

PŘÍPRAVA, FUNKCIONALIZACE A ROUBOVÁNÍ NANOČÁSTIC UŠLECHTILÝCH KOVŮ NA AKTIVOVANÝ POLYMER

ALENA ŘEZNÍČKOVÁ^a, ZDEŇKA NOVOTNÁ^a,
ZDEŇKA KOLSKÁ^b, PAVEL ULBRICH^c
a VÁCLAV ŠVORČÍK^a

^a Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha,

^b Přírodovědecká fakulta, Univerzita J.E. Purkyně Ústí nad Labem, České Mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem, ^c Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
alena.reznickova@vscht.cz

Došlo 18.4.14, přijato 9.6.14.

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

Klíčová slova: polymery, nanočástice, roubování, aktivace povrchu, povrchové vlastnosti, mikroskopie atomárních sil, transmisní elektronová mikroskopie, rentgenová fotoelektronová spektroskopie, elektrokinetická analýza

Obsah

1. Úvod
2. Příprava nanočástic ušlechtilých kovů
3. Funkcionalizace nanočástic
4. Aplikace kovových nanočástic a jejich cytotoxicita
5. Imobilizace povrchu polymeru nanočásticemi ušlechtilých kovů
6. Roubování Au a Ag nanočástic na aktivovaný polymer
7. Závěr

1. Úvod

Zlato je ušlechtilý, inertní kov a díky tomu historické artefakty vyrobené ze zlata jsou schopny si zachovat svůj brilantní lesk po tisíce let, aniž by došlo k jejich zčernání chemickou oxidací. Zlato se ve své objemové formě používá v klenotnictví, ražení mincí a rovněž v elektronice¹.

Zlaté nanočástice mají v chemii dlouhou historii, která se datuje až do starověkého Říma, kde se používaly pro dekoraci zdobení skla. Moderní éra syntézy zlatých nanočástic (AuNP) začala v roce 1857 prací Michaela Faradaye, který poprvé pozoroval rozdíl ve vlastnostech objemového zlata a zlatých nanočástic v koloidním roztoku (ruby red gold)². Faraday také provedl rozsáhlý experimentální i teoretický výzkum chování kovových koloidů^{2–5}. V roce 1908 Mie vysvětlil pozoruhodné optické vlastnosti (včetně

absorpce a rozptylu) zlatých nanočástic tím, že vyřešil Maxwellovu rovnici pro interakci světla s jedinou zlatou nanočásticí⁶. Fyzikální podstata optické excitace zlatých i jiných kovových nanočástic byla nejasná až do roku 1960, kdy byla zavedena pásová teorie kovů⁵. Od té doby se excitační vlastnosti kovových nanočástic začaly vysvětlovat jako režim kolektivních excitací vodivostních elektronů nanočástice, tzv. povrchová plazmonová rezonance. Od roku 1990 nacházejí AuNP široké uplatnění v biologii, katalýze a medicíně, a to zejména díky rozmanitosti jejich tvarů, velikostí a nenáročné přípravě⁶.

Nanoobjekty (nanočástice, nanoklastry, nanovlákná a nanovrstvy) a nanostrukturované materiály (polykrystalické materiály s velikostí krystalitů 1–100 nm a kompozitní materiály s velikostí částic v témže intervalu) vykazují řadu vlastností kvantitativně i kvalitativně odlišných od materiálů s charakteristickými rozměry nad 1 mikrometr. V mnoha případech se od objemových materiálů liší svojí strukturou, jak na atomární úrovni (v důsledku povrchových efektů jsou stabilní jiné strukturní modifikace), tak i z hlediska formálně makroskopického (rozdílná hustota nano- a objemových materiálů). Jedním ze základních důvodů je vzrůstající podíl povrchových atomů se zmenšujícími se rozměry objektu. Povrchové atomy mají nižší počet sousedů (vytvářejí menší počet vazeb) než atomy v objemu materiálu. To zásadním způsobem ovlivňuje vazebné energie těchto atomů a jejich prostorové uspořádání, liší se meziatomové vzdálenosti ve směru kolmém na povrch a v rovině povrchu (relaxace a rekonstrukce povrchu vede ke snížení povrchové energie). Zakřivený povrch nanočástic a nanovláken dále ovlivňuje strukturu těchto objektů v důsledku Youngova-Laplaceova efektu. Tlak indukovaný povrchovým napětím na konkávní straně rozhraní vede ke kontrakci meziatomových vzdáleností (zvýšení hustoty). V řadě případů společně s povrchovým efektem (povrchová energie – γ) může vést ke zvýšení termodynamické stability v objemu nestabilních strukturních modifikací. Např. pro ideální kubickou plošně centrovanou strukturu (*fcc*) má každý atom roviny (111) v sousední rovině tři nejbližší sousedy, v rovině (100) čtyři a v rovině (110) šest. Empirická relace $\gamma(111) < \gamma(100) < \gamma(110)$ platí pro většinu kovů v této struktuře. Proto u *fcc* struktury dochází k růstu v pořadí rovin (111) → (100) → (110)⁷.

Polymerní substráty s chemicky navázanými (roubovanými) nanočásticemi na povrchu lze použít v oblasti biomateriálů, zejména ve tkáňovém inženýrství pro řízení adheze a proliferaci buněčných kultur. Takto modifikované polymery se studují pro potenciální použití, např. pěstování kožních buněk při rozsáhlých ztrátách kožního krytu (těžké popáleniny, bérce vředy, atd.) nebo buněk hladkého svalstva (cévní bypassy, atd.).

2. Příprava nanočástic ušlechtilých kovů

Turkevich a spol. již v roce 1951 poprvé připravili koloidní roztok zlatých nanočástic (AuNP)⁴. Postup přípravy spočíval v redukci kyseliny chlorozlatité ve vodě. Pro stabilizaci nanočástic byl použit citrát sodný. Později (v roce 1970) tento postup vylepšili Frens a spol. a ukázali, že AuNP o průměru 10–20 nm mohou být připraveny reakcí zahřátého roztoku kyseliny chlorozlatité s citrátem sodným^{8,9}. V tomto postupu byl citrát sodný použit jako redukovač i stabilizátor. V roce 1981 Schmid a spol. ukázali, že zlaté nanočástice menších rozměrů (průměr $1,4 \pm 0,4$ nm) stabilizované fosfinem lze připravit redukcí chloro(trifenylfosfanu) zlatného (PPh_3AuCl) diboranem v benzenu¹⁰. Takto vzniklé zlaté klustry (tvořené 55 atomy zlata) stabilizované trifenyfosfanem jsou definovány sumárním vzorcem $\text{Au}_{55}(\text{PPh}_3)_{12}\text{Cl}_6$. V roce 1994 Brust a spol. publikovali, že zlaté klustry o velikosti 2–5 nm lze připravit redukcí zlatité soli borohydridem sodným v přítomnosti alkanthiolu jako stabilizátoru¹¹. Studovaným reakčním prostředím v této práci byl toluen, chloroform a hexan. Od počátku 90. let začal vzrůstat zájem o přípravu nanočástic různých tvarů. V těchto letech Masuda a spol. a Martin a spol. vyvinuli techniku pro přípravu zlatých tyčinek elektrochemickou redukcí přes nanoporézní membránu Al_2O_3 (cit.^{12,13}). Tyto zlaté tyčinky však měly rozměry větší než 100 nm. V současnosti se pro přípravu zlatých nanotyčinek stabilizovaných cetyltrimethylamonium bromidem (CTAB) používá postup růstu ze zárodku (z angl. seed growth). Tento postup poprvé publikovali Murphy a spol. a Nikoobath a El-Sayed^{1,14,15}.

