

Modifikace medicínálních polymerních systémů pomocí bioaktivních složek a hodnocení povrchové antibakteriální aktivity

Bc. Ondřej Hudeček

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ondřej HUDEČEK**

Osobní číslo: **T08726**

Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**

Studijní obor: **Inženýrství polymerů**

Téma práce: **Modifikace medicínálních polymerních systémů pomocí bioaktivních složek a hodnocení povrchové antibakteriální aktivity**

Zásady pro vypracování:

- 1. provedte literární rešerši**
- 2. příprava polymerních směsí a kompozitů**
- 3. příprava zkušebních těles a jejich charakterizace**
- 4. diskuse a formulace závěrů s přihlédnutím k přínosu pro společenskou praxi.**



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

CHERNG-JU, K. Advanced Pharmaceutics : Physicochemical Principles. 1st edition. New York : CRC, 2004. 512 s. ISBN 9780849317293.

FRAISE, A., LAMBERT, P. A., MAILLARD, J. Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization. 4th edition. New York : Wiley-Blackwell, 2004. 688 s. ISBN 9781405101998.

ISO 22196 -- Plastics -- Measurement of antibacterial activity on plastic surfaces.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání diplomové práce:

15. února 2010

Termín odevzdání diplomové práce:

14. května 2010

Ve Zlíně dne 15. února 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: HUDECEK ONDŘEJ

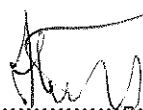
Obor: IP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 21.5.2010


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní díla:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na modifikaci PLA a PVC plnivem Ag/ZnO, u něhož je předpokládána antibakteriální aktivita. Teoretická část popisuje bakteriologickou problematiku, dále se zabývá popisem polymerů PLA a PVC. V poslední třetí části literární rešerše je rozebírána modifikace polymerních systémů za účelem dosažení jejich antibakteriálních vlastností a vliv stříbrných a zinečnatých částic na bakterie. Praktická část prezentuje výsledky experimentálních měření provedených na kompozitních směsích PLA a PVC s Ag/ZnO v různých koncentracích. Metody využitě pro charakterizaci vzorků zahrnují SEM, DMA, DSC, WAXS, dále pak hodnocení reologických vlastností připravovaných směsí a v neposlední řadě ohodnocení povrchové antibakteriální aktivity v souladu s normou ISO 22196.

Klíčová slova: PLA, PVC, Ag/ZnO, MW syntéza, měření povrchové antibakteriální aktivity, ISO 22 196, SEM, DMA, DSC, WAXS, reologie, medicína.

ABSTRACT

Presented diploma thesis is focused on the modification of PLA and PVC by Ag/ZnO filler, which suppose to be an antibacterial active ingredient. Theoretical section describes bacteriology issue and subsequently deals with disclosure of PLA and PVC. A possibility of general plastic antibacterial modification and detailed specification of influence of silver and zinc particles on bacteria is introduced in the last part of literary review. Finally, experimental results of employed characterization carried out on filled samples of PLA and PVC with various concentrations of Ag/ZnO are presented in practical section. Utilized experimental methods cover: SEM, DMA, DSC, WAXS, rheological evaluation of prepared composites and finally measurement of antibacterial activity according to ISO 22196.

Keywords: PLA, PVC, Ag/ZnO, MW synthesis, measuring of surface antibacterial activity, ISO 22196, SEM, DMA, WAXS, rheology, medicine.

Touto cestou bych velice rád poděkoval především vedoucímu mé diplomové práce Ing. Tomáši Sedláčkovi, Ph.D., který mému vedení věnoval podle mého názoru maximum a jeho rad, připomínek, nezbytně nutné kritiky a hlavně trpělivosti si nesmírně vážím. Jsem velmi rád, že jsem právě pod ním mohl tuto práci vytvořit.

Dále bych chtěl poděkovat paní Ing. Daniele Veselé za to, že mně se vší trpělivostí zasvětila do problematiky mikrobiologie a asistovala mi při úvodních antibakteriálních testech, které bych bez její pomoci dále samostatně jen velmi těžce prováděl.

Taktéž děkuji Ing. Pavlu Bažantovi za přípravu antibakteriálních plniv a za jeho rady v této problematice.

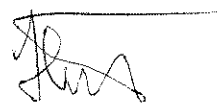
Za další velmi odborné rady mohu být také vděčný Ing. et Ing. Ivo Kuřítkovi, Ph.D.

Ing. Michalu Machovskému děkuji za zhotovení snímků na skenovacím elektronovém mikroskopu.

A nakonec nesmím opomenout nejvíce poděkovat mé rodině a přítelkyni, kteří mě ve studiu vždy podporovali jak psychicky, tak fyzicky.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně 21.5.2010



.....
Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	13
1 BAKTERIE	14
1.1 OBECNÉ VLASTNOSTI BAKTERIÁLNÍ BUŇKY	14
1.1.1 Velikost a tvar bakteriálních buněk	14
1.1.2 Struktura a složení bakteriálních buněk	15
1.2 HLAVNÍ DĚLENÍ BAKTERIÍ NA ZÁKLADĚ BUNĚČNÉ STĚNY	17
1.2.1 Buněčná stěna grampozitivních bakterií	17
1.2.2 Buněčná stěna gramnegativních bakterií	18
1.3 BAKTERIE POUŽITÉ V EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI	19
1.3.1 <i>Escherichia coli</i>	19
1.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2 POLYMERNÍ SYSTÉMY POUŽITÉ V EXPERIMENTÁLNÍ ČÍSTI	22
2.1 POLYLAKTID (PLA).....	22
2.2 POLYVINYLCHLORID (PVC).....	24
3 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKCE A JEJICH MOŽNÁ REALIZACE V PŘÍPADĚ POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ	26
3.1 VLIV VNĚJŠÍCH ČINITELŮ NA BAKTERIE.....	26
3.1.1 Fyzikální faktory	26
3.1.1.1 Teplota	26
3.1.1.2 Vodní aktivita a vlhkost	27
3.1.1.3 Hydrostatický tlak	27
3.1.1.4 Ultrazvuk	27
3.1.1.5 Záření	27
3.1.2 Chemické faktory	27
3.1.2.1 pH prostředí	28
3.1.2.2 Oxidoredukční potenciál	28
3.1.2.3 Povrchové napětí	28
3.1.2.4 Dezinfekční látky	28
3.1.2.5 Chemoterapeutika	29
3.1.3 Biologické faktory	29
3.1.3.1 Antibiotika	29
3.2 LÁTKY VYUŽITELNÉ PRO LIKVIDACI ČI OMEZENÍ FUNKCE BAKTERIÍ	29
3.2.1 Baktericidní látky	30
3.2.2 Bakteriostatické látky	31
3.2.2.1 Jedy	31
3.2.2.2 Antimetabolity	31
3.2.2.3 Antibiotika	32

3.3	MOŽNOSTI DOCÍLENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ SCHOPNOSTI POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ	33
3.3.1	Začlenění stálé či uvolňující se antimikrobiální přísady přímo do polymerní matrice	34
3.3.2	Nanášení antimikrobiálního činidla na povrch polymerního produktu	36
3.3.3	Navázání antimikrobiálního činidla k polymeru pomocí iontových či kovalentních vazeb	37
3.3.4	Využití polymerů, jež mají přirozeně antimikrobiální vlastnosti	39
3.4	PŮSOBNÍ STŘÍBRNÝCH A ZINEČNATÝCH ČÁSTIC NA BAKTERIÁLNÍ BUŇKU	40
3.4.1	Působení stříbrných částic	40
3.4.1.1	Působení na gramnegativní bakterie	40
3.4.1.2	Působení na grampozitivní bakterie	42
3.4.2	Působení zinečnatých částic	43
II	PRAKTICKÁ ČÁST	45
4	CÍLE PRÁCE.....	46
5	PŘÍPRAVA VZORKŮ	47
5.1	POUŽITÉ MATERIÁLY A CHEMIKÁLIE	47
5.2	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	49
5.2.1	MW syntéza.....	49
5.2.1.1	Syntéza hybridních Ag/ZnO částic	50
5.2.2	Zamíchání směsí	53
5.2.3	Příprava zkušebních tělísek pro antibakteriální testy.....	54
6	CHARAKTERIZACE PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ.....	55
6.1	SEM - SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE	55
6.1.1	Použité zařízení a podmínky charakterizace	55
6.2	REOLOGICKÉ VLASTNOSTI.....	56
6.2.1	Použité zařízení a podmínky charakterizace	57
6.3	DMA – DYNAMICKÁ MECHANICKÁ ANALÝZA.....	58
6.3.1	Použité zařízení a podmínky charakterizace	58
6.4	DSC – DIFERENCIÁLNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE	60
6.4.1	Použité zařízení a podmínky charakterizace	61
6.5	XRD – DIFRAKCE RENTGENOVÉHO ZÁŘENÍ	63
6.5.1	Použité zařízení a podmínky charakterizace	63
6.6	MĚŘENÍ POVRCHOVÉ ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ	64
6.6.1	Postup podle normy ISO 22196: 2007	65
7	VÝSLEDKY A JEJICH DISKUSE	69
7.1	SEM MIKROSKOPIE	69
7.2	REOLOGICKÉ VLASTNOSTI.....	75
7.2.1	PLA s přídavkem Ag/ZnO	75
7.2.2	PVC s přídavkem Ag/ZnO	78

7.3	DMA.....	80
7.3.1	PLA s přídavkem Ag/ZnO.....	80
7.3.2	PVC s přídavkem Ag/ZnO	82
7.4	DSC	85
7.5	XRD.....	87
7.6	MĚŘENÍ POVRCHOVÉ ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ	89
ZÁVĚR.....		93
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		95
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		102
SEZNAM OBRÁZKŮ		105
SEZNAM TABULEK.....		107
SEZNAM ROVNIC		108
SEZNAM PŘÍLOH.....		109

ÚVOD

Masová rozšířenost polymerů je známým faktem, a proto není divu, že se tento všestranně výhodný materiál prosazuje jak u prostých přitom však nezbytných aplikací každodenního života tak ve vysoce sofistikovaných uplatněních. Aplikace polymerů v medicíně a farmaceutickém průmyslu je velmi dobrým příkladem takového uplatnění. Výskyt plastů v těchto odvětvích nemá příliš hluboké kořeny, ty sahají pravděpodobně ke konci druhé světové války, kdy bylo využito PMMA jako náhrady poškozené oční rohovky. V 50. letech minulého století došlo k významnějšímu využití polymerů v medicíně, bylo z nich totiž vyrobeno umělé srdce sloužící v té době jako dočasné řešení pro čekatele na vhodného dárce. V letech 60sátých byly zhotoveny první PUR ventrikulární (komorové) pomocné implantáty, kterým tehdy mohlo tisíce pacientů vděčit za záchranu jejich životů. Tento mezník by mohl být považován za hlavní příčinu náhlého rozmachu polymerů v medicíně. Dnes jsou již plastové výrobky nezbytnou součástí běžné lékařské praxe od kontaktních čoček počínaje až po srdeční kardiostimulátory konče.

S velkou rozšířeností polymerů v medicíně, farmacii, ale také v jiných odvětvích jakými kupříkladu jsou potravinářství či oděvnictví roste také míra rizika spojená s jejich ne vždy jen pozitivními vlastnostmi. Jednou z nevýhod většiny polymerů je to, že jsou poměrně snadno osídlovány mikroorganismy různé povahy. Ty mohou být následně zdrojem zdravotních komplikací lidí, živočichů a vyšších organismů. Častým původcem těchto zdravotních rizik jsou bakterie. A právě proto je kladen velký důraz a snaha o nalezení optimálního řešení, jež by snižovalo či úplně potlačovalo usídlování bakterií popřípadě všech mikroorganismů na povrchu některých plastových výrobků. Je několik možností jak této vlastnosti dosáhnout.

Velmi frekventovanou metodou jak plastový výrobek ochránit před kolonizací jeho povrchu a okolí bakteriemi je opatřit tento produkt určitou antibakteriální přísadou. S výhodou se nabízí využití některého prvku ze skupiny těžkých kovů, protože právě ty jsou většinou velmi účinné v hubení mikroorganismů a zároveň jim neumožňují vytvářet rezistenci vůči baktericidnímu účinku přísady. Typickým zástupcem, vykazujícím tuto vlastnost je stříbro a jeho sloučeniny, přičemž pro tento účel se využívá již po staletí. Vzhledem k ceně stříbra je však vyvíjena poměrně silná snaha o snížení jeho množství na nezbytně nutnou

úroveň zajišťující ještě antibakteriální aktivitu nebo přídavek jiného těžkého kovu, který by však byl levnější a přitom stále dosti účinný vůči mikroorganismům.

V posledních letech se velké naděje vkládají do sloučenin zinku, které by při určitých modifikacích mohly dosahovat podobných vlastností jako avizované stříbro. Modifikací v tomto případě může být zmenšení jejich rozměrů až do velikosti nanometrů či kombinací s malým množstvím stříbra. Nejenže by takové plnivo bylo levnější, ale teoreticky by mohlo vzhledem k velikosti přítomných částic kladně ovlivňovat i jiné parametry jako zpracovatelnost či výsledné mechanické vlastnosti. Právě proto bude předmětem zájmu této diplomové práce připravit hybridní materiál obsahující oxid zinečnatý a stříbrné částice a následně takovou aktivní složkou modifikovat dva polymerní materiály často využívané pro aplikace v medicíně. U takto připravených kompozitních materiálů bude vedle standardní charakterizace materiálových vlastností hodnocena povrchová antibakteriální schopnost.

I. TEORETICKÁ ČÁST

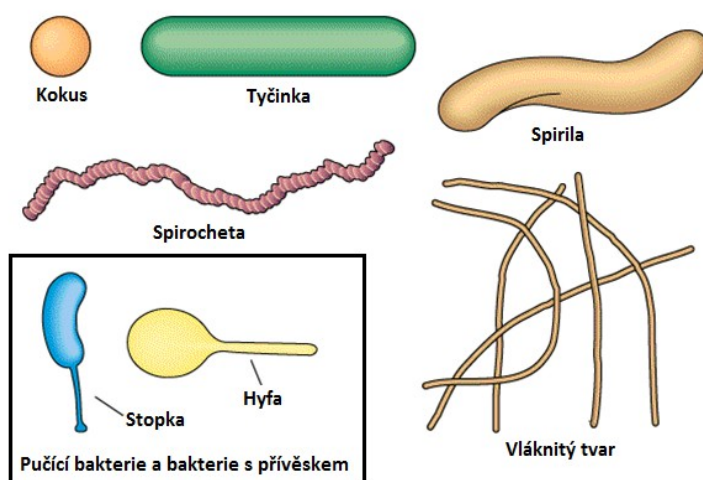
1 BAKTERIE

Bakterie jsou zpravidla prokaryotické povahy (jednobuněčné organismy), řadí se mezi mikroorganismy a jsou bezesporu nejrozšířenějšími organismy na naší planetě [1]. Jejich zastoupení na Zemi je téměř všudypřítomné, počínaje výskytem v půdě, vodě, ovzduší, až po běžnou přítomnost na povrchu mnohobuněčných (vyšších) organismů. Jejich všeobecná houževnatost je unikátní, protože některé druhy jsou schopny osidlovat vroucí jezera v sopečných kráterech, nejvyšší vrstvy atmosféry a některé dokonce přežívají i v kosmu. Samostatná vědní disciplína věnující se studiu bakterií se nazývá bakteriologie [2].

1.1 Obecné vlastnosti bakteriální buňky

1.1.1 Velikost a tvar bakteriálních buněk

Velikost bakteriálních buněk je silně odvislá od rodu a někdy i druhu, do kterého se daná buňka řadí. Vliv na velikost má též stáří a kultivační podmínky, ve kterých se buňka vyskytuje. Mladší buňky jsou vždy větší než ty starší a naopak [3]. Nejběžnější tvar bakteriálních buněk je buďto kulovitý (obecně nazýván kokus) nebo tyčinkovitý tvar. Jsou však známy i tvary ohnuté či stočené do šroubovice jak je možno vidět na *obrázku 1*. Znalost těchto tvarů je velmi důležitá pro klasifikaci bakterií do systematických skupin. Tloušťka tyčinkovitých bakterií bývá většinou v intervalu od 0,3 do 2 μm a průměr koku se pohybuje většinou v rozmezí 0,5 – 5,5 μm . Některé druhy mají však i mnohem větší rozměry jako například spirochety dosahující délek až 500 μm [4].

