2,15	1,77	2,03	2,01
V4_1	5,10	5,13	4,82	5,14	5,16
Au5V4_2	2,15	2,15	1,82	2,08	2,04
V4_2	5,12	5,14	4,97	5,14	5,10
Au5V4_3	2,18	2,19	1,91	2,07	2,07
V4_3	5,12	5,14	4,98	5,14	5,10
Au5V4_4	2,18	2,19	1,85	2,12	2,10
V4_4	5,10	5,09	4,93	5,10	-
Au5V4_5	2,19	2,14	1,98	2,12	2,04
V4_5	5,10	5,10	5,99	-	-

Transmisní elektronovou mikroskopií byly vzorky charakterizovány v průběhu prvního a v průběhu pátého týdne skladování (Příloha 3). Ve všech vzorcích (Obrázek 54) se nachází nanočástice sférického tvaru a polygony (trojúhelníky, hexagony, atd.). Sférické nanočástice jsou výrazně menší v porovnání s nanočásticemi tvaru polygonů, z tohoto důvodu jsou zvlášť vyhodnoceny průměrné velikosti sférických nanočástic a polygonů. Velikosti nanočástic se po pěti týdnech u vzorků výrazně nemění (Tabulka 20). Všechny koloidy mají polydisperní charakter.



Obrázek 54: TEM snímky nanočástic zlata fyto-syntetizované výluhem z listů lípy *Tilia* sp.

Tabulka 20: Průměrné velikost sférických nanočástic a polygonních částic zlata ve vzorcích Au5V4_1 - Au5V4_5 v 1. a 5. týdnu

Vzorek	Průměrná velikost sférických nanočástic [nm]	Průměrná velikost hexagonů a trojúhelníků [nm]	Průměrná velikost sférických nanočástic [nm]	Průměrná velikost hexagonů a trojúhelníků [nm]
	1. týden		1. týden	
Au5V4_1	51	184	46	180
Au5V4_2	52	215	60	200
Au5V4_3	63	209	64	205
Au5V4_4	53	195	48	198
Au5V4_5	58	190	58	185

Z výsledků měření vyplývá, že opakovatelnost přípravy nanočástic fyto syntézou vykazuje více úskalí, než je tomu v případě biosyntézy odpadní křemelinou z filtrace piva. Fyto syntéza nanočástic závisí na typu extraktu, zda se jedná o extrakt z lipového květu nebo listenu. Jestliže jsou nanočástice fyto syntetizovány pouze výluhem z listenu, bioredukce a stabilizace je závislá na poměru uvolněných fytochemikálií v rozpouštědle, které se mohou lišit. Vzhledem k stanoveným intenzitám ve spektrech se lze domnívat, že ne ve všech koloidech došlo k bioredukci všech iontů v roztoku. Metodu biosyntézy je v tomto případě potřeba optimalizovat, např. sledovat vliv nižší koncentrace prekurzoru pro dostatečné využití bioredukčního potenciálu výluhu. Důležitá je i homogenizace vysušených listenu, tzn. mletí vysušených listenu na prášek. Tím by bylo docíleno rovnoměrnějšího uvolňování fytochemikálií do rozpouštědla při opakované přípravě nanočástic za stejných podmínek. Dále může být měněno pH nebo teplota biosyntézy, které mohou mít vliv na velikost a výsledný tvar nanočástic. Pro získání nanočástic o menší velikosti a více homogenní distribuci velikosti částic může být do systému dodatečně dodáno stabilizační činidlo. Tyto optimalizační kroky byly již diskutovány v kapitole 1.1.

3.2.3.1 Návrh mechanismu fyto syntézy nanočástic zlata výluhem listenu lípy

Dále byly stanoveny fytochemikálie v listenu a květu lípy *Tilia* sp. (Tabulka 21), které potvrzují FTIR analýzu a přítomnost některých funkčních skupin.

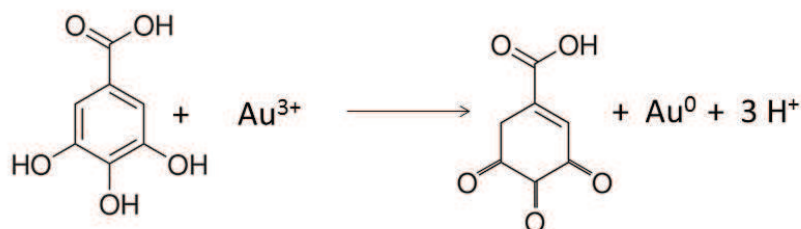
Tabulka 21: Fytochemikálie obsažené v listenu *Tilia* sp.

Fytochemikálie listenu	m/z
Kyselina jantarová	117,018
Kyselina jablečná	133,014
Kyselina protokatechová	153,018
Kyselina p-kumarová	163,041
Kyselina gallová	169,014
Eskuletin	177,035
Kyselina kávová	197,035
Kyselina citrónová	101,010
Kyselina ferulová	193,061
Kyselina gluronová	193,034
Criodictyol	287,053
Katechin	289,070
Quercetin	301,02
Taxifolin	303,049
Gallocatechin	305,063
Esculin	339,071
Chlorogein	353,068
Hyperosid	463,087
Procyamidin A2	575,18
Diosmin	607,166

Bylo experimentálně potvrzeno, že za přítomnosti kyseliny protokatechové, ferulové a kávové byly bioredukovány zlatité ionty na nanočástice [133]. V případě kyseliny protokatechové a kávové byly připraveny nanočástice o velikosti 120 nm, ke kterým bylo třeba dodat stabilizační činidlo, jelikož docházelo k jejich agregaci. Dále byl studován vliv

poměru fenolové kyseliny a prekursoru zlata. Jestliže se poměr mezi fenolovou kyselinou a prekurzorem zvyšuje, dochází k biosyntetizování nanočástic zlata o větší velikosti [133]. Jiná práce se zabývala fytyntézou nanočástic zlata extraktem z citronové šťávy, která obsahuje velké množství kyseliny askorbové a citronové. Tyto kyseliny jsou považovány za hlavní redukční činidla zlatitých iontů [134]. Publikace Wang a kol. uvádí biosyntézu nanočástic zlata za přítomnosti kyseliny gallové. I zde byla potvrzena závislost průměrné velikosti nanočástic a jejich tvaru na poměru mezi fenolovou kyselinou a kyselinou tetrachlorozlatitou. Čím vyšší poměr byl, tím byly syntetizovány větší nanočástice. Všechny koloidní systémy byly polydisperzní, proto byl proveden pokus, kdy bylo do směsi při biosyntéze přidáno stabilizační činidlo polyvinylpyrrolidon [135]. Výsledkem stabilizace byly menší sférické nanočástice s homogenní velikostní distribucí. Jiná práce se zabývala biosyntézou nanočástic zlata katechinem, který slouží nejen jako redukční činidlo ale také jako stabilizátor, který nanočástici obalí a chrání před následnou agregací [49]. Mezi další rostlinné deriváty sloužící jako redukční a stabilizační činidlo patří kvercetin. Práce Dase a kolektivu potvrdily redukční potenciál kvercetinu při biosyntéze nanočástic zlata. Následně byla sledována i stabilita koloidu. Po 30 dnech skladování roztoku v lednici nedošlo k agregaci nanočástic [136]. Redukční účinek kyseliny chlorogenové byl potvrzen ve studii Hwanga a kol., ve které byly připraveny nanočástice zlata o velikosti 22 nm za přítomnosti této kyseliny [137].

Ve vodě rozpustné jsou tyto složky: kyselina jantarová, jablečná, protokatechová, gallová, citrónová a kávová. Na základě literatury se všechny tyto složky mohou podílet na bioredukci zlatitých iontů ve vodném výluhu listů lípy. Katechin a kvercetin, které jsou ve vodě částečně rozpustné, mohou mít na nanočástice zlata stabilizační účinek [11]. Na obrázku 55 je uveden návrh mechanismu fytyntézy nanočástic zlata kyselinou gallovou.



Obrázek 55: Návrh mechanismu fytyntézy nanočástic zlata kyselinou gallovou

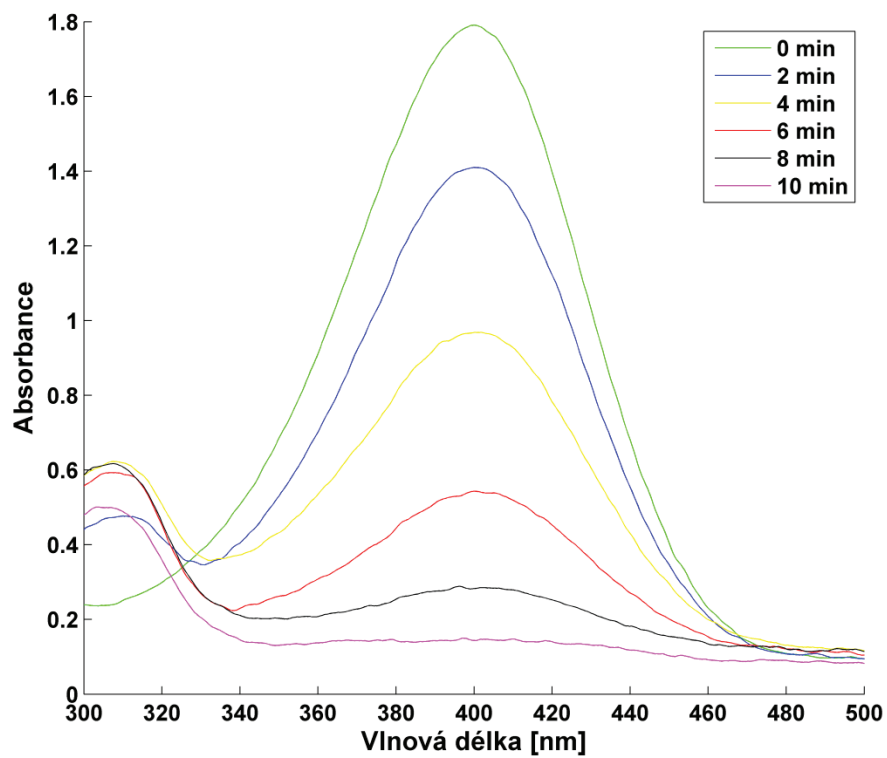
3.3 Odbourávání 4-nitrofenolu

V této experimentální části byla studována katalytická aktivita připravených nanočástic zlata ve vzorku Au/OK a ta byla dále porovnávána s katalytickou aktivitou kontrolního vzorku bez obsahu nanočástic zlata OK.

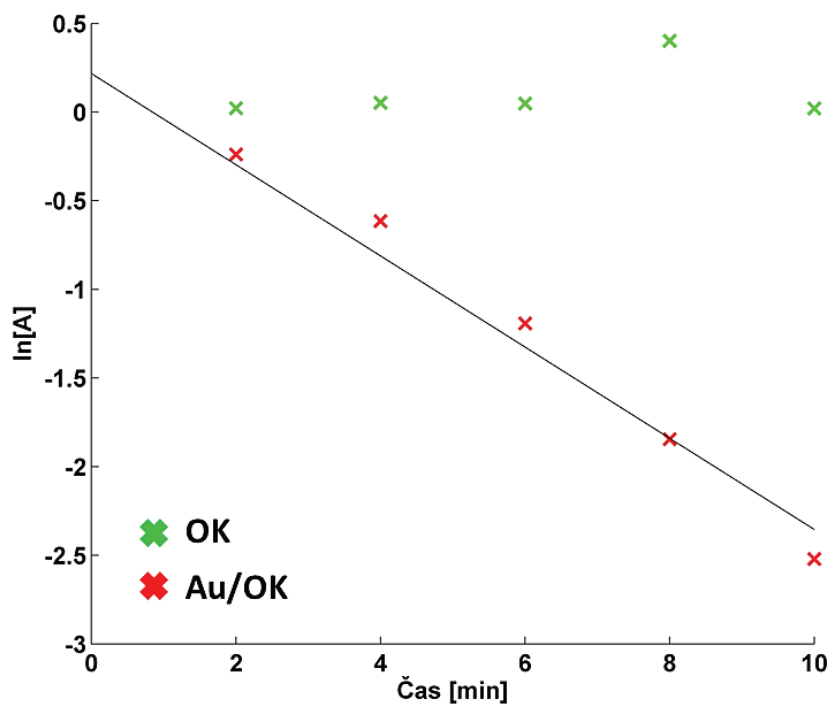
Princip degradace 4-nitrofenolu za přítomnosti nanokatalyzátoru byl popsán v kapitole 1.5. Postup testování katalytické aktivity připravených vzorků byl popsán v kapitole 2.5. Koncentrace použitého redukčního činidla (NaBH_4) výrazně přesahuje koncentraci 4-nitrofenolu. Proto lze předpokládat, že reakční rychlost je nezávislá na koncentraci redukčního činidla. Výsledky z UV-VIS spektroskopie prokázaly katalytický účinek odpadní křemeliny s obsahem nanočástic zlata na degradaci 4-nitrofenolu. Na obrázku 56 jsou znázorněny absorpční spektra 4-nitrofenolátového ionu za přítomnosti Au/OK. Ke konverzi 4-nitrofenolu na 4-aminofenol došlo v průběhu 10 minut za přítomnosti Au/OK.

Pro výpočet rychlostní konstanty reakce byl použit lineární vztah mezi $\ln[A]$ při vlnové délce 400 nm ($\ln[A] = \ln[A_t/A_0] = -k \cdot t$)³ a časem t [min]. Na obrázku 57 je znázorněno proložení hodnot $\ln[A]$ přímkou. Rychlostní konstanta reakce katalyzovaná Au/OK byla vypočtena z rovnice této přímky. Rychlostní konstanta reakce byla $0,2571 \text{ min}^{-1}$.

³ A_t – absorbance v čase t , A_0 – absorbance v čase 0, k – rychlostní konstanta



Obrázek 56: UV-VIS spektra degradace 4-nitrofenolu katalyzované Au/OK



Obrázek 57: Konverze 4-nitrofenolu za přítomnosti vzorků Au/OK

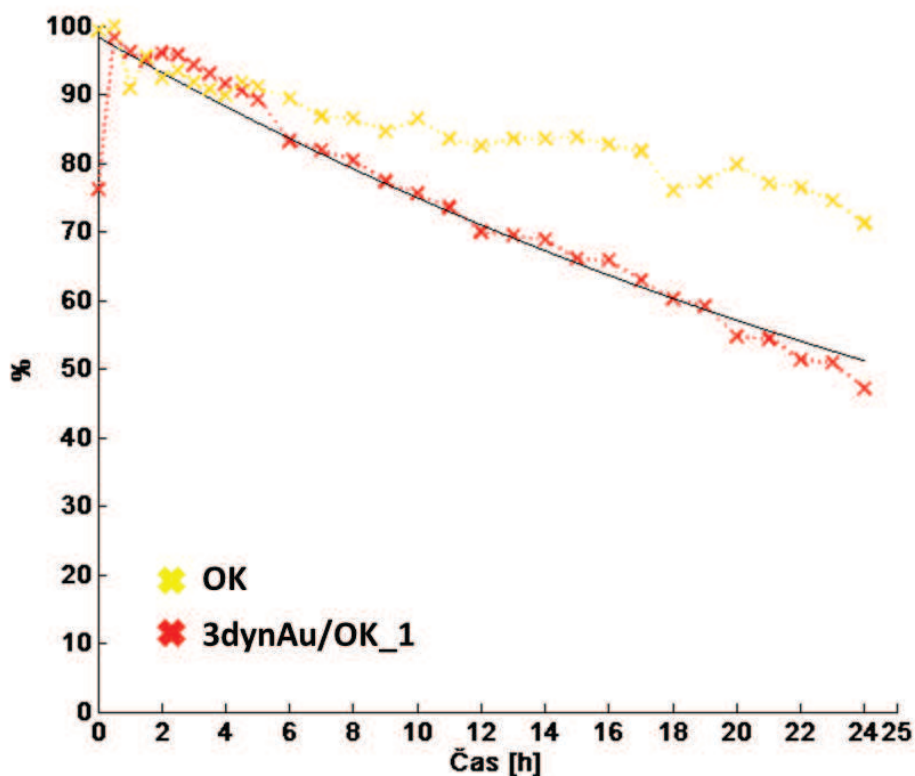
Kontrolní měření s OK jasně prokázala, že křemelina není katalyticky aktivní. Za katalytickou aktivitu ve vzorcích jsou především odpovědné zlaté nanočástice ukotvené na povrchu křemičitých schránek. V porovnání s jinými bionanomateriály a jejich katalytickou aktivitou (kapitola 1.6) má tento nanokompozit řádově podobnou účinnost.