Koloidní roztoky kovových nanočástic mohou být připraveny metodami „top-down“ nebo „bottom-up“¹⁶. Metoda „top-down“ je založena na broušení kovových materiálů a následné stabilizaci výsledných kovových nanočástic přidáním koloidních stabilizačních činidel. Dalším možným postupem přípravy kovových nanočástic je depozice z par. Lze připravit široké spektrum koloidních roztoků kovových nanočástic (např. Ag, Au, Pt), ale pouze v laboratorních podmínkách. Tento postup přípravy je omezen parametry přístroje a neumožňuje získat úzkou distribuci velikostí částic¹⁷. Metoda „bottom-up“ je založena na mokřím způsobu chemické přípravy nanočástic. Mezi tyto postupy patří redukce kovových solí, elektrochemické postupy nebo kontrolovaný rozklad organometalických sloučenin. Částice opět musí být stabilizovány. Existuje velké množství používaných stabilizátorů. Mohou to být např. donorové ligandy, polymery nebo také povrchově aktivní látky, které se především používají ke kontrolovanému růstu klastrů a zabraňují jejich shlukování.

Redukce solí přechodných kovů v přítomnosti stabilizačních činidel je jednou z nejčastěji používaných metod přípravy kovových koloidů ve vodném prostředí nebo prostředí organických rozpouštědel¹⁸. Mezi jednotlivé kroky přípravy nanoklastrů patří nukleace, růst a tvorba aglomerátů¹⁹. Postup je následující: (i) v počátečním stavu nukleace je kovová sůl redukována na kov, (ii) v roztoku se atomy kovů mohou spojit s ostatními ionty kovů, atomy kovů

nebo klustry a vytvoří zárodek. Velikost zárodku (obvykle < 1 nm) závisí na pevnosti vazeb kov-kov a rozdílu redoxního potenciálu mezi kovovou solí a použitým redukčním činidlem. Stabilizační činidla jsou velmi důležitá, protože zabraňují tvorbě sraženin nanočástic. Existují dva druhy stabilizace¹⁷. Elektrostatická stabilizace je založena na odpuzování částic v elektrické dvojvrstvě. Druhou metodou je sterická stabilizace, které lze dosáhnout koordinací stericky objemných molekul, působících jako ochranné štíty na povrchu kovové nanočástice. Tímto způsobem jsou jednotlivá jádra od sebe oddělena a nedochází k jejich aglomeraci. Někdy se využívá i kombinace obou metod. Jsou popsány následující skupiny stabilizátorů: polymery a blokové kopolymery, donory síry, dusíku a fosforu (tj. thioethery, aminy a fosfany), rozpouštědla (tetrahydrofuran, tetrahydrofuran v methanolu), alkoholy, povrchově aktivní látky a organometalika. Obecně platí, že pro přípravu koloidních roztoků kovů v organických rozpouštědlech se používají lipofilní stabilizátory (organosoli). Naopak pro stabilizaci koloidních roztoků kovů ve vodě se používají hydrofilní činidla (hydrosoli). Ačkoli stabilizátory byly původně používány jako prevence proti srážení nanočástic, používají se také pro kontrolu tvaru a velikosti nanočástice, stejně tak mohou být použity pro kontrolu povrchových vlastností v průběhu přípravy nanočástic²⁰. Nejběžnější a nejčastěji používané způsoby přípravy různých tvarů zlatých nanočástic jsou zpracovány v několika obsáhlých review a publikovány v mnoha pracích, např.^{1,9,10,14,15,21}.

3. Funkcionalizace nanočástic

Studium chemické modifikace povrchu nanočástic je atraktivní pro zvýšení jejich biologické kompatibility, ale také ke zjištění účinku na nanočástice samotné. Syntetické činidlo CTAB, které je důležité pro přípravu zlatých tyčinek a dalších tvarů nanočástic, je samo toxické vůči buňkám a to již v mikromolárních koncentracích²².

Po navázání toxického CTAB na povrch nanočástic jsou nanočástice méně vhodné pro biotologické prostředí než by bylo v případě, kdyby byly molekuly CTAB volné v roztoku. Proto se přípustná dávka (do organismu) nanočástic s navázanými molekulami CTAB liší od dávky molekul CTAB samotných²².

Funkcionalizace povrchu nanočástic v oblasti biomedicínských aplikací se často provádí podle Nuzza a Whiteside, kteří se zabývali tvorbou samospořádaných monovrstev (SAM, z angl. self-assembled monolayers) molekul na planárním zlatě^{23,24}. Bard²⁵ a Murray²⁶ studovali dynamiku a konformace těchto SAM monovrstev pomocí elektrochemických, skenovacích a hmotnostních spektrometrických metod. V současné době existuje množství molekul obsahujících vhodné funkční skupiny a pasivačních činidel, které se používají v biomedicínských aplikacích pro modifikaci povrchu nanočástic. Nejčastěji používanými funkčními skupinami pro navázání na povrch nanočástice jsou thiohy, dithiohy, dithiokarbamáty, aminy, karboxy-

ly, selenidy, isothiokaynáty nebo fosfíny¹. Nedávné studie ukázaly, že vytvoření vazby C-Au lze provést navázáním látky, která zanechává na povrchu skupiny trimethylcínu, avšak pro využití v biomedicině je nutno provést další testy²⁷.

Pevnost vazby mezi funkční skupinou a povrchem Au nanočástice hraje klíčovou roli v určování následné funkčnosti, hustotě pokrytí povrchu a velikosti povrchové energie, což jsou základní faktory určující funkčnost AuNP. Dithioly jsou často považovány za vhodnější než alkanthioly díky jejich dvojnásobné možnosti navázání. Tyto molekuly jsou však ve skutečnosti náchylné k oxidační desorpci způsobené nedostatečným pokrytím povrchu AuNP²⁸. Cima a spol. ukázali, že thiolové skupiny, které se nejčastěji používají pro navázání nanočástic v trvalých biomedicinských aplikacích, mohou zůstat naadsorbovány na povrchu nanočástice až 35 dní v závislosti na fyziologických podmínkách²⁹. Z toho vyplývá, že thioly mohou být preferovanou funkční skupinou pro navázání biologických molekul na povrch nanočástice v mnoha biologických aplikacích.