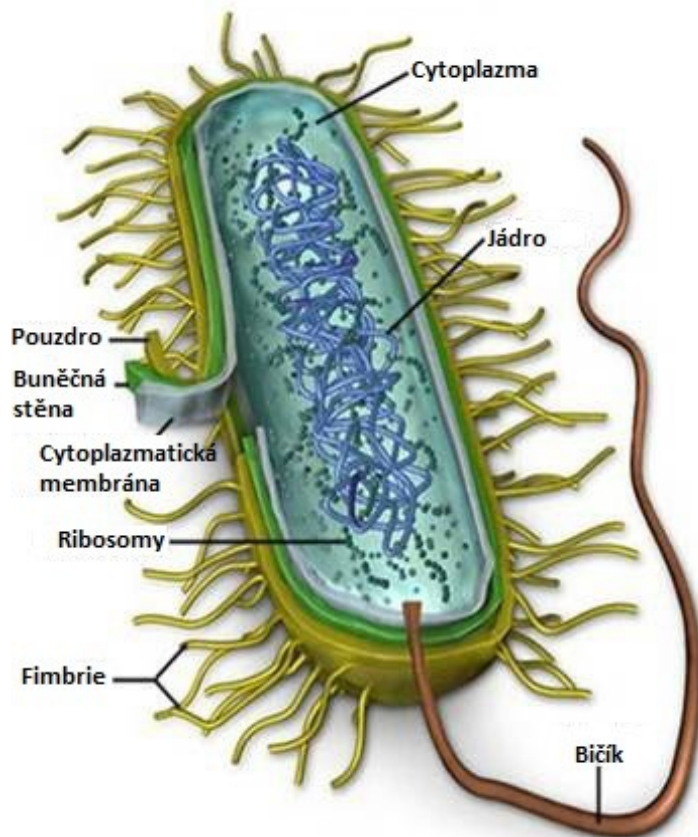


Obrázek 1: Základní tvarové rozdělení bakteriálních buněk

1.1.2 Struktura a složení bakteriálních buněk

Strukturu běžné bakteriální buňky znázorňuje obrázek 2. Nutno podotknout, že ne všechny znázorněné součásti se nacházejí ve všech buňkách bez rozdílu, a proto je můžeme rozdělit do dvou skupin na ty, které jsou obsaženy ve všech buňkách a na ty, které lze nalézt jen v některých. Mezi základní součásti, které jsou přítomny u všech bakterií, patří:

- **Jádro** - nositel genetické informace;
- **Cytoplazma** - základní buněčný obsah (koloidní roztok bílkovin), který tvoří prostředí pro buněčné struktury a pro metabolické děje;
- **Cytoplazmatická membrána** - fosfolipidová dvouvrstva s vnořenými bílkoviny, jež ohraničuje cytoplazmu od vnějšího okolí;
- **Buněčná stěna** - pevný avšak elastický obal složený převážně z heteropolysacharidu peptidoglykanu;
- **Ribosomy** - na těchto útvarech probíhá biosyntéza bílkovin dle genetické informace;
- **Mesosomy** - vchlípeniny cytoplazmatické membrány mající významnou roli při buněčném dělení a při replikaci DNA;
- **Inkluze** - zásobní látky různého druhu.



Obrázek 2: Bakteriální buňka

Mezi součásti, které jsou přítomny jen u některých bakterií, pak zařazujeme:

- **Pouzdro** – neboli kapsula většinou polysacharidový méně, častěji bílkovinný obal široké škály bakterií, jež slouží primárně proti vysoušení buněk;
- **Slizy** – výměšky polysacharidové povahy umožňující buňkám pohyb;
- **Pochvy** – trubkovité obaly některých vláknitých bakterií;
- **Bičíky** – pohybové ústrojí některých bakterií umístěno na jejich povrchu;
- **Fimbrie** – krátké výběžky sloužící k snadnější adhezi bakteriální buňky k povrchům;
- **Spory** – struktury umožňující buňce přeházet do klidového stádia, v kterém jsou mimořádně odolné vůči vnějším vlivům;
- **Plasmidy** – mimojaderné molekuly DNA nesoucí biologický kód i napříč různými druhy bakteriálních buněk [5].

1.2 Hlavní dělení bakterií na základě buněčné stěny

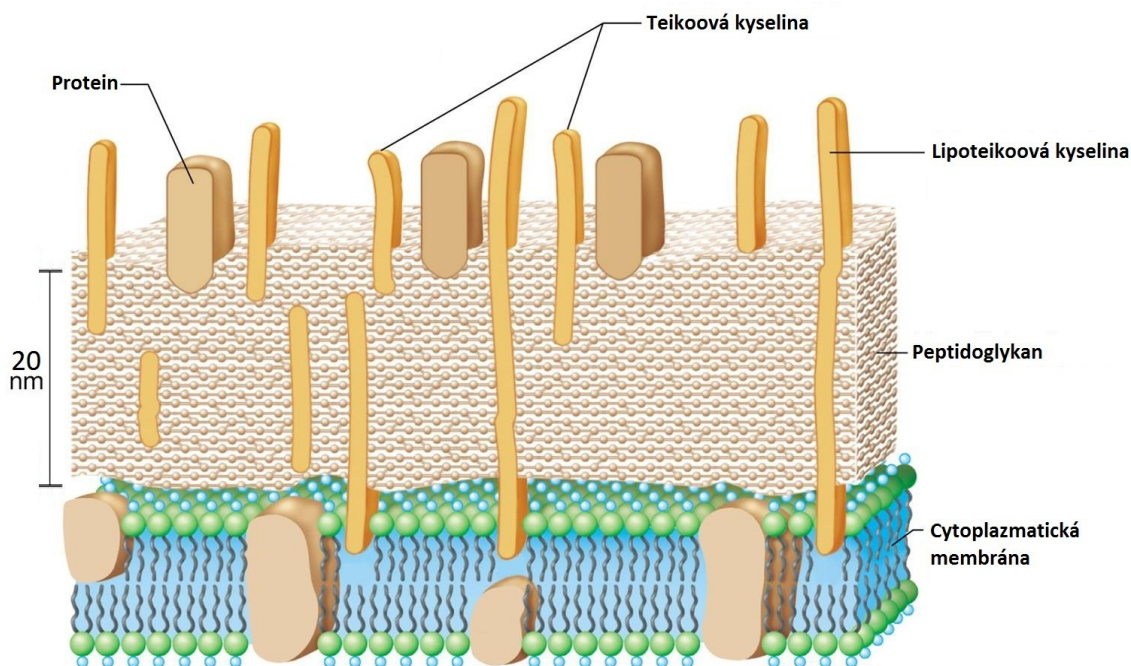
Většinu bakterií lze jednoznačně rozdělit na základě buněčné stěny, která je umístěna bezprostředně nad cytoplazmatickou membránou, jak je patrné z *obrázku 2*. Tato stěna představuje pevný elastický skelet, který uděluje tvar buňky, chrání ji před chemickým a fyzikálním poškozením a slouží také jako polopropustná membrána pro vybrané typy nízkomolekulárních sloučenin a solí [3]. Obecně je buněčná stěna složena ze základní stavební jednotky peptidoglykanu (mukopeptid, murein). Peptidoglykan je lineární polymer tvořen střídajícími se aminocukry N-acetylglukózáminu a N-acetylmuramové kyseliny. Paralelně položené řetězce polysacharidů jsou dále spojeny tetrapeptidy. Přesněji peptidovou vazbou přes karboxylovou skupinu kyseliny muramové [4].

Stavba a složení buněčné stěny u různých bakterií jsou různě strukturované. Obecně jsou nicméně rozlišovány pouze dva typy bakteriální buněčné stěny – buněčná stěna grampozitivních bakterií a buněčná stěna gramnegativních bakterií. Tyto názvy jsou odvozeny dle metody založené na Gramově reakci [6].

Při aplikaci této metody se grampozitivní bakterie, po jejich usmrcení a obarvení trifenylmetanovým barvivem, moří jodidem draselným. Ten vytváří s trifenylmetanovým barvivem komplex, zadržující se v buněčné stěně. Po použití organických rozpouštědel (etanol, aceton) na takto upravené bakteriální buňky nedochází k jejich odbarvení. Naopak u gramnegativních bakterií je tento komplex z buněčné stěny vymyt. Pokud se následně na takto upravené bakterie navíc aplikuje druhé barvivo (safranin, karbolfuchsin atd.) zbarví se gramnegativní bakterie růžově a grampozitivní zůstávají zabarveny fialově [4, 6].

1.2.1 Buněčná stěna grampozitivních bakterií

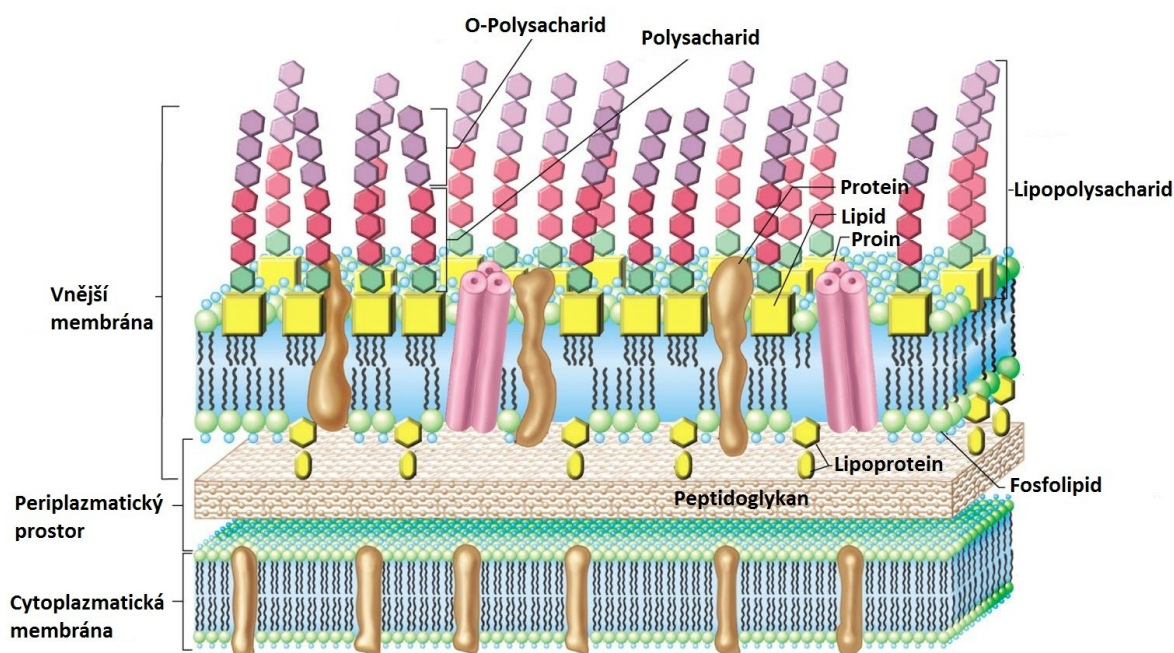
Relativně silná (přibližně 20 nm) buněčná stěna tvořená převážně peptidoglykanovou vrstvou, kterou jsou proloženy lineární řetězce teikoových kyselin spojené s cytoplazmatickou membránou, což je patrné i z *obrázku 3*. Mimo teikoové kyseliny jsou na peptidoglykanovou vrstvu vázány také polysacharidy. Ty jsou svým složením charakteristické pro různé skupiny grampozitivních bakterií. Buněčná stěna grampozitivních bakterií neobsahuje lipidy s výjimkou mykobakterií, korynebakterií či nokardií.



Obrázek 3: Schéma cytoplazmatické membrány a buněčné stěny grampozitivní bakterie

1.2.2 Buněčná stěna gramnegativních bakterií

Tato buněčná stěna je na rozdíl od grampozitivní buněčné stěny o poznání tenčí (přibližně 8 nm) o to však podstatně složitější (viz obrázek 4). Celá stěna je opět tvořena peptidoglykanovou membránou nad níž je další vrstva velmi podobná jiným biologickým membránám, označována jako vnější membrána, která je složena z fosfolipidů a bílkovin. Vnější membrána je spojena s peptidoglykenem molekulami lipoproteinu a na povrchu vnější membrány jsou lokalizovány lipopolysacharidy dodávající buňce antigenní vlastnosti. Celou vnější membránou jsou prostoupeny proteiny poriny, kteréžto sahají až do peptidoglykanu. Prostorové uspořádání těchto proteinů umožňuje, díky jejich hydrofilní povaze neselektivní průnik malých hydrofilních molekul (živin) až k cytoplazmatické membráně. Přítomností lipidických struktur ve stěnách gramnegativních buněk je odůvodňována zvýšená odolnost k aniontovým povrchově aktivním látkám. To například umožňuje bakteriím tohoto typu odolávat nepříznivým podmínkám uvnitř střevního traktu většiny savců [4].



Obrázek 4: Schéma cytoplazmatické membrány a buněčné stěny gramnegativní bakterie

1.3 Bakterie použité v experimentální části

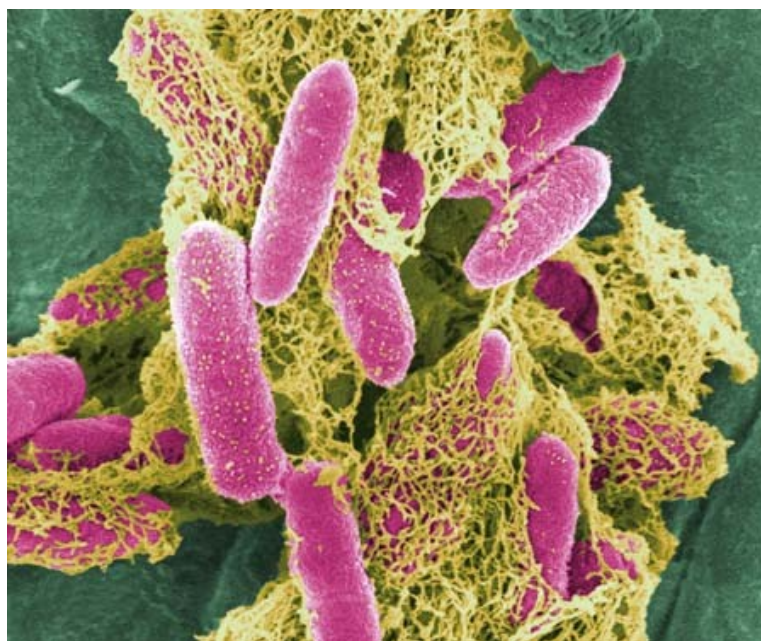
Pro experimentální činnost byly využity dva bakteriální kmeny. Oba kmeny byly zvoleny pro všeobecně velmi dobrou znalost jejich vlastností z důvodu velmi častého využívání v mikrobiologické praxi. Ne náhodou také každý z nich spadá z hlediska gramova dělení do rozdílných skupin, což je velmi podstatné pro získání širšího spektra výsledků pro obě možné varianty jak gramnegativních tak grampozitivních bakterií, na kteréžto může případná antibakteriální přísada reagovat různě [7].

1.3.1 *Escherichia coli*

Tento kmen patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Jedná se o gramnegativní rovné tyčinky přibližně 2 – 3 μm dlouhé a 0,6 μm široké (viz obrázek 5), které se vyskytují buď jednotlivě, nebo ve dvojicích. Extraintestinálně je *E. coli* významný patogen. Kmeny této bakterie obsahují enterotoxiny a další faktory virulence, včetně invazivních a kolonizačních faktorů je častou příčinou průjemových a dalších střevních onemocnění. Sepse, infekce močového ústrojí a ran je další příčinou, kterou *E. coli* způsobuje [8, 9]. *E. coli* je ovšem i běžně přítomna v mikroflóře většiny obratlovců. Díky této přítomnosti je označována jako užitečný komenzál trávicího traktu [10].

Pro tento bakteriální kmen je typické zkvašování cukrů (glukosy, laktosy, pentosy a alkoholických cukrů) za následné generace kyselin a plynů. Z těchto cukrů je tvořena především kyselina mléčná, pyrohroznová, octová a mravenčí. Část vznikající kyseliny mravenčí se rozkládá na oxid uhličitý a vodík. Na základě zjištění gramnegativní povahy *E. coli* a její schopnosti zkvašování laktosy za vzniku kyselin se následně jednoduše dochází k indikaci přítomnosti tohoto kmenu ve vodě a potravinách [11].

E. coli je jedním z nejprozkoumanějších bakteriálních kmenů. Tento fakt lze odůvodňovat tím, že je právě *E. coli* používána jako modelový mikroorganismus pro biochemické, genetické i fyziologické studie. Byl to dokonce první bakteriální druh, u něhož byla pozorována konjugace (spájení) buněk a výměna genetického materiálu [11].



Obrázek 5: *Escherichia coli*

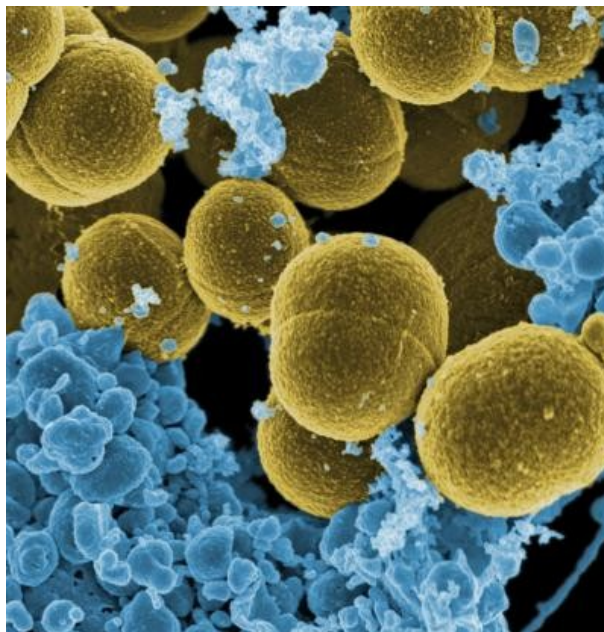
1.3.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus se teprve od roku 2001 řadí do nově navržené čeledi *Staphylococcaceae* pod níž náleží 5 charakteristických rodů mezi ně řadící se i rod *Staphylococcus*. *S. aureus* je kmen grampozitivní, nesporulující, tvořený nepohyblivými koky o průměru 1 μm (možno vidět na obrázku 6), v nepravidelných shlucích. Lze však spatřit i dvojice nebo zcela krátké řetízky. Kolonie jsou obvykle neprůhledné a mohou být bílé nebo krémové, občas je možné narazit i na kolonie zabarvené do žluta až oranžova. Stafylokoky patří mezi všudypřítomné

bakterie, jejichž výskyt je však především nejvíce spjat s kůží, kožními žlázami a sliznicemi teplotokrevných obratlovců [10].