3.4 Hydrolýza somanu za přítomnosti nanočástic zlata

Pro sledování průběhu degradace somanu za přítomnosti materiálů s obsahem nanočástic zlata byla použita plynová chromatografie s hmotnostním detektorem a technikou mikroextrakce na tuhou fázi. Rychlostní konstanty reakce byly vypočteny z rovnice

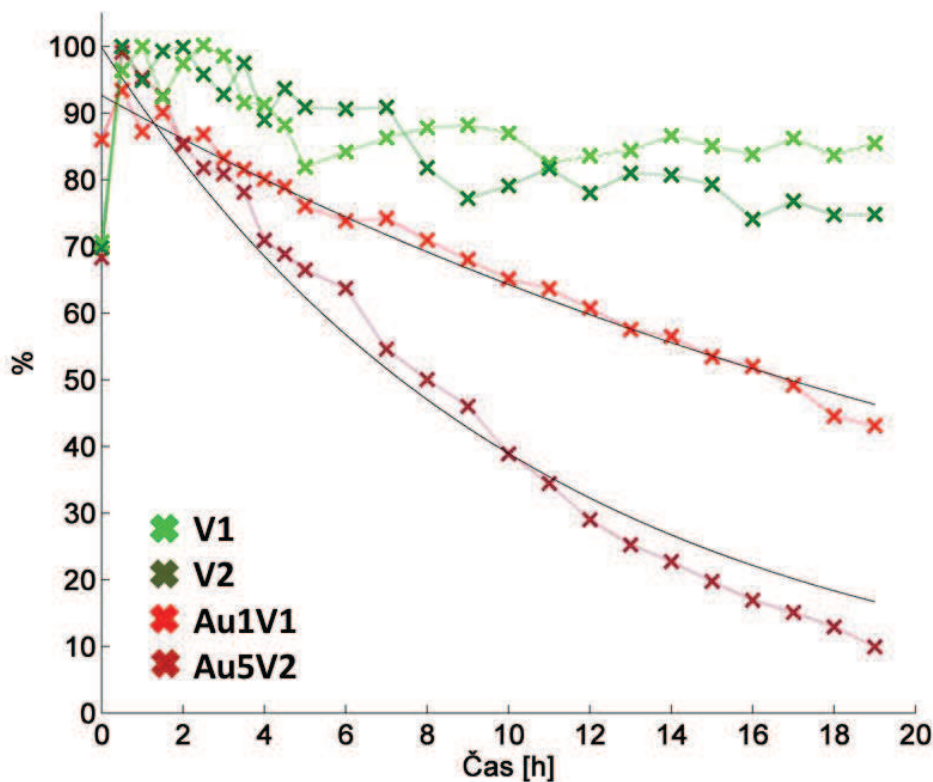
$$c = c_0 \times e^{-kt},$$

kde c a c_0 představují koncentraci somanu (%) v čase t a v počátečním čase 0 a t je reakční čas (h). Hodnoty představující úbytek somanu u katalyticky aktivních vzorků jsou proloženy křivkou. Postup testování katalytické aktivity připravených vzorků byl popsán v kapitole 2.6. Výsledky zjištěné plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí prokázaly degradační účinek nanokompozitu s obsahem nanočástic zlata (vzorek 3dynAu/OK_1). Na obrázku 58 je znázorněna degradace somanu o vstupní koncentraci 341 $\mu\text{g/ml}$ v průběhu 24 hodin a proložení těchto hodnot přímkou. Po 24 hodinovém působení 7 mg nanozlata ukotveného na odpadní křemelině došlo ke snížení obsahu somanu ve vzorku přibližně na 47 %. Rychlostní konstanta reakce činila 0,0272 h^{-1} . Na obrázku 58 je pro porovnání uveden průběh degradace somanu za přítomnosti odpadní křemeliny z filtrace piva, při nichž došlo ke snížení koncentrace somanu přibližně na 70 %.



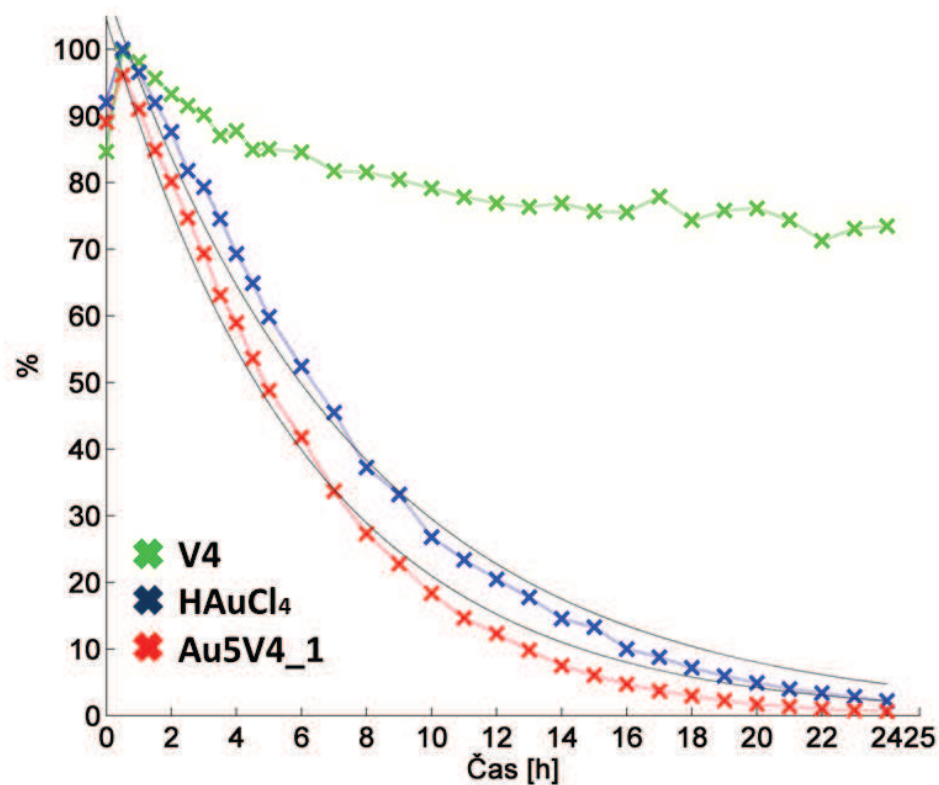
Obrázek 58: Degradace somanu za přítomnosti odpadní křemeliny s obsahem nanočástic zlata (3dynAu/OK_1) a kontrolním vzorkem OK

Vstupní testy prokázaly, že rovněž fyto-syntetizované nanočástice v koloidu jsou při hydrolýze somanu katalyticky aktivní. Na obrázku 59 je znázorněn průběh degradace somanu o vstupní koncentraci 341 $\mu\text{g/ml}$. Po 19 hodinovém působení 0,5 mM nanozlata obsaženém ve vzorku Au1V1 došlo ke snížení obsahu somanu na 43 %. Rychlostní konstanta reakce činila 0,0365 h^{-1} . Na obrázku je také dále uveden průběh degradace somanu ve vzorku s čistým extraktem V1. Dále je zde uveden průběh hydrolýzy somanu katalyzované koloidem o koncentraci 2,5 mM Au (Au5V2). Po 24 hodinovém působení nanočástic zlata došlo ke snížení obsahu somanu z původní hodnoty na 10 %. Rychlostní konstanta reakce byla 0,09417 h^{-1} . Jako u předešlého vzorku i zde byla hydrolýza katalyzována nanočásticemi zlata porovnávána s kontrolním vzorkem, a to s extraktem V2, který neměl na rozklad bojové látky vliv. Z výsledků vyplývá, že rychlost rozkladu nervově paralytické látky závisí na koncentraci katalyzátoru.



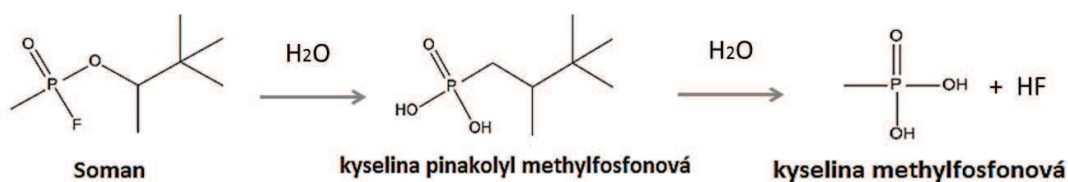
Obrázek 59: Degradace somanu za přítomnosti koloidu Au o koncentraci 0,5 (Au1V1) a 2,5 mM Au (Au5V2) a kontrolních vzorků V1 a V2

Pro další testování byl vybrán vzorek koloidu s vyšší katalytickou aktivitou obsahující vyšší koncentraci nanočástic zlata. Po optimalizačních krocích byl pro další sledování degradace somanu připraven vzorek Au5V4_1 z výluhu listenu o koncentraci nanočástic zlata 2,5 mM. Na obrázku 60 je uveden průběh hydrolýzy somanu katalyzované již s optimalizovaným koloidem Au5V4_1 o koncentraci nanočástic zlata 2,5 mM (v 15 ml koloidu se nachází cca 7 mg Au). Po 24 hodinovém působení nanočástic zlata došlo ke snížení obsahu somanu na 0,62 % z původní hodnoty. Rychlostní konstanta reakce činila $0,1606 \text{ h}^{-1}$. Jako u předešlého experimentu i zde byla hydrolýza katalyzována nanočásticemi zlata porovnána se samotným extraktem z listenu (V4), a navíc nyní s prekurzorem zlata (HAuCl_4) o koncentraci 2,5 mM. Extrakt V4 neměl na odbourávání somanu vliv. Samotný prekurzor degradoval soman v průběhu 24 hodin s rychlostní konstantou reakce $0,1305 \text{ h}^{-1}$. Oproti původní hodnotě klesla koncentrace somanu na 2,23 %.



Obrázek 60: Hydrolýza somanu za přítomnosti koloidu nanočástic zlata Au5V4_1, zlatitého prekursoru H_{Au}Cl₄ a výluhu z lipového listenu V4

Při sledování úbytku somanu pomocí SPME/GC/MS byly na základě hmotnostních spekter ve vzorcích identifikovány látky ethylacetát, pinakolylalkohol a bis(1,2,2-trimethylpropyl)methyl fosfonát. Proto byla po ukončení experimentu provedena extrakce vzorku do vhodného organického rozpouštědla s následnou derivatizací. Po analýze takto upravených vzorků byly na základě hmotnostních spekter identifikovány Si-kyselina pinakolylmethylfosfonová PMPA (vzniklý Si derivát po hydrolýze P-F vazby) a Si-kyselina methyl fosfonová MPA (vzniklý Si derivát po hydrolýze vazeb P-F a P-O) jako produkty degradace. Dominantním produktem dle chromatografického záznamu je Si-PMPA (Tabulka 22). Obecný mechanismus hydrolýzy somanu je uveden na obrázku 61. Soman je nejdříve hydrolyzován na PMPA a následně na netoxický MPA, který je výsledným produktem reakce [138].



Obrázek 61: Schéma hydrolyzy somanu

V tabulce 22 jsou uvedeny stanovené analyty v jednotlivých vzorcích. Pouze u kontrolních vzorků lze analyzovat přítomnost nervově paralytického jedu somanu. V případě vzorků s obsahem nanočástic zlata nebyl soman identifikován. Nachází se zde PMPA a konečný produkt reakce MPA. Nejvyšší koncentrace MPA se vyskytuje u vzorku, který obsahuje nanočástice zlata ukotvené na odpadní křemelině. Nejvyšší koncentrace PMPA se nachází ve vzorku s obsahem nanočástic zlata v koloidu. V případě vzorku obsahující prekurzor zlata v porovnání s výše zmíněnými je koncentrace PMPA a MPA nižší.

Tabulka 22: Stanovené analyty v extraktech vzorků po degradaci somanu

Vzorek	Stanovený analyt (plocha píku)		
	Soman	PMPA-Si	MPA-Si
Std Soman (100 ng)	11 391 354	-----	-----
Std MPA-Si (100 ng)	-----	-----	44 622 216
3dynAu/OK_1	-----	8 594 798	2 767 082
OK	5 309 688	548 086	1 095 594
V4	35 872 335	738 678	745 057
2,5 mM HAuCl₄	-----	1 874 961	134 487
Au5V4_1	-----	23 369 827	501 546

Za hydrolyzu somanu jsou především odpovědné nanočástice zlata vyskytující se v nanokompozitu a v koloidu, které disponují vysokou reakční plochou. Fytosyntetizované nanočástice zlata prokázaly vyšší katalytickou účinnost než nanočástice ukotvené na povrchu odpadní křemeliny z filtrace piva. Při ukotvení může docházet k zakrytí reakční plochy

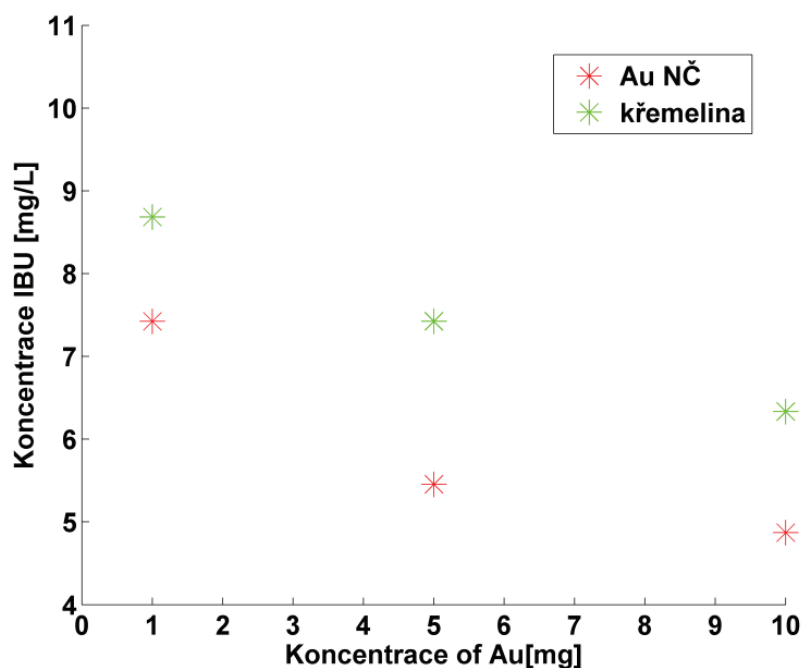
nanočástic zlata a ke snížení počtu aktivních míst pro katalýzu. Na druhou stranu pro reálné využití nanozlata je praktičtější nanočástice kotvit na pevný podklad. Ukotvené nanočástice na substrát mohou sedimentovat a být odebrány ze systému. Také mohou být například magneticky modifikovány [36] a po konkrétním využití mohou být snadno separovány z prostředí. V porovnání s předešlými experimenty, ve kterých byla testována suspenze nanočástic zlata s nanozlatem biosyntetizovaným hnědou řasou *Mallomonas kalinae* [107], nanočástice zlata fytyosyntetizované výluhem z lipového listenu vykazovaly vyšší katalytickou účinnost než suspenze nanočástic zlata. To bylo způsobeno vyšší koncentrací nanočástic zlata. Ovšem ve srovnání s nanomateriály připravenými chemickou a fyzikální cestou uvedenými v tabulce 23, se biosyntetizované nanočástice zlata nejeví jako vhodný materiál pro okamžitou dekontaminaci bojové látky soman.

Tabulka 23: Příklady nanomateriálů testované při degradaci somanu

Nanomateriály	Rychlost degradace	Konverze somanu	Reference
Zr dopované oxidy železa	Rychlostní konstanta $6,3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	98%	[139]
Fe(VI)/(III)	Rychlostní konstanta $7,7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	99%	[140]
Zr(OH)₄	Poločas rozpadu 8,7 min	100%	[141]
Fe (III) – Mn(III, IV) oxid	Doba reakce 64 min	98%	[142]
Ti-Mn oxid	Rychlostní konstanta $7,25 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$	89%	[143]
Au/TiO₂	Doba reakce 30 min	100%	[144]
CeO₂/c-Fe₂O₃	Doba reakce 30 min	100%	[145]

3.5 Odbourávání ibuprofenu za přítomnosti nanomateriálu s nanočásticemi zlata

Na obrázku 62 je znázorněna závislost odbourávání ibuprofenu (10 mg/l) na koncentraci nanočástic ve vzorku dynAu/OK. Po 24 hodinách došlo ke snížení koncentrace farmaceutické látky za přítomnosti 10 mg nanočástic zlata téměř o 50 %.



Obrázek 62: Degradace ibuprofenu (IBU) za přítomnosti OK (příslušná kontrola) a dynAu/OK (koncentrace 1 mg, 5 mg a 10 mg)

V navazujících experimentech byly pro degradaci ibuprofenu o koncentraci 100 $\mu\text{g/l}$ použity navážky odpadní křemeliny obsahující 1 mg Au. Specifická plocha povrchu odpadní křemeliny byla stanovena na 22,95 m^2/g . Po biosyntéze a ukotvení nanočástic na povrchu křemeliny byl povrch vzorku stanoven na 32,04 m^2/g . Při testování za režimu den/noc za 1 hodinu došlo k 52% konverzi ibuprofenu za přítomnosti vzorku 4dynAu/OK_1, po 24 hodin byla účinnost konverze 60%. Za účasti Au koloidu (Au5V4_2) po 1 hodině došlo k 87% konverzi ibuprofenu, po 24 hodinách již nedošlo ke změně koncentrace ibuprofenu. V případě odpadní křemeliny (OK) i kontrolního vzorku výluhu z listenu lípy (V4) bez obsahu nanočástic nebyla pozorována žádná účinnost. V případě testování za tmy účinnost vzorků dosahovala totožných výsledků, proto se lze domnívat, že katalytická aktivita nanočástic zlata není závislá na denním světle a nejedná se o fotokatalyticky aktivní nanomateriály. Vzhledem

k tomu, že pro analýzu koncentrace ibuprofenu ve vzorcích před a po interakci s nanočásticemi zlata byla použita kapalinová chromatografie s DAD detekcí, nebylo možné v této práci stanovit možné degradační produkty ibuprofenu.