Společná podmínka pro většinu aplikací Au nanočástic v biomedicině je nutnost odpovídající stability v biologickém prostředí obsahujícím vysokou koncentraci séra a majícím velkou iontovou sílu. Polyethylenglykol (PEG) obsahující thiolovou skupinu (PEG-SH) je zdaleka nejběžněji používaným ligandem pro navázání na povrch Au nanočástice, který se používá v biomedicině. Je známo, že hydrofilita umožňuje ve vodě rozptýleným AuNP spojit se s velkým množstvím lipofilních molekul a tak zvýšit polčas oběhu (v biologickém prostředí) tím, že blokuje adsorpci proteinů ze séra a opsoninů, které usnadňují vyčištění retikulárně-endotelového systému³⁰.

Kationtové povrchově aktivní látky, které jsou důležité pro řízení tvaru AuNP (cetylamonium bromid – CTAB, cetylpyridinium chlorid – CPC, cetyltrimonium chlorid – CTAC, atd.), jsou na povrch adsorbovány jiným mechanismem, protože vytvářejí na povrchu AuNP dvojvrstvu³¹. Tyto kvartérní amoniové soli reagují s rozpouštědlem (tj. vodou) za předpokladu, že bromid je chemisorbován na povrchu zlaté nanočástice. Výsledky z hmotnostní spektrometrie naznačují, že vazba Au-Br je prokázána na povrchu částice³². Následná konjugace biomolekul pak spočívá v nahrazení nebo překrytí této povrchově aktivní dvojvrstvy.

4. Aplikace nanočástic a jejich cytotoxicita

Nanočástice budí velkou pozornost v mnoha oblastech chemie, fyziky, materiálových věd, medicíny, fotoniky a to díky jejich unikátním fyzikálním (optickým, elektrickým a magnetickým) a chemickým vlastnostem^{33–36}. Díky tomu, že kovové nanočástice (např. Au, Ag, Pt, Pd) (cit.^{37,38}) mohou mít různé velikosti a tvary (kulička, tyčinka, hvězda, disk, lastura, prismy atd.), nacházejí uplatnění v katalýze, biologii nebo také v nanotechnologiích^{39,40}. Na toto téma bylo zpracováno několik obsáhlých přehledových článků a publikována řada knih, např.^{36,41–43}.

Pro aplikace v biologii a biomedicině je nutné brát v úvahu také toxicitu nanočástic⁴⁴. Běžně používané zlaté nanočástice, větší než 10 nm, nejsou toxické. Toxicita většinou nezávisí na molekulách ligandů. V případě CTAB, který se používá pro stabilizaci zlatých nanotyčinek (AuNR), však bylo zjištěno, že je toxický pro buňky děložního čípku (HeLa)⁴⁵. Toxický účinek u takto stabilizovaných tyčinek není pravděpodobně způsoben nanočásticemi, ale spíše samotným stabilizujícím ligandem. Zlaté tyčinky stabilizované nekovalentně naadsorbovanou dvojvrstvou CTAB mohou způsobit desorpci buněk⁴⁶. Tyto výsledky ukazují, že toxické vlastnosti závisí také na vazné síle ligandu navázaného na povrch Au nanočástice, a proto je důležité studovat možné nežádoucí účinky dalších ligandů.

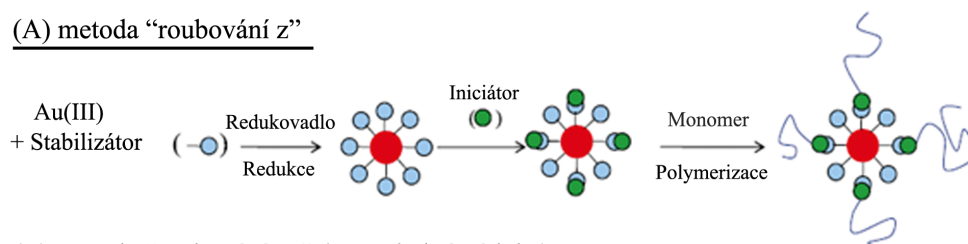
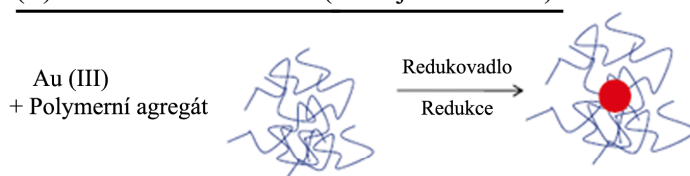
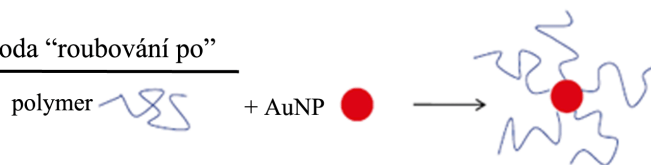
Na rozdíl od velkých nanočástic ukázaly AuNP s velikostí pod 2 nm neočekávaně vysokou cytotoxicitu k různým buněčným liniím. Např. systematické výzkumy ve vodě rozpustných AuNP stabilizovaných produkty TPP (z angl. two-photon photopolymerization) o velikosti částic 0,8–15 nm, testovaných na čtyřech druzích rakovinových buněk (karcinomu epitelu buňky děložního čípku (HeLa); rakovinových buněk melanomu (SK-Mel-28), myších fibroblastů (L929) a myších monocytů/makrofágů (J774A1)), které představují hlavní buněčné typy s bariérovou fagocytární funkcí, ukázaly, že nanočástice zlata s velikostí 1,4 nm vykazují vysokou cytotoxicitu srovnatelnou s cytostatikem *Cisplatin*⁴⁷. V téže sérii měření se ukázalo, že AuNP o velikosti 15 nm a antivirotoikum *Tauradon* nejsou toxické ani při 60–100 násobně vyšších koncentracích. Jiné studie ukázaly, že AuNP o velikosti 1,4 nm způsobí rychlou buněčnou smrt nekrozou do 12 hodin, kdežto nanočástice blížící se velikosti 1,2 nm způsobí programovanou buněčnou smrt (apoptózu)⁴⁸.

Z výše uvedených příkladů je patrné, že cytotoxicita významně ovlivňuje biologii buňky. Na cytotoxicitu mají velký vliv velikost a tvar nanočástice, ale také aspekty podílející se na stabilitě nanočástice (tj. povrchový náboj, rozpouštědlo, polymerní ochranná vrstva)⁴⁹.

5. Imobilizace povrchu polymeru nanočásticemi ušlechtilých kovů

V literatuře jsou popisovány tři odlišné způsoby roubování nanočástic na povrch polymeru: (i) „roubování z“ (angl. grafting from) – polymerní řetězec narůstá z malých iniciátorů, které jsou zakotveny na povrchu AuNP⁵⁰, (ii) „roubování na“ (angl. grafting to) – syntéza AuNP v jedné nádobě s polymerem, jehož povrch obsahuje např. atomy síry, (iii) „roubování po“ aktivaci substrátu (angl. post-modification of pre-formed AuNPs) – nanočástice jsou připraveny klasickým postupem, např. podle Brust-Schiffrina, a následuje jejich reakce s polymerem⁵¹.