S. aureus je považován za nejdůležitější patogen z celé čeledi *Staphylococcaceae*. Způsobuje angínu, závažná kožní onemocnění, hnisání ran a hnisavá onemocnění kostí. Pokud je *S. aureus* přítomen v potravě sám o sobě není původcem otravy, ale je jím vytvářený enterotoxin bílkovinné povahy, který může způsobovat až smrtelné otravy. K takovým případům dochází ovšem až při koncentraci buněk *S. aureus* v řádu 10^5 až 10^7 g. Inaktivace samotných kmenů je možná při držení určitou dobu při bodu varu. Proto je nebezpečí infekce tímto kmenem způsobována nejčastěji potravinami, které se tepelně neupravují (majonézy, saláty, krémy v cukrářských výrobcích). Do těchto potravin se *S. aureus* dostává nejčastěji kýcháním, kašláním či samotným kontaktem s místem na kůži napadeným tímto kmenem. Příznaky otravy jsou doprovázeny žaludečními nevolnostmi až křečemi, zvracením, průjmami, bolestí hlavy, poklesem teploty a pocením, které se projevují většinou 1 – 6 hodin po infekci. Tyto příznaky jsou obvykle zaznamenávány 1 až 2 dny [11].

Pro indikaci přítomnosti *S. aureus* a rozeznání jej od ostatních druhů netvořících toxiny je indikován na základě schopnosti koagulace krevní plazmy [11].



Obrázek 6: *Staphylococcus aureus*

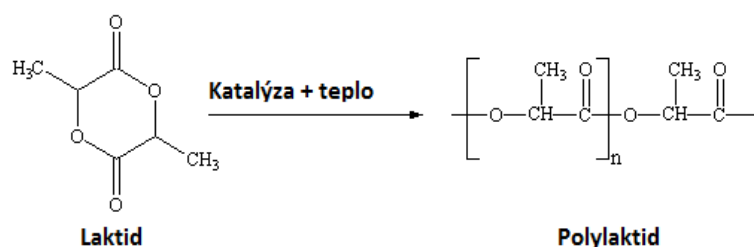
2 POLYMERNÍ SYSTÉMY POUŽITÉ V EXPERIMENTÁLNÍ ČÍSTI

V následující kapitole jsou stručně popsány dva polymery často využívané v medicíně, což byl důvod, proč byly zvoleny pro experimentální činnost.

2.1 Polylaktid (PLA)

Polylaktid (PLA) spadá do skupiny termoplastů. Z hlediska svého složení jej lze zařadit do skupiny polyesterů. PLA je možné získat buďto přímou kondenzací kyseliny mléčné nebo otevírání laktidového kruhu (OLK) a jeho následnou polymerací jak je znázorněno na *obrázku 7* níže. Protože je při metodě OLK možné dosahovat vyšších molekulových hmotností výsledného polymeru, volí se tato metoda v praxi mnohem častěji. Tento jev je zdůvodňován tím, že při přímé polykondenzaci kyseliny mléčné je více jak 99,3 % vysokomolekulárních produktů dehydratováno během samotné polymerace a také je nízká molekulová hmotnost přisuzována vysoké citlivosti takové reakce na nečistoty přítomné při reakci, které následně vedou ke stechiometrické nerovnováze. K dosažení vysoké molekulové hmotnosti (více jak 10 000) takového produktu musí být proto použito právě cyklických dimerů daného monomeru (laktidu) [12].

Reakce OLK je běžně katalyzována pomocí kovových sloučenin jako například cínu, zinku, olova, antimonu a jiných při teplotách v rozmezí 100 – 180 °C a sníženého tlaku. Ve chvíli kdy je kruh otevřen, je jeden konec takto vzniklého meziproductu zakončen esterovou skupinou a druhý nese kationový charakter. Následnou adicí laktidu probíhá propagace celé reakce [12, 13].



Obrázek 7: Výroba PLA metodou otevírání laktidového kruhu

Neoddiskutovatelnou výhodou některých polymerů vyráběných metodou OLK je to, že takto vzniklé materiály (PLA, PGA či kaprolakton) jsou biodegradabilní a tudíž rozložitelné v přírodě či v samotných organismech, což je v dnešní době velice ceněná vlastnost jak výrobci, tak spotřebiteli [12]. Samotný mechanismus biodegradace je založen na hydrolyze

esterových vazeb. Degradace jak polylaktidu tak polyglykolové kyseliny (PGA) probíhá na základě objemové eroze na rozdíl od polyanhydridů či polyortoesterů. Tak zvaná objemová eroze je v podstatě degradace polymerní matrice kdekoliv v jejím objemu. Proto tak často PLA nachází své uplatnění právě ve farmaceutických a medicínských aplikacích, kde je biodegradabilita mnohdy rozhodujícím faktorem při výběru používaného materiálu pro danou aplikaci. Míra a ochota rozkladu PLA je ovlivňována především jeho krystalinitou, molekulovou hmotností, sterickými zábranami tvořenými bočními skupinami, prostorovou geometrií vzorku a v neposlední řadě také typem PLA [13].

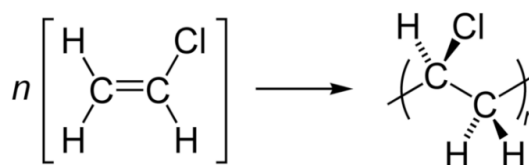
Vzhledem k přítomnosti metylových skupin zavěšených na hlavním řetězci kyseliny mléčné nebo jejího laktidu je lze následkem různého pootočení rozdělit vzhledem své chiralitě na tři základní druhy. Ty jsou souhrnně podle své optické aktivity rozdělovány na D, L a DL. Kde DL laktid je získáván ze směsi obou isomerů L a D a mezofázového izomeru obsahujícího jak L tak i D konfiguraci na jedné molekule. Podle použitého isomeru se následně označují i vzešlé polymerní produkty jako D-PLA, L-PLA a DL-PLA. Výsledné vlastnosti jednotlivých druhů jsou poté relativně silně odlišné. Kupříkladu L-PLA běžně dosahuje přibližně 35% krystalinitu, což výrazně ovlivňuje i jeho výsledné tepelné vlastnosti (přibližně $T_g = 65\text{ °C}$ a $T_m = 175\text{ °C}$), kdežto typ DL-PLA je svou morfologickou podstatou čistě amorfní s teplotou skelného přechodu pohybující se kolem hodnoty 57 °C . Díky tomuto faktu, je možné velmi jemně řídit vlastnosti výsledného polylaktidu podle zadaných požadavků [12, 14]. Možnosti jakými lze polylaktid zpracovávat spadají do běžných plastikářských tvářecích a tvarovacích postupů. Je však nezbytné mít na paměti nutnost předchozího důkladného sušení před samotným zpracováním [13, 15, 16].

Fakt, že je PLA hojně využíván také *in vivo*, je silně podpořen skutečností jeho velmi dobré biokompatibilitě nejen k lidskému organismu. Totiž vzniknuvší produkty (laktid a kyselina glykolová) rozkládajícího se PLA v organismu za dostatečné teploty a vlhkosti jsou vůči lidskému organismu neškodné a co víc, jsou dokonce v lidském těle přítomny běžně. To je kupříkladu důvod častého využívání PLA k výrobě chirurgických nití, které je možno vyrobit jak z roztoku, tak z taveniny. Další možností kde se často PLA uplatňuje, je také v tkáňovém inženýrství, při výrobě scaffoldů, protéz, ortopedických výrobků a ve farmaceutickém průmyslu pro výrobu preparátů s řízeným uvolňováním léčiv či jiných aktivních prvků (např. proteinů a peptidů) [13, 17].

2.2 Polyvinylchlorid (PVC)

Polyvinylchlorid patří mezi amorfní termoplasty. Je jedním z nejpoužívanějších polymerů. Tato skutečnost je opodstatněna jeho velmi dobrými vlastnostmi, širokou mírou modifikovatelností, skvělou zpracovatelností, levnou výrobou a velice dlouhou historií jeho používání vůbec (prakticky ve větším měřítku od roku 1935) [18, 19].

Samotná molekula vinylchloridu se skládá ze dvou atomů uhlíku s jedním navázaným atomem chloru a doplněna odpovídajícím počtem vodíků (viz *obrázek 8*). Atom chloru je v této molekule nejobemnějším prvkem (56 hmotnostních %), ten dává celé molekule své charakteristické rysy [19]. Tím nejpatrnějším v případě PVC je jeho vysoká tvrdost v surové podobě bez jakýchkoliv úprav. Právě silný dipól-moment atomů chloru v makromolekulách PVC je hlavním zdrojem této tvrdosti. Silná polarita PVC zaručuje jeho nerozpustnost v nepolárních rozpouštědlech (oleje, benzín atd.), naopak PVC je dobře rozpustné v některých chlorovaných uhlovodících a zejména pak v acetonu [18].



Obrázek 8: Strukturální vzorec PVC

Jak bylo zmiňováno výše PVC v surové podobě je velice tvrdý materiál. Vzhledem k vysoké tvrdosti surového PVC, je zde důležité zohledňovat jeho silnou polaritu a díky této znalosti použít prostředků, které by jeho vysokou tvrdost razantně snížil z hlediska širšího použití jako flexibilního materiálu. Těmito prostředky je myšleno užití správného změkčovadla. V případě PVC je jako změkčovadel nejčastěji použito ftalátů přesněji orto-ftalátů (TKF, DBF, DOF, DEHP atd.) v menší míře se pak využívá tereftalátů, adipátů, sebakátů, epoxidovaných olejů a dalších [18]. Nejpoužívanější ftalátová změkčovadla jsou ovšem ve větší koncentraci pro lidský organismus nebezpečná svojí toxicitou. Ohrožují pak správnou funkci ledvin, jater a způsobují nenormální vývoj pohlavních orgánů (především mužských) a další zdravotní a mutagenní abnormality. Do dnešní doby však nebyla nalezena žádná plnohodnotná náhrada právě těchto změkčovadel, a proto se v některých případech (zdravotnictví, potravinářský průmysl, hračkářský průmysl apod.) od použití PVC raději upouští [20].

Výroba PVC je, jak již bylo zmiňováno, relativně levný proces, který je možno provádět hned několika možnými postupy:

- **Polymerace v bloku** – v případě kdy je při polymeraci rozpouštědlem samotný monomer a i získaný polymer je rozpustný v monomeru, jedná se následně o blokovou polymeraci;
- **Roztoková polymerace** – polymerací v roztoku se rozumí procesu, při kterém je použito rozpouštědla vhodného pro rozpuštění monomeru, kde polymer je následně z reakce získáván ve formě roztoku (např. PVC v 1,2-dichloreтанu) nebo ve formě sraženiny (např. PVC v n-butanu);
- **Emulzní polymerace** – o takovou reakci se jedná, v případě že je monomer emulgován ve vodě (obsahující emulgátor) a výsledkem je latex resp. disperze polymeru ve vodě o velikosti částic v rozmezí od 0,01 – 3 μm ;
- **Suspenzní polymerace** – při této polymeraci je opět proces prováděn ve vodě či jiné kapalině obsahující stabilizátor suspenze monomeru, která byla do tohoto stavu přivedena většinou mechanickou cestou. Výsledkem je opět směs malých částíček polymeru (0,01 – 0,5 mm).

Veškeré tyto procesy se s výjimkou blokové polymerace provádí většinou za tlakových podmínek (0,3 – 0,8 MPa) při teplotách 40 – 80 °C. Bloková polymerace je velmi citlivá na teplotu, a je prováděna v rozmezí teplot od -10 do -20 °C [18]. Nejčastěji používanou metodou v průmyslovém měřítku je však z těchto čtyř suspenzní polymerace [13].

Co se týče použití PVC v medicínálních aplikacích, jedná se i v této oblasti o hojně využívaný materiál i přes jeho potenciálně škodlivé vlastnosti (přesněji řečeno škodlivosti změkčovadel) na živý organismus, o kterých byla řeč výše. Pravděpodobně nejčastější volbou PVC ve zdravotnictví je při výrobě vaků na uchovávání krve. Mezi další možnosti širokého využití PVC ve zdravotnické praxi je kupříkladu k výrobě protéz močových, rozličných druhů katétrů a hadiček [16]. PVC bylo ovšem například také využito při uchovávání substancí (herbicidey, pesticidy, feromony, aroma), jež mohly být následně z PVC matrice, na základě jejich difúze kontrolovaně uvolňovány do daného prostoru. Takováto směs se vytvoří pouhým zamícháním PVC s příslušným plasticizérem a požadovaným aktivním činidlem [18].

3 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKCE A JEJICH MOŽNÁ REALIZACE V PŘÍPADĚ POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ

Tato kapitola je zaměřena na popis možností docílení antibakteriálních aktivit obecně a následně s ohledem na aplikaci v případě samotného využití těchto možností společně s polymerními systémy.

3.1 Vliv vnějších činitelů na bakterie

Možností jakými lze ovlivnit činnost mikroorganismů v tomto případě konkrétně bakterií je velké množství. Obecně se však dají zařadit do tří skupin – na fyzikální, chemické a biologické faktory [3].

3.1.1 Fyzikální faktory

Pro bakterie je charakteristické a většinou relativně ostře určeno rozmezí, ve kterém mohou v případě působení fyzikálních faktorů žít a to i v případě vakuol nebo přímo vegetativním stavu [3]. Mezi nejúčinnější fyzikální vlivy působící na bakterie proto patří:

3.1.1.1 Teplota

Každý mikrob vykazuje životní funkce v určitých teplotních intervalech s určitým teplotním optimem [5]. Podle teplotních rozsahů je možné bakterie rozdělit následně:

- **Psychrofilní** – optimální teplota pro jejich růst je pod 20 °C, ale rostou dobře i při 0 – 5 °C;
- **Mezofilní** – nejlépe rostou při teplotách 20 – 40 °C, optimem je pro bakterie 37 °C;
- **Termofilní** – vyžadují teplotní rozsah 40 – 85 °C, ačkoliv pro většinu z nich je optimální teplota v rozmezí 55 – 60 °C [3];
- **Hypertermofilní** – extrémně tepelně náročné bakterie vyžadující teplotu až nad 80 °C, pro růst často nezbytná i teplota kolem bodu varu.

Překonáním určité teploty dochází k tak zvané letální (smrtící) mezi, při které dochází k denaturaci bílkovin s následnou inaktivací životně důležitých enzymů [5].

3.1.1.2 Vodní aktivita a vlhkost

Voda je nezbytnou substancí pro buněčnou hmotu a bez ní není možné, aby v ní probíhaly jakékoliv chemické reakce. Aby mohly nedisociované molekuly vody volně difundovat cytoplazmatickou membránou mikroorganismů, je nezbytné, aby i ve vnějším prostředí bylo dostatečné množství vody. Většina organismů vyžaduje v prostředí volně přístupnou vodu (hygrofilní mikroorganismy), ale jsou i takové, které mají schopnost využít i vázané vody například z povrchu půdních částic [3].

3.1.1.3 Hydrostatický tlak

Obecně na většinu bakterií působí zvýšený tlak tak, že zpomaluje jejich růst, pohyb i rozmnožování a nakonec tyto procesy i úplně zastavuje [5]. Ke zpomalení dochází obvykle při 10 – 20 MPa a virulenci nebo alespoň ztrátě pohybu dochází při 30 – 40 MPa. Mikroorganismy, které jsou schopny žít i ve vyšších tlakových podmínkách se nazývají barofilní [4].

3.1.1.4 Ultrazvuk

Zvukové vlny mají obecně nad 20 kHz inhibiční respektive zhoubný vliv na většinu mikroorganismů, díky prudké pulzaci buněčných membrán a cytoplazmy, která je doprovázena rychlým střídáním tlaku uvnitř buněk. Důsledkem toho dochází k praskání jejich těl [3].

3.1.1.5 Záření

Záření může mít na mikroorganismy jak pozitivní tak negativní vliv. Elektromagnetické záření, které buňka absorbuje, v ní vyvolává chemické změny. Ty mohou být nezbytné pro pozitivní procesy v rámci buňky (například fotosyntéza), ale také mohou mít v rozmezí některých vlnových délek mutagenní či dokonce letální (smrtící) účinek. Infračervené záření a viditelné světlo mají pro bakterie obvykle neutrální nebo pozitivní vliv. Ovšem v případě UV, Roentgenova, β a γ záření (kratší vlnové délky jak 10 nm) se již zpravidla u velké většiny bakterií objevují buď mutagenní změny či dokonce letální účinky [3, 5].

3.1.2 Chemické faktory

Pokud se do blízkosti mikroorganismu dostane molekula určitého chemického individua, vlivem tepelného pohybu může s buňkou mikroorganismu náhle reagovat [3]. Mezi nejvýznamnější chemické faktory, které na mikroorganismy nejintenzivněji působí, se řadí:

3.1.2.1 *pH prostředí*

Koncentrace vodíkových iontů v prostředí, kde se mikroorganismus nachází, silně ovlivňuje jeho biochemickou činnost. Například rozmnožování mikrobů je možné jen v prostředí o přesně daném rozmezí pH charakteristické pro daný druh. Například *Escherichia coli* roste v prostředí 6,0 – 8,0, kde maximem pro existenci je 9,5 a minimem 4,3 [3].

Mikroorganismy vyžadující alkalické prostředí se dají zařadit z tohoto hlediska do skupiny **alkalifilních** mikroorganismů a ty, jež vyžadují pro svůj růst kyselé prostředí, nesou název **acidofilní** [4].

3.1.2.2 *Oxidoredukční potenciál*

Na růstu mikroorganismů má vliv nejen přítomnost či nepřítomnost vzdušného kyslíku, ale také redoxní podmínky prostředí, ve kterém se vyskytují. Aerobní mikroorganismy vyžadují pozitivní redoxní potenciál (přítomnost rozpuštěného kyslíku). Naopak anaerobní mikroorganismy působí kladný oxidoredukční potenciál negativně, někdy dokonce i letálně. Jako redukční látky se velmi často volí cystein, kyselina askorbová nebo thioglykolát sodný [3]. Pro většinu aerobů je vyhovující prostředí $E_h +0,2 - +0,4$ V (při pH 7), přičemž u anaerobů je to hodnota pod $-0,2$ V [5].