Za degradaci ibuprofenu ve vzorcích jsou odpovědné nanočástice zlata ukotvené jak na povrchu odpadní křemeliny z filtrace piva, tak volné ve fyto-syntetizovaném koloidu. V porovnání s prací, uvedenou v podkapitole 1.6.4., která byla zaměřena na fyto-syntézu bimetalických nanočástic Au/Ag za použití výluhu *Momordica charantia*, nanočástice zlata ukotvené na odpadní křemelině i volné ve fyto-syntetizovaném koloidu vykazovaly nižší katalytickou aktivitu. Nanočástice v uvedené v publikaci byly schopny degradovat ibuprofen (počáteční koncentrace 10 mg/l) v průběhu 60 minut. V této práci se potvrdil fotokatalytický účinek bimetalických nanočástic [30]. Při studiu degradace ibuprofenu za přítomnosti biosyntetizovaných Pd a Pt nanočástic a H₂ nebyla katalytická aktivita nanočástic kovů při degradaci ibuprofenu potvrzena [105]. V jiné práci byly pro degradaci ibuprofenu použity biosyntetizované nanočástice železa. Při testech byla pozorována 50 - 65 % konverze ibuprofenu v průběhu 8 dnů [107]. Ve srovnání s nanokompozitem a koloidem nanočástic zlata, použitými v této práci, nanočástice železa prokázaly nižší katalytickou aktivitu.

4 ZÁVĚR

Disertační práce je zaměřena na biosyntézu nanočástic zlata odpadní křemelinou z filtrace piva a rostlinným výluhem z lípového květu *Tilia* sp. Dále se práce zabývá charakterizací připravených nanočástic zlata, optimalizací parametrů biosyntézy, ověřením opakovatelnosti metody a sledováním stability připravených nanomateriálů. V závěru se práce zabývá ověřením funkčnosti nanočástic v reakcích degradace 4-nitrofenolu, ibuprofenu a somanu.

V teoretické části práce je provedena literární rešerše z dostupné literatury zaměřená na biosyntézu nanočástic kovů, na mechanismus bioredukce metalických iontů a na stabilitu biosyntetizovaných nanočástic v čase. Pozornost byla také věnována biosyntetizovaným nanomateriálům, které mohou být v současné době využity jako katalyzátor při degradaci problémových organických látek.

Praktická část je věnována realizaci experimentu biosyntézy nanočástic odpadní křemelinou z filtrace piva a výluhem listenů lípy *Tilia* sp. Byly připraveny dva typy materiálu, a to nanokompozit obsahující nanočástice zlata ukotvené na povrchu křemeliny a koloid zlatých nanočástic fyto-syntetizovaných rostlinným výluhem. Následně byly připravené nanomateriály charakterizovány transmisí elektronovou mikroskopií, skenovací elektronovou mikroskopií, práškovou rentgenovou difrakcí, atomovou emisí spektroskopii a rentgenovou fluorescencí. Byla testována stabilita nanomateriálů a opakovatelnost metody přípravy těchto materiálu. Poté byly nanomateriály testovány pro jejich degradační účinek na 4-nitrofenol, ibuprofen a nervově paralytický jed soman.

Bylo zjištěno, že:

- optimalizovanou biosyntézou nanočástic zlata za použití vysušené odpadní křemeliny z filtrace piva je možné opakovatelně připravit stabilní nanomateriál. Průměrná velikost sférických nanočástic zlata u připravených vzorků se pohybovala od 29 do 31 nm. RTG-difrakcí byla potvrzena přítomnost kristobalitu a krystalických nanočástic zlata. Pomocí metod XRFS a ICP-AES byla potvrzena stejná koncentrace zlata a dalších analytů ve vzorcích. Také bylo prokázáno, že vysušená odpadní křemelina, která byla skladována za laboratorních podmínek po dobu 1 měsíce, si uchovala stejné bioredukční vlastnosti pro syntézu nanočástic zlata.
- Lepší bioredukční vlastnosti pro fyto-syntézu nanočástic zlata má výluh z listenů než výluh z lípových vijanů (květenství). 5x opakovanou fyto-syntézou nanočástic zlata

výluhem z listenů bylo připraveno 5 koloidů podobných fyzikálních a chemických vlastností. Tyto vlastnosti byly potvrzeny transmisí elektronovou mikroskopií, UV-VIS spektrometrií, měřením zeta-potenciálu a pH. Vzorky obsahovaly sférické nanočástice o průměrné velikosti 45-60 nm a polygony o velikosti 180-215 nm. Typické pásy nanočástic zlata vzorků se lišily především svou intenzitou, která se pohybovala od 1,59 do 1,86. Maximum absorpce bylo v rozmezí vlnových délek od 540 do 548 nm. Zeta-potenciál se u všech vzorků výrazně neměnil a pohyboval se v průběhu 5 týdnů od -24 do -18 mV. U všech vzorků se nelišilo pH a v průběhu sledování nabývalo podobných hodnot.

- Katalytické vlastnosti vzorku Au/OK, které obsahovaly biosyntetizované nanočástice zlata, byly potvrzeny ve vybrané modelové reakci, tj. při degradaci 4-nitrofenolu. Rychlostní konstanta reakce v případě Au/OK činila $0,2571 \text{ min}^{-1}$. Samotná odpadní křemelina při této reakci nevykazovala katalytickou aktivitu.
- Křemelina s nanočásticemi zlata a fyto-syntetizovaný koloid nanočástic zlata vykazuje degradační účinky při hydrolýze somanu. Katalyzovaná hydrolýza provedena pouze s odpadní křemelinou a výluhem bez katalyticky aktivní složky nedokázala soman o počáteční koncentraci $341 \text{ } \mu\text{g/ml}$ degradovat. Optimalizované vzorky s obsahem nanočástic zlata degradovaly soman v průběhu 24 hodin. Konečná koncentrace somanu dosahovala 47 % z původní hodnoty za přítomnosti odpadní křemeliny s nanočásticemi zlata a 0,62 % z původní hodnoty za přítomnosti koloidu s nanočásticemi zlata. Jako kontrolní experiment byl pro degradaci somanu použit i prekurzor zlata, který degradoval soman z jeho původní koncentrace na 2,23 %. U vzorků s obsahem nanočástic zlata byla detekována vyšší koncentrace hydrolytických produktů PMMA a netoxického PMA než u vzorku s obsahem prekurzoru zlata.
- Nanočástice zlata ukotvené na odpadní křemelině mají degradační účinky při odbourávání ibuprofenu v průběhu 1 hodiny. Konverze ibuprofenu za přítomnosti nanočástic činila 52 %. Z provedených testů nebyl prokázán fotokatalytický účinek nanočástic zlata ani katalytický účinek čisté odpadní křemeliny. Degradační účinek byl také potvrzen u fyto-syntetizovaných nanočástic zlata. V tomto případě konverze ibuprofenu činila 87 %. Ani zde nebyl potvrzen

fotokatalytický účinek nanočástic. Degradace ibuprofenu za účasti odpadní křemeliny a výluhu z listenu lípy nebyla pozorována.

Ze získaných výsledků rovněž vyplývá, že pro biosyntézu nanočástic zlata je vhodnějším bioredukčním materiálem sušená odpadní křemelina z filtrace piva ve srovnání s rostlinným výluhem z lípového květu *Tilia* sp. Byla potvrzena lepší opakovatelnost metody přípravy a stabilita odpadní křemeliny a nanočástic zlata ukotvených na jejím povrchu. U nanokompozitu byla pozorována užší distribuce velikosti převážně sférických nanočástic než v případě nanočástic fyto-syntetizovaného koloidu. Navíc nanočástice kotvené na podklad mohou snadněji sedimentovat a po konkrétní aplikaci mohou být snadno odebrány z prostředí. Dále je v této práci potvrzeno uplatnění odpadního materiálu jako bioredukčního činidla pro přípravu funkčního nanomateriálu. Avšak z hlediska katalytických vlastností, volné nanočástice zlata obsažené v koloidu vykazovaly vyšší katalytickou aktivitu než v případě nanočástic ukotvených na povrchu nanokompozitu.

Vzhledem k získaným výsledkům je zřejmé, že je vždy potřeba vyhodnotit vhodné použití katalyticky aktivních biosyntetizovaných nanomateriálů pro danou aplikaci. Z výsledků vyplynulo, že připravené nanomateriály nejsou vhodné pro okamžitou dekontaminaci nervového jedu somanu. Avšak v případě odbourávání 4-nitrofenolu a farmaceutické látky ibuprofenu se ukázalo, že by tyto materiály mohly najít své uplatnění.

Tato práce nastiňuje možnou, poměrně levnou cestu vývoje katalyticky aktivních nanomateriálů, kdy pro jejich přípravu lze využít odpadní materiál – odpadní křemelinu z filtrace piva a rostlinný výluh z listenu lípy. Biosyntézou mohou být připraveny nanomateriály, které jsou syntetizovány, stabilizovány a v některých případech kotveny na matici v jednom kroku. Jedná se o environmentálně a ekonomicky přijatelný bionanotechnologický postup, ve kterém se mohou uplatňovat a být aplikovány bioodpadní a snadno dostupné biologické materiály.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Nanomateriály. *Usnesení Evropského parlamentu ze dne 24. dubna 2009 o regulačních aspektech nanomateriálů (2008/2208(INI))* Evropský [online]. 2009, **2208**, 20. Dostupné z: doi:P6_TA(2009)0328 Nanomateriály
- [2] TALHAM, Daniel R. *Biom mineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry* Stephen Mann. Oxford University Press, New York, 2001. *Crystal Growth & Design* [online]. 2002, **2**(6), 675. Dostupné z: doi:10.1021/cg020033l
- [3] POULSEN, Nicole, Manfred SUMPER a Nils KRÖGER. Biosilica formation in diatoms: Characterization of native silaffin-2 and its role in silica morphogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2003, **100**(21), 12075–12080. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.2035131100
- [4] FALINI, Giuseppe, Simona FERMANI a Stefano GOFFREDO. Coral biomineralization: A focus on intra-skeletal organic matrix and calcification. *Seminars in Cell & Developmental Biology* [online]. 2015, **46**, 17–26. ISSN 1084-9521. Dostupné z: doi:http://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.09.005
- [5] NEETHIRAJAN, Suresh, Richard GORDON a Lijun WANG. Potential of silica bodies (phytoliths) for nanotechnology. *Trends in Biotechnology* [online]. 2009, **27**(8), 461–467. ISSN 0167-7799. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.05.002
- [6] YAN, Lei, Shuang ZHANG, Peng CHEN, Hetao LIU, Huanhuan YIN a Hongyu LI. Magnetotactic bacteria, magnetosomes and their application. *Microbiological Research* [online]. 2012, **167**(9), 507–519. ISSN 0944-5013. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2012.04.002
- [7] PRABHAKARAN, Pranesha, Muhammad Aqeel ASHRAF a Wan Syaidatul AQMA. Microbial stress response to heavy metals in the environment. *RSC Adv.* [online]. 2016, **6**(111), 109862–109877. Dostupné z: doi:10.1039/C6RA10966G
- [8] SATYAJYOTI SENAPATI, ASAD SYED, SHADAB KHAN, Absar Ahmad. Extracellular Biosynthesis of Metal Sulfide Nanoparticles Using the Fungus *Fusarium oxysporum*. *Current Nanoscience* [online]. 2014, **10**(4), 588–595. Dostupné z: doi:10.2174/1573413710666140303235325
- [9] SHARMA, Deepali, Suvardhan KANCHI a Krishna BISETTY. Biogenic synthesis of

- nanoparticles: A review. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2015. ISSN 1878-5352. Dostupné z: doi:http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.002
- [10] KONVICKOVA, Zuzana, Veronika HOLISOVA, Marek KOLENCIK, Tepei NIIDE a Gabriela KRATOSOVA. Phytosynthesis of colloidal Ag-AgCl nanoparticles mediated by *Tilia sp.* leachate, evaluation of their behaviour in liquid phase and catalytic properties. 2018.
- [11] KRISHNASWAMY, Kiruba, Hojatollah VALI a Valérie ORSAT. Value-adding to grape waste: Green synthesis of gold nanoparticles. *Journal of Food Engineering* [online]. 2014, **142**, 210–220. ISSN 0260-8774. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.014
- [12] AHMED, Shakeel, ANNU, Saiqa IKRAM a Salprima Yudha S. Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. 2016, **161**, 141–153. ISSN 1011-1344. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.034
- [13] PLESSER, Hans E. Reproducibility vs. Replicability: A Brief History of a Confused Terminology. *Frontiers in Neuroinformatics* [online]. 2018, **11**(January), 1–4. ISSN 1662-5196. Dostupné z: doi:10.3389/fninf.2017.00076
- [14] KITCHING, Michael, Meghana RAMANI a Enrico MARSILI. Fungal biosynthesis of gold nanoparticles: Mechanism and scale up. *Microbial Biotechnology* [online]. 2015, **8**(6), 904–917. ISSN 17517915. Dostupné z: doi:10.1111/1751-7915.12151
- [15] SINGH, Priyanka, Yu-Jin KIM, Dabing ZHANG a Deok-Chun YANG. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends in Biotechnology* [online]. 2016, **34**(7), 588–599. ISSN 0167-7799. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006
- [16] OMAJALI, Jacob B, Iryna P MIKHEENKO, Mohamed L MERROUN, Joseph WOOD a Lynne E MACASKIE. *Characterization of intracellular palladium nanoparticles synthesized by Desulfovibrio desulfuricans and Bacillus benzeovorans* [online]. 2015. ISSN 1388-0764 (Print). Dostupné z: doi:10.1007/s11051-015-3067-5
- [17] SRIVASTAVA, Sarvesh Kumar, Ryosuke YAMADA, Chiaki OGINO a Akihiko KONDO. Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by *Escherichia*

- coli K12 and its heterogeneous catalysis in degradation of 4-nitrophenol. *Nanoscale Research Letters* [online]. 2013, **8**(1), 70. ISSN 1556-276X. Dostupné z: doi:10.1186/1556-276X-8-70
- [18] NADAF, Nilofar Yakub a Shivangi Shivraj KANASE. Biosynthesis of gold nanoparticles by *Bacillus marisflavi* and its potential in catalytic dye degradation. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2016. ISSN 1878-5352. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.020
- [19] GOWRAMMA, B, U KEERTHI, Mokula RAFI a D MURALIDHARA RAO. *Biogenic silver nanoparticles production and characterization from native strain of Corynebacterium species and its antimicrobial activity* [online]. duben 2015. ISSN 2190-572X (Print). Dostupné z: doi:10.1007/s13205-014-0210-4
- [20] SINGARAVELU, G, J S AROCKIAMARY, V Ganesh KUMAR a K GOVINDARAJU. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2007, **57**(1), 97–101. ISSN 0927-7765. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.01.010
- [21] SCHRÖFEL, Adam, Gabriela KRATOŠOVÁ, Markéta BOHUNICKÁ, Edmund DOBROČKA a Ivo VÁVRA. Biosynthesis of gold nanoparticles using diatoms---silica-gold and EPS-gold bionanocomposite formation. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. 2011, **13**(8), 3207–3216. ISSN 1572-896X. Dostupné z: doi:10.1007/s11051-011-0221-6
- [22] KRATOŠOVÁ, G., VÁVRA, I., HORSKÁ, K., ŽIVOTSKÝ, O., NĚMCOVÁ, Y., BOHUNICKÁ, M., SLABOTINSKÝ, J., ROSENBERGOVÁ, K., KADILAK, A., SCHRÖFE, A. Synthesis of metallic nanoparticles by diatoms and chrysophytes - prospects and applications. In: C. RAI, M., POSTEN, ed. *Enter keyword or phrase Search within topic Filter by type Advanced Bibliographic Search CABI Book Chapter Green biosynthesis of nanoparticles: mechanisms and applications* [online]. B.m.: Wallingford: CABI, 2013, s. 61. ISBN 9781780642239. Dostupné z: doi:10.1079/9781780642239.0000
- [23] MAHDIEH, M, A ZOLANVARI, A S AZIMEE a M MAHDIEH. Green biosynthesis of silver nanoparticles by *Spirulina platensis*. *Scientia Iranica* [online]. 2012, **19**(3),

z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.scient.2012.01.010>

- [24] NARAYANAN, K B a N SAKTHIVEL. Synthesis and characterization of nano-gold composite using *Cylindrocladium floridanum* and its heterogeneous catalysis in the degradation of 4-nitrophenol. *J Hazard Mater* [online]. 2011, **189**. Dostupné z: doi:[10.1016/j.jhazmat.2011.02.069](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.02.069)
- [25] AGNIHOTRI, Mithila, Swanand JOSHI, Ameeta Ravi KUMAR, Smita ZINJARDE a Sulabha KULKARNI. Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Materials Letters* [online]. 2009, **63**(15), 1231–1234. ISSN 0167-577X. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2009.02.042>
- [26] KORBEKANDI, Hassan, Soudabeh MOHSENI, Rasoul Mardani JOUNEGHANI, Meraj POURHOSSEIN a Siavash IRAVANI. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* [online]. 2016, **44**(1), 235–239. Dostupné z: doi:[10.3109/21691401.2014.937870](https://doi.org/10.3109/21691401.2014.937870)
- [27] KORA, Aruna Jyothi a Lori RASTOGI. Green synthesis of palladium nanoparticles using gum ghatti (*Anogeissus latifolia*) and its application as an antioxidant and catalyst. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2015. ISSN 1878-5352. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.024>
- [28] ZAYED, Mervat F a Wael H EISA. Phoenix dactylifera L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; controlled synthesis and catalytic activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2014, **121**, 238–244. ISSN 1386-1425. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.10.092>
- [29] BONNIA, N N, M S KAMARUDDIN, M H NAWAWI, S RATIM, H N AZLINA a E S ALI. Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using ‘*Polygonum Hydropiper*’ and Study its Catalytic Degradation of Methylene Blue. *Procedia Chemistry* [online]. 2016, **19**, 594–602. ISSN 1876-6196. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2016.03.058>
- [30] DEVI, Th. Babita a M AHMARUZZAMAN. Bio-inspired facile and green fabrication of Au@Ag@AgCl core–double shells nanoparticles and their potential applications for

