

# Gymnázium Mnichovo Hradiště

## Studentská odborná práce



## Antibakteriální účinky $\text{TiO}_2$

XXXXXXXXXXXX

<b>Třída:</b>	xxx
<b>Předmět:</b>	Fyzika
<b>Vedoucí práce:</b>	XXXXXXXXXX
<b>Měsíc a rok odevzdání:</b>	XXXXXXXX

Prohlašuji, že jsem práci na téma *Antibakteriální účinky TiO<sub>2</sub>* vypracoval samostatně pod vedením vedoucího práce za použití uvedených pramenů a literatury.

xxxxxxxxx

.....

Podpis

## **Abstrakt**

Práce se zabývá přípravou antibakteriální vrstvy z koloidního roztoku  $\text{TiO}_2$  a testováním její účinnosti na koloniích nepatogenních bakterií druhu *Escherichia coli* (E-coli). Účinnost byla testována ve dvou prostředích: ve tmě a pod osvětlením UV lampou. Doba testování byla 2 hodiny. Z výsledků vyplývá, že vrstva byla nejefektivnější pod ozářením UV lampou, díky přidaným antibakteriálním vlastnostem samotného UV záření.

## **Klíčová slova:**

antibakteriální účinky, příprava antibakteriální vrstvy  $\text{TiO}_2$ , koloid, *Escherichia coli*

Jako první bych chtěl poděkovat dvěma členům katedry Technické univerzity v Liberci, konkrétně Ing. Michaele Jakubíčkové a Michaele Petržílkové. Obě sehrály velikou roli ve vymyšlení samotného tématu práce a bez jejich ochoty bych nebyl schopný ani provést samotné testování, které jsem prováděl v mikrobiologických laboratořích na Technické univerzitě v Liberci.

Také bych rád poděkoval xxxxxxxxxxxx, za poskytnutí možnosti si vybrat jakékoliv téma, které by mě zaujalo.

## Obsah

1	Úvod.....	5
2	Teoretická část.....	6
2.1	Charakteristika a vlastnosti TiO <sub>2</sub> .....	6
2.2	Fotokatalytický jev.....	7
3	Praktická část.....	8
3.1	Příprava testovacích vzorků.....	8
3.1.1	Pomůcky.....	8
3.1.2	Postup.....	8
3.2	Testování antibakteriální účinnosti.....	9
3.2.1	Pomůcky.....	9
3.2.2	Vsuvka.....	9
3.2.3	Postup.....	9
3.3	Kontrola měření.....	11
4	Závěr.....	12
4.1	Výsledky.....	12
4.2	Osobní zhodnocení.....	12
5	Použité zdroje a literatura.....	14
6	Přílohy.....	14

# 1 Úvod

V současnosti se čím dál tím více objevují nové oblasti, kde se využívá antibakteriálních schopností některých materiálů. A v době, kdy je čistota vzduchu, nebo povrchy s dezinfekčními či samočisticími vlastnostmi velkým tématem, se začíná více než kdy předtím využívat látek s těmito vlastnostmi (např.  $\text{TiO}_2$ ). Kromě zkoumání samotných antibakteriálních vlastností a jejich nejefektivnějšího využití, je na místě i otázka, jestli nejsou tyto látky škodlivé pro lidský organismus. Tyto a další poznatky mě vedly k provedení vlastního experimentu

Jak již bylo předesláno v abstraktu, tato práce se zabývá zkoumáním antibakteriální účinnosti koloidního  $\text{TiO}_2$  s malou příměsí Ag pro zvýšení antibakteriální účinnosti. Samotný  $\text{TiO}_2$  má v koloidní formě antibakteriální vlastnosti, kterých se využívá v mnohých výrobcích. Kromě těchto vlastností má i vlastnost pohlcovat UV záření, které se také neméně využívá. To dělá z oxidu titaničitého hojně využívanou chemickou sloučeninu ve spoustě odvětvích. Zde se ale budeme zabývat hlavně jeho antibakteriálními vlastnostmi.

## 2 Teoretická část

### 2.1 Charakteristika a vlastnosti TiO<sub>2</sub>

Oxid titaničitý (TiO<sub>2</sub>) neboli titanová běloba je chemická sloučenina, která se v přírodě vyskytuje v několika formách: rutil, anatas, brookit<sup>1</sup>. Podle nařízení Evropské komise bude od 9.zář 2021 TiO<sub>2</sub> klasifikován jako karcinogen skupiny 2 pro inhalační expozici<sup>2</sup>.