Ad (i). Metoda v prvním kroku spočívá ve vytvoření kovalentně navázaných funkčních skupin na povrch AuNP. Tyto funkční skupiny jsou iniciátory polymerizace vhodného monomeru (obr. 1A)⁵¹. Tato metoda poskytuje husté „kartáče“ polymerů. Hustota kartáčů může být tak vysoká,

(A) metoda “roubování z”**(B) metoda “roubování na” (tzv. v jedné nádobě)****(C) metoda “roubování po”**

Obr. 1. Schématické znázornění roubování AuNP: (A) – „roubování z“, (B) – „roubování na“ a (C) – „roubování po“ aktivaci polymeru⁵¹

že vzdálenost mezi jednotlivými navázanými místy (hustota roubování) může být menší než gyrační poloměr samotného polymeru. Tento postup, při kterém se velmi často používá běžná radikálová polymerizace nebo radikálová polymerizace iniciovaná přenosem atomu (ATRP), přináší následující výhody: (a) přesné řízení molekulové hmotnosti (tj. tloušťky polymerní vrstvy) navázaných polymerů, (b) univerzální strukturní řešení polymerní vrstvy a (c) efektivitu navázání polymerů na AuNP s vysokou hustotou. I když je tato metoda vhodná spíše pro syntetické polymery, existují vybrané biopolymery (oligonukleotidy, peptidy), pro které je tento postup také vhodný⁵¹.

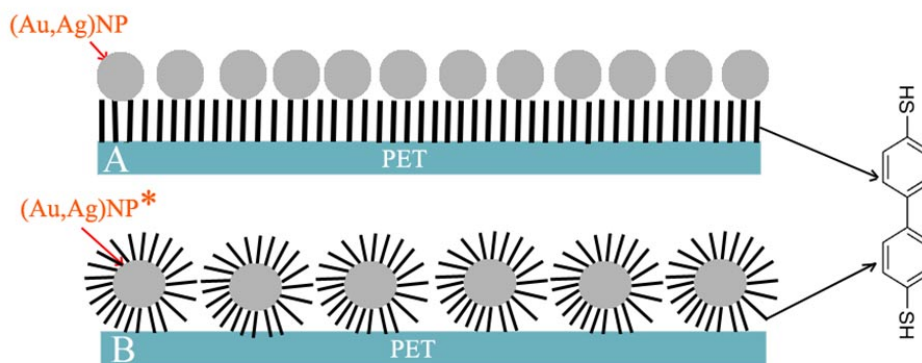
Ad (ii). U metody – „grafting to“ polymer s funkčními koncovými skupinami interaguje se zlatem $\text{Au}^{(\text{III})}$ (viz obr. 1B)⁵¹. Výhodou této metody je dostupnost mnoha vhodných druhů polymerů a jednoduchost syntézy (probíhá v jedné nádobě). Při syntéze odpadá mnoho pracovních kroků, které vyžaduje metoda „grafting-from“. Makromolekuly polymerů vhodných pro tento postup (stejně jako pro postup „grafting from“) jsou zakončeny následujícími funkčními skupinami, např. dithioestery, trithioestery, thiooly, thioethery, disulfidy⁵². Tyto polymery vytvářejí s AuNP kovalentní vazbu. Biopolymery nebo poly(vinylpyridin), poly(ethylenglykol), poly(vinylalkohol), poly(vinylmethylether), poly(ethylenimin) vytvářejí vrstvu kolem AuNP na základě mnohonásobné fyzikální adsorpce. Takto vytvořená micelární struktura je nestabilní. Sítování polymerních řetězců v polymerní vrstvě je účinný způsob pro zvýšení stability výsledného Au nanokompozitu. Touto metodou vzniká řidší pokrytí povrchu AuNP⁵¹.

Ad (iii). Metodou „post-modification of pre-formed AuNPs“ jsou připraveny nanočástice klasickým postupem,

např. podle Brust-Schiffrina a teprve poté následuje interakce s polymerem (viz obr. 1C)⁵¹. Smísením obou připravených materiálů (polymeru + AuNP) lze eliminovat nežádoucí faktory přípravy Au nanokompozitů, jako je např. rozptyl v distribuci velikosti AuNP a molekulové hmotnosti polymeru. Nevýhodou tohoto postupu je však nízká efektivita navázání polymeru na povrch AuNP v důsledku sterických bránění jednotlivých polymerních řetězců a také neúmyslná adsorpce funkčních skupin v polymeru. Stejně jako v předchozích postupech i v tomto případě se používají polymery obsahující skupiny $-\text{SH}$, které vytvářejí kovalentní vazbu mezi AuNP a polymerem⁵¹.

6. Roubování Au a Ag nanočástic na polymer

V této kapitole jsou uvedeny některé naše výsledky, které jsme získali při roubování kovových nanočástic na povrch aktivovaného polymeru podle postupu (iii) (viz obr. 1C). Polymer (polyethylenetereftalát, PET) byl aktivován Ar plazmatem (doba expozice 120 s; výkon 8,3 W) a následně roubován molekulami thiolu (bifenyl-4,4'-dithiol, BPD). BPD byl vybrán na základě předchozích výsledků⁵³ jako mediátor pro navázání nanočástic ušlechtilých kovů – Au a Ag (AuNP a AgNP). Mezivrstva thiolů byla zvolena na základě známé silné afinity síry a zlata⁴⁸. Byly použity dva postupy roubování kovových nanočástic na povrch PET aktivovaný plazmatem (obr. 2). V prvním postupu (A) byly nanočástice (AuNP, AgNP) vázány na plazmatem aktivovaný povrch PET, který byl předem roubován BPD. V druhém případě (B) byl povrch nanočástic nejprve funkcionalizován pomocí BPD a tyto nanočástice



Obr. 2. Schéma roubování povrchu polymeru (PET) kovovými nanočásticemi: A – aktivace povrchu plazmatem, naroubování BPD a následně navázání AuNP resp. AgNP; B – aktivace povrchu plazmatem, následné naroubování AuNP* resp. AgNP* funkcionalizovaných BPD^{54,55}

(AuNP*, AgNP*) byly poté roubovány přímo na povrch plazmatem aktivovaného polymeru. Tyto postupy byly zvoleny s cílem dosáhnout co nejvyšší koncentrace naroubovaných kovových nanočástic na povrch PET^{54,55}.