3.1.2.3 *Povrchové napětí*

Pokud je sníženo povrchového napětí kultivačního prostředí povrchově aktivní látkou (tenzidem, surfaktantem), jsou mikroorganismy donuceny k růstu submersní formou z důvodu zvýšené smáčivosti buněk zmíněnými tensidy [4]. Podrobněji bude rozebráno v *podkapitole 3.2.1*.

3.1.2.4 *Dezinfekční látky*

V případě je-li nutno použít dezinfekčního prostředku, mělo by být dodrženo základní pravidlo jeho toxicity jen a pouze pro cílený mikroorganismus. Mezi nejčastěji využívané dezinfekční činidla zejména patří fenoly, silné kyseliny a zásady, halogeny, těžké kovy a jejich sloučeniny a plyny [4, 21]. Také účinky dezinfekčních činidel budou podrobněji rozebrány v *kapitole 3.2.1*.

3.1.2.5 Chemoterapeutika

Tímto názvem jsou označovány všechny chemické látky, které na rozdíl od dezinfekčních látek nepůsobí toxicky na vyšší organismy, ale jen na mikroorganismy [3]. Chemoterapeutika zaujímají v metabolismu pozici buněk a postupně je tak vytlačují ven, čímž je docíleno zastavování životně důležitých funkcí. Nejznámějšími chemoterapeutiky jsou sulfonamidy, antagonisté kyseliny, p-aminobenzoové, hydrazid kyseliny izonikotinové a další [5].

3.1.3 Biologické faktory

Nejen fyzikální a chemické faktory jsou významnými činiteli ovlivňující bakterie, potažmo všechny mikroorganismy. Velmi významným faktorem je také biologické působení mikroorganismů v prostředí a vliv hostitelského mikroorganismu. Mezi nejdůležitější biologický faktor s antimikrobiálními účinky můžeme jednoznačně zařadit antibiotika [4].

3.1.3.1 Antibiotika

Antibiotika jsou tak zvané sekundární metabolity, což znamená, že byly připraveny z primárních metabolitů pocházejících z produkčního organismu, za účelem jeho přežití, boji a rozmnožení se v přírodním prostředí [22]. Podrobněji bude pojednáno o této problematice v *podkapitole 3.2.2.2*.

3.2 Látky využitelné pro likvidaci či omezení funkce bakterií

Látek, které působí negativně na životní funkce bakteriální buňky je mnoho. Ovšem ne vždy působí tyto látky na bakterie veskrze destruktivně, ale mohou kupříkladu jen dočasně blokovat její biomolekuly a to především makromolekuly (bílkoviny a nukleové kyseliny). Jedná se potom o reversibilní děj typický pro tak zvané bakteriostatické látky, které mají za následek zastavení růstu a množení bakterií. Naopak ireversibilně působí baktericidní látky, kteréžto působí neopravitelnou škodu na některé bakteriální buněčné komponentě. Mezi těmito látkami však mnohdy není ostrá hranice působení [23].

Záměrné hubení patogenních bakterií pomocí chemických látek je možné rozlišovat takto:

- I. **Desinfekce** – zahubeny jsou jen bezprostředně nebezpečné bakterie, vyjma všech živých zárodků či spor;
- II. **Sterilizace** – zahubení všech živých buněk v systému (i spor);

III. Chemoterapie – jsou poškozovány patogenní bakterie, aniž by docházelo k většímu poškození hostitele [1].

3.2.1 Baktericidní látky

Zabíjení bakterií pomocí těchto chemických individuí je založeno především na těchto principech: ireversibilní alternací bílkovin (alkylace, oxidace, destrukce struktury apod.), narušení struktury nukleových kyselin (především DNA) a rozrušením systematického uspořádání buněčných membrán [11].

Mezi nejznámější bakteriocidní činidla je možné uvést:

- **Fenoly a příbuzné látky** – snižují povrchové napětí prostředí s následným narušením buněčné stěny. Jedná se především o kresoly, chlorfenoly, bifenyly [1];
- **Oxidující látky** – oxidují funkční skupiny biomolekul. Často využívané H_2O_2 , $KMnO_4$, peroctová kyselina $CH_3CO-O-OH$ a další [23];
- **Silné kyseliny a zásady** – poškozují buněčnou stěnu i cytoplazmatickou membránu [4]. Kupříkladu necht' poslouží 0,01N HCl a podobné [1];
- **Halogeny** – nejúčinnější jsou chlór (kyselina chlorná ve vodném prostředí uvolňuje atomový kyslík) a jód (nejúčinnější v alkoholických a KJ roztocích);
- **Těžké kovy a jejich sloučeniny** – většina z nich (stříbro, rtuť, kadmium, měď, zinek a arsen) působí na mikroby toxicky [5, 21], napadá jejich $-SH$ skupiny a blokuje tak jejich esenciální význam [4];
- **Plyny** – formaldehyd (tvorba můstků mezi blízkými $-NH_2$ skupinami), etylenoxid (alkylací vodíku ve skupinách $-NH_2$, $-OH$, $-COOH$, $-SH$ narušuje jejich strukturu a funkci) a β -propiolakton [3, 24].
- **Alkoholy** – dezorganizují membránové struktury [1], ovšem působí jen ve vysokých koncentracích ($>70\%$) a nehubí spory [23].
- **Povrchově aktivní látky (detergenty)** – poškozují především strukturu a tím i funkci membrány. Detergenty je možné rozdělit podle své povahy na anionaktivní, kationaktivní a neionogenní [3]. Neiontová jsou ty nejméně účinná. Mezi aniontová (ty které jsou aniontem) patří běžná mýdla a soli mastných kyselin. Nejúčinnější na

hubení bakterií jsou kationtové, z nichž jsou velmi známé kvartérní sloučeniny (například cetyltrimetylamonium) [1, 23].

3.2.2 Bakteriostatické látky

Bakteriostaticky se chovají látky, které interagují s biomolekulou (především bílkovinou či nukleovou kyselinou) a způsobují její dočasnou dysfunkci. Jedná se o reversibilní děj. Pokud je takto blokován proces životně důležitý a trvá dostatečně dlouhou dobu, dochází k ireversibilnímu poškození až ke kompletní destrukci buňky. Pokud je k blokované parazitující buňce nevlídné i hostitelské prostředí destruktivní jev se akceleruje. Na základě širšího spektra možných příčin negativně působících na zmiňovanou buňku je obtížně konstatovat a určit přesnou hranici mezi bakteriostatickými a baktericidními činidly [23].

Důvod proč se věda zabývá bakteriostatickými látkami, tkví především v možnosti selektivního zásahu do organismu s působením pouze na patogenní bakterie. Bakteriostaticky působí chemická individua především enzymové jedy či antimetabolity. Jen antibiotika jsou co do účinku velmi specifická a speciální [1, 3].

3.2.2.1 Jedy

Tyto látky pracují na dvou mechanismech a to buď jejich reakcí s enzymem na místě jiném než vazebném pro substrát enzymu (jedy nekompetitivní) nebo jako jedy kompetitivní soupeřící se substrátem o totéž vazebné místo, protože se samotnému substrátu podobají. Ovšem pro buňku potřebný extrakt reakce neposkytují [23]. Kompetitivní jedy patří do širší skupiny antimetabolitů. Jejich konkrétním příkladem může být amid kyseliny sulfanilové. Příkladem nekompetitivního jedu je KCN (zabraňuje oxidaci cytochromů kyslíkem) či deriváty barbiturové kyseliny [1].

3.2.2.2 Antimetabolity

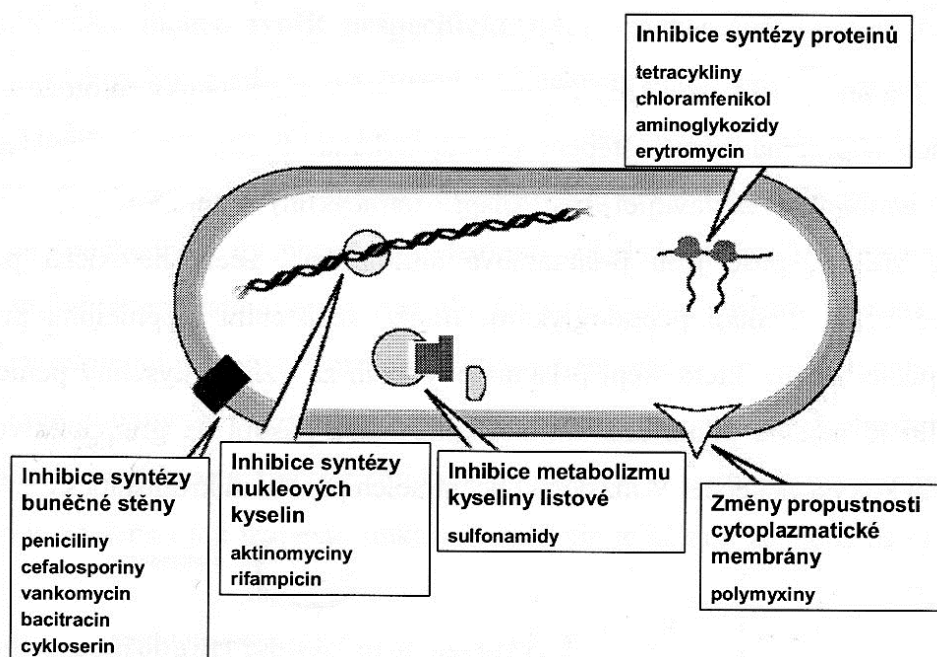
„Antimetabolit je strukturní analog metabolitu, který pro svou podobu s metabolitem ošálí buňku, ale je pro metabolismus nefunkční [23].“ Antimetabolity účinkují na základě těchto tří mechanismů:

- a) Antimetabolit je kompetitivním inhibítozem enzymu (například kyselina malonová, strukturní analog kyseliny jantarové);
- b) Antimetabolit stimuluje funkci metabolitu jako efektoru, který zpětnou vazebnou inhibicí zastavuje tvorbu sebe sama (například allosterické enzymy);
- c) Antimetabolit se zabuduje místo metabolitu do makromolekuly jako její stavební kámen, tak dochází ke změně její primární, sekundární i terciární struktury a následné dysfunkci [1, 25].

3.2.2.3 Antibiotika

Antibiotika jsou látky, které již v malých koncentracích potlačují životní procesy jiných organismů tvořených převážně mikroorganismy a to především bakteriemi (zejména aktinomycetami) vyskytujících se nejčastěji v půdě [22]. Antibiotika je možné rozdělovat podle několika hledisek, nejčastěji však podle způsobu účinku na buňku mikroorganismu (viz obrázek 9). Dělení je poté koncipováno na antibiotika:

- a) **Působící na syntézu buněčné stěny** – účinek spočívá v narušení syntézy buněčné stěny, čímž se blokuje polymerace fragmentů muropeptidů. Mezi nejdůležitější patří penicilin, cefalosporin, bacitracin (a jiné obsahující většinou β -laktamový kruh) [4];
- b) **Působící na cytoplazmatickou membránu** – způsobují dysfunkci selektivní permeability cytoplazmatické membrány, tím pádem vedou k volné difuzi látek (především nízkomolekulární látky) směrem ven z buňky [3]. Velmi známé v této kategorii jsou valinomycin, polymyxin [4];
- c) **Způsobující inhibici proteosyntézy** – tyto antibiotika mají různé mechanismy, jakými narušují správnou funkci syntézy bílkovin v bakteriální buňce. Podle chemické struktury jsou rozděleny a nejčastěji známy tyto – aminoglykozidy, tetracykliny, chloramfenikol a další [3];
- d) **Působící na syntézu nukleových kyselin** – jsou známy jako inhibitory gyrázy (enzymu katalyzujícího tvorbu a rozpad vazeb nukleotidů v DNA) působí v DNA lokálně specifické dvouřetězcové zlomy [4]. Mezi velmi známé antibiotika v této skupině patří rifampicin, aktinomycin D a mitomycin C [1].



Obrázek 9: Místo účinku antibiotik v buňce

3.3 Možnosti docílení antibakteriální schopnosti polymerních systémů

Možnosti jakými lze docílit takové vlastnosti by se daly rozčlenit do následujících čtyř základních skupin:

1. Začlenění stálé či uvolňující se antimikrobiální přísady přímo do polymerní matrice;
2. Nanášení antimikrobiálního činidla na povrch polymerního produktu;
3. Navázání antimikrobiálního činidla k polymeru pomocí iontových či kovalentních vazeb;
4. Využití polymerů, jež mají přirozeně antimikrobiální vlastnosti [26].

3.3.1 Začlenění stálé či uvolňující se antimikrobiální přísady přímo do polymerní matrice

Tento způsob se v dnešní době používá velice často a dal by se posuzovat jako nejčastěji zvolený s ohledem na jeho účinnost společně s možností navázání antimikrobiálního činidla k polymeru pomocí iontových či kovalentních vazeb. Kupříkladu od roku 1997 do 2002 se více než zdvojnásobila taková úprava s ohledem na počet vydaných článků a patentů svázaných s tímto tématem. Bylo provedeno velké množství výzkumné činnosti s antimikrobiálními přísadami, které jsou obecně považovány za bezpečné pro použití v medicíně a také s přísadami, které buď nejsou atestovány a biologicky potvrzeny jako bezpečné či byly shledány jako nebezpečné. Testování bylo prováděno jak na termoplastech, tak na termosetech [26, 27, 28].

Jako jedny z nejrozšířenějších aditiv v této oblasti jsou pravděpodobně stříbrné ionty obsažené například v substituovaných zeolitech či dusičnanu stříbrném a obecně thiazolové sloučeniny. Na širokou škálu bakterií a hub jsou poměrně účinné také sodné ionty obsažené ve výše zmiňovaných zeolitech, které nahrazují stříbrné ionty, ovšem v tomto ohledu také citelně snižují cenu. Zeolity obsahující tyto substituenty jsou často osazovány do běžně zpracovávaných polymerních materiálů jako např. PE, PP, PA 66, ABS v obsahu 1 – 3 hm. % [28, 29]. Stříbrné ionty v tomto případě vnikají do mikrobiálních buněk a rozrušují jejich enzymatické aktivity, čímž jejich negativní vlastnost přinejmenším inhibují v mnohých případech však dokonale destruuje samotnou buňku (podrobněji v kapitole 3.4.1.). Je ovšem nutno zmínit, že se také hojně využívají i jiné druhy antimikrobiálních aditiv a to například enzymy (enzymy laktoperoxidů a laktoferrinů), antimikrobiální peptidy druhu magaininů, cecropinů, defensinů, přírodní fenoly typu hydrochinonů a katechinů a kovy mědi, zinku a jiných ušlechtilých kovů, které mají často významný účinek na hubení mikroorganismů [30].

Co se týče plnění výše zmiňovaných činidel, jejich míra plnění se většinou pohybuje v rozmezí od 0,1 do 5 hm %. Ze zpracovatelského hlediska mohou být tato aditiva do produktu zakomponována v tavenině nebo pomocí rozpouštědla zamíchány do matrice. Běžné zpracování polymerů například vstřikováním, vytlačováním však umožňuje využívat jen tepelně stabilní antimikrobiální činidla. Mezi taková patří kupříkladu stříbrné substituované zeolity, které odolávají až do teplot 800 °C [31].

Složitou situaci při začleňování tepelně citlivých antimikrobiálních aditiv řeší již zmíněná rozpouštědla, umožňující zpracovávat polymery kupříkladu litím, odléváním, nástřikem apod. Aby se předešlo tepelnému rozkladu aktivní substance, se například pomocí rozpouštěcího činidla slučují lysozymy do esterů celulózy, [30]. Lití jako takové je však možné využít jen v případě, že je jak polymer, tak antimikrobiální činidlo rozpustné v témže rozpouštědle, což bývá mnohdy problém u syntetických polymerů. Zde se dostávají ke slovu především přírodní polymery, protože ty často obsahují proteiny, uhlovodíky a lipidy, které umožňují rozpustnost daného polymeru ve vodě, etanolu a jiných, které taktéž rozpouštějí antimikrobiální činidla. Nicméně jsou i případy, kdy není vhodné začleňovat relativně tepelně stabilní antimikrobiální přísady do polymerů cestou taveniny, protože i u takových činidel občas dochází k poměrně vysoké ztrátě jejich antimikrobiálních vlastností. Takto popisované aditiva mohou například být bakteriociny a peptidy [32, 33].

Je známo, že velké množství antimikrobiálních plniv není snadné začlenit nebo homogenně zamíchat do polyolefinů a příbuzných hydrofobních polymerů. V takovém případě bylo zatím objeveno řešení, kdy se do polyolefinu (např. LDPE) přimíchalo určité množství anhydridu organické kyseliny před uvedením polymeru do taveniny. V tavenině posléze došlo k reakci anhydridu s vlhkostí a k vzniku organické kyseliny, která v konečném výrobku migruje postupně na povrch, kde působí jako poměrně silná antimikrobiální přísada [34].

Výhodou antimikrobiálních přísad, které se postupem času uvolňují z polymerů, může být skutečnost, že nepůsobí jen jako ochrana povrchu polymeru nebo jiného povrchu objektu, který je s tímto v přímém fyzickém kontaktu, ale také že působí jako účinný antimikrobiální systém v širším okolí než je jen jeho fyzický kontakt. Zde se ovšem musí přesně určit a také dosáhnout postupného a přesně daného uvolňování, z čehož ovšem vyplývá nevýhoda těchto plniv a tou je jen dočasná funkce takových antimikrobiálních vlastností. Ta se posléze dá určit koncentrací činidla v polymeru a jeho mírou difuze na povrch. Přičemž difúze resp. uvolňování činidla z polymeru by mělo být udržováno na takové hranici, aby byla vyšší než kritická koncentrace nutná k inhibici mikrobiálních reakcí, ale ne vyšší o několik řádů. K takovému kontrolovanému uvolňování, lze například dojít pomocí opatření výrobku dalšími vrstvami. Vnější vrstva poté kontroluje stupeň difuze aktivní látky, vnitřní zajišťuje samotnou antimikrobiální přísadu. Nebo může být využito některého z

biodegradabilních plastů, které během svého přirozeného rozkladu zároveň uvolňují aktivní látku ze své matrice [35].