V krystalické podobě má bílou barvu a díky jeho výrazné vlastnosti rozptylovat světlo společně s velkou opacitou (schopnost pohlcovat záření)<sup>3</sup> se nejčastěji používá jako barevný pigment. Jako bílý pigment (titanová běloba) se používá v mnoha výrobcích, od barev po zubní pasty. Mezi další vlastnosti TiO<sub>2</sub> patří jeho schopnost pohlcovat UV záření a přeměňovat jej na teplo, toho se využívá například při výrobě opalovacích krémů a kosmetiky, kam se taky přidává.

V této práci se ale nebudeme zabývat vlastnostmi, které umožňují použití TiO<sub>2</sub> jako barevný pigment. Nýbrž jeho antibakteriálními vlastnostmi, které získává v jeho koloidní podobě díky fotokatalytickému jevu (viz. kapitola 2.2). Těchto antibakteriálních vlastností se také neméně využívá. Ty umožňují materiálům, kde je jako příměs přítomen oxid titaničitý mít dezinfekční a samočistící účinky. Pro tyto vlastnosti se jako příměs používá do barev a laků, které se poté používají například na fasády domů, kde chceme minimalizovat (nebo zcela znemožnit) přítomnost organických látek. V současné době se tohoto využívá ve městech, za účelem čistit vzduch od organických nečistot. Dále jeho vlastnosti umožňují použití jako polovodič a přidává se i do solárních článků.

---

<sup>1</sup> VOHLÍDAL, JIŘÍ; ŠTULÍK, KAREL; JULÁK, ALOIS. *Chemické a analytické tabulky*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 1999. ISBN 80-7169-855-5.

<sup>2</sup> Statní zdravotní ústav: <http://www.szu.cz/tema/tio2-nanoforma-a-titanova-beloba>

<sup>3</sup> Opacita: <https://slovník-cizich-slov.abz.cz/web.php/slovo/opacita>

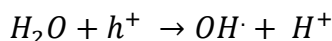
## 2.2 Fotokatalytický jev

Fotokatalýza<sup>4</sup> je chemický proces, při kterém dochází k rozkladu<sup>5</sup> některých látek za přítomnosti světelného záření vhodné světelné délky a fotokatalyzátoru. Jednou ze sloučenin s fotokatalytickými vlastnostmi je i oxid titaničitý.

Při vystavení materiálu s fotokatalytickými vlastnostmi světelnému záření o příslušné vlnové délce. „Dojde k uvolnění elektronu ( $e^-$ ) z valenční vrstvy do vodivostní vrstvy a vzniku „díry“ ( $h^+$ ) ve valenční vrstvě polovodiče – vzniká pár díra – elektron. Tento pár je zodpovědný za oxidačně-redukční vlastnosti ozářeného materiálu.“<sup>6</sup> Pokud nedojde ve velmi krátké době k reakci s adsorbovanou látkou, tento reaktivní pár rekombinací zaniká. Na povrchu vodiče mohou tedy probíhat dva druhy reakcí, kterých se mohou adsorbované látky účastnit.<sup>6</sup>

„V případě oxidační reakce s organickými molekulami je redoxní potenciál potřebný k oxidaci organických sloučenin dán pozicí valenční vrstvy a redoxním potenciálem organické látky vzhledem ke standardní elektrodě.“<sup>6</sup> Když má organická látka vyšší redoxní potenciál než vytvořená  $h^+$ , může dojít k redukci  $h^+$ , a tím vzniku *kation-radikálu organické látky* ( $S^+$ ).<sup>6</sup>

Další reakce  $S^+$  vedou ke vzniku fotokatalytického produktu. Pokud je  $h^+$  redukována vodou či adsorbovanými  $OH^-$  ionty, dochází ke vzniku hydroxylových, případně peroxidových radikálů. Ty jsou schopny dále oxidovat další organické látky. „Poměrně silná oxidační schopnost  $h^+$  dovoluje oxidaci vody na hydroxylový radikál procesem „one-electron oxidation step“.“<sup>6</sup>



Nejvhodnější fotokatalytické vlastnosti má oxid titaničitý ve struktuře anatasu, protože elektrony vzniklé v anatasu mají větší redukční vlastnosti než elektrony vzniklé v rutilu.<sup>6</sup> Pro fotokatalytické účely se používá oxid titaničitý ve formě bílého prášku nebo tenké vrstvy nanesené na substrátu (např. na skle), tuto formu jsme použili při zkoumání antibakteriální účinnosti v kapitole 3.