- elimination of toxic emerging pollutants: A green and efficient approach for wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2017, **317**, 726–741. ISSN 1385-8947. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.082>
- [31] LAKSHMIPATHY, R, B PALAKSHI REDDY, N C SARADA, K CHIDAMBARAM a Sk. KHADEER PASHA. Watermelon rind-mediated green synthesis of noble palladium nanoparticles: catalytic application. *Applied Nanoscience* [online]. 2015, **5**(2), 223–228. ISSN 2190-5517. Dostupné z: doi:[10.1007/s13204-014-0309-2](https://doi.org/10.1007/s13204-014-0309-2)
- [32] YANG, Ning, Li WEIHONG a Lin HAO. Biosynthesis of Au nanoparticles using agricultural waste mango peel extract and its in vitro cytotoxic effect on two normal cells. *Materials Letters* [online]. 2014, **134**, 67–70. ISSN 0167-577X. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.07.025>
- [33] CASTRO, Laura, M Luisa BLÁZQUEZ, Felisa GONZÁLEZ, Jesús A MUÑOZ a Antonio BALLESTER. Extracellular biosynthesis of gold nanoparticles using sugar beet pulp. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2010, **164**(1), 92–97. ISSN 1385-8947. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2010.08.034>
- [34] KRATOŠOVÁ, Gabriela, Veronika HOLIŠOVÁ, Zuzana KONVIČKOVÁ, Avinash P INGLE, Swapnil GAIKWAD, Kateřina ŠKRLOVÁ, Aleš PROKOP, Mahendra RAI a Daniela PLACHÁ. From biotechnology principles to functional and low-cost metallic bionanocatalysts. *Biotechnology Advances* [online]. 2019, **37**(1), 154–176. ISSN 0734-9750. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.012>
- [35] • VERONIKA HOLIŠOVÁ, ZUZANA KONVIČKOVÁ, GABRIELA KRATOŠOVÁ, MAREK KOLENČÍK, TEPPEI NIIDE, MITSUO UMETSU, Daniela Plachá. Phytosynthesis of Au and bi-phasic system of Au/ZrO₂ nanoparticles and the evaluation their colloidal stability. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2018.
- [36] HOLIŠOVÁ, Veronika, Marta NATŠINOVÁ, Gabriela KRATOŠOVÁ, Žaneta CHROMČÁKOVÁ, Adam SCHRÖFEL, Ivo VÁVRA, Ondřej ŽIVOTSKÝ, Ivo ŠAFAŘÍK a Lucie OBALOVÁ. Magnetically modified nanogold-biosilica composite as an effective catalyst for CO oxidation. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2018. ISSN 18785352. Dostupné z: doi:[10.1016/j.arabjc.2018.12.002](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.12.002)
- [37] SHANKAR, P Dheeban, Sutha SHOBANA, Indira KARUPPUSAMY, Arivalagan

- PUGAZHENDHI, Vijayan Sri RAMKUMAR, Sundaram ARVINDNARAYAN a Gopalakrishnan KUMAR. A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: Formation mechanism and applications. *Enzyme and Microbial Technology* [online]. 2016, **95**, 28–44. ISSN 0141-0229. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.10.015
- [38] BAXTER-PLANT, V S, I P MIKHEENKO, M ROBSON, S J HARRAD a L E MACASKIE. Dehalogenation of chlorinated aromatic compounds using a hybrid bioinorganic catalyst on cells of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biotechnology Letters* [online]. 2004, **26**(24), 1885–1890. ISSN 1573-6776. Dostupné z: doi:10.1007/s10529-004-6039-x
- [39] VELUSAMY, Palaniyandi, Govindarajan Venkat KUMAR, Venkadapathi JEYANTHI, Jayabrata DAS a Raman PACHAIAPPAN. *Bio-Inspired Green Nanoparticles: Synthesis, Mechanism, and Antibacterial Application* [online]. duben 2016. ISSN 1976-8257 (Print). Dostupné z: doi:10.5487/TR.2016.32.2.095
- [40] NARAYANAN, K B a N SAKTHIVEL. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Adv Colloid Interface Sci* [online]. 2010, **156**. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2010.02.001
- [41] ROUGE, Jessica L, Bruce E EATON a Daniel L FELDHEIM. Biomolecules in the synthesis and assembly of materials for energy applications. *Energy Environ. Sci.* [online]. 2011, **4**(2), 398–402. Dostupné z: doi:10.1039/C0EE00400F
- [42] LUO, Cheng Hung, Vijayakumar SHANMUGAM a Chen Sheng YEH. Nanoparticle biosynthesis using unicellular and subcellular supports. *NPG Asia Materials* [online]. 2015, **7**(8), e209-11. ISSN 18844057. Dostupné z: doi:10.1038/am.2015.90
- [43] SEN, Ipsita K., Kousik MAITY a Syed S. ISLAM. Green synthesis of gold nanoparticles using a glucan of an edible mushroom and study of catalytic activity. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2013, **91**(2), 518–528. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2012.08.058
- [44] SEN, Ipsita Kumar, Amit Kumar MANDAL, Soumyananda CHAKRABORTI, Biswajit DEY, Ranadhir CHAKRABORTY a Syed Sirajul ISLAM. Green synthesis of silver nanoparticles using glucan from mushroom and study of antibacterial activity.

- International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2013, **62**, 439–449. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.09.019
- [45] XIE, Jianping, Jim Yang LEE, Daniel I.C. WANG a Yen Peng TING. Identification of active biomolecules in the high-yield synthesis of single-crystalline gold nanoplates in algal solutions. *Small* [online]. 2007, **3**(4), 672–682. ISSN 16136810. Dostupné z: doi:10.1002/sml.200600612
- [46] VENKATPURWAR, Vinod P a Varsha B POKHARKAR. Biosynthesis of gold nanoparticles using therapeutic enzyme: in-vitro and in-vivo efficacy study. *Journal of biomedical nanotechnology*. 2010, **6**(6), 667–674. ISSN 1550-7033 (Print).
- [47] BAYMILLER, Maxwell, Frank HUANG a Snezna ROGELJ. Rapid one-step synthesis of gold nanoparticles using the ubiquitous coenzyme NADH. *Matters* [online]. 2017, **3**(7), e201705000007. ISSN 2297-8240. Dostupné z: doi:10.19185/matters.201705000007
- [48] FILIPPO, Emanuela, Antonio SERRA, Alessandro BUCCOLIERI a Daniela MANNO. Green synthesis of silver nanoparticles with sucrose and maltose: Morphological and structural characterization. *Journal of Non-Crystalline Solids* [online]. 2010, **356**(6), 344–350. ISSN 0022-3093. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2009.11.021
- [49] CHOI, Yoonho, Myung-Jin CHOI, Song-Hyun CHA a ET.AL. Catechin-capped gold nanoparticles: green synthesis, characterization, and catalytic activity toward 4-nitrophenol reduction. *Nanoscale Research Letters* [online]. 2014, **9**(1), 103. ISSN 1556-276X. Dostupné z: doi:10.1186/1556-276X-9-103
- [50] AHMAD, Naheed, Seema SHARMA, Md K. ALAM, V. N. SINGH, S. F. SHAMSI, B. R. MEHTA a Anjum FATMA. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2010, **81**(1), 81–86. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2010.06.029
- [51] MAKAROV, V V, A J LOVE, O V SINITSYNA, S S MAKAROVA, I V YAMINSKY, M E TALIANSKY a N O KALININA. “Green” Nanotechnologies: *Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants*. 2014. ISSN 2075-8251 (Print)
- [52] DAUTHAL, Preeti a Mausumi MUKHOPADHYAY. Biosynthesis of Palladium

- Nanoparticles Using *Delonix regia* Leaf Extract and Its Catalytic Activity for Nitroaromatics Hydrogenation. *Industrial & Engineering Chemistry Research* [online]. 2013, **52**(51), 18131–18139. Dostupné z: doi:10.1021/ie403410z
- [53] BOGIREDDY, Naveen Kumar Reddy, Kiran Kumar Hoskote ANAND a Badal Kumar MANDAL. Gold nanoparticles — Synthesis by *Sterculia acuminata* extract and its catalytic efficiency in alleviating different organic dyes. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2015, **211**, 868–875. ISSN 0167-7322. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2015.07.027
- [54] SILVA, Bruno A., Federico FERRERES, João O. MALVA a Alberto C.P. DIAS. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry* [online]. 2005, **90**(1–2), 157–167. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2004.03.049
- [55] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. 2007, 52.
- [56] BHATTACHARJEE, Sourav. {DLS} and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release* [online]. 2016, **235**, 337–351. ISSN 0168-3659. Dostupné z: doi:http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017
- [57] POLTE, Jorg. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles - a new perspective. *CrystEngComm* [online]. 2015, **17**(36), 6809–6830. Dostupné z: doi:10.1039/C5CE01014D
- [58] KUPPUSAMY, Palaniselvam, Mashitah M. YUSOFF, Gaanty Pragas MANIAM a Natanamurugaraj GOVINDAN. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal* [online]. 2016, **24**(4), 473–484. ISSN 13190164. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsps.2014.11.013
- [59] ABDELRAHIM, Khalid, Sabry Younis MAHMOUD, Ahmed Mohamed ALI, Khalid Salmeen ALMAARY, Abd El-Zaher M A MUSTAFA a Sherif Moussa HUSSEINY. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. *Saudi Journal of Biological Sciences* [online]. 2017, **24**(1), 208–216. ISSN 1319-562X. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.025
- [60] WU, Chien-Chen a Dong-Hwang CHEN. Facile green synthesis of gold nanoparticles

- with gum arabic as a stabilizing agent and reducing agent. *Gold Bulletin* [online]. 2010, **43**(4), 234–240. ISSN 2190-7579. Dostupné z: doi:10.1007/BF03214993
- [61] IRFAN, Muhammad, Tausif AHMAD, Muhammad MONIRUZZAMAN, Sekhar BHATTACHARJEE a Bawadi ABDULLAH. Size and stability modulation of ionic liquid functionalized gold nanoparticles synthesized using *Elaeis guineensis* (oil palm) kernel extract. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2017. ISSN 1878-5352. Dostupné z: doi:http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.02.001
- [62] XU, Huiyuan, Wei CHU, Jingjie LUO a Ming LIU. New Au/FeO_x/SiO₂ catalysts using deposition-precipitation for low-temperature carbon monoxide oxidation. *Catalysis Communications* [online]. 2010, **11**(9), 812–815. ISSN 15667367. Dostupné z: doi:10.1016/j.catcom.2010.02.023
- [63] SARINA, Huaiyong Sarina, Waclawik ERIC R a ZHU. Photocatalysis on supported gold and silver nanoparticles under ul- traviolet and visible light irradiation. *Green Chemistry* [online]. 2013, **15**(7), 1814–1833. Dostupné z: doi:10.1039/C3GC40450A
- [64] AMENDOLA, Vincenzo a Moreno MENEGHETTI. Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* [online]. 2009, **11**(20), 3805–3821. ISSN 14639076. Dostupné z: doi:10.1039/b900654k
- [65] SANKHLA, Aryan, Rajeshwar SHARMA, Raghvendra Singh YADAV, Diwakar KASHYAP, S. L. KOTHARI a S. KACHHWAHA. Biosynthesis and characterization of cadmium sulfide nanoparticles - An emphasis of zeta potential behavior due to capping. *Materials Chemistry and Physics* [online]. 2016, **170**(January 2016), 44–51. ISSN 02540584. Dostupné z: doi:10.1016/j.matchemphys.2015.12.017
- [66] PHANJOM, Probin, Giasuddin AHMED, B.V.a BHIMBA, S.a b GURUNG a S.U.a NANDHINI. Marine fungus (*Aspergillus oryzae*) mediated biosynthesis of silver nanoparticles. *International Journal of ChemTech Research* [online]. 2015, **5**(1), 68–72. Dostupné z: doi:10.5923/j.nn.20150501.03
- [67] HEYDARI, Rouhollah a Marzieh RASHIDIPOUR. Green synthesis of silver nanoparticles using extract of oak Fruit hull (Jaft): Synthesis and in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *International Journal of Breast Cancer* [online]. 2015, **2015**.

- [68] KARABÍN, Marcel, Lukáš JELÍNEK, Pavel KOTRBA, Rudolf CEJNAR a Pavel DOSTÁLEK. Enhancing the performance of brewing yeasts. *Biotechnology Advances* [online]. 2018, (November 2017). ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2017.12.014
- [69] ANTONIDES, Lloyd E. Diatomite. *Minerals Information* [online]. 1997. Dostupné z: <https://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/diatomite/250498.pdf>
- [70] THOMAS P. DOLLEY, Phillip R. Moyle. With or Without Salt—a Comparison of Marine and Continental-Lacustrine Diatomite Deposits. *Contributions to Industrial-Minerals Research* [online]. 2003. Dostupné z: <https://pubs.usgs.gov/bul/b2209-d/b2209d.pdf>
- [71] FILLAUDEAU, L. BOISSIER, B. MOREAU, A. BLANPAIN-AVET, P. Investigation of rotating and vibrating filtration for clarification of rough beer. *Journal of Food Engineering* [online]. 2007, **80**(1), 206–217. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.05.022. ISSN 02608774
- [72] LUDMILA ŠILHÁNKOVÁ. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 2008. ISBN 978-80-200-1703-1.
- [73] PARKINSON, John a Richard GORDON. Beyond micromachining: the potential of diatoms. *Trends in Biotechnology* [online]. 1999, **17**(5), 190–196. ISSN 0167-7799. Dostupné z: doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799\(99\)01321-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799(99)01321-9)
- [74] HIEKE, Karel. *Praktická dendrologie 2*. B.m.: SZN - Státní zemědělské nakladatelství, 1978. ISBN 07-105-78.
- [75] S. HEJNÝ, B. Slavík. *Květena České republiky*. 3. vyd. Praha: Academic Press, 1992. ISBN 80-200-0384-3.
- [76] CITTAN, Mustafa, Esra ALTUNTAŞ a Ali ÇELIK. Evaluation of antioxidant capacities and phenolic profiles in *Tilia cordata* fruit extracts: A comparative study to determine the efficiency of traditional hot water infusion method. *Industrial Crops and Products* [online]. 2018, **122**(June), 553–558. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.044
- [77] FOUDA, A S, A S ABOUSALEM a G Y EL-EWADY. Mitigation of corrosion of

- carbon steel in acidic solutions using an aqueous extract of *Tilia cordata* as green corrosion inhibitor. *International Journal of Industrial Chemistry* [online]. 2017, **8**(1), 61–73. ISSN 2228-5547. Dostupné z: doi:10.1007/s40090-016-0102-z
- [78] BARREIRO ARCOS, Maria Laura, Graciela CREMASCHI, Silvia WERNER, Jorge COUSSIO, Graciela FERRARO a Claudia ANESINI. *Tilia cordata* Mill. Extracts and scopoletin (isolated compound): differential cell growth effects on lymphocytes. *Phytotherapy research : PTR* [online]. 2006, **20**(1), 34–40. ISSN 0951-418X (Print). Dostupné z: doi:10.1002/ptr.1798
- [79] ONISZCZUK, Anna a Rafał PODGÓRSKI. Influence of different extraction methods on the quantification of selected flavonoids and phenolic acids from *Tilia cordata* inflorescence. *Industrial Crops and Products* [online]. 2015, **76**, 509–514. ISSN 0926-6690. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.003
- [80] MADHAVAN, Aravind, Raveendran SINDHU, Parameswaran BINOD, Rajeev K. SUKUMARAN a Ashok PANDEY. Strategies for design of improved biocatalysts for industrial applications. *Bioresource Technology* [online]. 2017, **245**, 1304–1313. ISSN 18732976. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2017.05.031
- [81] JURAJ LEŽKO, JAN TRŽIL, Jaroslav Ullrych. *Obecná chemie*. 2011. ISBN 978-80-248-2397-3.
- [82] WANG, Jiaqing a Hongwei GU. Novel Metal Nanomaterials and Their Catalytic Applications. *Molecules* [online]. 2015, **20**(9), 17070–17092. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules200917070
- [83] TAMULY, Chandan, Moushumi HAZARIKA a Manobjyoti BORDOLOI. Biosynthesis of Au nanoparticles by *Gymnocladus assamicus* and its catalytic activity. *Materials Letters* [online]. 2013, **108**, 276–279. ISSN 0167-577X. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2013.07.020
- [84] AJITHA, B, Y Ashok Kumar REDDY, P Sreedhara REDDY, Y SUNEETHA, Hwan-Jin JEON a Chi Won AHN. Instant biosynthesis of silver nanoparticles using *Lawsonia inermis* leaf extract: Innate catalytic, antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2016, **219**, 474–481. ISSN 0167-7322. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2016.03.041