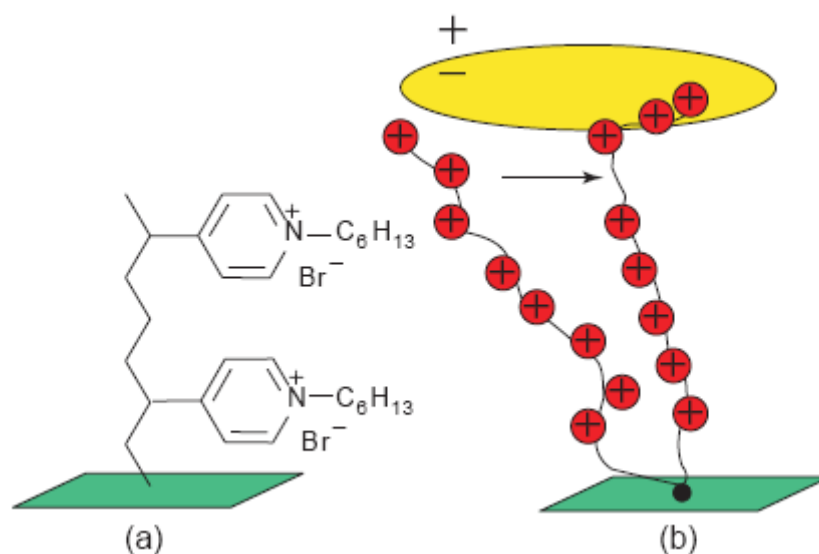
3.3.2 Nanášení antimikrobiálního činidla na povrch polymerního produktu

Tato možnost se volí v případě, že dané antimikrobiální činidlo nemůže být zpracováváno společně v tvářecím procesu s polymerní taveninou vzhledem k vysokým teplotám procesu nutným k samotnému tváření. Proto se v takovém případě buď využívá proces, při němž je polymer zpracováván společně s antimikrobiální přísadou při relativně nízkých teplotách v roztoku nebo se často volí jeho nanášení na tento výrobek až po samotné tvářecí operaci, protože především některé z řady syntetických polymerů v roztoku není snadné zpracovávat nebo jsou jejich výsledné vlastnosti nedostačující. Některé licí filmy obsahující antimikrobiální složky (například antibiotikum) jsou využívány k máčení výrobků přímo v tomto roztoku často obsahující přírodní polymer (například želatinu) nebo jsou využívány pro balení medikamentů, potravin a jiných do jedlých filmů, možných k přímé aplikaci i s jejich odlitým obalem [36, 37].

Dalším případem takového využití je licí film obsahující kupříkladu nisin (produkovan některými bakteriemi mléčného kvašení, např. *Lactococcus lactis*), který je velice levný a zároveň poměrně účinný bakteriocin. Například studie Bower, McGuire a Daeschela (1995) názorně demonstruje, že nisin zakomponovaný na silanizovanou siliku zpomaluje růst bakterie *Listeria monocytogenes*. Obecně lze říci, že povrchy s nízkou hydrofobitou vykazují nižší aktivitu nisinu než ty s vysokou hydrofobitou. I přes relativně vysokou antibakteriální schopnost je nisin účinný jen proti grampozitivním bakteriím. Takové bakteriocidní povlaky lze využít na velkou škálu polymerních materiálů počínaje PE, EVA, PP, PA, PET, akryláty, PVC a dalšími. Reálný příklad takového povlaku může být nisin zamíchaný s metylcelulózou [38, 39, 40].

3.3.3 Navázání antimikrobiálního činidla k polymeru pomocí iontových či kovalentních vazeb

Tento typ antibakteriální úpravy jak již z názvu napovídá, vyžaduje, aby polymer i antimikrobiální činidlo obsahovalo takové funkční skupiny, které umožňují jejich navazování vůči sobě. Mezi antibakteriální přísady obsahující funkční skupiny, umožňující navázání na některé polymery mohou zejména patřit peptidy, enzymy, polyaminy a organické kyseliny. Jako příklad takové úpravy byla prezentována poměrně široká škála funkčních příkladů mezi, které lze například zařadit ionomer s bakteriociny či benzoyl chloridem; dále pak PS s lysozymem nebo syntetickými antimikrobiálními peptidy; PVAL eventuelně PA 66 s lysozymy či PVP s navázaným poly(4-vinyl-N-alkylpyridinem bromidu) (viz. *obrázek 10 a*). Výše zmiňovaná antibakteriální činidla byla také úspěšně navázána s polymery EVA, EMA, EAA, EMAA, PVDC, EVOH, kopolymerem PE, PS atd. [41, 42, 43, 44]. Takové začlenění neboli navázání antimikrobiálního činidla v některých případech vyžaduje tzv. „rozpěrku“ (rozměrnější molekulu), které spojí polymerní povrch s bioaktivní přísadou, jež následně umožní dostatečnou svobodu pohybu tak aby aktivní činidlo mohlo reagovat s mikroorganismy na povrchu, jak lze schematicky vidět na *obrázku 10 b*). Využití této metody k ochraně produktu proti mikroorganismům je však nutné zvážit z hlediska snížení antimikrobiální vlastnosti činidla, způsobené jeho pevným navázáním. Pro proteiny a peptidy může mít takové změna v konformaci a denaturaci za následek určité snížení jejich aktivity na jednotku plochy [44].



Obrázek 10: Schéma spojení antibakteriální složky s povrchem polymeru: a) antibakteriální složka je spojena s dlouhým polymerním řetězcem, který je kovalentně připojen k povrchu; b) Příklad spojení polymerní matrice s poly(4-vinyl-N-alkylpyridinem bromidu)

Mezi antibakteriální činidla, která je možno navázat kovalentně, lze zařadit například lysozym a chitinázu oba velice účinné enzymy proti grampozitivním bakteriím. Ovšem v tomto případě je jejich aktivita pro širší využití v medicíně velmi nízká [43, 45]. Jako účinnější alternativa v případě kovalentního navázání, zde může být použita oxidáza glukózy katalyzující reakci mezi glukózou a kyslíkem za následného uvolňování antimikrobiálního hydrogen peroxidu [46]. Jiná činidla, která lze taktéž využít, jako činidla navázané pomocí kovalentních vazeb mohou být enzymy laktoferrin, oxidáza sulfhydrylu, žlučovou solí stimulovaná lipáza nebo v poslední době se jako velmi zajímavá alternativa jeví fosfonium. Ovšem tato technika má jedno velké úskalí a to je nutnost přítomnosti substrátu nezbytného k reakcím, které následně uvolňují antibakteriální látku. Jak již bylo zmíněno, například oxidáza glukózy, vyžaduje pro svůj vznik a aktivitu glukózu jako substrát; laktoperoxidáza vzniká jen za přítomnosti hydrogen peroxidu a thiokyanátu apod. A proto je nutná přítomnost tohoto substrátu v systému společně s takto ošetřeným polymerem, aby antibakteriální úprava na zmiňované bázi fungovala. Další podmínkou je, aby tyto enzymy nevytvářely nadměrné množství hydrogen peroxidu či jiných aktivních látek nad jejich kritickou hranici pro danou aplikaci až toxickou [45, 47].

Několik peptidů izolovaných z mikroorganismů, rostlin a živočichů a také jejich chemicky syntetizované analogy rovněž projevují antibakteriální aktivity. Protože právě peptidy mohou být kovalentně navazovány skrze amino a karboxylové skupiny je možné jejich užití při antibakteriálním ošetření polymerů. Je například možné kovalentně navázat peptidový zbytek 1,4-amino kyseliny na PS pomocí tzv. peptidové syntézy pevné fáze [48].

3.3.4 Využití polymerů, jež mají přirozeně antimikrobiální vlastnosti

Existují i polymery, které jsou samy o sobě svojí povahou přirozeně aktivní v hubení mikroorganismů. Polymery jako chitosan a poly-L-lysin poskytují buňkám adhezi, protože nabitě aminy interagují s negativně nabitými na buněčné membráně, které následně způsobují prosakování nitrobučených součástí. A následkem toho je například chytosan velmi účinný v likvidaci hub [49]. Dalším příkladem přirozeně baktericidního polymeru může být akrylový polymer připraven kopolymerací akrylu a protonovaného komonomeru aminu (dimethylaminoethylmetakrylát, dietylaminoethylmetakryláte a další) [50]. Kupříkladu i polymer se začleněným biguanidem ve své struktuře, může vykazovat poměrně patrnou antibakteriální aktivitu [51].

Za použití určitých technik a procesů lze i z jiných polymerů udělat antibakteriálně aktivní typ, ovšem jen na jeho povrchu. Příkladem by mohlo být UV ozařování povrchu. Pokud bude například takto ozářen PA prokazatelně se, tak zvýší jeho antibakteriální schopnost, která je způsobena právě zvýšením koncentrace aminů v ozářené oblasti. Pozitivně nabitě aminy v oblasti povrchu, jež byl ozářen, zvyšují přilnavost buněk, ale nemusí nezbytně tyto buňky zabíjet. Srovnatelný účinek UV ozařování může mít i na PA 66, kde stejně jako u výše zmiňovaného PA mají aminové skupiny nepatrně bakteriocidní schopnost, ovšem zde byly bakterie absorbovány na ozařovaný povrch a efektivita aminových skupin se tak postupem času snížila [52].

3.4 Působení stříbrných a zinečnatých částic na bakteriální buňku

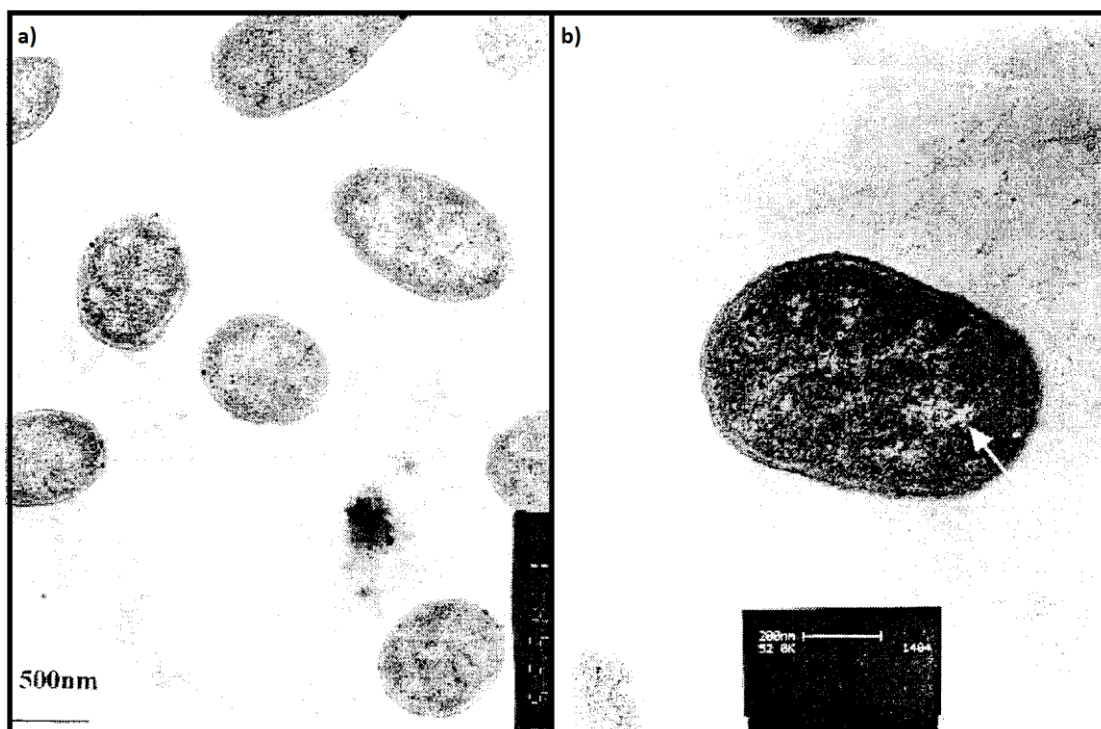
3.4.1 Působení stříbrných částic

Antibakteriální schopnost stříbrných iontů je podle mnohých studií založena na dvou stěžejních strategiích, kdy prvním předpokládaným mechanismem je ochrana vnitřního obsahu buňky (především DNA) proti vnějšímu působení Ag^+ iontů a následná ztráta replikačních schopností DNA. A jako druhý bakteriocidní princip stříbrných částic je jejich reakce s tiolovými skupinami bakteriálních proteinů s následnou inaktivací jejich enzymatických aktivit [53, 54, 55].

3.4.1.1 Působení na gramnegativní bakterie

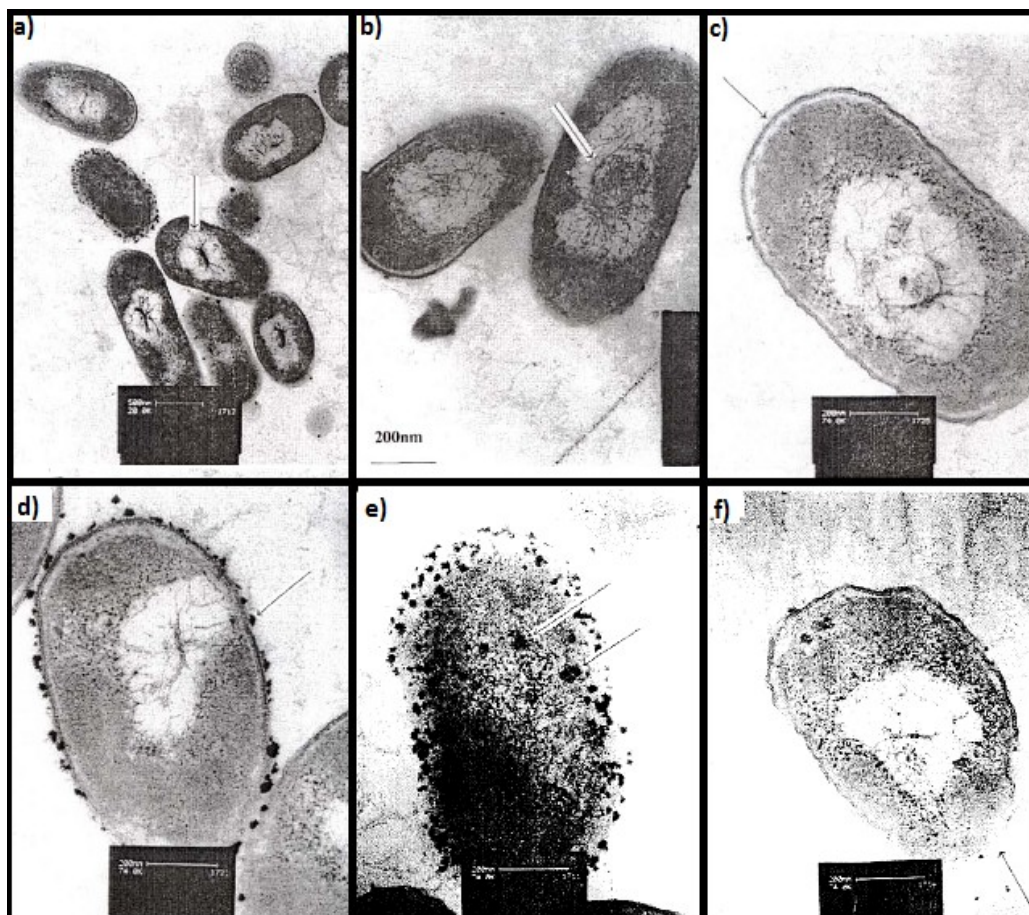
Jako typický příklad gramnegativní bakterie bude pro popis inhibičního mechanismu vybrána *E. Coli*, která bude vystavena vlivu Ag^+ částic. Celý mechanismus doposud není zcela pochopen a panují jisté pochyby, že může být do určité míry ještě mnohem složitější a komplexnější.

K ilustraci pravděpodobného mechanismu poslouží *obrázky 11 a 12* zachycující postupný vliv částic stříbra na buňky *E. coli*. Na *obrázku 11 a)* je sejmuta vnitřní struktura jednotlivých buněk *E. coli*, které jsou v této chvíli v naprosto běžném stavu bez jakéhokoliv vnějšího zásahu. A v části *b)* na snímku je možné z blízka vidět DNA struktury, které jsou při snímkování pomocí TEM mikroskopie zobrazeny bílou barvou (rozprostřeny náhodně po celém těle buňky) a v této části snímku také vyznačeny bílou šipkou [53].



Obrázek 11: TEM snímek – Internální schéma *E. coli*

Obrázek 12 a), již symbolizuje silné morfologické změny v celé bakteriální buňce, což je způsobeno přidavkem AgNO_3 do systému. Části obrázku 12 b) – f) jsou následné zvětšení části a), sloužící pro lepší viditelnost změn. Na všech snímcích obrázku 12 a) – d) je možné vidět silnou kondenzaci většiny buněčného obsahu. Tento obsah byl stočen do centra buňky podobně jako stočená struna či klubko (viz obrázek 12 b)). Další změnou, která je přisuzována vlivu Ag^+ iontům je tvorba volného prostoru mezi buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou, možnou vidět na obrázku 12 c) (prostor označen bílou šipkou), což je patrnější při porovnání s obrázkem 11 b). Dalším příznakem postupné destrukce buňky jsou aglomeráty tvořící se na povrchu buňky resp. na buněčné stěně ovšem ne uvnitř buňky samotné (obrázek 12 d)). Tento jev pravděpodobně poukazuje na fakt, že buňka přestává absorbovat přes buněčnou stěnu jakýkoliv materiál z důvodu ochrany buněčného obsahu. Na obrázku 12 e) je poté možné vidět buňku, která je složena převážně z výše zmiňovaných aglomerátů, bez kondenzovaného buněčného obsahu (především složeného z DNA) a bez mezery mezi buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou, což je v podstatě jasný signál absence jakékoliv buněčné stěny v tomto případě. Takový shluk následně pravděpodobně obsahuje již jen zmiňované aglomeráty a cytoplazmu. Toto stádium by se dalo považovat jako závěrečné před úplnou destrukcí bakteriální buňky. A konečně na obrázku 12 f) je možno vidět kompletně zničenou buňku *E. coli* [53].