<sup>4</sup> Fotokatalýza jev: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Fotokatal%C3%BDza>

<sup>5</sup> Tento jev probíhá přirozeně, při fotokatalýze je pouze urychlen přítomností fotokatalyzátoru.

<sup>6</sup> Fotokatalytický jev:

[http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/ovzdusi/Vnitri\\_ovzdusi/hygiena\\_tio2.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/ovzdusi/Vnitri_ovzdusi/hygiena_tio2.pdf)



## 3 Praktická část

### 3.1 Příprava testovacích vzorků

#### 3.1.1 Pomůcky

Laboratorní pomůcky: 8 sklíček 5x5 cm, 25 ml a 50 ml kádinka, automatické pipety s objemem 10-100  $\mu$ l a 100-1000  $\mu$ l, laboratorní váha, magnetická míchačka, štětec

Chemikálie: ethanol, destilovaná voda, Jar, Cristalactiv PC-S7 (10% roztok  $\text{TiO}_2$ ), stabilizovaný koloidní roztok Ag

#### 3.1.2 Postup

Jako substrát k testování antibakteriální účinnosti nám poslouží 8 sklíček s jednou matnou stranou. Předtím než na ně budeme moci ale nanést účinnou vrstvu, musíme je nejprve důkladně očistit. Jako první krok je odmastíme použitím Jaru a důkladně omyjeme teplou kohoutkovou vodou. K odstranění možných mikroorganismů omyjeme u každého sklíčka jeho matnou stranu, na kterou se bude později nanášet naše vrstva, ethanolem. Po tomto kroku bychom se sklíček neměli moc dotýkat, abychom na něj nenanesli další nečistoty. Jako poslední opláchneme sklíčka destilovanou vodou a necháme uschnout.

Zatímco nám sklíčka schnou, tak si připravíme samotnou účinnou vrstvu. Naším zdrojem nanočástic bude zakoupený 10% roztok  $\text{TiO}_2$ , konkrétně Cristalactiv PC-S7. K našemu pokusu ale potřebujeme 10 g 1% roztoku. Ten připravíme smícháním 1 g 10% roztoku s 9 g destilované vody. Pro zvýšení antibakteriálních vlastností přidáme do výsledného roztoku 0,2 g koloidního roztoku Ag. Takto namíchaný roztok důkladně promícháme na magnetické míchačce.

Až nám sklíčka uschnou vezmeme pět z nich a na jejich matnou stranu nanese opatrně štětcem 100  $\mu$ l našeho 1% roztoku. Zbylé tři necháme pouze omyté, později v testování nám budou sloužit ke kontrole a porovnání naší účinné vrstvy. Nyní necháme opět sklíčka uschnout, k urychlení tohoto procesu můžeme použít například fén, a přesuneme se do laboratoře k další části našeho testování.

## 3.2 Testování antibakteriální účinnosti

### 3.2.1 Pomůcky

Laboratorní pomůcky: dekontaminační box, komoru s UV zářením, termostat, třepačka Vortex na zkumavky, Petriho misky, uzavíratelné zkumavky, automatická pipeta 1-10 ml, ochranné pomůcky, kádinky s uzávěrem, buničina, pinzeta, hořák

Chemikálie: testovací vzorky, fyziologický roztok, Nutrient agar (živné médium), nakultivované bakterie rodu E-coli

### 3.2.2 Vsuvka

Pokus byl prováněn v mikrobiologických laboratořích na Technické univerzitě v Liberci pod dohledem Michaeli Petržílkové a Ing. Michaeli Jakubíčkové.

I když budeme pracovat s nepatogenním druhem bakterií, je stále nesmírně důležité mít vše sterilizované a práci provádět rychle a přesně, aby nedošlo k zbytečné kontaminaci vzorků a následného zkreslení výsledků měření. K sterilizaci pomůcek se používá UV záření a sterilizace laboratorního skla se provádí umytím ethanolem a destilovanou vodou a jeho následným zahřátím na minimálně 60°C.