- [85] GUIBBIERS, Grégory, Gulmira ABUDUKELIMU a Djamila HOURLIER. *Size-dependent catalytic and melting properties of platinum-palladium nanoparticles* [online]. 2011. ISSN 1931-7573 (Print). Dostupné z: doi:10.1186/1556-276X-6-396
- [86] CUENYA, Beatriz Roldan. Synthesis and catalytic properties of metal nanoparticles: Size, shape, support, composition, and oxidation state effects. *Thin Solid Films* [online]. 2010, **518**(12), 3127–3150. ISSN 0040-6090. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.01.018
- [87] DE OLIVEIRA, Francielle, Lucas NASCIMENTO, Claudia CALADO, Mario MENEGHETTI a Monique DA SILVA. Aqueous-Phase Catalytic Chemical Reduction of p-Nitrophenol Employing Soluble Gold Nanoparticles with Different Shapes. *Catalysts* [online]. 2016, **6**(12), 215. ISSN 2073-4344. Dostupné z: doi:10.3390/catal6120215
- [88] SCHRÖFEL, Adam, Gabriela KRATOŠOVÁ, Ivo ŠAFARÍK, Mirka ŠAFARÍKOVÁ, Ivan RAŠKA a Leslie M SHOR. Applications of biosynthesized metallic nanoparticles – A review. *Acta Biomaterialia* [online]. 2014, **10**(10), 4023–4042. ISSN 1742-7061. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.022
- [89] AMENDOLA, V., R. PILOT, M. FRASCONI, Onofrio M. MARAGÒ a Antonella M. IATÌ. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: A review. *Journal of Physics: Condensed Matter* [online]. 2017, **29**(20), 203002. ISSN 1361648X. Dostupné z: doi:10.1088/1361-648X/aa60f3
- [90] A AKHTAR HUSSAIN. *A computational study of catalysis by gold in applications of CO oxidation* [online]. B.m., 2010. Technische Universiteit Eindhoven. Dostupné z: http://www.narcis.nl/publication/RecordID/oai%3Alibrary.tue.nl%3A685817
- [91] GABRIELA KRATOŠOVÁ, MARTA NATŠINOVÁ, VERONIKA HOLIŠOVÁ, LUCIE OBALOVÁ, ŽANETA CHROMČÁKOVÁ, Ivo Vávra. Transmission Electron Microscopy Observation of Bionanogold Used for Preliminary N₂O Decomposition Testing. *Advanced Science Letters* [online]. 2016, **22**(3), 631–636. Dostupné z: doi:doi:10.1166/asl.2016.6992
- [92] DEPLANCHE, K, J A BENNETT, I P MIKHEENKO, J OMAJALI, A S WELLS, R E MEADOWS, J WOOD a L E MACASKIE. Catalytic activity of biomass-supported Pd

- nanoparticles: Influence of the biological component in catalytic efficacy and potential application in ‘green’ synthesis of fine chemicals and pharmaceuticals. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2014, **147**, 651–665. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.apcatb.2013.09.045
- [93] PANDEY, Sadanand a Shivani B MISHRA. Catalytic reduction of p-nitrophenol by using platinum nanoparticles stabilised by guar gum. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, **113**, 525–531. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.047
- [94] NARAYANAN, Kannan Badri, Hyun Ho PARK a Natarajan SAKTHIVEL. Extracellular synthesis of mycogenic silver nanoparticles by *Cylindrocladium floridanum* and its homogeneous catalytic degradation of 4-nitrophenol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2013, **116**, 485–490. ISSN 1386-1425. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.07.066
- [95] DAUTHAL, Preeti a Mausumi MUKHOPADHYAY. Biofabrication, characterization, and possible bio-reduction mechanism of platinum nanoparticles mediated by agro-industrial waste and their catalytic activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* [online]. 2015, **22**, 185–191. ISSN 1226-086X. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.07.009
- [96] KORA, Aruna Jyothi a Lori RASTOGI. Catalytic degradation of anthropogenic dye pollutants using palladium nanoparticles synthesized by gum olibanum, a glucuronoarabinogalactan biopolymer. *Industrial Crops and Products* [online]. 2016, **81**, 1–10. ISSN 0926-6690. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.055
- [97] RAJAN, Anish, Vidya VILAS a Daizy PHILIP. Studies on catalytic, antioxidant, antibacterial and anticancer activities of biogenic gold nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2015, **212**, 331–339. ISSN 0167-7322. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.09.013
- [98] TAMULY, Chandan, Moushumi HAZARIKA, Manobjyoti BORDOLOI a Manash R DAS. Photocatalytic activity of Ag nanoparticles synthesized by using *Piper pedicellatum* C.DC fruits. *Materials Letters* [online]. 2013, **102–103**, 1–4. ISSN 0167-

577X. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.03.090>

- [99] LOPES, A., MARTINS S, MORAO A, MAGRINHO M, Goncalves I. Degradation of a Textile Dye C. I. Direct Red 80 by Electrochemical Processes. *Portugaliae Electrochimica Acta* [online]. 2004, **22**(3), 279–294. Dostupné z: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0872-19042004000300008
- [100] SINHA, Tanur a M AHMARUZZAMAN. A novel green and template free approach for the synthesis of gold nanorice and its utilization as a catalyst for the degradation of hazardous dye. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2015, **142**, 266–270. ISSN 1386-1425. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2015.02.020>
- [101] NASROLLAHZADEH, Mahmoud, S Mohammad SAJADI a Arezo HATAMIFARD. Waste chicken eggshell as a natural valuable resource and environmentally benign support for biosynthesis of catalytically active Cu/eggshell, Fe₃O₄/eggshell and Cu/Fe₃O₄/eggshell nanocomposites. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2016, **191**, 209–227. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.02.042>
- [102] BAXTER-PLANT, Victoria S, Iryna P MIKHEENKO a Lynne E MACASKIE. Sulphate-reducing bacteria, palladium and the reductive dehalogenation of chlorinated aromatic compounds. *Biodegradation* [online]. 2003, **14**(2), 83–90. ISSN 1572-9729. Dostupné z: doi:[10.1023/A:1024084611555](https://doi.org/10.1023/A:1024084611555)
- [103] WINDT, Wim De, Peter AELTERMAN a Willy VERSTRAETE. Bioreductive deposition of palladium (0) nanoparticles on *Shewanella oneidensis* with catalytic activity towards reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls. *Environmental Microbiology* [online]. 2005, **7**(3), 314–325. ISSN 1462-2920. Dostupné z: doi:[10.1111/j.1462-2920.2005.00696.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00696.x)
- [104] SMULEAC, V, R VARMA, S SIKDAR a D BHATTACHARYYA. Green synthesis of Fe and Fe/Pd bimetallic nanoparticles in membranes for reductive degradation of chlorinated organics. *Journal of Membrane Science* [online]. 2011, **379**(1–2), 131–137. ISSN 0376-7388. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2011.05.054>

- [105] PAN, Bo, Ping NING a Baoshan XING. Part V---sorption of pharmaceuticals and personal care products. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 2009, **16**(1), 106–116. ISSN 1614-7499. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-008-0052-x
- [106] MARTINS, Mónica, Cláudia MOURATO, Sandra SANCHES, João Paulo NORONHA, M T Barreto CRESPO a Inês A C PEREIRA. Biogenic platinum and palladium nanoparticles as new catalysts for the removal of pharmaceutical compounds. *Water Research* [online]. 2017, **108**, 160–168. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.071
- [107] MACHADO, S, W STAWIŃSKI, P SLONINA, A R PINTO, J P GROSSO, H P A NOUWS, J T ALBERGARIA a C DELERUE-MATOS. Application of green zero-valent iron nanoparticles to the remediation of soils contaminated with ibuprofen. *Science of The Total Environment* [online]. 2013, **461**, 323–329. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.016
- [108] HOLIŠOVÁ, Veronika, Martin URBAN, Marek KOLENČÍK, Yvonne NĚMCOVÁ, Adam SCHRÖFEL, Pavlína PEIKERTOVÁ, Jiří SLABOTINSKÝ a Gabriela KRATOŠOVÁ. Biosilica-nanogold composite: Easy-to-prepare catalyst for soman degradation. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2017. ISSN 18785352. Dostupné z: doi:10.1016/j.arabjc.2017.08.003
- [109] PRASAD, G. K., P. V R K RAMACHARYULU a Beer SINGH. Nanomaterials based decontaminants against chemical warfare agents. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 2011, **70**(2), 91–104. ISSN 00224456.
- [110] BISIO, Chiara, Fabio CARNIATO, Chiara PALUMBO, Sergey L. SAFRONYUK, Mykola F. STARODUB, Andrew M. KATSEV, Leonardo MARCHESE a Matteo GUIDOTTI. Nanosized inorganic metal oxides as heterogeneous catalysts for the degradation of chemical warfare agents. *Catalysis Today* [online]. 2016, **277**, 192–199. ISSN 09205861. Dostupné z: doi:10.1016/j.cattod.2015.12.023
- [111] HOUŠKOVÁ, Vendula, Václav ŠTENGL, Snejana BAKARDJIEVA, Nataliya MURAFÁ, Andrea KALEDOVÁ a František OPLUŠTIL. Nanostructure materials for destruction of warfare agents and eco-toxins prepared by homogeneous hydrolysis with thioacetamide: Part 1-zinc oxide. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* [online]. 2007, **68**(5–6), 716–720. ISSN 00223697. Dostupné

z: doi:10.1016/j.jpccs.2006.12.012

- [112] *Ibuprofenum* [online]. Dostupné z: http://www.lekopis.cz/Kap_6_1_Ibuprofenum.htm
- [113] *Ibuprofen* [online]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ibuprofen#section=Top>
- [114] HAMPL, FRANTIŠEK, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. *Farmakochemie*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 2007. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [115] AZIZ, Kosar Hikmat Hama, Hans MIESSNER, Siegfried MUELLER, Dieter KALASS, Detlev MOELLER, Ibrahim KHORSHID a Mohammad Amin M RASHID. Degradation of pharmaceutical diclofenac and ibuprofen in aqueous solution, a direct comparison of ozonation, photocatalysis, and non-thermal plasma. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2017, **313**, 1033–1041. ISSN 1385-8947. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.10.137>
- [116] KONVIČKOVÁ, Z, A SCHRÖFEL, M KOLENČÍK, K DĚDKOVÁ, P PEIKERTOVÁ, M ŽÍDEK, J SEIDLEROVÁ a G KRATOŠOVÁ. Antimicrobial bionanocomposite--from precursors to the functional material in one simple step. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. 2016, **18**(12), 368. ISSN 1572-896X. Dostupné z: doi:10.1007/s11051-016-3664-y
- [117] VILAS, Vidya, Daizy PHILIP a Joseph MATHEW. Biosynthesis of Au and Au/Ag alloy nanoparticles using *Coleus aromaticus* essential oil and evaluation of their catalytic, antibacterial and antiradical activities. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2016, **221**, 179–189. ISSN 0167-7322. Dostupné z: doi:<http://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.05.066>
- [118] ŞAN, Osman a Cem ÖZGÜR. Preparation of a stabilized β -cristobalite ceramic from diatomite. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2009, **484**(1–2), 920–923. ISSN 09258388. Dostupné z: doi:10.1016/j.jallcom.2009.05.077
- [119] TANG, Cuihua, Jianxi ZHU, Zhaohui LI, Runliang ZHU, Qing ZHOU, Jingming WEI, Hongping HE a Qi TAO. Surface chemistry and reactivity of SiO₂polymorphs: A comparative study on α -quartz and α -cristobalite. *Applied Surface Science* [online]. 2015, **355**, 1161–1167. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2015.07.214
- [120] SIMONETTI, S., A. Díaz COMPAÑY, G. BRIZUELA a A. JUAN. β -Cristobalite

- (001) surface as 4-formaminoantipyrine adsorbent: First principle study of the effect on adsorption of surface modification. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2016, **148**, 287–292. ISSN 18734367. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2016.09.006
- [121] WANG, Cui, Xijie LIN, Yuzhen GE, Zameer Hussain SHAH a Rongwen LU. RSC Advances nanoreactors for the etherification of silanes †. *RSC Advances* [online]. 2016, **6**, 102102–102108. Dostupné z: doi:10.1039/C6RA22359A
- [122] WANG, Hsuan-Lan, Fu-Cheng LEE, Tse-Yu TANG, Chenguang ZHOU a De-Hao TSAI. Assembly of functional gold nanoparticle on silica microsphere. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2016, **469**, 99–108. ISSN 0021-9797. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.01.042
- [123] KALIES, Stefan, Lara GENTEMANN, Markus SCHOMAKER, Dag HEINEMANN, Tammo RIPKEN a Heiko MEYER. Surface modification of silica particles with gold nanoparticles as an augmentation of gold nanoparticle mediated laser perforation. *Biomedical optics express* [online]. 2014, **5**(8), 2686–2696. ISSN 2156-7085 (Print). Dostupné z: doi:10.1364/BOE.5.002686
- [124] BASAŘOVÁ, Gabriela. Vývoj teorie a praxe kvašení a dokvašování piva. *Kvasný průmysl* [online]. 2002, **48**, 61–66. Dostupné z: https://kvasnyprumysl.cz/pdfs/kpr/2002/03/02.pdf
- [125] GHOLAMI-SHABANI, Mohammadhassan, Masoomeh SHAMS-GHAHFAROKHI, Zeynab GHOLAMI-SHABANI, Azim AKBARZADEH, Gholamhossein RIAZI, Soheila AJDARI, Akram AMANI a Mehdi RAZZAGHI-ABYANEH. Enzymatic synthesis of gold nanoparticles using sulfite reductase purified from *Escherichia coli*: A green eco-friendly approach. *Process Biochemistry* [online]. 2015, **50**(7), 1076–1085. ISSN 1359-5113. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.04.004
- [126] TALENS-PERALES, D, J MARÍN-NAVARRO a J POLAINA. Enzymes: Functions and Characteristics. In: Benjamin CABALLERO, Paul M FINGLAS a Fidel TOLDRÁ, ed. *Encyclopedia of Food and Health* [online]. Oxford: Academic Press, 2016, s. 532–538. ISBN 978-0-12-384953-3. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00256-7
- [127] BISMUTO, A, A SETARO, P MADDALENA, L De STEFANO a M De STEFANO.

- Marine diatoms as optical chemical sensors: A time-resolved study. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2008, **130**(1), 396–399. ISSN 0925-4005. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.09.012>
- [128] NANOSCALE, Cite, Juan Diego RODRIGUEZ-BLANCO, Samuel SHAW a Liane G BENNING. Nanoscale The kinetics and mechanisms of amorphous calcium carbonate (ACC) [online]. 2011, 265–271. Dostupné z: doi:[10.1039/c0nr00589d](https://doi.org/10.1039/c0nr00589d)
- [129] SOCRATES, George. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*. 3. vyd. 2004. ISBN 978-0-470-09307-8.
- [130] SKALICKOVA, Sylvie, Mojmir BARON a Jiri SOCHOR. Nanoparticles Biosynthesized by Yeast: A Review of their application. *Kvasny Prumysl* [online]. 2017, **63**(6), 290–292. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:[10.18832/kp201727](https://doi.org/10.18832/kp201727)
- [131] MOURATO, Ana, Mário GADANHO, Ana R LINO a Rogério TENREIRO. Biosynthesis of crystalline silver and gold nanoparticles by extremophilic yeasts. *Bioinorganic chemistry and applications* [online]. 2011, **2011**, 546074. ISSN 1687-479X (Electronic). Dostupné z: doi:[10.1155/2011/546074](https://doi.org/10.1155/2011/546074)
- [132] ZHANG, Xuwang, Yuanyuan QU, Wenli SHEN, Jingwei WANG, Huijie LI, Zhaojing ZHANG, Shuzhen LI a Jiti ZHOU. Biogenic synthesis of gold nanoparticles by yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for catalytic reduction of nitrophenols. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2016, **497**, 280–285. ISSN 0927-7757. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.02.033>
- [133] LERMA-GARCÍA, Maríajésús, Mónica ÁVILA, Ernesto Fco SIMÓ-ALFONSO, Ángel RÍOS a Mohammed ZOUGAGH. Synthesis of gold nanoparticles using phenolic acids and its application in catalysis. 2014, **5**(6), 1919–1926.
- [134] PANDEY, Sunil, Goldie OZA, Mayuresh VISHWANATHAN a Madhuri SHARON. Biosynthesis of Highly Stable Gold nanoparticles Using Citrus limone. *Annals of Biological Research* [online]. 2012, **3**(5), 2378–2382. Dostupné z: http://www.researchgate.net/publication/230707305_Biosynthesis_of_Highly_Stable_Gold_nanoparticles_Using_Citrus_limone/file/d912f50348bb2af5e6.pdf
- [135] WANG, Wenxing, Qifan CHEN, Cha JIANG, Dongzhi YANG, Xingmin LIU a Shukun XU. One-step synthesis of biocompatible gold nanoparticles using gallic acid