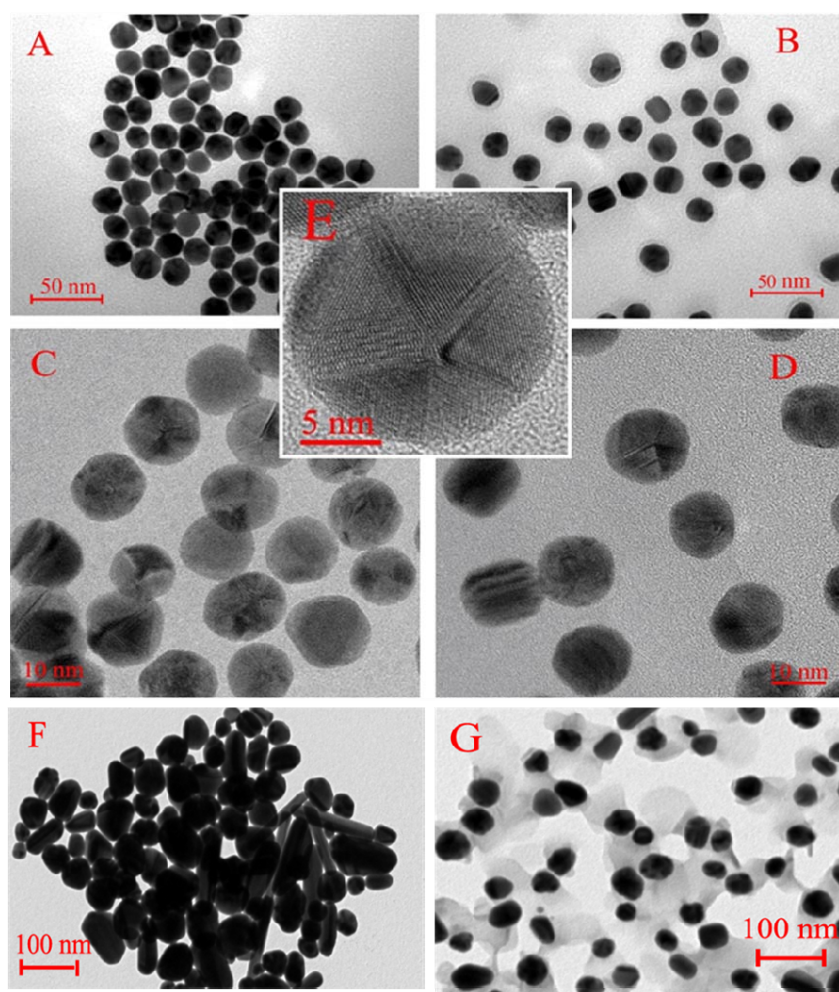
Na obr. 3A–E jsou uvedeny snímky z transmisní elektronové mikroskopie (TEM) a transmisní elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením (HRTEM), získané při analýze Au a Ag nanočástic před a po jejich funkcionalizaci BPD. Z obr. 3 je patrné, že velikost Au nanočástic zůstává zachována před i po roubování BPD (viz obr. 3A, B). Průměrná velikost Au nanočástic byla stanovena pomocí TEM na ca 18 nm. Ze snímků je zřejmé, že roubování BPD zabráňuje agregaci nanočástic. Je známo, že u objemového zlata s kubickou plošně centrovanou mřížkou (*fcc*) dochází k růstu částice převážně ve směru roviny (111)⁵⁶. Při použití HRTEM (obr. 3C–E) je očividné, že nanočástice mají strukturu dekaedru. Reálné nanočástice obsahují vady nebo mají vysoké vnitřní napětí⁷. Z obr. 3E (detail snímku C) je zřetelné, že atomy Au jsou uspořádány ve směru roviny (111). HRTEM snímek AuNP (obr. 3E) navíc prokazuje typickou pětičetnou osu symetrie charakteristickou pro nanočástice kovů o „velmi malých“ rozměrech. Nanočástice s povrchem modifikovaným BPD (obr. 3D) již nevykazují strukturu dekaedru a odlišují se tak od nenaroubovaných nanočástic. Tato změna ve struktuře nanočástice je způsobena poklesem povrchového napětí v důsledku naroubování BPD na povrch AuNP.

Naproti tomu z obr. 3F a 3G je zřejmé, že Ag nanočástice nemají stejný tvar a velikost. Průměrná velikost nanočástic v roztoku byla stanovena pomocí TEM na 45 až 50 nm. Ze snímků též vyplývá, že roubování BPD rovněž potlačuje agregaci Ag nanočástic⁵⁵.

Nanočástice AuNP (resp. AuNP*) byly charakterizovány pomocí UV-Vis spektroskopie. Absorpční spektrum roztoku nanočástic AuNP (obr. 4A) vykazuje maximum při 521 nm, což odpovídá kmitu plazmonů v příčném smě-

ru. Pozice píku povrchové plazmonové rezonance (SPR) je v souladu s velikostí nanočástic stanovených pomocí TEM. Maximum absorpce SPR píku se posouvá k vyšším vlnovým délkám s rostoucí velikostí nanočástic⁷. Ze spektra je patrné, že poloha SPR píku se v případě AuNP* posouvá k delším vlnovým délkám. Tento výsledek je v souladu s výše diskutovanou skutečností, že nanočástice mají povrch zvětšený o navázané molekuly BPD. Absorpční spektrum roztoku nanočástic AgNP (obr. 4B) vykazuje maximum ve viditelné části spektra při ca 450 nm, což odpovídá kmitu plazmonů opět v příčném směru⁵⁷. Absorpční vlnová délka (SPR) se snižuje s klesající velikostí nanočástic⁷. Ze spektra je patrné, že poloha SPR píku se v případě AgNP* posouvá ke kratším vlnovým délkám (tj. 400 nm). Tento výsledek potvrzuje (obr. 4B), že funkcionalizované Ag nanočástice (AgNP*) nabývají menších rozměrů v porovnání s AgNP⁵⁵.

Chemické složení povrchu původního PET (v hloubce ca 8–10 monovrstev), aktivovaného plazmatem, roubovaného BPD a následně nanočásticemi ušlechtilých kovů bylo studováno pomocí rentgenové fotoelektronové mikroskopie (XPS). Je známo, že modifikace (aktivace, degradace) polymeru plazmatem má za následek tvorbu radikálů díky štěpení chemických vazeb v makromolekule a následně vede k oxidaci povrchové vrstvy polymeru. Tím dochází k tvorbě kyslíkatých skupin (karbonylových, karboxylových, hydroxylových a esterových)^{58,59}. Modifikace PET plazmatem způsobí mírný nárůst koncentrace kyslíku, která následným roubováním thiolů a kovových nanočástic klesá (viz tab. I), což je způsobeno rozpouštěním a odmýváním kratších polymerních řetězců, které vznikly rozštěpením makromolekul. Pokles koncentrace kyslíku je nejvíce patrný po roubování BPD na PET. Přítomnost síry ve spektrech potvrzuje naroubování BPD na aktivovaný povrch. Po navázání nanočástic dochází k mírnému poklesu koncentrace síry. Koncentrace naroubovaných nanočástic

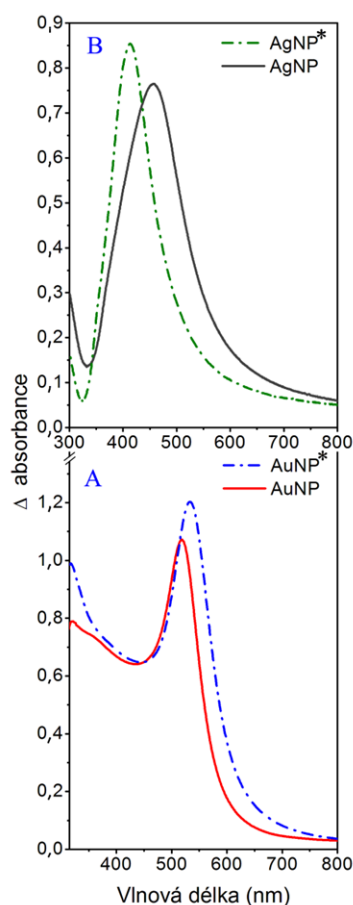


Obr. 3. (i) TEM snímky: A – AuNP a B – AuNP* funkcionalizovaných pomocí BPD; (ii) HRTEM snímky: C – AuNP a D – AuNP* funkcionalizovaných pomocí BPD; (iii) E – vybraný detail snímku C; (iv) TEM snímky: F – AgNP a G – AgNP* funkcionalizovaných pomocí BPD^{54,55}