### 3.2.3 Postup

Měření budeme provádět v dekontaminačním boxu, jelikož díky jeho konstrukci snižuje kontaminaci vzorku a zpřesňuje tak výsledky měření. Nejprve si připravíme pracovní plochu a odstraníme z ní věci, které nebudeme nutně potřebovat.

K samotnému testování nakonec použijeme pouze 5 připravených vzorků, dva s aktivní vrstvou a tři čisté jako kontrolu. Abychom se v nich vyznali každý z nich si na zadní straně popíšeme. Dva aktivní vzorky nazveme: *SVA* (vzorek s aktivní vrstvou, který dáme pod osvit UV záření), *SVT* (vz. s aktivní vrstvou, který dáme do tmy), *KA* (čistý vz., který dáme pod UV záření), *KT* (čistý vz., který dáme do tmy) a *PO* (=přímý oplach, vzorek který hned po nanesení bakterií změříme).

Takto popsané vzorky vložíme každý do Petriho misky, v kterých jsme si již dopředu připravili navlhčenou buničinou, aby nedocházelo k vysychání.

Z již předem nakultivovaných bakterií E-coli na živné půdě v termostatu při stálé teplotě 37°C si připravíme roztok. Odebereme inoculum<sup>7</sup> a rozmícháme jej ve fyziologickém roztoku na požadovanou koncentraci cca 10<sup>8</sup> ktj (ang. cfu, kolonie tvořící jednotku). Tuto koncentraci zjišťujeme přístrojem měřícím zákal roztoku. Výsledný roztok desetkrát zředíme na výslednou koncentraci 10<sup>7</sup> ktj.

Tento bakteriální roztok nanese na naše testovací substráty v Petriho miskách, na každý z nich nanese pipetou 150 µl. Petriho misky zavřeme a vzorky vložíme na dvě hodiny na výše zmíněná místa: SVA+KA pod UV záření, SVT+KT do prostoru bez přístupu světla a poslední PO budeme měřit okamžitě.

Zatímco probíhá testování, tak si připravíme pro každý náš vzorek dalších 5 Petriho misek (ty si opět popíšeme, abychom se v nich vyznali), nádobu do které dáme 10 ml fyziologického roztoku a 5 zkumavek, kde v každé je 9 ml fyziologického roztoku.

Začneme se vzorkem PO, ale každý z těchto kroků se bude opakovat u každého ze vzorků, až uplynou dvě hodiny.

Předem opálenou pinzetou vyjmeme vzorek z Petriho misky a vhodíme matnou stranou směrem dolů do nádoby s 10 ml fyziologického roztoku. Nádobu uzavřeme a důkladně protřepeme. Po protřepání budeme provádět desetinné měření. Nabereme 1 ml vytřepaného roztoku do předem připravené zkumavky s 9 ml fyziologického roztoku a opět propíchneme. Poté nabereme z roztoku první zkumavky 1 ml do čisté Petriho misky a 1 ml do 2. zkumavky s devíti mililitry fyziologického roztoku. Tento postup budeme provádět pětkrát u každého vzorku

Až budeme mít každý vzorek takto nařaděný a nanesený v pěti Petriho miskách, nalijeme do každé z nich již předem zahřáté živné médium Nutrient Agar.

---

<sup>7</sup> Inoculum= malé množství látky, obsahující bakterie pocházející z čisté kultury

Takto připravené Petriho misky vložíme do termostatu s teplotou 37°C a necháme je 48 hodin kultivovat.