- in the presence of poly-(N-vinyl-2-pyrrolidone). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2007, **301**(1–3), 73–79. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2006.12.037
- [136] DAS, Dipesh Kr, Anirban CHAKRABORTY, Sekhar BHATTACHARJEE a Sanjit DEY. Biosynthesis of stabilised gold nanoparticle using an aglycone flavonoid, quercetin. *Journal of Experimental Nanoscience* [online]. 2013, **8**(4), 649–655. ISSN 17458080. Dostupné z: doi:10.1080/17458080.2011.591001
- [137] HWANG, Su Jung, Sang Hui JUN, Yohan PARK, Song Hyun CHA, Minho YOON, Seonho CHO, Hyo Jong LEE a Youmie PARK. Green synthesis of gold nanoparticles using chlorogenic acid and their enhanced performance for inflammation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* [online]. 2015, **11**(7), 1677–1688. ISSN 15499642. Dostupné z: doi:10.1016/j.nano.2015.05.002
- [138] KIM, Kibong, Olga G TSAY, David A ATWOOD a David G CHURCHILL. Destruction and Detection of Chemical Warfare Agents. *Chemical Reviews* [online]. 2011, **111**(9), 5345–5403. Dostupné z: doi:10.1021/cr100193y
- [139] ŠTENGL, Václav, Vendula HOUSKOVÁ, Snejana BAKARDJIEVA, Nataliya MURAFÁ, Monika MAŘÍKOVÁ, František OPLUŠTIL a Tomáš NĚMEC. Zirconium doped nano-dispersed oxides of Fe, Al and Zn for destruction of warfare agents. *Materials Characterization* [online]. 2010, **61**(11), 1080–1088. ISSN 10445803. Dostupné z: doi:10.1016/j.matchar.2010.06.021
- [140] ZBORIL, Radek, Marek ANDRLE, Frantisek OPLUSTIL, Libor MACHALA, Jiri TUCEK, Jan FILIP, Zdenek MARUSAK a Virender K SHARMA. Treatment of chemical warfare agents by zero-valent iron nanoparticles and ferrate(VI)/(III) composite. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2012, **211**, 126–130. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.10.094
- [141] BANDOSZ, Teresa J., Matt LASKOSKI, John MAHLE, Gregory MOGILEVSKY, Gregory W. PETERSON, Joseph A. ROSSIN a George W. WAGNER. Reactions of VX, GD, and HD with Zr(OH)₄: Near instantaneous decontamination of VX. *Journal of Physical Chemistry C* [online]. 2012, **116**(21), 11606–11614. ISSN 19327447. Dostupné z: doi:10.1021/jp3028879

- [142] ŠTENGL, Václav, Tomáš Matys GRYGAR, Jana BLUDSKÁ, František OPLUŠTIL a Tomáš NĚMEC. Mesoporous iron-manganese oxides for sulphur mustard and soman degradation. *Materials Research Bulletin* [online]. 2012, **47**(12), 4291–4299. ISSN 00255408. Dostupné z: doi:10.1016/j.materresbull.2012.09.015
- [143] ŠTENGL, Václav, Jana BLUDSKÁ, František OPLUŠTIL a Tomáš NĚMEC. Mesoporous titanium-manganese dioxide for sulphur mustard and soman decontamination. *Materials Research Bulletin* [online]. 2011, **46**(11), 2050–2056. ISSN 00255408. Dostupné z: doi:10.1016/j.materresbull.2011.07.003
- [144] ALVARO, Mercedes, Bogdan COJOCARU, Adel A ISMAIL, Nicoleta PETREA, Belen FERRER, Farid A HARRAZ, Vasile I PARVULESCU a Hermenegildo GARCIA. Visible-light photocatalytic activity of gold nanoparticles supported on template-synthesized mesoporous titania for the decontamination of the chemical warfare agent Soman. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2010, **99**(1), 191–197. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.06.019
- [145] JANOŠ, Pavel, Pavel KURÁŇ, Věra PILAŘOVÁ, Josef TRÖGL, Martin ŠŤASTNÝ, Ondřej PELANT, Jiří HENYCH, Snejana BAKARDJIEVA, Ondřej ŽIVOTSKÝ, Martin KORMUNDA, Karel MAZANEC a Miroslav SKOUMAL. Magnetically separable reactive sorbent based on the CeO₂/γ-Fe₂O₃ composite and its utilization for rapid degradation of the organophosphate pesticide parathion methyl and certain nerve agents. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2015, **262**, 747–755. ISSN 1385-8947. Dostupné z: doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.10.016

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Dělení metod přípravy nanočástic na mechanické, chemické, fyzikální a biosyntézu.....	18
Obrázek 2: Závislost výsledného tvaru nanočástic zlata na reakčních podmínkách biosyntézy [15].....	19
Obrázek 3: Biosyntetizované nanočástice zlata (Au NČ) v koloidu nebo ukotvené na povrchu křemičité schránky <i>Diadsmis gallica</i> [35, 36].....	21
Obrázek 4: Extracelulární a intracelulární biosyntéza nanočástic zlata [34].....	22
Obrázek 5: Pravděpodobný mechanismus fytyntézy Pd nanočástic za přítomnosti kyseliny gallové, protokatechové, 3-hydroxybenzoové a katechinu [52]	23
Obrázek 6: Pravděpodobný mechanismus a) biosyntézy a b) stabilizace Pd nanočástic kyselinou gallovou [52].....	25
Obrázek 7: Filtrační křemelina pro filtraci piva	27
Obrázek 8: Schéma produkce odpadní křemeliny z filtrace piva a jeho využití pro biosyntézu nanočástic zlata ukotvených na povrchu křemičité schránky [34]	28
Obrázek 9: Stopkatá květenství (vijany) s jazykovitým listenem	29
Obrázek 10: Návrh mechanismu katalytického účinku nanočástic zlata při redukcí 4-nitrofenolu za přítomnosti redukčního činidla NaBH ₄ [87]	31
Obrázek 11: Schéma mechanismu fotokatalytické degradace za přítomnosti zlatých nanočástic: A) při VIS záření, B) při UV záření a princip fotokatalytického účinku u polovodičů vpravo) [63].....	32
Obrázek 12: Schematické znázornění katalytického cyklu adsorpce molekul, CO a O ₂ a desorpce CO ₂ na zlaté nanočástici kotvené na oxidické matici [90]	33
Obrázek 13: Redukce 4-nitrofenolu za přítomnosti NaBH ₄ a katalyzátoru	34
Obrázek 14: Schéma katalytické degradace organických barviv za přítomnosti NaBH ₄ a nanokatalyzátoru [101].....	36
Obrázek 15: Strukturní vzorek somanu (O-pinakolylmethylfosfonofluoridát)	40
Obrázek 16: Strukturní vzorek ibuprofenu (RS)-2-(4-isobutylfenyl) propionová kyselina ...	41

Obrázek 17: Schéma procesu využití odpadní křemeliny z filtrace piva pro přípravu nanočástic zlata za různých podmínek	46
Obrázek 18: Vysušené vzorky A) odpadní křemeliny, B) Au/OK, C) statAu/OK a D) dynAu/OK.....	57
Obrázek 19: SEM analýza vzorků A) Au/OK, B) statAu/OK, C) dynAu/OK a D) statAu/OK5.....	58
Obrázek 20: TEM a STEM snímky Au/OK s difrakční analýzou potvrzující krystalický charakter nanozlata a histogram velikostní distribuce nanočástic zlata.....	59
Obrázek 21: TEM analýza (měřítko 500 nm) A) statAu/OK a B) histogram velikostní distribuce nanočástic vzorku statAu/OK a C) dynAu/OK a D) histogram velikostní distribuce nanočástic dynAu/OK	60
Obrázek 22: RTG difraktogram nanočástic zlata (červená křivka) a odpadní křemeliny z filtrace piva (modrá křivka).....	61
Obrázek 23: RTG difraktogram odpadní křemeliny z filtrace piva.....	62
Obrázek 24: A) OK po expozici prekursoru zlata při 5 °C B) OK s Au nanočásticemi po vytažení z lednice a temperování na laboratorní teplotu po 24 hodinách	64
Obrázek 25: Bradfordův test na obsah bílkovin ve vzorcích čisté filtrační křemeliny a odpadní křemeliny.....	65
Obrázek 26: FTIR spektra odpadní křemeliny před (černá křivka) a po biosyntéze nanočástic zlata (červená křivka)	66
Obrázek 27: A) Suspenze kvasinek z filtrace před (vlevo) a po (vpravo) přidavku prekursoru zlata a B) TEM snímek nanočástic zlata syntetizovaných pivovarskými kvasinkami.....	67
Obrázek 28: Porovnání odpadní křemeliny s nanočásticemi zlata (vlevo) a filtrační křemeliny s Au prekurzorem (vpravo) po 24 hodinách.....	68
Obrázek 29: SEM snímek filtrační křemeliny po expozici zlatitého prekursoru	68
Obrázek 30: Bodová analýza filtrační křemeliny po přidavku H _{AuCl} ₄	69
Obrázek 31: FTIR spektra filtrační křemeliny, hrubé, střední směsi a směsi po přidavku Au prekursoru	70

Obrázek 32: A) Vysušená odpadní křemelina s obsahem zlatých nanočástic v první a B) druhé sérii vzorků.....	70
Obrázek 33: FTIR analýza odpadní křemeliny z pěti různých míst vzorku.....	71
Obrázek 34: FTIR analýza odpadní křemeliny s Au nanočásticemi v A) první sérii a B) druhé sérii vzorků.....	71
Obrázek 35: TEM snímky odpadní křemeliny s nanočásticemi zlata	73
Obrázek 36: Velikostní distribuční histogramy nanočástic zlata vzorků A) 1dynAu/OK_1, B) 2dynAu/OK_1, C) 3dynAu/OK_1, D) 4dynAu/OK_1 a E) 5dynAu/OK_1	75
Obrázek 37: Velikostní distribuční histogramy nanočástic zlata vzorků A) 1dynAu/OK_2, B) 2dynAu/OK_2, C) 3dynAu/OK_2, D) 4dynAu/OK_2 a E) 5dynAu/OK_2.....	76
Obrázek 38: RTG difraktogramy nanokompozitů s obsahem nanočástic zlata z první série vzorků.....	77
Obrázek 39: RTG difraktogramy nanokompozitů s obsahem nanočástic zlata z druhé série vzorků.....	78
Obrázek 40: Absorpční spektra vzorků Au1V1 a Au5V2	79
Obrázek 41: A) snímek TEM vzorku Au1V1 a elektronová difrakce nanozlata, B) zobrazení vzorku Au1V1 v tmavém poli, C) snímek sférických nanočástic zlata vzorku Au5V2, D) snímek polygonů nanozlata vzorku Au5V2	80
Obrázek 42: Snímek nahoře ilustruje 5 vzorků fyto-syntetizovaných nanočástic zlata z květů a listenu lípy, snímek dole ilustruje Au koloid připravený smícháním prekurzoru s A) výluhem z vijanů a B) výluhem z listenů.....	81
Obrázek 43: UV-VIS spektra koloidů nanozlata fyto-syntetizovaných výluhem z květů V3 a listenů V4 lípy <i>Tilia</i> sp.	82
Obrázek 44: Snímky TEM nanočástic zlata fyto-syntetizovaných <i>Tilia</i> sp. A-B výluhem pouze z květů a C-D výluhem pouze z listenů	83
Obrázek 45: FTIR analýza sušených květů (černá křivka) a listenů (červená křivka) lípy <i>Tilia</i> sp.	84

Obrázek 46: Fotografický záznam 5 koloidů nanočástic zlata připravených vždy za stejných podmínek fytyosyntézy	85
Obrázek 47: UV-VIS spektra koloidů nanočástic zlata Au5V4_1 - Au5V4_5	86
Obrázek 48: Vývoj závislosti absorpance (A) na vlnové délce (λ) pro vzorek Au5V4_1	87
Obrázek 49: Vývoj závislosti absorpance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_2	87
Obrázek 50: Vývoj závislosti absorpance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_3	88
Obrázek 51: Vývoj závislosti absorpance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_4	88
Obrázek 52: Vývoj závislosti absorpance na vlnové délce pro vzorek Au5V4_5	89
Obrázek 53: Změna intenzity absorpance vzorků Au5V4_1- Au5V4_5 v průběhu 5 týdnů .	89
Obrázek 54: TEM snímky nanočástic zlata fytyosyntetizované výluhem z listů lípy <i>Tilia</i> sp.	91
Obrázek 55: Návrh mechanismu fytyosyntézy nanočástic zlata kyselinou gallovou.....	94
Obrázek 56: UV-VIS spektra degradace 4-nitrofenolu katalyzované Au/OK	96
Obrázek 57: Konverze 4-nitrofenolu za přítomnosti vzorků Au/OK	96
Obrázek 58: Degradace somanu za přítomnosti odpadní křemeliny s obsahem nanočástic zlata (3dynAu/OK_1) a kontrolním vzorkem OK.....	98
Obrázek 59: Degradace somanu za přítomnosti koloidu Au o koncentraci 0,5 (Au1V1) a 2,5 mM Au (Au5V2) a kontrolních vzorků V1 a V2	99
Obrázek 60: Hydrolýza somanu za přítomnosti koloidu nanočástic zlata Au5V4_1, zlatitého prekursoru H ₂ AuCl ₄ a výluhu z lipového listu V4	100
Obrázek 61: Schéma hydrolýzy somanu	101
Obrázek 62: Degradace ibuprofenu (IBU) za přítomnosti OK (příslušná kontrola) a dynAu/OK (koncentrace 1 mg, 5 mg a 10 mg)	103

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Rozdíly mezi nebiosyntetickou a biosyntetickou metodou přípravy NČ	19
Tabulka 2: Příklady biomasy použité pro biosyntézu nanočástic kovů.....	20
Tabulka 3: Stupně stability koloidů nanočástic v závislosti na velikosti zeta-potenciálu [56]	24
Tabulka 4: Obsahové látky lipového výluhu [73]	29
Tabulka 5: Shrnutí označení připravených vzorků	47
Tabulka 6: Přehled rostlinných výluhů.....	50
Tabulka 7: Přehled připravených fyto-syntetizovaných nanočástic zlata	51
Tabulka 8: Vzorky s obsahem somanu o koncentraci 341 µg/ml a definovaného nanokompozitu, koloidu nebo kontroly v objemu 15 ml	52
Tabulka 9: Vzorky s obsahem nanokompozitu nebo odpadní křemeliny a 10 ml ibuprofenu o koncentraci 10 mg/l.....	54
Tabulka 10: Přehled jednotlivých vzorků pro degradaci ibuprofenu	55
Tabulka 11: Obsah Au před a po promytí nanokompozitů.....	62
Tabulka 12: Obsah látek ve filtrační a odpadní křemelíně	65
Tabulka 13: Identifikace pásů ve spektrech odpadní křemeliny	66
Tabulka 14: XRFS analýza odpadní křemeliny před a po biosyntéze nanočástic zlata	72
Tabulka 15: ICP-AES analýza nanokompozitů s obsahem zlata.....	73
Tabulka 16: Průměrné hodnoty velikosti nanočástic zlata	74
Tabulka 17: FTIR analýza funkčních skupin sušeného květu a listenu lípy	84
Tabulka 18: Zeta-potenciál [mV] koloidů nanočástic zlata v průběhu 5-ti týdnů	90
Tabulka 19: pH koloidů nanozlata a jejich kontrolních vzorků v průběhu 5-ti týdnů.....	90
Tabulka 20: Průměrné velikost sférických nanočástic a polygonních částic zlata ve vzorcích Au5V4_1 - Au5V4_5 v 1. a 5. týdnu	92
Tabulka 21: Fytochemikálie obsažené v listenu <i>Tilia</i> sp.....	93

Tabulka 22: Stanovené analyty v extraktech vzorků po degradaci somanu	101
Tabulka 23: Příklady nanomateriálů testované při degradaci somanu	102

SEZNAM PUBLIKACÍ

Publikace v impaktovaných časopisech

Gabriela Kratošová, Veronika Holišová, Zuzana Konvičková, Avinash Pingle, Swapnil Gaikwad, Kateřina Škrlová, Aleš Prokop, Mahendra Rai a Daniela Plachá. From biotechnology principles to functional and low-cost metallic bionanocatalysts. *Biotechnology Advances*. 2019. ISSN 0734-9750. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.012](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.012)

Veronika Holišová, Marta Natšínová, Gabriela Kratošová, Žaneta Chromčáková, Adam Schröfel, Ivo Vávra, Ondřej Životský, Ivo Šafařík a Lucie Obalová. Magnetically modified nanogold-biosilica composite as an effective catalyst for CO oxidation. *Arabian Journal of Chemistry*. 2018. ISSN 18785352. Dostupné z: [doi:10.1016/j.arabjc.2018.12.002](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.12.002)

Zuzana Konvičková, Veronika Holišová, Marek Kolenčík, Teppei Niide a Gabriela Kratošová. Phytosynthesis of colloidal Ag-AgCl nanoparticles mediated by *Tilia sp.* leachate, evaluation of their behaviour in liquid phase and catalytic properties. *Colloid and Polymer Science*. 2018. Dostupné z: doi.org/10.1007/s00396-018-4290-2

Veronika Holišová, Zuzana Konvičková, Gabriela Kratošová, Marek Kolenčík, Teppei Niide, Mitsuo Umetsu a Daniela Plachá. Phytosynthesis of Au and Au/ZrO₂ bi-Phasic System Nanoparticles with Evaluation of Their Colloidal Stability. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2018. ISSN 1533-4880. Dostupné z: [doi:10.1166/jnn.2019.15851](https://doi.org/10.1166/jnn.2019.15851)

Zuzana Konvičková, Karla Čech Barabaszová, Veronika Holišová, Gabriela Kratošová a Jana Seidlerová. Phytosynthesis of Ag, ZnO and ZrO₂ Nanoparticles Using Linden: Changes in Their Physical-Chemical Nature Over Time. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2018. Dostupné z: [doi:10.1166/jnn.2019.15854](https://doi.org/10.1166/jnn.2019.15854)

Kateřina Škrlová, Gražyna Simha Martynková, Veronika Holišová, Marcel Mikeska, Zuzana Rybková, Kateřina Malachová, Daniela Plachá. Biodegradable polymeric materials for biliary stents. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2017.