Obrázek 12: TEM snímek – Vliv Ag^+ iontů na bakteriální buňku *E. coli*

3.4.1.2 Působení na grampozitivní bakterie

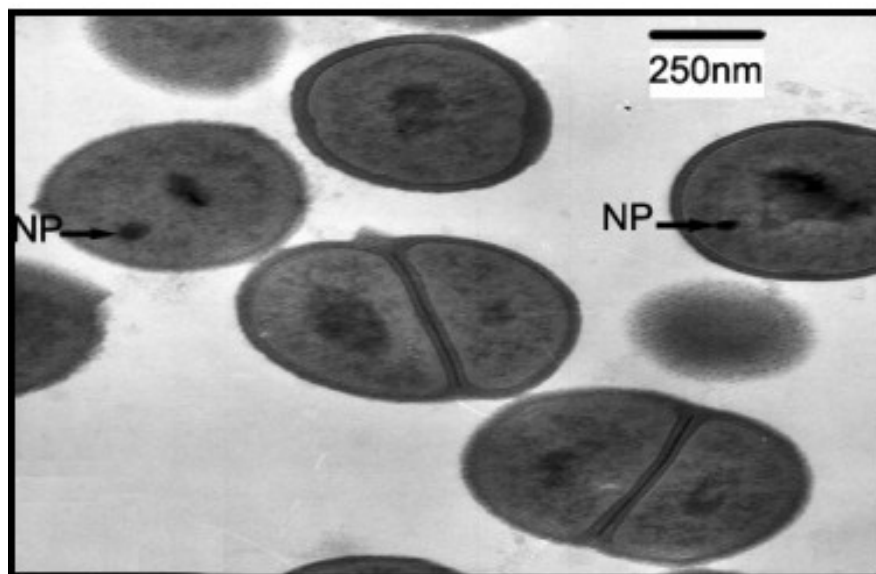
Pro tuto analýzu byl jako modelový příklad grampozitivních bakterií vybrán *S. aureus*, který má v porovnání s *E. coli* mnohem tenčí buněčnou stěnu, což je ovšem téměř vždy pravidlem u všech grampozitivních bakterií oproti gramnegativním. Pokud je do systému, ve kterém jsou přítomny buňky *S. aureus* přidáno určité množství zdroje stříbrných kationtů (opět $AgNO_3$), je možné pozorovat stejné morfologické změny, jako tomu bylo v předešlém případě. Což znamená, že se opět buněčný obsah „stáhl“ směrem do středu bakteriální buňky a i cytoplazmatická membrána se oddálila od buněčné stěny, jak bylo popsáno výše. Jde pravděpodobně o určitý druh obranného mechanismu buňky. Ovšem byly zde pozorovány i jisté odlišnosti jako například podstatný fakt, že i destruovaná buňka *S. aureus* zůstala po působení stříbrných částic kompaktní a nedocházelo k jejímu rozpadu a množství výše zmiňovaných aglomerátů proniknuvších do buňky bylo podstatně nižší. Tyto rozdílnosti potvrzují fakt, že grampozitivní bakterie mají vyšší obranyschopnost vůči stříbrným iontům jak bakterie gramnegativní [53].

3.4.2 Působení zinečnatých částic

Navzdory obrovskému zájmu, který je v poslední době věnován zinku a zinečnatým částicím obsažených v různých chemických individuích není do dnešní doby prokazatelně znám jeho přesný antibakteriální princip. I přes známý fakt, že k růstu bakteriálních buněk je zapotřebí koncentrace v rozmezí $10^{-5} - 10^{-7}$ M zinečnatých kationtů, je při přesažení této koncentrace zaznamenána jejich bakteriocidní aktivita, která je často spojována se silnou toxicitou, té jsou ovšem vystaveny všechny živé buňky v systému [56]. Nejčastěji je však antibakteriální aktivita zinečnatých částic spojena s generací peroxidu vodíku uvolňujícího se z jejich povrchu. Jelikož buněčná membrána bakteriálních buněk umožňuje poměrně dobrou permeabilitu pro peroxid vodíku, je následné, dodnes přesně nespecifikované, poškození této buňky možné. Toto poškození či dokonce destrukce buňky předchází inhibice růstu buňky [57]. Mimochodem samotný peroxid vodíku je již zmiňován jakožto bakteriocidní látka v kapitole 3.2.1. *Oxidující látky*.

Co se týče působení zinečnatých iontů na grampozitivní bakterie, je možno na základě mnoha studií potvrdit, že Zn^{II} ionty vykazují poměrně silný baktericidní účinek již při nízkých koncentracích plnění. V případě vlivu zinečnatých kationtů na hubení gramnegativních bakterií je však tato aktivita nižší a je zapotřebí zvýšit plnění někdy až šestinásobně oproti minimální účinné dávce vůči grampozitivním bakteriím. Tento jev je pravděpodobně zapříčiněn rozdílností a složitostí stavby grampozitivních a gramnegativních buněčných stěn (viz kapitola 1.2.) [56, 57, 58, 59].

Je však také možné udržet dávkování takové antibakteriální přísady na relativně nízké hranici pokud je použito nanočástic obsahující zinečnaté kationty. V takovém případě v mnohých případech dochází k penetraci jednotlivých aktivních částíček přímo do bakteriální buňky a jejich bakteriocidní aktivita se tak mnohonásobně umocňuje. To je možné pozorovat na obrázku 13 znázorňujícím buňku bakterie *S. aureus*, která pohltila několik nanočástic ZnO (označeny šipkou jako NP). Pokud například nanočástic ZnO mají přibližnou velikost 11 nm, je minimální dávka nutná pro potlačení *E. coli* stanovena na hranici 3mM [59, 60, 61].



Obrázek 13: TEM snímek – pohlcení nanočástic ZnO buňkami *S. aureus*

Jako zdroj zinečnatých kationtů bylo do polymerních systémů s antibakteriálními schopnostmi použito mnoho možných chemických sloučenin, ale těmi nejčastějšími v tomto případě bylo využito výše zmiňovaného oxidu zinečnatého, ovšem vzhledem k jeho obecně špatné rozpustnosti se často také volí octan zinečnatý nebo síran zinečnatý [56, 58].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Postup a cíle experimentální činnosti jsou založeny především na plánovaném využití PVC a PLA s příměsí antibakteriálního plniva primárně pro oblast zdravotnictví. Nejprve bude nutné připravit pomocí mikrovlnné syntézy antibakteriální plnivo tvořené hybridní směsí Ag a ZnO částicemi. Produkt této činnosti ohodnotit pomocí SEM mikroskopie a podle výsledků vybrat hodící se vzorek. Z tohoto plniva následně vytvořit kompozitní směs spolu s výše zmiňovanými polymery. Vzniklá směs bude ocharakterizována vzhledem k vlivu plniva na její tokové, tepelné, mechanické a morfologické vlastnosti a ve finále provedeno ohodnocení její povrchové antibakteriální schopnosti v souladu s mezinárodní normou ISO 22196. Na závěr bude provedena formulace získaných výsledků spolu s jejich diskusí a závěrečným hodnocením.

5 PŘÍPRAVA VZORKŮ

V této kapitole je v první řadě uveden výčet materiálů a chemikálií a jejich množství potřebné na následnou přípravu vzorků, která je poté podrobně popsána s jednotlivými postupy, parametry a použitými přístroji.

5.1 Použité materiály a chemikálie

Následující výčet použitých materiálů a sloučenin zahrnuje potřebné komponenty k získání antibakteriálního hybridu Ag/ZnO a polymery použité jako nosiče tohoto činidla. Výčet je následující:

- **Octan Zinečnatý Dihydrát - $(\text{CH}_3\text{COOH})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$**
 - *Výrobce:* PENTA Chrudim, Ing. Petr Švec;
 - *CAS:* 5970-45-6, EINECS: 209-170-2;
 - *Číslo šarže:* 190707;
 - *Hmotnost:* 1000g;
 - *Mr:* 219,50 g/mol;
 - *Obsah:* min 99,0%;
 - *Látky nerozpustné ve vodě:* max. 0,005%, Chloridy: max. 0,001%, Sírany: max. 0,002%, Fe: max. 0,005%, Alkálie a kovy alkalických zemin: max. 0,1%.

- **Dusičnan Stříbrný - AgNO_3**
 - *Výrobce:* PENTA Chrudim, Ing. Petr Švec;
 - *CAS:* 7761-88-8, EINECS: 231-853-9;
 - *Číslo šarže:* 150807;
 - *Hmotnost:* 100g;
 - *Mr:* 169,87 g/mol;
 - *Obsah:* min 99,5%;
 - *Látky nerozpustné ve vodě:* max. 0,005%, Chloridy: max. 0,005%, Sírany: max.

0,005%, Fe: max. 0,0005%, Látky nesrážející se s
HCl: max. 0,04%.

• **Polyvinylpyrrolidon (PVP) – (C₆H₉NO)_n**

- *Výrobce:* Sigma-Aldrich Chemie GmbH;
- *CAS:* 9003-39-8;
- *M_w:* 40 000.

• **Hexametylentetramin (HTMA) – C₆H₁₂N₄**

- *Výrobce:* Sigma-Aldrich Chemie GmbH;
- *CAS:* 100-97-0, Č.ES: 202-905-8;
- *Číslo šarže:* 1314144 10308127;
- *Hmotnost:* 250g;
- *Mr:* 140,19 g/mol;
- *Obsah:* min 99,5%;
- *Obsah složek:* Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn: max.
0,0005%, Cl, SO₄, K, Na: max. 0,005%, Ca: max.
0,001%, NH₄⁺: max. 0,01%.

• **Polyvinylchlorid (PVC) – (C₂H₃Cl)_n**

- *Výrobce:* Modenplast Medical;
- *Obchodní označení:* RB3
- *Hustota:* 1,23 g/cm³;
- *Tvrdost (Shore A):* 75;

• **Polylaktid (PLA) – (C₃H₄O₂)_n**

- *Výrobce:* NatureWorks;
- *Obchodní označení:* Ingeo 4042D;
- *Hustota:* 1,24 g/cm³;

5.2 Příprava vzorků

5.2.1 MW syntéza

Jak je známo mikrovlny (MW) jsou určitý druh elektromagnetického záření spadající do intervalu vln s vlnovou délkou od 1 mm do 1 m a frekvenci od 300 MHz do 300 GHz. Ovšem podle mezinárodních standardů byla vlnová délka v praxi používaných mikrovln stanovena na 12,2 cm při globální frekvenci 2450 MHz [62].

Možnosti absorpce MW záření s hmotou je možno podle principu rozdělit na:

1. **Elektronovou polarizaci** - při působení elektrického pole na nepolární molekuly dochází k posunu těžišť nábojů jak záporného tak kladného náboje molekuly a tím pádem ke vzniku orientovaného dipólu;
2. **Dipólová rotace a reorientace** – u materiálů (molekul) s permanentním dipólem se v rychle měnícím elektrickém poli snaží molekuly (jejich polární skupiny) orientovat ve směru působení elektrických siločar;
3. **Iontové vedení** – vibrace, rotace a translační pohyb iontů nastává přeměnou elektromagnetického pole na mechanický pohyb, to má za následek generaci tepla vlivem vysoké intenzity srážek iontů [63].

K mikrovlnnému ohřevu dochází na základě interakce MW s polárními látkami, kdy se polarita vysokofrekvenčního elektromagnetického pole mění více jak 10^9 za sekundu. Polární molekula se musí těmto změnám přizpůsobovat, ovšem než tak stihne učinit, polarita se opět změní. To má za následek výše zmiňované srážky a tření molekul (vznikají dielektrické ztráty) a generaci tepla. Celý mechanismus je možno vyjádřit pomocí matematické rovnice 1:

$$P = 2\pi f \varepsilon' \varepsilon'' E^2$$

Rovnice 1: Vztah popisující přeměnu MW energie na teplo

Kde je:

- P - Energie absorbovaná v jednotce objemu (W/m^3);
- f - frekvence mikrovlnného pole (2450 MHz);
- ε' - permitivita – schopnost materiálu akumulovat energii elektrického pole (F/m);
- ε'' - dielektrický ztrátový faktor materiálu;
- E^2 - intenzita elektrického pole uvnitř materiálu (V/m) [62].

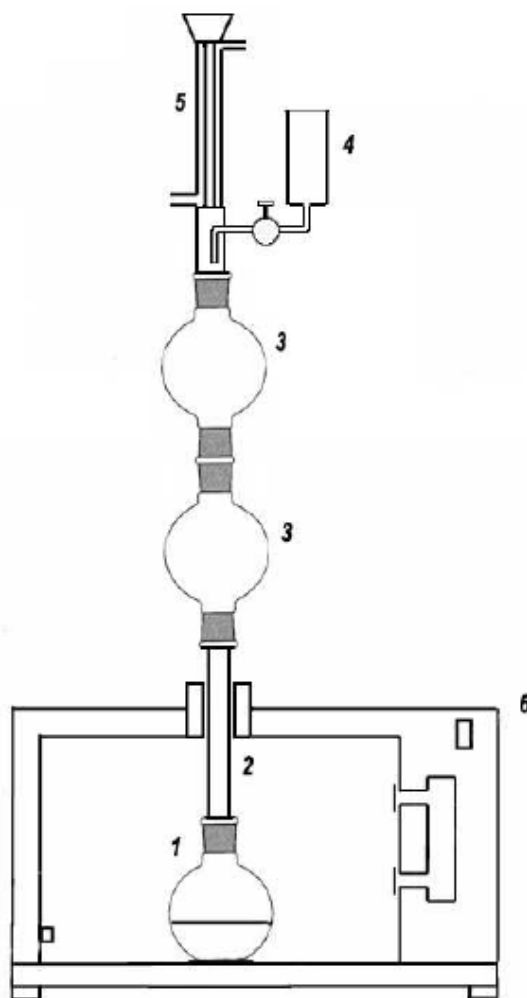
Pokud kovové částice (například stříbra či zinku) nebo jejich sloučeniny ($AgNO_3$, octan zinečnatý apod.) vystavíme MW záření a užijeme k takovému experimentu správného redukčního rozpouštědla (benzylalkohol, dimethylformamid, hexametylentetramin a jiné) s vyšším bodem varu je možné během velmi krátké doby (v řádu několika minut) z takové reakce získat dosti specifické nanostruktury. V průběhu mikrovlnného ohřevu se totiž začínají tvořit krystalické zárodky z kovových částic a postupně se tyto útvary zvětšují a vytvářejí zmiňované nanostruktury. Tyto struktury respektive částice mohou být tvarů sférických, mnohoúhelníkových plátek, destiček, tyčinek, trubiček, vláken a dokonce i velmi složitých dendritických (kořenových) struktur. Právě morfologii a velikost těchto nanočástic je možné měnit podle reakčních podmínek a použitých vstupních surovin. Podmínkami jsou myšleny především teplota a čas, při kterých experiment probíhá či frekvence a vlnová délka použitých MW při experimentu. Velký vliv na tvar nanočástic mají také správně zvolené vstupní suroviny a to zejména druh a koncentrace roztoku obsahujícího kovové částice, použité rozpouštědlo a v neposlední řadě též užitý surfaktant (většinou polymerní povahy) jako povrchově aktivní činidlo. Díky těmto změnám ve vstupní části syntézy je možné následně získat širokou škálu nanomateriálů s rozličnými vlastnostmi [64, 65].

5.2.1.1 Syntéza hybridních Ag/ZnO částic

Následující postup syntézy je shodný s postupem prováděným ing. Petrem Žlebkem v rámci jeho diplomové práce „Příprava funkčních plniv pro antibakteriální aplikace kompozitů“. Pro tuto činnost byl vybrán postup shodný s přípravou vzorku AgZnO-012 ve zmi-

ňované diplomové práci, z důvodu relativně nejlépe dosažených výsledků antibakteriálního testování v této práci.

Zařízením na němž byly vzorky připravovány, nese označení CWR-TECH s maximálním výkonem 700 W, to bylo ještě upraveno a doplněno o skleněnou laboratorní sestavu shodnout se schematickým znázorněním celého zařízení na obrázku níže. Na *obrázku 14* je možno povšimnout si reakční baňky označené číslem 1. Do této baňky byl převeden surový roztok, jenž byl vystaven působení MW záření (6), a v této části samotná mikrovlnná syntéza probíhala. Další nezbytnou částí celého systému byl odplyňovací nástavec (3), který měl za úkol zabránit úniku reagujícího roztoku. Přes odkapávač (4) bylo možno přidávat do reakce další suroviny. Aby došlo k zábraně úniku zplodin vznikajících při reakci, byl do aparatury také zapojen zpětný chladič (5), který zkondenzované páry vracel zpět do reakce.



Obrázek 14: MW zařízení s přidávanými laboratorními komponenty 1 – reakční baňka, 2 – prodlužovací nástavec, 3 – odplyňovací nástavec, 4 – odkapávač, 5 – zpětný chladič, 6 – MW zařízení

K vyhotovení hybridních částic Ag/ZnO byly připraveny následující roztoky:

roztok č. 1:	10,8 g $(\text{CH}_3\text{COOH})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	rozpuštěno v 70 ml H_2O ;
roztok č. 2:	0,6998 g AgNO_3	rozpuštěno v 5 ml H_2O ;
roztok č. 3:	1,740 g PVP	rozpuštěno v 25 ml H_2O ;
roztok č. 4:	6,9g HTMA	rozpuštěno v 50 ml H_2O .