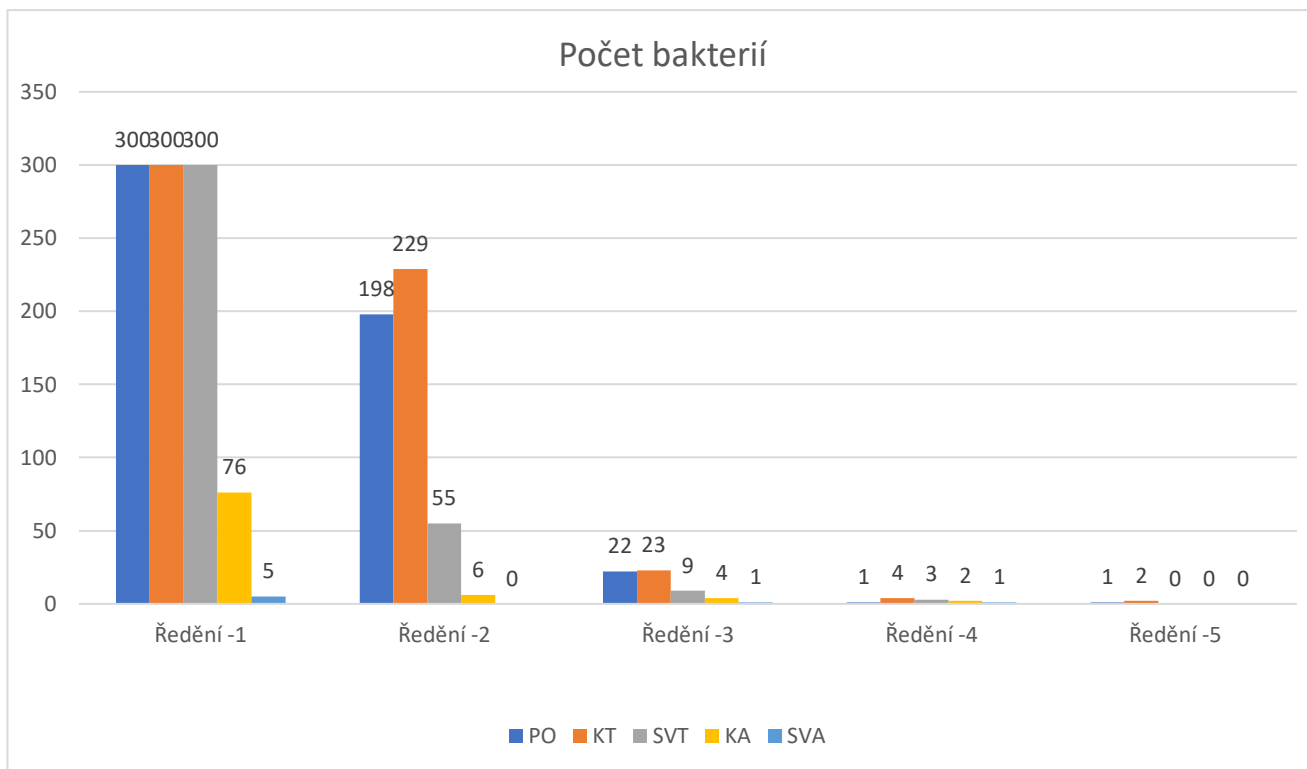
Pracoviště po sobě důkladně uklidíme, vše umyjeme ethanolem a destilovanou vodou. Pipety a přístroje vložíme do dekontaminačního boxu a zapneme UV záření.

### 3.3 Kontrola měření

Po uplynutí 48 hodin můžeme spočítat nárůst bakterií a porovnáním kontrolních vzorků se vzorky s aktivní vrstvou zjistit její antibakteriální účinky. Za tuto dobu jsou na Petriho miskách viditelné kolonie bakterií, tvořících „mapy“. Samotné počítání se provádí ručně a vždy se počítají jednotlivé viditelné tečky jako kolonie. Sice tento způsob není nejpřesnější, ale spočítat jednotlivé bakterie je zcela nemožné a přesné číslo není tak důležité, proto se měření provádí takto.

Pro usnadnění počítání se používá přístroj, který detekuje když „tlučete“ fixou na jednotlivé kolonie a tak počítá za vás. Pokud je očividné že výsledek by byl více než 300, tak se vzorek považuje za nepočitatelný. Výsledné počty pro přehlednost zaneseme do tabulky.