Veronika Holišová, Martin Urban, Marek Kolenčík, Yvonne Němcová, Adam Schröfel, Pavlína Peikertová, Jiří Slabotínský a Gabriela Kratošová. Biosilica-nanogold composite: Easy-to-prepare catalyst for soman degradation. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. ISSN 1878-5352. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.08.003>

Gabriela Kratošová, Marta Natšínová, Veronika Holišová, Lucie Obalová, Žaneta Chromčáková, Ivo Vávra. Transmission Electron Microscopy Observation of Bionanogold Used for Preliminary N₂O Decomposition Testing. *Advanced Science Letters*. 2016. Dostupné z: doi:[doi:10.1166/asl.2016.6992](https://doi.org/10.1166/asl.2016.6992)

Publikace v revizi

Zuzana Vilamová, Zuzana Konvičková, Petr Mikeš, Veronika Holišová, Pavel Mančík, Edmund Dobročka, Gabriela Kratošová a Jana Seidlerová. Ag-AgCl Nanoparticles Fixation on Electrospun PVA Fibres: Technological Concept and Progress. *Scientific Reports*.2019. (under review)

Kapitola v odborné knize

Zuzana Konvičková, Ondrej Laššák, Gabriela Kratošová, Kateřina Škrlová, Veronika Holišová. Metal nanoparticles in pharma, chapter: Colloidal bio-nanoparticles in polymer fibers: current trends and future prospects, Springer, edd. prof. Mahendra Rai a Dr. Ranjita Shegokar, https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-63790-7_13 , (přijato, 2017)

Příspěvek ve sborníku

Veronika Holišová, Gabriela Kratošová, Adam Schröfel, Yvonne Němcová, Martin Urban, Jiří Slabotínský. Biosyntetizované metalické nanočástice a jejich potenciál při degradaci nervově paralytických látek. Hazmat protect 2014. 11.-12. listopadu 2014, Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v.v.i. , 2014, s.14-22, ISBN 0-000-00000-0

Zahraniční stáž

30.9. - 13.12. 2016, Tohoku University, Japonsko (Sendai), školitel: Prof. Mitsuo Umetsu

Účast na konferencích

Veronika Holišová, Zuzana Konvičková, Gabriela Kratošová, Marek Kolenčík, Teppei Niide, Ivo Šafařík, Mitsuo Umetsu, Daniela Plachá. Catalytic decomposition of p-NP by bionanogold anchored on waste diatomaceous earth, ústní prezentace v AJ, VŠB-Technical University of Ostrava, NANOOSTRAVA 2017, Česká republika, Ostrava

Veronika Holišová, Zuzana Konvičková, Gabriela Kratošová, Marek Kolenčík, Teppei Niide, Mitsuo Umetsu, Daniela Plachá. The stability of Au and Au/ZrO₂ nanoparticles prepared using a simple extract of a horsetail, VŠB-Technical University of Ostrava, NANOOSTRAVA 2017, (posterová soutěž, 1. místo), Česká republika, Ostrava

Veronika Holišová, Zuzana Konvičková, Teppei Niide, Gabriela Kratošová, Ivo Šafařík, Mitsuo Umetsu. Waste diatomite as re-usable material for bio-gold nanoparticles preparation and its potential in heterogeneous catalysis, MACE 2016, Japonsko, Tokyo

Zuzana Konvičková, Veronika Holišová, Teppei Niide, Gabriela Kratošová, Mitsuo Umetsu. Colloidal bio-nanoparticles: a promising material in medicine and public health issues, MACE 2016, Japonsko, Tokyo

Gabriela Kratošová, Veronika Holišová, Zuzana Konvičková, Ivo Vávra. Biosyntetizované metalické nanočástice: Studie pomocí elektronové mikroskopie, Hazmat protect 2016, Česká republika, Milín u Příbrami

Gabriela Kratošová, Veronika Holišová, Martin Urban, Marek Kolenčík, Yvonne Němcová, Adam Schröfel, Pavlína Peikertová, Jiří Slabotinský. Degradace nervových látek pomocí nanočástic na bázi biozlata, VŠB-Technical University of Ostrava, Hazmat protect 2016, Česká republika, Milín u Příbrami

Veronika Holišová, Gabriela Kratošová, Adam Schröfel, Martin Urban, Jiří Slabotinský, Yvonne Němcová, Ivo Vávra. Degradation of nerve agents using bio-gold nanoparticles, INASCON 2016, Švýcarsko, Basilej

Veronika Holišová, Gabriela Kratošová, Adam Schröfel, Yvonne Němcová, Martin Urban, Jiří Slabotinský. Degradation of warfare agents using bio-gold nanoparticles, VŠB-Technical University of Ostrava, ústní prezentace v AJ, NANOOSTRAVA 2015, Česká republika, Ostrava

Marta Natšínová, Veronika Holišová, Gabriela Kratošová, Ivo Vávra. Phytosynthesis of gold nanoparticles using medical plants, VŠB-Technical University of Ostrava, NANOOSTRAVA 2015, (posterová soutěž, 1. místo), Česká republika, Ostrava

Veronika Holišová, Gabriela Kratošová, Adam Schröfel, Yvonne Němcová, Martin Urban, Jiří Slabotinský. Biosyntetizované metalické nanočástice a jejich potenciál při degradaci nervově paralytických látek, ústní prezentace, Hazmat protect 2014, Česká republika, Milín u Příbrami

PŘÍLOHA

Příloha 1



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Delivery Address : SO UNITED LOGISTICS GMBH INDUSTRIESTR. 2 LORSCH, 64683 GERMANY		Sold to Address : EP MINERALS EUROPE GMBH & CO. KG REINHOFER WEG 115 MUNSTER, D-29633 GERMANY		PO Number : 128750 Order Number : C193824			
Equipment No : TGHU 792193-5		Shipped Order Qty UOM 4 950.00 20 KG					
Seal No : EPM210600 NO 2 OF 5							
Customer Part No	Description	Lot Qty	MFG Date	Test Name	Result Units	Spec Min	Spec Max
EP3	EUROPEAN BREWERY SPEC D E L804	500	04/2019	+ 28. PERCENT + 150. PERCENT ALUMINUM - EBC ARSENIC - EBC CALCIUM - EBC IRON - EBC LOI - USFCC MOISTURE USFCC ODOR - INHCL PERMEABILITY PH - EP TASTE - EBC WB	Trace percent 4.8 percent 95 ppm 2.1 ppm As 125 ppm 45 ppm 0.40 percent 0.00 percent Neutral N/A 100 mds/box 8.0 N/A Neutral N/A 23 lbs/box 384 kg/m ³	0.0 0.0 0 0.0 0 0 0.00 0.00 Neutral 140 5.0 Neutral 0	0.5 7.0 100 10.0 500 80 0.50 1.00 Neutral 280 8.0 Neutral 28

800-228-3965 · Fax 1-541-473-3463 · 2630 GRAHAM BLVD., VALE, OR 97918, USA · www.epminerals.com
 Please check all quality values on this certificate of analysis carefully and promptly notify EP Minerals of any discrepancies at 800-228-3965. Product has no expiration date.



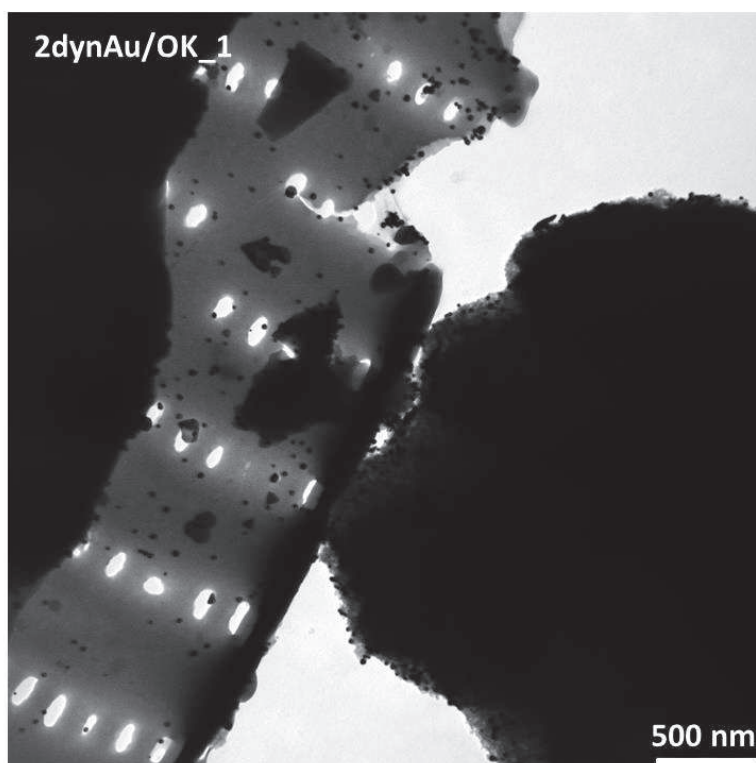
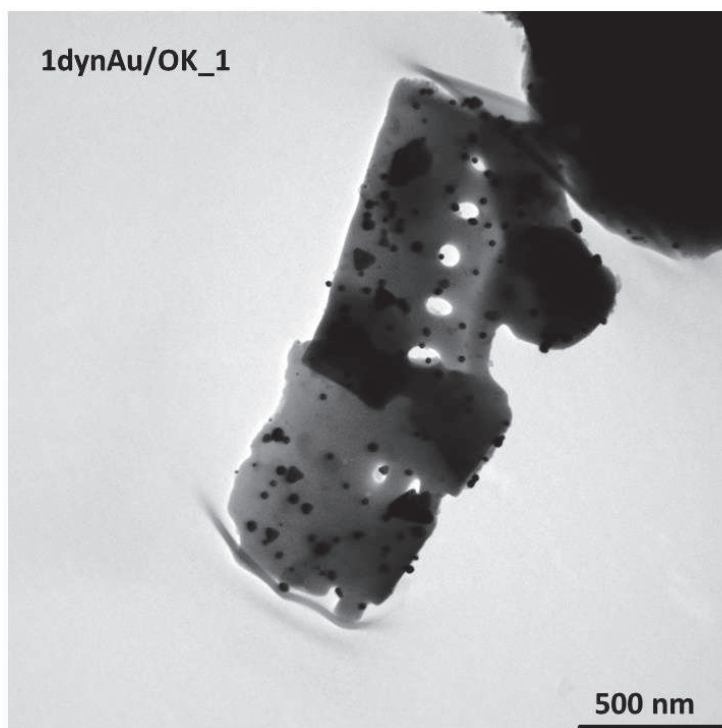
CERTIFICATE OF ANALYSIS

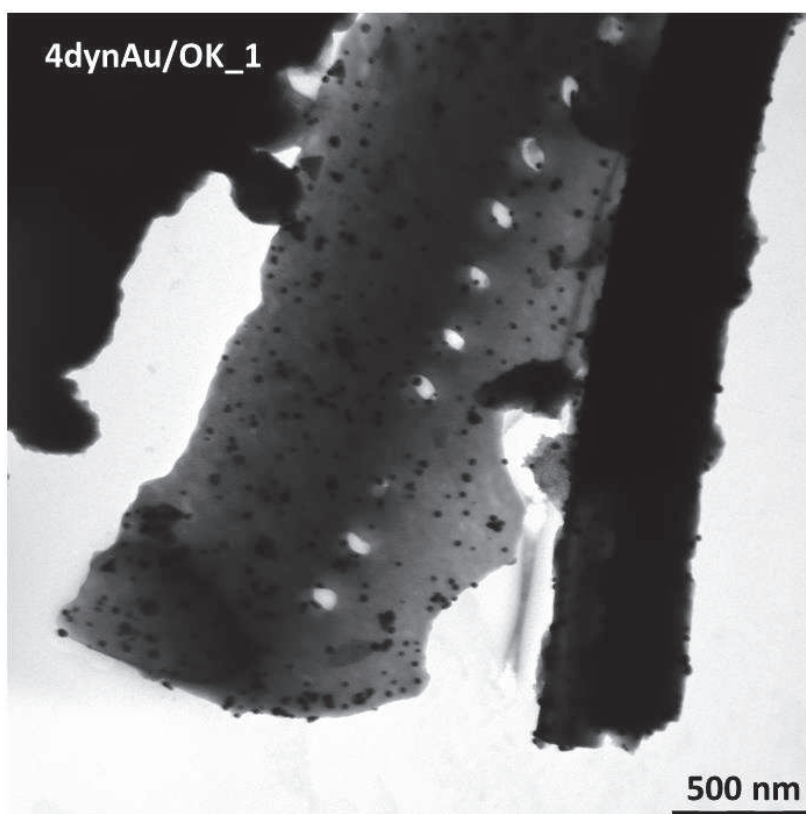
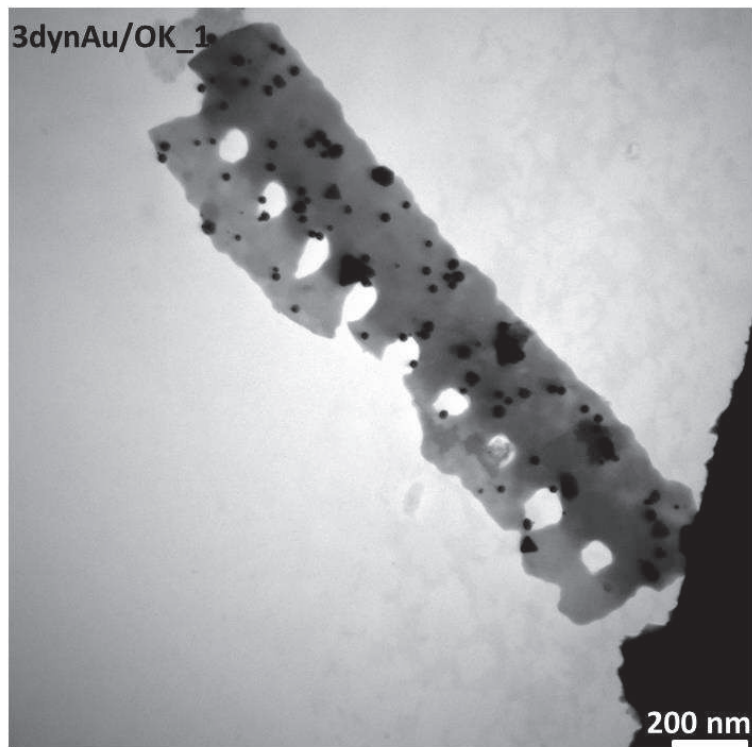
Delivery Address : SD UNITED LOGISTICS GMBH INDUSTRIESTR. 2 LOR SCH. 64653 GERMANY	Sold to Address : EP MINERALS EUROPE GMBH & CO. KG REHRHOFER WEG 11E MUNSTER_D-29633 GERMANY
Equipment No : HLXU 637538-8	
Seal No : EPM210531 NO 2 OF 5	
PO Number : 127C12 Order Number : C193913	

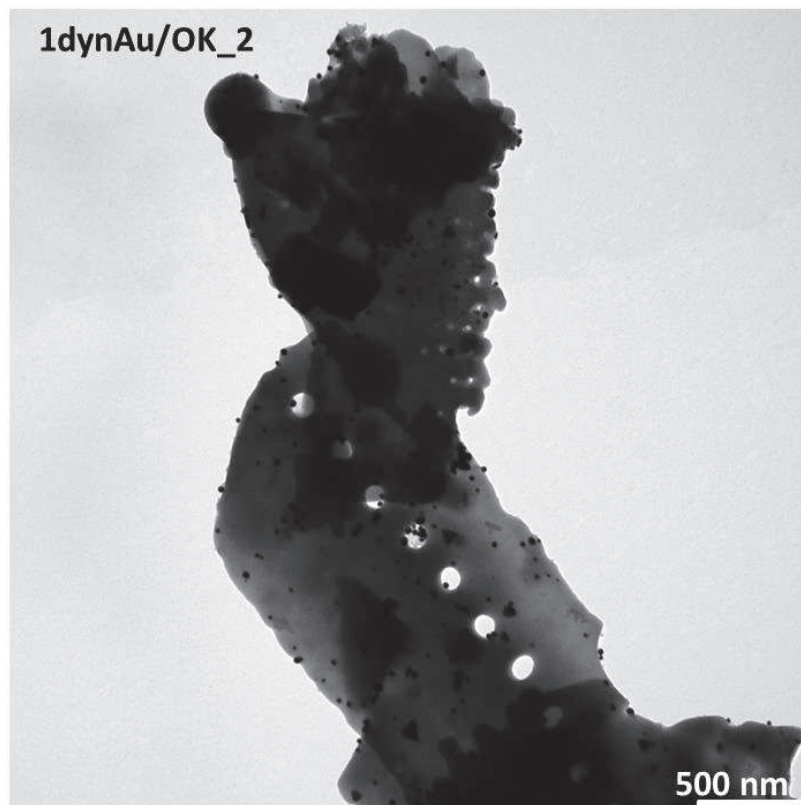
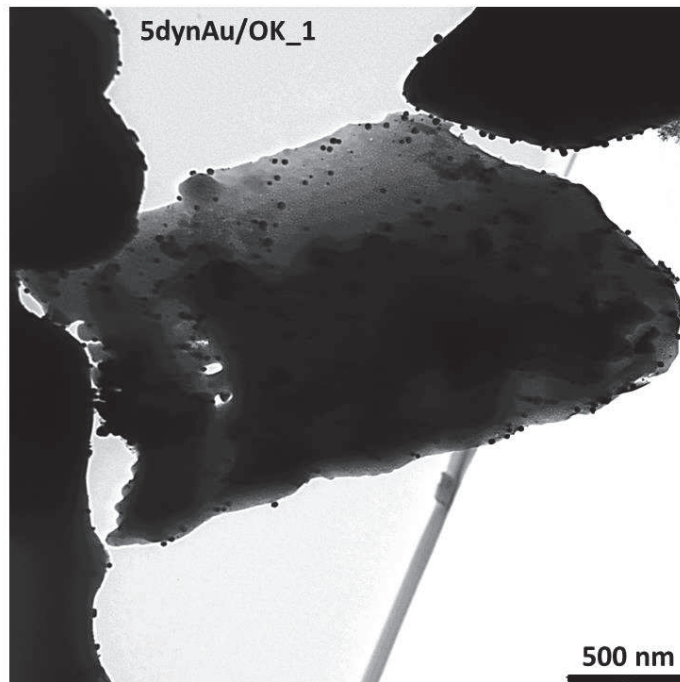
Customer Part No : EUROPEAN BREWERY SPEC D.E. L603	Shipped Order Qty : 20 KG
Lot Batch No : 2F14K6	
Lot Qty Mfg Date : 565 8/4/2015	