Roztok smíchaný z roztoků č. 1, č. 2 a č. 3 byl vystaven působení MW. Po 2 minutách působení mikrovln byl přidán i roztok č. 4. Při smíchání prvních tří roztoků vznikl mléčně zakalený roztok. Po přidání roztoku č. 4 se po dobu 10 sekund tvořila pěna, poté se již stav roztoku nijak neměnil. Výsledný vzorek byl po 5 minutovém působení MW záření zbarven do světle zeleného odstínu. Při postupném usazování pevných částic v reakční baňce tvořila usazenina tmavější odstín a na stěnách baňky ulpíval lesklý film. Následná filtrace přes filtrační papír na odsávací sestavě firmy Sartorius byla bezproblémová v řádech několika minut. Filtrační koláč byl vložen i s filtrem do sušárny MEMMERT UNB 400 při teplotě $40\text{ }^\circ\text{C}$ na 24 hodin sušení. Výsledkem této syntézy byl šedivý prášek s odstínem do tmavě zelené barvy, viz *obrázek 15*.



Obrázek 15: Fyzická podoba syntetizovaného hybridního plniva Ag/ZnO

5.2.2 Zamíchání směsí

Zamíchání polymerních materiálů s hybridní přísadou Ag/ZnO bylo prováděno na mikrohnětiči Thermo Scientific HAAKE MiniLab II Micro Compounder (*obrázek 16*). Míchacími elementy jsou v případě tohoto přístroje dva konické souhlasně otáčející se šneky. Tento mikrohnětič je schopen pojmout na jednou 7 cm³.

Polymerní granule byly částečně promíchány s Ag/ZnO plnivem a postupně dávkovány (maximálně 2 g/min) přes násypku do míchací komory. Díky přítomnosti dvou talkových čidel v tokovém kanálku bylo možno sledovat ustálení tlakových poměrů při míchání, což indikovalo dostatečnou homogenitu směsi. Míchání směsi bylo doplněno o naměření reologických dat (*viz kapitola 6.2.*). Zamíchání směsí obsahující PVC matrici probíhalo při 160 °C. PLA byl míchán při všech plněních při teplotě 210 °C. Byly připraveny směsi obsahující 0, 0,5, 1, 3 a 5 hm. % Ag/ZnO hybridního plniva.



Obrázek 16: Mikrohnětič Thermo Scientific HAAKE MiniLab II

5.2.3 Příprava zkušebních tělísek pro antibakteriální testy

Čtvercová zkušební tělíška o rozměrech 50 x 50 mm a tloušťce 0,5 mm byla vylisována na manuálním lisu pomocí šablony z obou stran zakryté PET fóliemi. Lisování PVC probíhalo při 160 °C a v případě PLA při 210 °C. Doba lisování obou materiálů byla 3 minuty. Po této době byly vzorky společně s lisovacími šablonami vloženy do chladicího lisu a zchlazeny na pokojovou teplotu. Vzorky byly vyjmuty a připraveny na testování.

6 CHARAKTERIZACE PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ

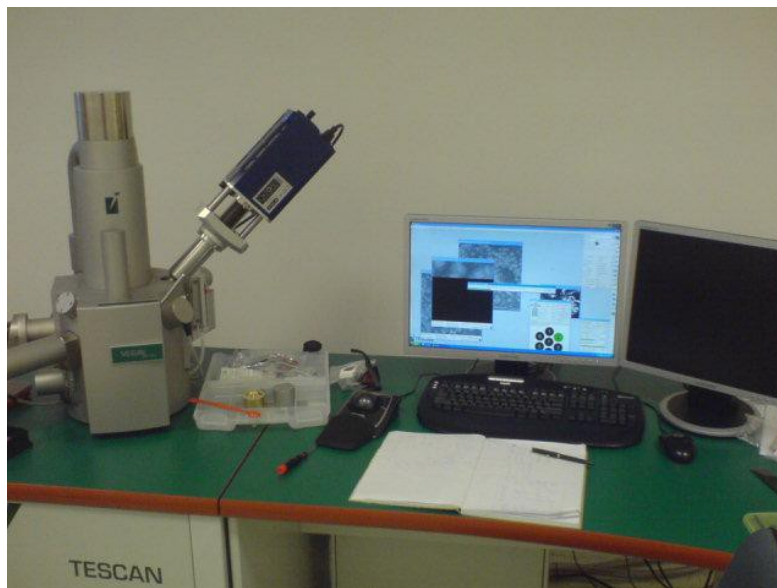
6.1 SEM - skenovací elektronová mikroskopie

Princip skenovacího (rastrovacího) elektronového mikroskopu je založen na úzkém svazku elektronů emitovaných ze žhavené katody a urychlovaných v elektronové trysce tvořené systémem katoda - Wehneltův válec - anoda. Paprsek je dále zpracován elektromagnetickými čočkami a postupně skenuje povrch pozorovaného objektu. Synchronně s tímto svazkem elektronů je zaznamenáván elektronový svazek paprsku v pozorovací obrazovce. Interakcí elektronového svazku s povrchem pozorovaného objektu vznikají sekundární elektrony (zároveň s fotony, odraženými elektrony, aj.). Tyto po detekci a zesílení modulují jas elektronového paprsku v pozorovací obrazovce, takže na obrazovce vznikne obraz odpovídající povrchu pozorovaného vzorku.

V případě SEM mikroskopie je nutné pracovat ve vakuu (minimálně 10^{-2} Pa). Pokud mají být skenovány nevodivé materiály je nutno opatřit jejich povrch vodivou vrstvou (cca 10 nm silnou), aby nedocházelo ke vzniku náboje na jejich povrchu, který by mohl být příčinou zkreslených nebo naprosto odlišných zobrazení [66].

6.1.1 Použité zařízení a podmínky charakterizace

Snímky elektronové skenovací mikroskopie byly pořízeny na přístroji Tescan Vega II LMU (viz. *obrázek 17*). Toto zařízení je osazeno wolframovou žhavenou katodou. Samotná analytická komora je vybavena plně motorizovaným manipulátorem vzorku. Skenování každého vzorku bylo provedeno detektorem SE a BSE při zvětšení 2000x, 5000x a 10 000x.



Obrázek 17: Skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega II LMU

6.2 Reologické vlastnosti

Reologie je vědní obor, který je definován jako nauka o deformaci a toku látek. K určení tokových vlastností polymerních látek a znalosti jejich reologického chování slouží několik proměnných, z nichž jedna z nejdůležitějších veličin je smyková viskozita. Ta je stanovována na základě zjištění hodnoty smykového napětí a rychlosti smykové deformace resp. na jejich podílu.

Běžné komerční přístroje, kterými je možno měřit smykovou viskozitu polymerní taveniny lze rozdělit na:

1. Rotační reometry;
2. Výtlačné reometry[67].

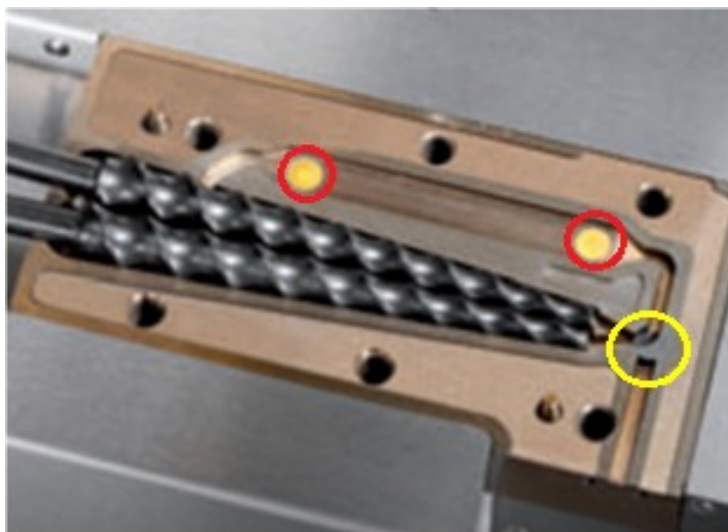
Pro měření reologických vlastností v této práci byl použit reometr, který spadá do kategorie výtlačných reometrů.

6.2.1 Použité zařízení a podmínky charakterizace

Reologické vlastnosti připravovaných kompozitních materiálů byly měřeny na již výše zmiňovaném mikrohnětič HAAKE MiniLab II. Toková doména zaznamenávající potřebná data se skládá z komory, ta je z části vyplněna souhlasně se otáčejícími kónickými šneky, které se starají o převedení polymerního granulátu do taveniny, a taktéž o míchání a posuv materiálu z této komory do užší štěrbině – tzv. slit kapiláry (obdélníkového řezu). Štěrbina obsahuje dvojici tlakových čidel (ohraňeny rudými kruhy na *obrázku 18*), jedno čidlo je umístěno za vstupem do štěrbině a druhé je usazeno těsně před výstupem ze štěrbině. Na základě objemového průtoku a tlakového spádu ve štěrbině, jež je dán rozdílem tlaků ve vtokové části a výtokové části štěrbině, následně vztaženým na průřez a jednotkovou délku štěrbině je možné vypočítat smykovou viskozitu taveniny.

Měření tokových vlastností PVC probíhalo při 160 °C a PLA při 210 °C. Po důkladné homogenizaci charakterizované směsi bylo zapnuto měření, při kterém se postupně zvyšovaly otáčky (až na hodnotu 200 otáček za minutu) a byl zaznamenáván odpovídající kroučící moment (maximálně 5 Nm), vyvíjený taveninou na míchací elementy. Takto získaná data byla společně objemovým průtokem a s naměřeným tlakovým spádem ve štěrbině vyhodnocena pomocí obslužného softwaru PolyLab Monitor v. 4.17.

Po naměření potřebných dat se otočením uzavírací klapky (ohraňena na *obrázku 18* žlutým kruhem) tavenina z měřicí oblasti vytlačila a byla využita již jako zamíchaná směs pro další experimentální činnost.



Obrázek 18: Toková doména mikrohnětiče HAAKE MiniLab II

6.3 DMA – dynamická mechanická analýza

Princip této metody spočívá ve sledování odezvy mechanických vlastností materiálu na vybuzené kmity. Metoda odděluje viskoelastickou odezvu materiálu na dvě komponenty modulu (E^*): reálná část, která reprezentuje elastický modul (E') a imaginární část, která představuje útlumovou nebo viskozitní složku (E''). Celkový tzv. komplexní modul je $E^* = E' + iE''$. Přičemž DMA dokáže sledovat závislost E' (reálného modulu) a E'' (ztrátového modulu) na teplotě nebo čase. A z těchto dvou veličin je následně možno určit ztrátový úhel $\tan \delta$ a pokud například tento úhel položíme do závislosti s teplotou je možno z něj zjistit teplotu skelného přechodu a další fázové přechody jako například síťování či krystalizace analyzovaného materiálu [67, 68].

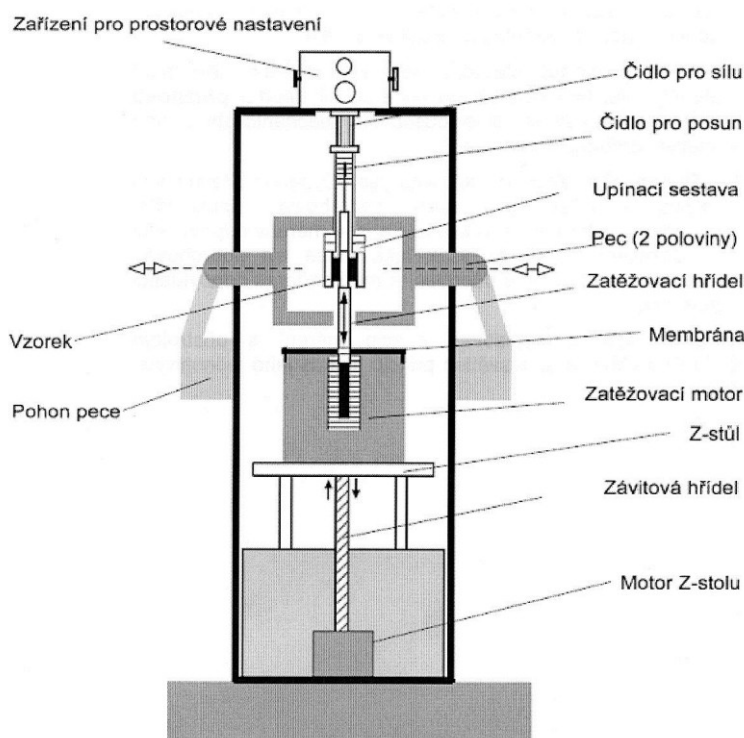
6.3.1 Použité zařízení a podmínky charakterizace

Pro DMA analýzu byl použit přístroj METTLER TOLEDO STAR[®], který je možno vidět na obrázku 19.



Obrázek 19: DMA zařízení METTLER TOLEDO STAR[®]

Připravený vzorek (dle typu deformační metody) byl vložen do upínací sestavy (obrázek 20). Po uzavření vzorku pomocí obou částí pece bylo započato měření, kdy byla vlivem zatěžovacího motoru na vzorek aplikována požadovaná síla. Skutečná síla byla měřena pomocí čidla pro sílu. Deformace vzorku byla snímána pomocí čidla pro posun (metodou lineárně proměnného diferenciálního transformátoru). Ohřev celého systému byl zajišťován litograficky deponovanými ohřívacími pásy. Chlazení systému poté bylo realizováno přiváděním tekutým dusíkem ze zásobní nádrže.



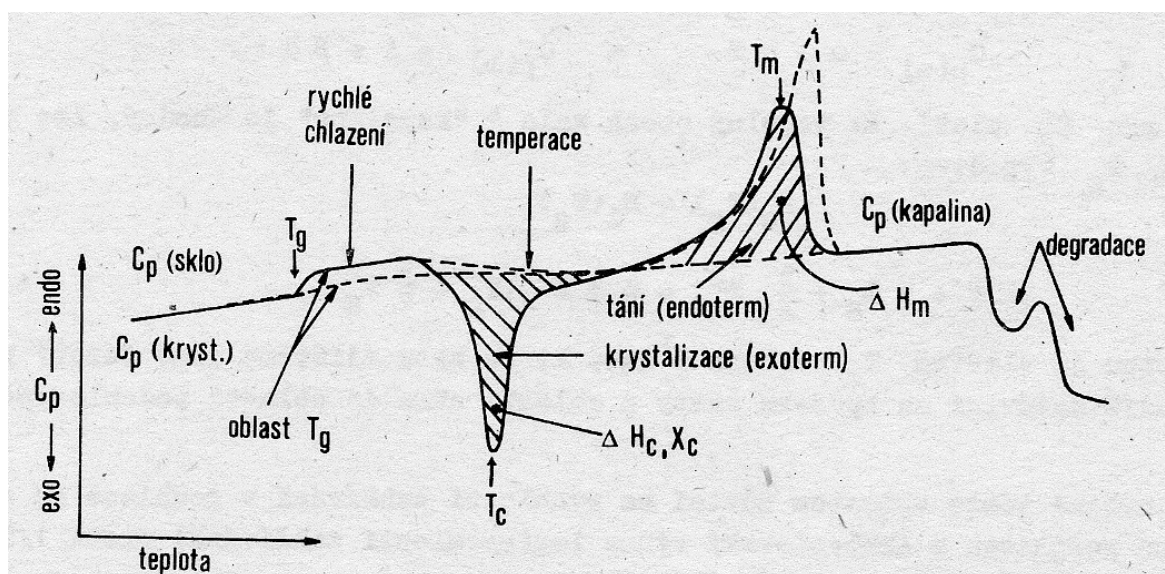
Obrázek 20: Schéma jednotlivých částí přístroje METTLER TOLEDO STAR®

Podmínky měření pro PVC a PLA vzorky:

- *deformační metoda:* Smyk;
- *teplotní interval měření:* -25 – 130 °C;
- *síla působící na vzorek:* 0,25 N;
- *frekvence zatížení:* 1 Hz;
- *amplituda:* 5 µm;
- *rychlost ohřevu:* 3 °C/min.

6.4 DSC – diferenciální skenovací kalorimetrie

Diferenciální skenovací kalorimetrie patří do skupiny termických analytických metod. DSC sleduje tepelné efekty, ke kterým dochází ve vzorku v důsledku chemických reakcí (exo- a endotermní reakce), fázových přeměn (tání, tuhnutí) či dalších energetických změn. Takto vybavený přístroj zaznamenává nutnou energii, která musí být dodána do systému tak, aby byl smazán rozdíl v teplotách mezi látkou měřenou a referenční. Výsledkem takového experimentu je signál (křivka), která je charakterizována jako závislost rozdílů v příkonu tepelné energie do testovaného a do referenčního vzorku na teplotě. Na křivce jsou zaznamenány maxima a minima, a po výpočtu jednotlivých ploch těchto maxim a minim je získáno požadované teplo charakteristické pro daný jev. Ostatně na *obrázku 21* je možné povšimnout si modelových situací, jež jsou příznačné pro některé tepelné změny u polymerních materiálů [67].