	<b>-1</b>	<b>-2</b>	<b>-3</b>	<b>-4</b>	<b>-5</b>
<b>PO</b>	/	198	22	1	1
<b>KA</b>	76	6	4	2	0
<b>KT</b>	/	229	23	4	2
<b>SVA</b>	5	0	1	2	0
<b>SVT</b>	/	55	9	3	0



Graf 1

## 4 Závěr

### 4.1 Výsledky

Z výsledků měření nevyplývá nikterak překvapivý závěr. Nejvíce bakterií obsahoval KT, jelikož bakteriím nic nebránilo v množení. Vzorek PO neobsahoval tolik bakterií jako KT, protože bakterie neměli tolik času se namnožit. Naopak na hodnotách KA se ukázaly antibakteriální vlastnosti samotného UV záření a v pokročilejších ředěních nebyly jeho hodnoty o tolik větší než aktivních vzorků.

Z hodnot u aktivních vzorků se dá vyvodit, že právě samotné UV záření mnohonásobně zvyšuje antibakteriální účinky  $\text{TiO}_2$ , jelikož je to látka fotokatalytická, jak se nám zde potvrdilo. Ale i aktivní vzorek ve tmě vykazoval nemalé antibakteriální účinky.

### 4.2 Osobní zhodnocení

Celkově bych moje osobní zkušenosti z této práce nazval pozitivními. Díky vstřícnosti kantorů z Liberce jsem měl možnost pracovat v laboratoři se skutečnými přístroji, kterých by se mi ve škole nedostalo. I když závěr nebyl

nijak překvapivý, dozvěděl jsem se spoustu informací o tomto tématu. Bohužel mě ale téma a náplň mé konečné práce tolik nezaujalo a kdybych měl vypracovat další podobnou práci, tak si vyberu jiné téma z chemie nebo fyziky.

## 5 Použité zdroje a literatura

### Internetové zdroje:

SZU: [http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/ovzdusi/Vnitri\\_ovzdusi/hygiena\\_tio2.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/ovzdusi/Vnitri_ovzdusi/hygiena_tio2.pdf)

SZU: <http://www.szu.cz/tema/tio2-nanoforma-a-titanova-beloba>

Wikipedie: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Oxid\\_titani%C4%8Dit%C3%BD](https://cs.wikipedia.org/wiki/Oxid_titani%C4%8Dit%C3%BD)

Wikipedie: [https://en.wikipedia.org/wiki/Titanium\\_dioxide](https://en.wikipedia.org/wiki/Titanium_dioxide)

Wikipedie: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Fotokatal%C3%BDza>

### Literatura:

VOHLÍDAL, JIŘÍ; ŠTULÍK, KAREL; JULÁK, ALOIS. *Chemické a analytické tabulky*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 1999. ISBN 80-7169-855-5

## 6 Přílohy

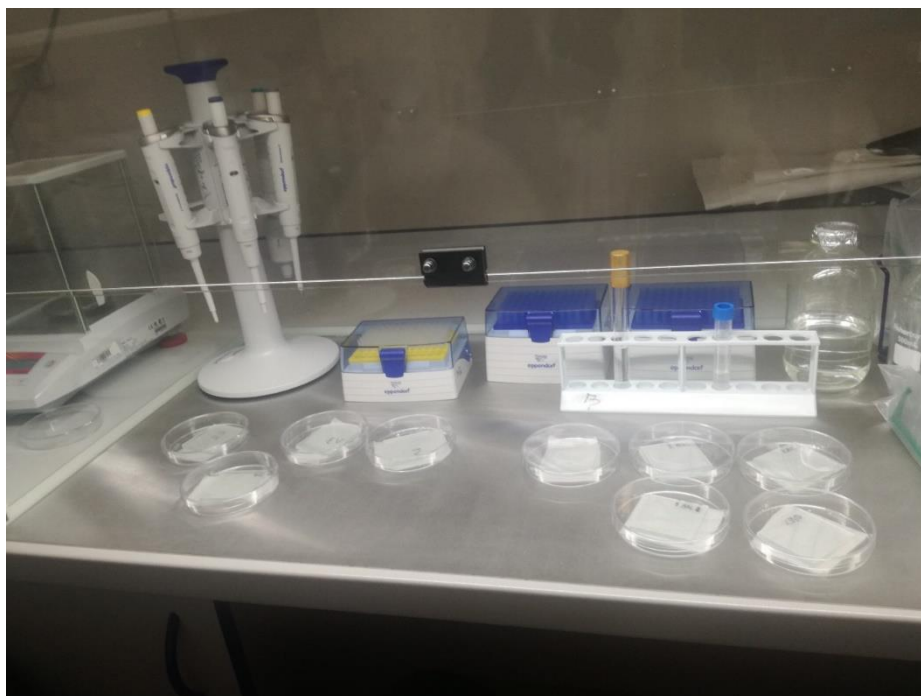
### Seznam obrázků:

Všechny použité obrázky byly vyfoceny autorem této práce

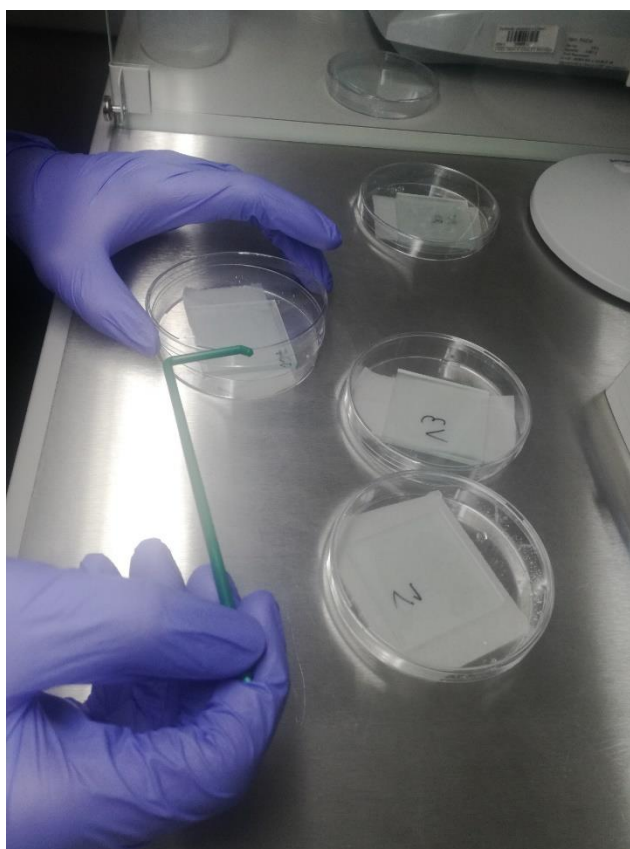
Obrázek 1 - Nanášení bakteriálního roztoku .....	15
Obrázek 2 - Příprava pracovní plochy s Petriho miskami .....	15
Obrázek 3 - Termostat s Petriho miskami s bakteriální kulturou.....	15
Obrázek 4 - Komora s UV zářením .....	15
Obrázek 5 - Kultury bakterií po 48 hodinách .....	15