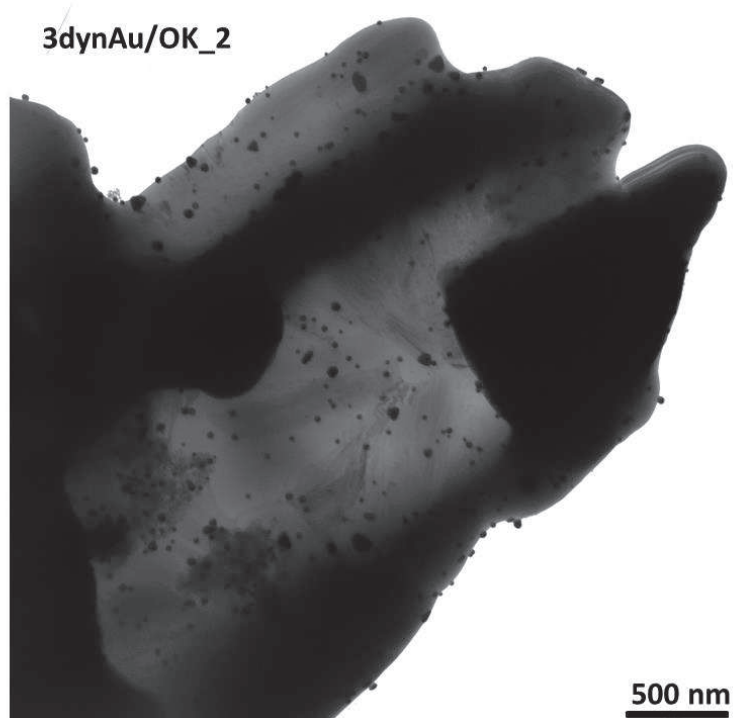
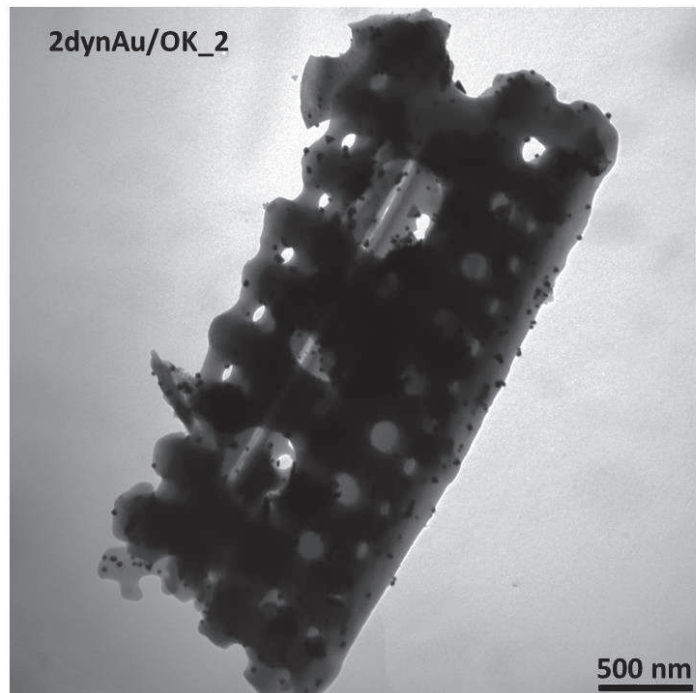
Test Name	Result Units	Spec Min	Spec Max
+ 28 PERCENT	0.0	0.0	0.5
+ 150 PERCENT	7.9 percent	3.0	12.0
ALUMINUM - EBC	29 ppm	0	100
ARSENIC - EBC	2.2 ppm/As	0.0	10.0
CALCIUM - EBC	105 ppm	0	350
IRON - EBC	41 ppm	0	50
LOI - USFCO	0.05 percent	0.00	0.50
MOISTURE USFCO	0.05 percent	0.00	1.00
OXID - IN HO.	Neutral PVA	Neutral	Neutral
PERMEABILITY	1,205 mbar/Sec	1,100	1,800
PW - EP	9.0 PVA	8.5	10.5
TASTE - EBC	Neutral PVA	Neutral	Neutral
WILD	211 units/3	0	22
	328 kg/m ³		

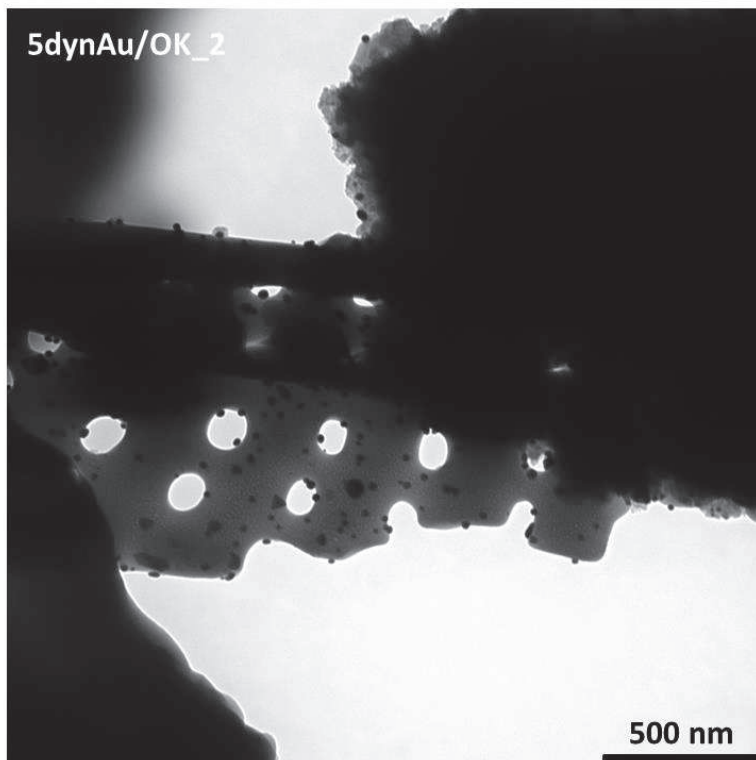
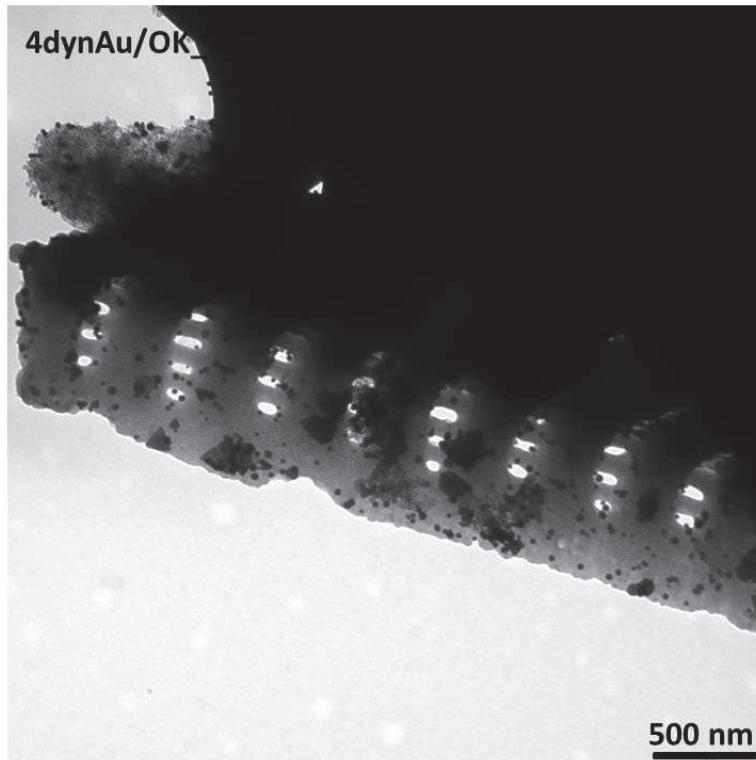
Příloha 2



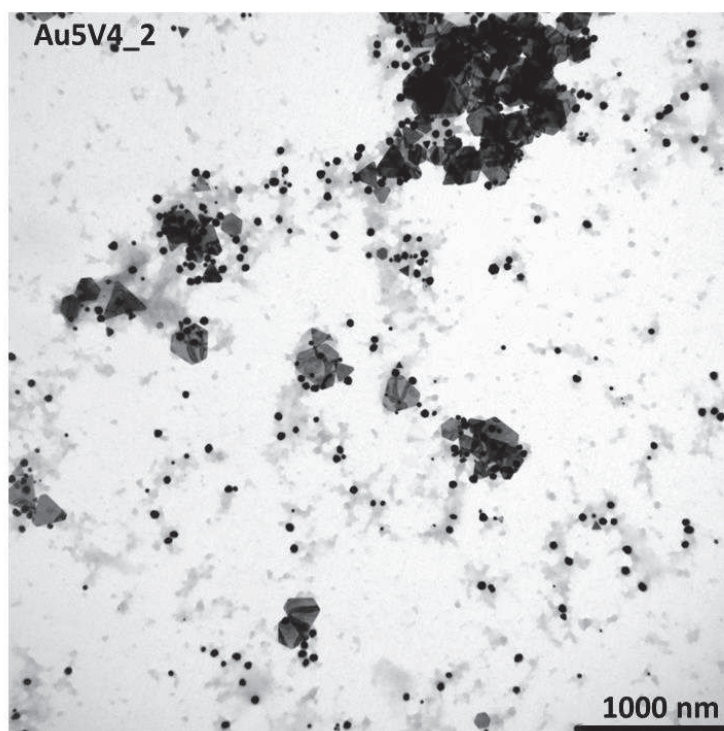
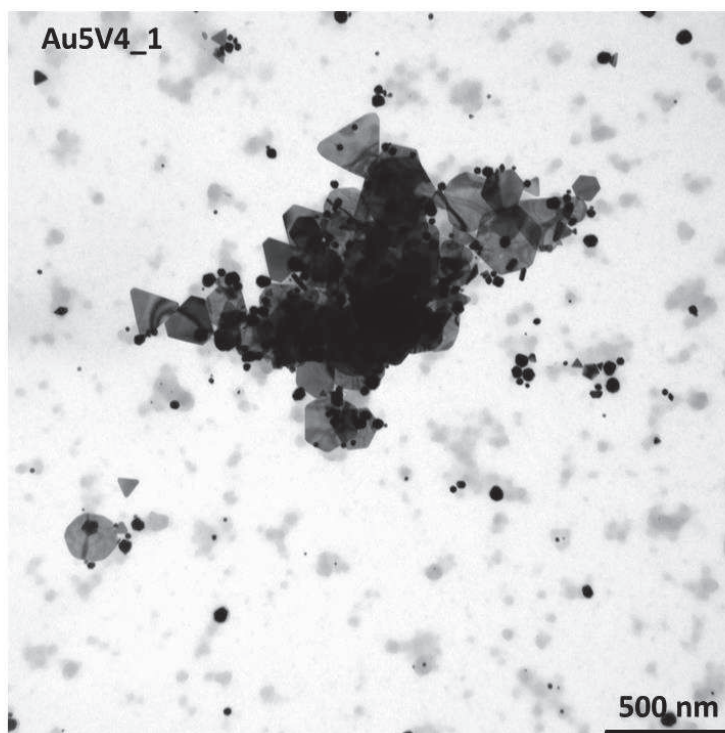


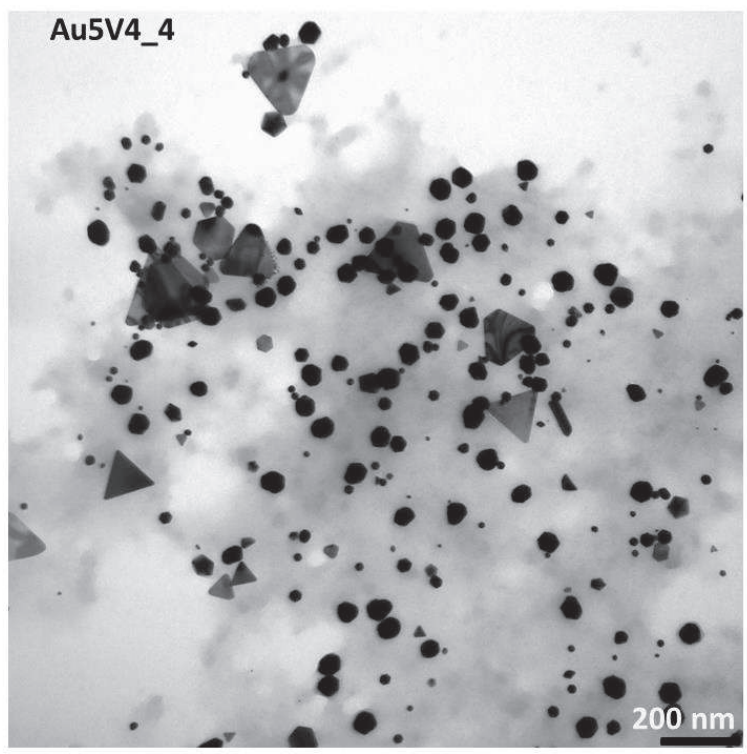
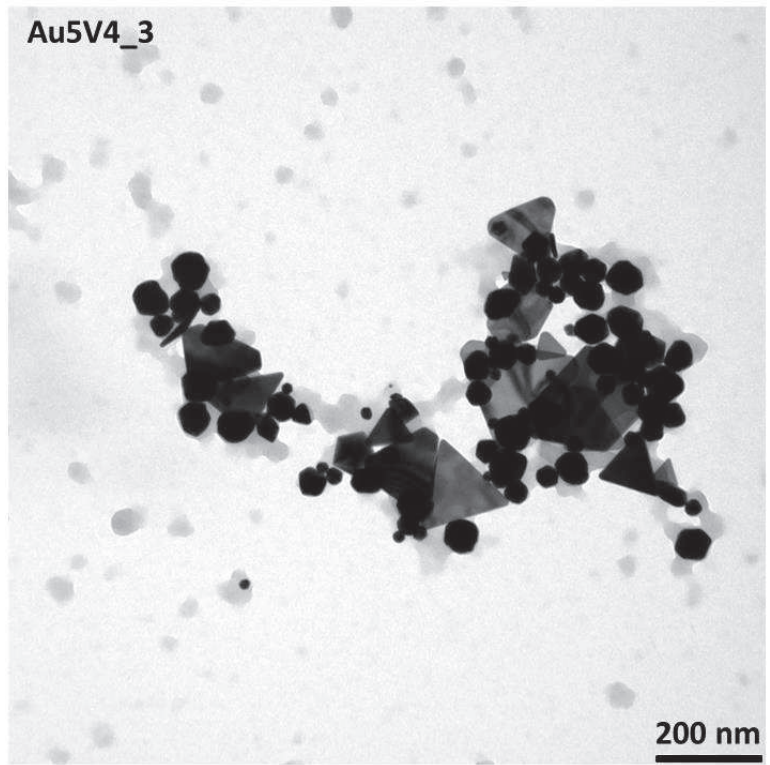


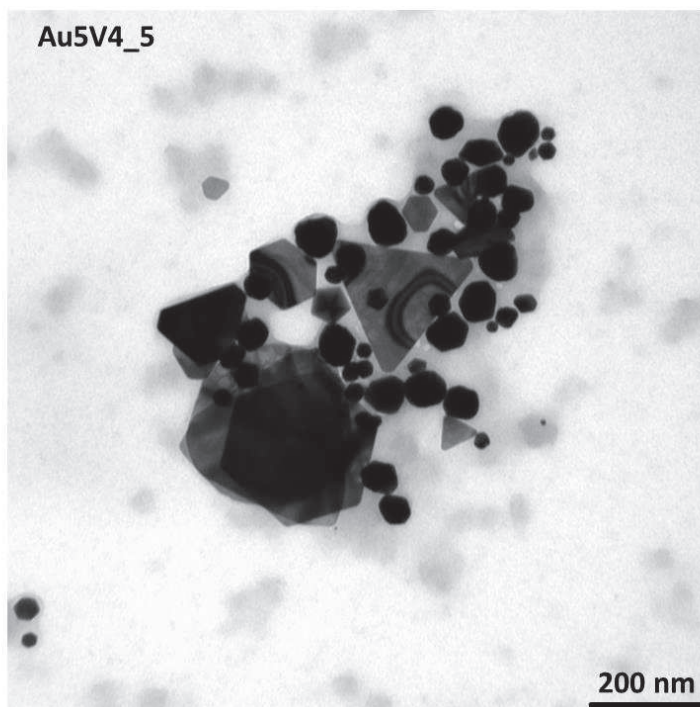




Příloha 3 – TEM koloidů v 1. týdnu







TEM koloidů v 2. týdnu