Tabulka I

Koncentrace prvků stanovená pomocí XPS pro původní PET (23 μm), PET modifikovaný plazmatem (čas 120 s, výkon 8,3 W) a PET roubovaný thiolem (BPD) a následně roubovaný nanočásticemi ušlechtilých kovů Au a Ag (AuNP a AgNP) nebo nanočásticemi s povrchem funkcionalizovaným BPD (AuNP* a AgNP*)^{54,55}

Vzorek	Koncentrace prvků [at. %]				
	C(1s)	O(1s)	S(2p)	Ag(3d)	Au(4f)
PET	73,7	26,3	–	–	–
PET/plazma	67,0	33,0	–	–	–
PET/plazma/BPD	75,4	18,9	5,7	–	–
PET/plazma/BPD/AuNP	72,6	24,6	2,7	–	0,1
PET/plazma/AuNP*	72,2	26,4	1,4	–	0,02
PET/plazma/BPD/AgNP	75,0	23,1	1,1	0,8	–
PET/plazma/AgNP*	77,1	22,5	0,4	–	–



Obr. 4. UV-Vis absorpční spektra vodných roztoků: A – Au a B – Ag nanočástic. Čerchované čáry představují spektra roztoků AuNP* a AgNP* po funkcionalizaci povrchu nanočástic BPD^{54,55}

se liší podle postupu jejich navázání. Zatímco Au bylo detegováno při obou postupech, Ag bylo detegováno pouze po roubování nefunkcionalizovaných AgNP. V případě AgNP* byla koncentrace Ag zřejmě pod mezí detekce XPS. Z XPS analýzy vyplývá, že nanočástice obou kovů se roubojí ve větším množství v případě, kdy jsou roubovány nanočástice na povrch, který je předem naroubovaný thiolem^{54,55}. Když byly nanočástice předem roubovány BPD a poté navázány na aktivovaný polymer, naroubovalo se výrazně nižší množství kovu.

Povrchová morfologie původního PET, aktivovaného plazmatem a následně roubovaného BPD a kovovými nanočásticemi, byla studována pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM, obr. 5). Plazmatická aktivace (degradace) způsobí jen nepatrné změny v morfologii a drsnosti polymeru. K dramatické změně v povrchové morfologii a drsnosti dochází po roubování BPD na PET aktivovaný plazmatem ($R_a = 4,5$ nm). Hodnota R_a vyjadřuje průměrnou odchylku všech bodů vzorku od roviny vzorku. Při porovnání AFM snímků vzorků roubovaných AuNP resp. AuNP* je patrné, že při roubování AuNP došlo k navázání

většího počtu nanočástic než v případě roubování AuNP*. Stejný výsledek byl potvrzen i v případě roubování stříbrných nanočástic AgNP vs. AgNP*. Při roubování AgNP na povrch PET dochází k dramatickému nárůstu drsnosti povrchu ($R_a = 21,0$ nm). Tato prudká změna povrchové drsnosti je způsobena tvorbou agregátů AgNP. Vznik shluků AgNP může být zapříčiněn povrchovou energií plazmatem modifikovaného PET.

Elektrokinetická analýza, resp. studium elektrokinetického potenciálu (obr. 6) potvrdilo výsledky získané pomocí výše uvedených analytických metod. Po roubování BPD na plazmatem aktivovaný polymer dochází k poklesu hodnot zeta potenciálu oproti původnímu PET⁵⁴. Tento pokles je zřejmě způsoben přítomností thiolových skupin na povrchu vzorku⁵⁴. Další pokles zeta potenciálu je pozorován po naroubování Au i Ag nanočástic. Z obr. 6 je dále patrné, že hodnota zeta potenciálu je po navázání AuNP* na PET stejná jako po naroubování BPD na PET, což dokazuje přítomnost –SH skupin pro oba experimenty. Výsledky zeta potenciálu potvrdily úspěšné navázání AuNP resp. AuNP*. Mírný pokles zeta potenciálu po naroubování AgNP* ukazuje, že došlo k navázání i „malého“ množství AgNP*. Všechny tyto výsledky jsou v souladu s výsledky získanými pomocí XPS analýzy (viz výše).