### Seznam grafů:

Graf 1.....	12
-------------	----

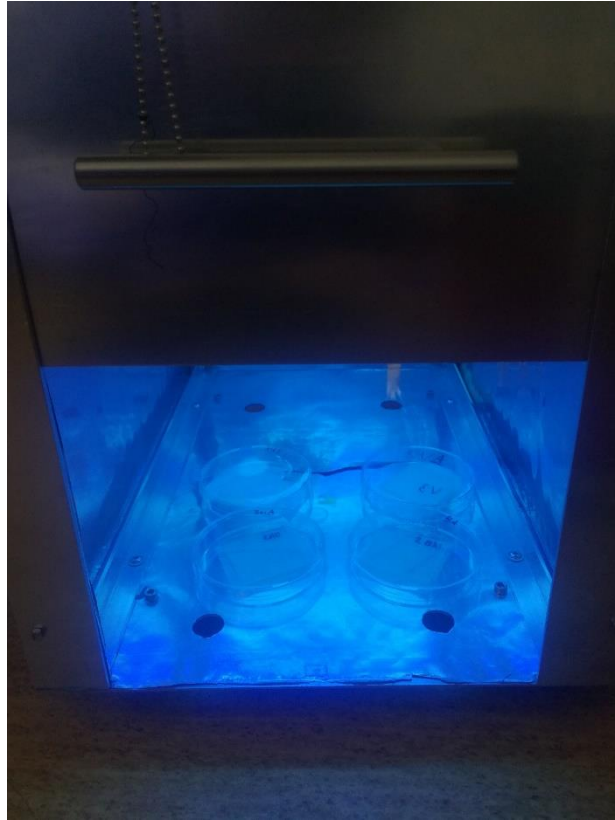


Obrázek 2 - Příprava pracovní plochy s Petriho miskami



Obrázek 1 - Nanášení bakteriálního roztoku

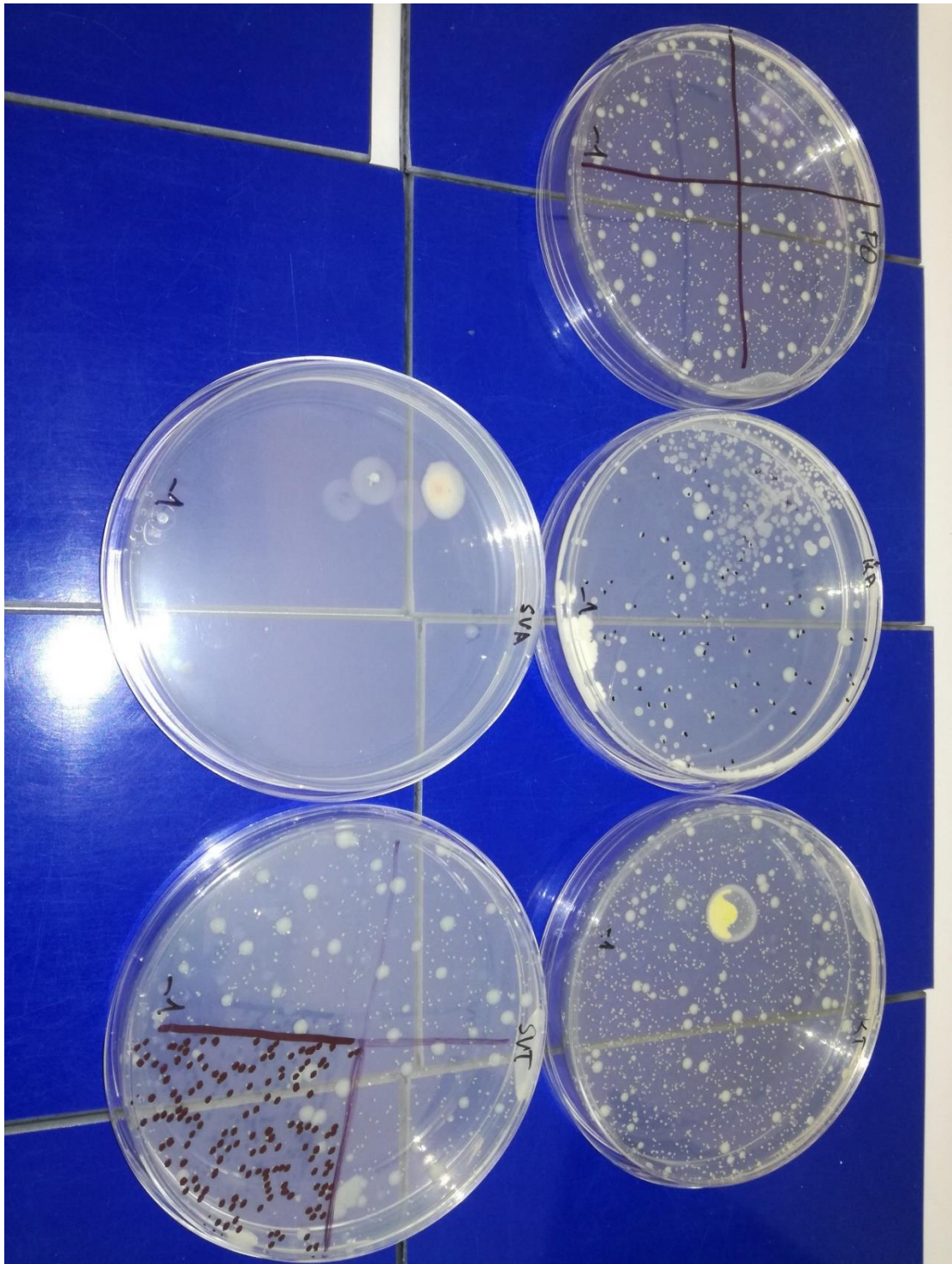




Obrázek 4 - Komora s UV zářením



Obrázek 3 - Termostat s Petriho miskami s bakteriální kulturou



Obrázek 5 - Kultury bakterií po 48 hodinách