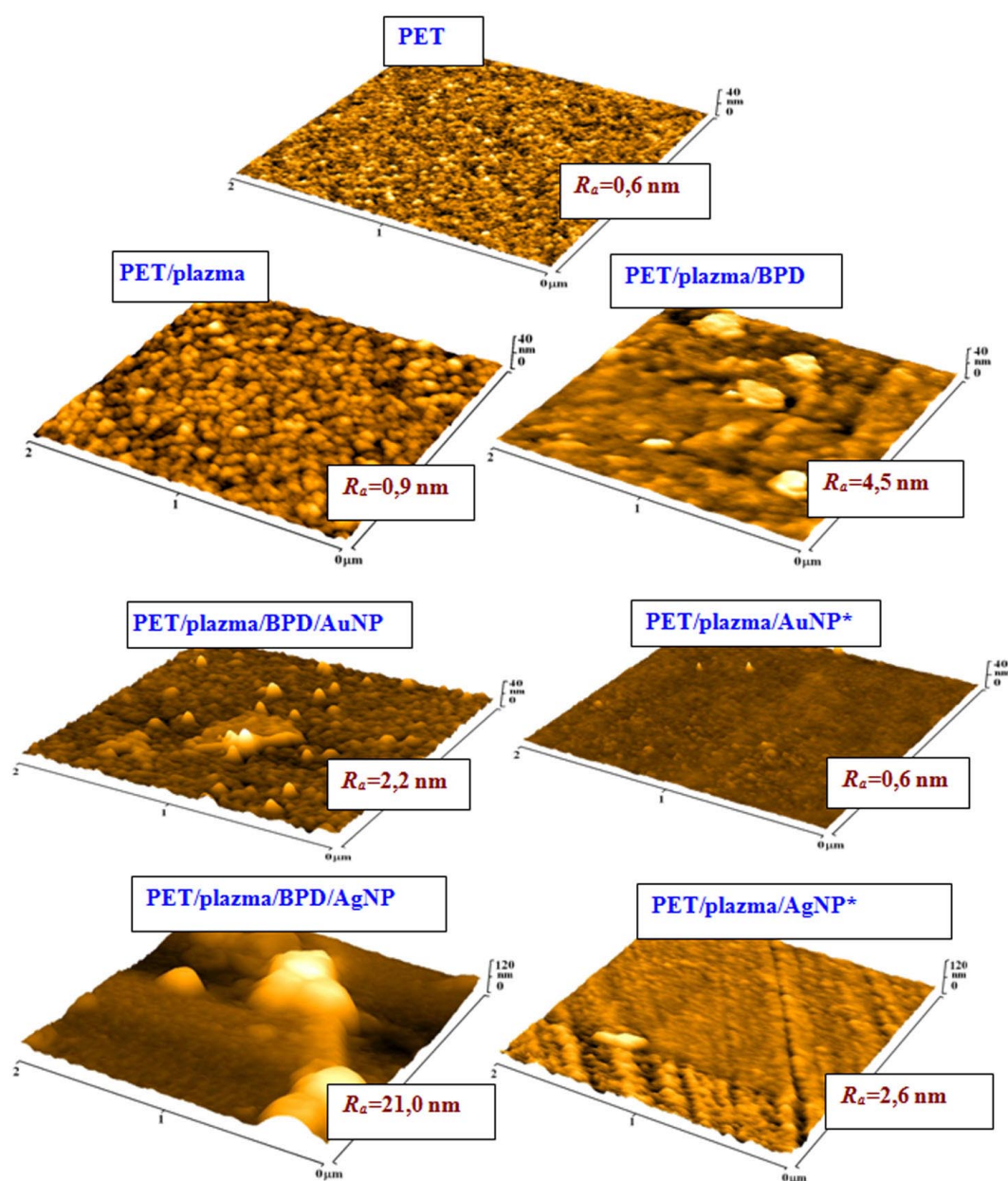
7. Závěr

Tato práce shrnuje základní informace o některých vlastnostech a metodách přípravy nanočástic ušlechtilých kovů, o historii přípravy, funkcionalizace a aplikaci těchto nanočástic. Dále diskutuje jejich možné interakce s polymerním substrátem. Podstatná část této práce je věnována technikám roubování a charakterizace Au a Ag nanočástic chemicky navázaných na plazmatem upravený polymerní substrát. Polymerní substráty s imobilizovanými nanočásticemi ušlechtilých kovů jsou velmi perspektivní pro medicínské aplikace, neboť lze předpokládat, že zabraňují tvorbě bakteriálního biofilmu.

Autoři děkují za finanční podporu pro svoji vědeckou práci Grantové agentuře ČR v projektech č. 14-18149P (A.Ř.) a P108/12/1168.

Použité zkratky

AuNP	angl. gold nanoparticles, zlaté nanočástice
AuNP*	zlaté nanočástice funkcionalizované BPD
AgNP	angl. silver nanoparticles, stříbrné nanočástice
AgNP*	stříbrné nanočástice funkcionalizované BPD
BPD	bifenyl-4,4'-dithiol
CTAB	cetyltrimethylamonium bromid
HRTEM	angl. high resolution transmission electron microscopy, transmisní elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením
TEM	angl. transmission electron microscopy, transmisní elektronová mikroskopie
UV-Vis	angl. ultraviolet-visible spectroscopy, spektros-

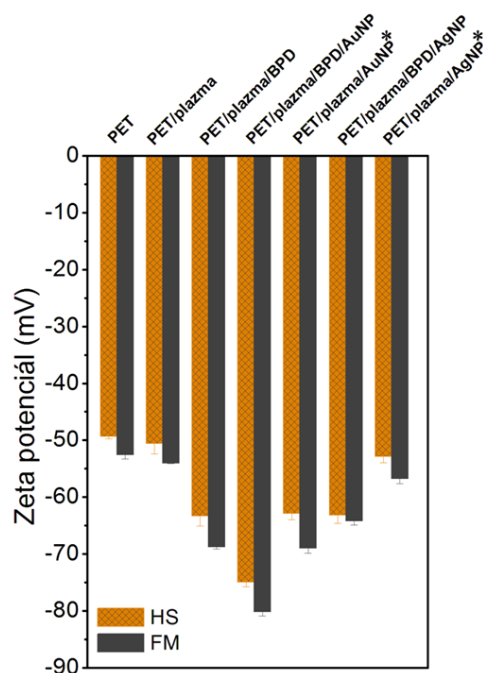


Obr. 5. 3D AFM snímky pro původní (PET), PET plazmatem aktivovaný (PET/plazma), PET aktivovaný plazmatem a následně roubovaný bifenylidithiolem (PET/plazma/BPD) a následně kovovými nanočásticemi (PET/plazma/BPD/AuNP; PET/plazma/BPD/AgNP) a PET plazmatem aktivovaný a následně roubovaný nanočásticemi funkcionalizovanými BPD (PET/plazma/AuNP*; PET/plazma/AgNP*). R_a je povrchová drsnost v nm^{54,55}

XPS kopie v blízké ultrafialové a viditelné oblasti
angl. X-ray photoelectron spectroscopy, rentge-
nová fotoelektronová spektroskopie
AFM angl. atomic force microscopy, mikroskopie
atomárních sil

LITERATURA

1. Dreaden E. C., Alkilany A. M., Huang X., Murphy C. J., El-Sayed M. A.: Chem. Soc. Rev. 41, 2740 (2012).
2. Faraday M.: Philos. Trans. R. Soc. 147, 145 (1857).
3. Mie G.: Ann. Phys. 330, 377 (1908).
4. Turkevich J., Stevenson P. C., Hiller J.: Discuss. Fara-



Obr. 6. Zeta potenciál pro původní (PET), PET plazmatem aktivovaný (PET/plazma), PET aktivovaný plazmatem a následně roubovaný bifenylidithiolem (PET/plazma/BPD) a následně kovovými nanočásticemi (PET/plazma/BPD/AuNP; PET/plazma/BPD/AgNP) a PET plazmatem aktivovaný a následně roubovaný nanočásticemi funkcionalizovanými BPD (PET/plazma/AuNP*; PET/plazma/AgNP*)^{54,55}

day Soc. 11, 55 (1951).

- Kreibig U., Vollmer M.: *Optical Properties of Metal Clusters*. Springer-Verlag, New York 1995.
- Jin R.: *Nanoscale* 2, 343 (2010).
- Mayoral A., Barron H., Salas R. E., Duran A. V., Yacamán M. J.: *Nanoscale* 2, 335 (2010).
- Frens G.: *Kolloid-Z. Z. Polym.* 250, 736 (1972).
- Frens G.: *Nature* 241, 20 (1973).
- Schmid G., Pfeil R., Boese R., Bandermann F., Meyer S., Calis G. H. M., van der Velden J. W. A.: *Chem. Ber.* 114, 3634 (1981).
- Brust M., Walker M., Bethell D., Schiffrin D. J., Whyman R.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 7, 801 (1994).
- Masuda H., Tanaka H., Baba N.: *Chem. Lett.* 4, 621 (1990).
- Martin C. R.: *Adv. Mater.* 3, 457 (1991).
- Jana N. R., Gearheart L., Murphy C. J.: *Adv. Mater.* 13, 1389 (2001).
- Nikoobakht B., El-Sayed M. A.: *Chem. Mater.* 15, 1957 (2003).
- Gaffet E., Tachikart M., ElKedim O., Rahouadj R.: *Mater. Charact.* 36, 185 (1996).
- Bradley J. S.: *Clusters and Colloids*. VCH, Weinheim

- 1994.
- Toshima N., Yonezawa T.: *New J. Chem.* 22, 1179 (1998).
- Rothe J., Hormes J., Bonnemann H., Brijoux W., Siepen K.: *J. Am. Chem. Soc.* 120, 6019 (1998).
- Zhou J., Ralston J., Sedev R., Beattie D. A.: *J. Colloid Interface Sci.* 331, 251 (2009).
- Barbosa S., Agrawal A., Rodríguez-Lorenzo L., Pastoriza-Santos I., Alvarez-Puebla R. A., Kornowski A., Weller H., Liz-Marzán L. M.: *Langmuir* 26, 14943 (2010).
- Alkilany A. M., Nalaria P. K., Hexel C. R., Shaw T. J., Murphy C. J., Wyatt M. D.: *Small* 5, 701 (2009).
- Love J. C., Estroff L. A., Kriebel J. K., Nuzzo R. G., Whitesides G. M.: *Chem. Rev.* 105, 1103 (2005).
- Bain C. D., Troughton E. B., Tao Y. T., Evall J., Whitesides G. M., Nuzzo R. G.: *J. Am. Chem. Soc.* 111, 321 (1989).
- Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. J. Wiley, New York 2001.
- Sardar R., Funston A. M., Mulvaney P., Murray R. W.: *Langmuir* 25, 13840 (2009).
- Cheng Z. L., Skouta R., Vazquez H., Widawsky J. R., Schneebeli S., Chen W., Hybertsen M. S., Breslow R., Venkataraman L.: *Nat. Nanotechnol.* 6, 353 (2011).
- Hou W., Dasog M., Scott R. W. J.: *Langmuir* 25, 12954 (2009).
- Flynn N. T., Tran T. N. T., Cima M. J., Langer R.: *Langmuir* 19, 10909 (2003).
- Dreaden E. C., Mwakwari S. C., Sodji Q. H., Oyeler A. K., El-Sayed M. A.: *Bioconjugate Chem.* 20, 2247 (2009).
- Nikoobakht B., El-Sayed M. A.: *Langmuir* 17, 6368 (2001).
- Liao H., Hafner J. H.: *Chem. Mater.* 17, 4636 (2005).
- Boisselier E., Astruc D.: *Chem. Soc. Rev.* 38, 1759 (2009).
- Radwan S. H., Azzazy H. M. E.: *Expert Rev. Mol. Diagn.* 9, 511 (2009).
- Dick K., Dhanasekaran T., Zhang Z., Meisel D.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 2312 (2002).
- Kamat P. V.: *J. Phys. Chem. B* 106, 7729 (2002).
- Kou J., Varma R. S.: *RSC Adv.* 2, 10283 (2012).
- Guo S., Wang E.: *Nano Today* 6, 240 (2011).
- Řezanka P., Záruba K., Král V.: *Chem. Listy* 101, 881 (2007).
- Slepička P., Siegel J., Lyutakov O., Švorčík V.: *Chem. Listy* 106, 875 (2012).
- Huang X., Neretina S., El-Sayed M. A.: *Adv. Mater.* 21, 4880 (2009).
- Alkilany A. M., Thompson L. B., Boulos S. P., Sisco P. N., Murphy C. J.: *Adv. Drug Deliver. Rev.* 64, 190 (2012).
- Mayer K. M., Hafner J. H.: *Chem. Rev.* 111, 3828 (2011).
- Opršal J., Knotek P., Pouzar M., Palarčík J., Novotný L.: *Chem. Listy* 107, 386 (2013).

45. Niidome T., Yamagata M., Okamoto Y., Akiyama Y., Takahashi H., Kawano T., Katayama Y., Niidome Y.: *J. Control. Release* 114, 343 (2006).
46. Connor E. E., Mwamuka J., Gole A., Murphy C. J., Wyatt M. D.: *Small* 1, 325 (2005).
47. Pan Y., Neuss S., Leifert A., Fischler M., Wen F., Simon U., Schmid G., Brandau W., Jahnke-Dechent W.: *Small* 3, 1941 (2007).
48. Homberger M., Ulrich S.: *Philos. Trans. R. Soc., A* 368, 1405 (2010).
49. Cui W., Li J., Zhang Y., Rong H., Lu W., Jiang L.: *Nanomedicine: NBM* 8, 46 (2012).
50. Kim D. J., Kang S. M., Kong B., Kim W. J., Paik H. J., Choi H., Choi I. S.: *Macromol. Chem. Phys.* 206, 1941 (2005).
51. Uehara N.: *Anal. Sci.* 26, 1219 (2010).
52. Aqil A., Qiu H., Greisch J. F., Jerome R., Pauw E. D., Jerome C.: *Polymer* 49, 1145 (2008).
53. Řezníčková A., Kolská Z., Siegel J., Švorčík V.: *J. Mater. Sci.* 47, 6297 (2012).
54. Řezníčková A., Kolská Z., Záruba K., Švorčík V.: *Mater. Chem. Phys.* 145, 484 (2014).
55. Řezníčková A., Novotná Z., Kolská Z., Žvátora P., Švorčík V.: *Nanoscale Res. Lett.* 9, 305 (2014).
56. Chui Y. H., Grochola G., Snook I. K., Russo S. P.: *Phys. Rev. B* 75, 033404 (2007).
57. Schultz D.A.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 14, 13 (2003).
58. Řezníčková A., Kolská Z., Hnatowicz V., Stopka P., Švorčík V.: *Nucl. Instrum. Methods B* 269, 83 (2011).
59. Švorčík V., Kolářová K., Slepíčka P., Macková A., Novotná M., Hnatowicz V.: *Polym. Degrad. Stabil.* 91, 1219 (2006).

A. Řezníčková^a, Z. Novotná^a, Z. Kolská^b, P. Ulbrich^c, and V. Švorčík^a (^a *Department of Solid State Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague,* ^b *Faculty of Science, J. E. Purkyně University, Ústí nad Labem,* ^c *Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Preparation, Functionalization and Grafting of Noble Metals Nanoparticles to Activated Polymer**

This review provides an insight into the history of syntheses, functionalizations and applications of noble metal nanoparticles examining their interactions with polymer substrate. A survey of rapidly expanding literature on this topic is presented. The most challenging problems are outlined, among them finding new chemical and physical methods of functionalizing noble metal nanoparticles with compounds that can promote efficient binding and clearance. In addition, we present two procedures of grafting Au and Ag nanoparticles onto plasma-treated poly(ethylene terephthalate) (PET). The changes in the surface physicochemical properties of modified PET, caused by plasma treatment and grafting with a dithiol and Au and Ag nanoparticles, were examined by TEM/HRTEM, AFM, UV-Vis and XPS spectrometries and by electrokinetic analysis. We achieved a higher concentration of Au and Ag nanoparticles by deposition on PET modified with dithiol. The studied polymers can be used in medicine as a prevention of bacterial film formation.