Obrázek 21: Modelová DSC křivka polymerů

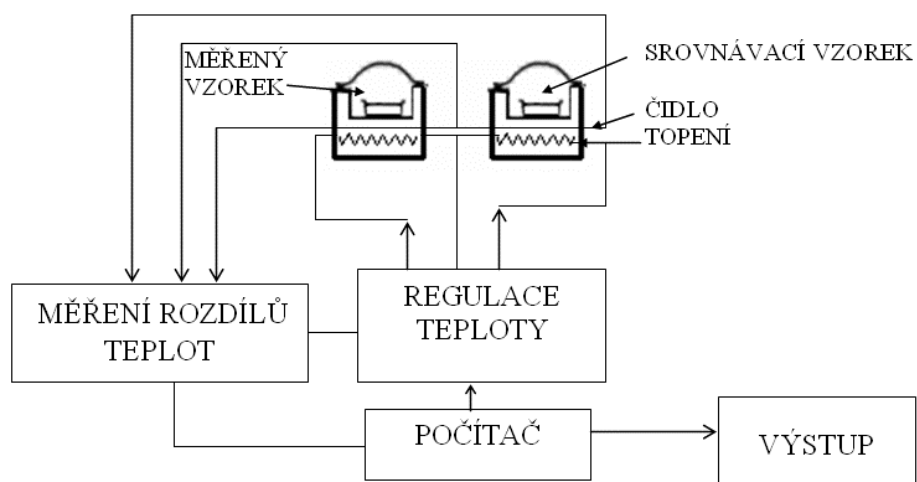
6.4.1 Použité zařízení a podmínky charakterizace

Pro získání DSC skenů bylo použito přístroje Pyris 1 od firmy Perkin-Elmer (obrázek 22).



Obrázek 22: DSC zařízení Perkin-Elmer Pyris 1

Obrázek 23 objasňuje řešení funkce přístroje Perkin-Elmer Pyris 1. Na obrázku je vidět, že je zařízení opatřeno dvojicí oddělených platinových píček, do jedné z nich se vkládá samotný vzorek zalisovaný v hliníkové misce a druhá zůstává prázdná, popřípadě se do ní vkládá jako referenční prázdná hliníková miska. Každá z píček je vybavena termočlánkem a odporovým topením, které slouží k udržení stejné teploty v obou píčkách zároveň. Do celého systému je přiváděn dusík, aby byla v komůrkách zajištěna inertní atmosféra. K udržení stejné teploty v obou píčkách je vynaložena určitá energie, kterou Pyris 1 přeneše do obslužného počítače, ten ji přepočítá s ohledem na hmotnost vzorku a zpracuje do grafické podoby.



Obrázek 23: Blokové schéma přístroje Pyris 1

Vzorky o hmotnosti v rozmezí od 8 – 10 g byly vystaveny následujícímu teplotnímu zatížení:

I. Cyklus:

1. Držení při 50 °C po dobu 1 minuty;
2. Ohřátí z 50 na 230 °C rychlostí 20 °C za minutu;
3. Držení při 230 °C po dobu 3 minut;
4. Zchlazení z 230 na 50 °C rychlostí 20 °C za minutu.

6.5 XRD – difrakce rentgenového záření

Pro studium struktury materiálů se jako jeden z nejrozšířenějších způsobů osvědčuje metoda rentgenové difrakční analýzy. Tato analytická metoda se s výhodou používá také pro vyhodnocování krystalické struktury polymerů. Samotným rentgenovým (RTG) zářením se rozumí elektromagnetické záření s intervalem vlnových délek od 0,001 – 5 nm, jedná se o ionizující záření (proud fotonů) s energií desítek až stovek keV. Pokud RTG záření prochází krystalickou mřížkou materiálu a odráží se od jedné z jeho krystalických rovin, dá se takový jev považovat za difrakci RTG záření. Výsledkem tohoto jevu je soubor difraktovaných vln, šířících se od krystalu pouze v určitých směrech. Prostorové rozložení jednotlivých difraktovaných vln vytváří difrakční obraz krystalu, který je následně studován a identifikován [69, 70].

6.5.1 Použité zařízení a podmínky charakterizace

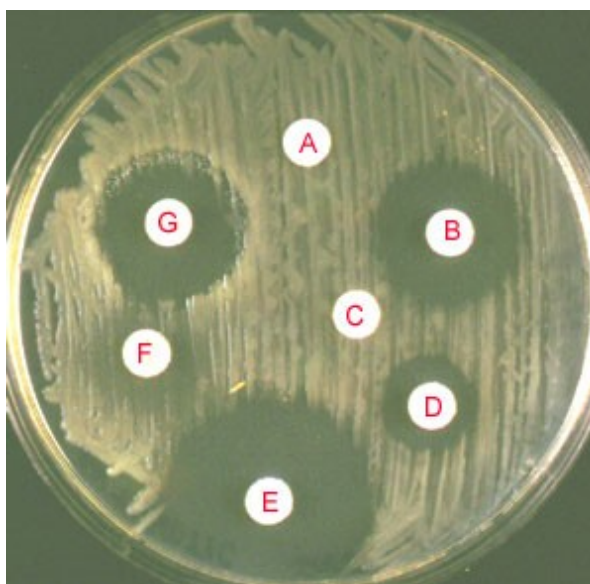
Rentgenová difrakce byla prováděna na difraktometru X'PERT PRO MPD firmy PANalytical (viz obrázek 24). Jedná se o difraktometr pracující na principu širokoúhlé (4 – 180 °) difrakce (WAXS) s monochromatickým zdrojem záření CuK_α a niklovým filtrem. Radiální snímky intenzity na difrakční úhly byly zaznamenány v rozmezí úhlů od 10 do 30 ° po krocích 0,026 °. Do goniometru byl vkládán vzorek o přibližné velikosti 20 x 10 mm a tloušťce 0,5 mm.



Obrázek 24: WAXS difraktometr X'PERT PRO MPD

6.6 Měření povrchové antibakteriální aktivity připravených vzorků

Možností jak ohodnotit antibakteriální povahu polymerů a polymerních kompozitů je poměrně velké množství. Nejčastěji se v tomto ohledu volí metoda založená na volné difuzi antimikrobiální přísady z polymerní matrice. Tato metoda je založena na rozprostření bakteriální suspenze na zvolený pevný živný substrát vyživující bakteriální buňky. Na takto připravenou „půdu“ jsou následně volně položeny většinou kruhové vzorky definovaného rozměru. Kolem těchto vzorků se po určité době inkubace vytvoří tzv. inhibiční zóna, která je podstatou celého experimentu a na základě velikosti vytvořeného diametru se vyhodnocuje míra antibakteriální aktivity daného materiálu v porovnání s jiným vyhodnocovaným vzorkem. Zmiňovaná inhibiční zóna je vytvářena vlivem volné difuze antibakteriální složky obsažené v testovaném materiálu do bakteriální suspenze, kde následně dochází k postupné bakteriostatické resp. baktericidní aktivitě vůči bakteriálním buňkám. Výsledky Kirby-Bauerovy diskové metody (nebo její modifikace), obecně známé jako agarový test je možné vidět na *obrázku 25*, na kterém je zřetelné, že jako nejsilněji účinkující antibakteriální přísadou disponuje vzorek E a naopak vzorky A a C nevykazují žádnou aktivitu vůči bakteriím rozetřeným okolo vzorků [71].



Obrázek 25: Kirby-Bauerova disková metoda

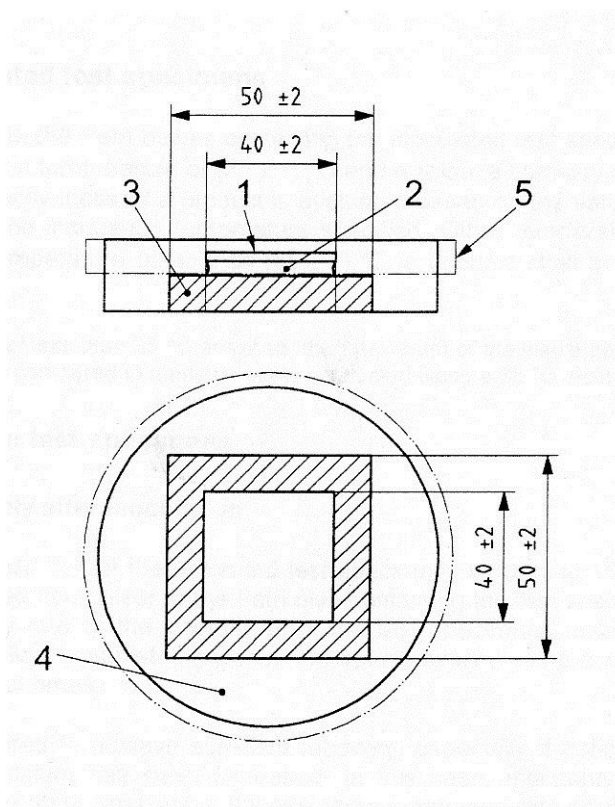
I přes zmiňovanou frekventovanost této metody není možné její využití v každém případě, což je i její hlavní slabinou. Tak tomu je kupříkladu u materiálů, ze kterých nedifundují antibakteriální částice mimo matici anebo se z matrice uvolňují jen částečně a působí především na povrchu tohoto materiálu. V takovém případě musí být zvolena jiná technika umožňující ohodnotit pouze povrchovou antibakteriální aktivitu. Mezi takovou metodu se řadí ta podle normy ISO 22196 [72].

6.6.1 Postup podle normy ISO 22196: 2007

Tento zavedený standart byl převzat s japonské normy JIS Z-2801. Její plný název je „Plastics – Measurements of antibacterial activity on plastic surfaces“ a první edice byla vydána 15.10.2007.

Při vyhodnocování povrchové antibakteriální aktivity připravených vzorků bylo postupováno v souladu s touto normou a její stručný postup bude nyní popsán.

- Nejprve byly připraveny vzorky (3 upravené pomocí antimikrobiální přísady a 6 neupravených – referenčních) o rozměrech 50 x 50 mm a tloušťce 0,5 mm a ke každému z nich také vystřižena tzv. krycí fólie (z materiálu PP) s tloušťkou 0,1 mm a hranách 40 x 40 mm. Všechny tyto vzorky i fólie byly vydesinfikovány etanolem a pečlivě osušeny;
- Následně byla připravena bakteriální suspenze (inokulum) a to tak, že se pomocí sterilní očkovací kličky přeneslo určité množství předem naočkovaného bakteriálního kmene do 10ml roztoku nutričního bujónu. Při přípravě inokula by mělo být dosaženo bakteriální koncentrace v rozmezí od $2,5 \times 10^5$ do 10×10^5 buněk/ml. Tato přibližná hodnota byla zjišťována pomocí metody mikroskopického sčítání na Bürkerově komůrce;
- 0,4 ml připraveného inokula se převedly pomocí pipety na testované i referenční vzorky (umístěny do petriho misek) a po nanesení bylo inokulum překryto krycí fólií, tak jak je vidět na *obrázku 26*. Tři upravené a tři neupravené vzorky v petriho miskách byly následně překryty víčkem petriho misky a vloženy do inkubátoru při 35 °C po dobu 24 hodin a 90% vlhkosti;



Obrázek 26: Umístění krycího filmu na testovaný vzorek 1 – krycí fólie, 2 – 0,4 ml inokula, 3 – testovaný vzorek, 4 – petriho miska, 5 – víčko petriho misky

- Zbylé tři neupravené (referenční) vzorky byly ihned po naočkování „spláchnuty“ pomocí pipety 10 ml SCDLP (živná půda kaseinu ze sojových bobů). Tento roztok byl převeden do zkumavky a z něj pipetou odebrán 1 ml, který byl smíchán s 9 ml fyziologického roztoku s fosforečnanovým pufrem. Tento postup se provedl následně ještě šestkrát, takže byla připravena série roztoků s až sedminásobným zředěním původního roztoku. Tato série zředění byla provedena i s původním inokulem;
- Po 24 hodinové inkubaci byla stejná procedura provedena i s inkubovanými vzorky a to jak s upravenými tak referenčními;
- Po získání těchto zředění (pro neupravené, upravené vzorky tak i pro inokulum) bylo přistoupeno k odběru 1 ml roztoku od každého zředění a to bylo převedeno do

petriho misky, do níž bylo následně přilito přibližně 15 ml PCA (šikmého agaru) o teplotě 45 °C. Tento postup se provedl ještě jednou pro získání duplikátní misky. Krouživým pohybem petriho misky se vzniklý roztok důkladně promíchal a nechal zatuhnout při pokojové teplotě. Po zatuhnutí byly tyto petriho misky překryty víčkem a vloženy dnem vzhůru do inkubátoru při 35 °C po dobu 40 – 48 hodin;

- Po 24 hodinách byly petriho misky vytaženy z inkubátoru a bylo spočteno množství životaschopných bakterií schopných tvořit kolonie. Po 48 hodinách inkubace bylo provedeno druhé počítání. Je nutné dodat, že bylo počítáno jen množství menší jak 300 (více označeno >300) a větší jak 30 (méně označeno <1).

Po získání počtu životaschopných bakterií (ŽB), které mohou tvořit kolonie pro všechny zmiňované roztoky a jejich zředění bylo přistoupeno k výpočtu životaschopných bakterií na jeden testovaný vzorek:

$$N = \frac{(100 \times C \times D \times V)}{A}$$

*Rovnice 2: Počet ŽB
na jeden testovaný
vzorek*

Kde je:

- N - počet životaschopných bakterií (sejmutých z cm²) na jeden testovaný vzorek;
- C - průměrný počet kolonií pro duplikátní misky (tj. paralelní vzorek);
- D - zředovací faktor pro počítané misky;
- V - objem (v ml) SCDLP přidaného do vzorku;
- A - plocha povrchu (mm²) krycího filmu.

Po získání počtu ŽB na jeden vzorek mohlo dojít k výpočtu samotné antimikrobiální aktivity jednotlivých vzorků:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t$$

*Rovnice 3: Antimikrobiální aktivita
vzorku*

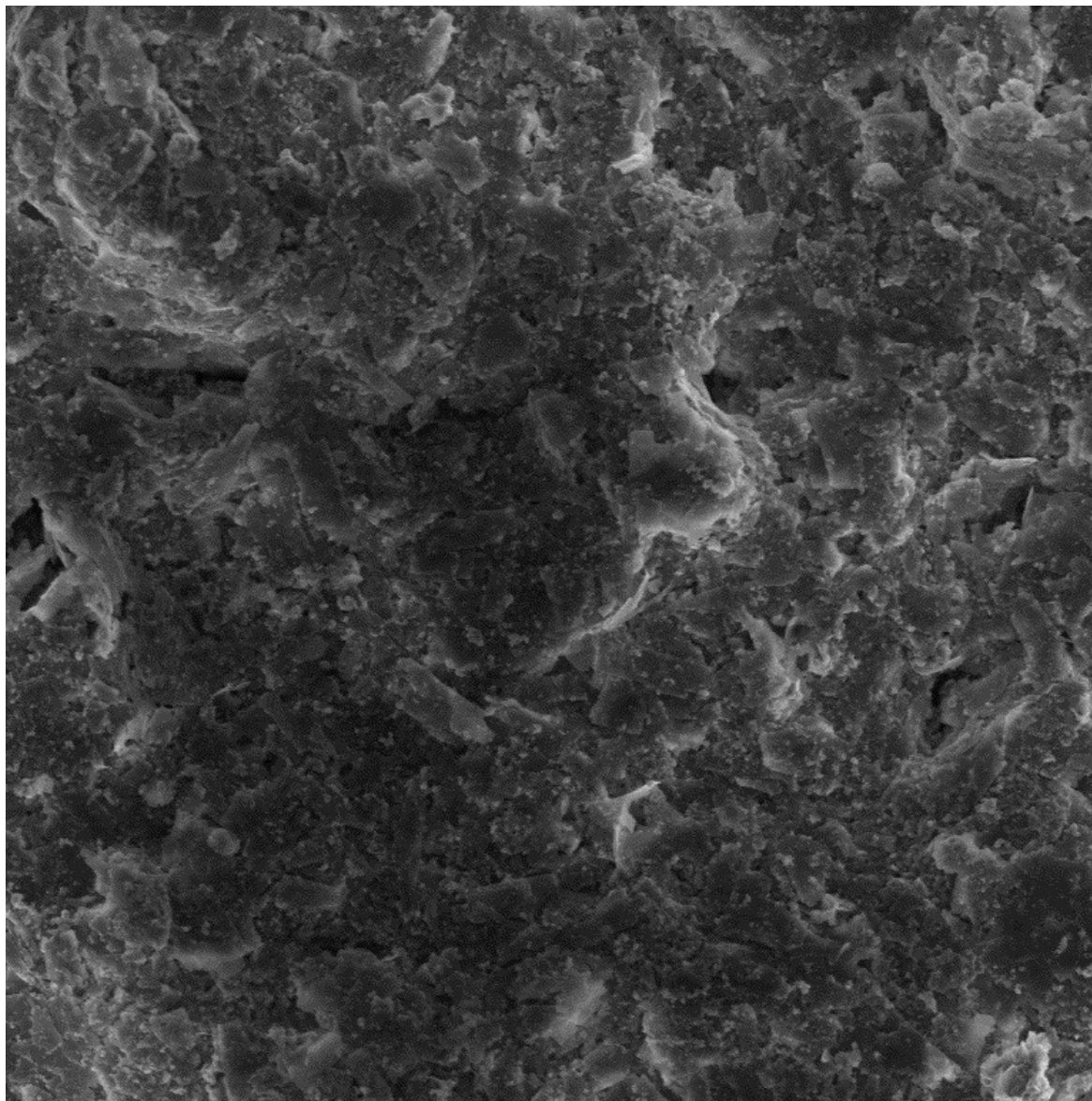
Kde je:

- R - antibakteriální aktivita vzorku;
- U_0 - je průměr dekadického logaritmu počtu životaschopných bakterií (buněk/cm²) sejmutých ze vzorků bez antibakteriální úpravy ihned po naočkování;
- U_t - je průměr dekadického logaritmu počtu životaschopných bakterií (buněk/cm²) sejmutých ze vzorků bez antibakteriální úpravy 24 hodin po naočkování;
- A_t - je průměr dekadického logaritmu počtu životaschopných bakterií (buněk/cm²) sejmutých ze vzorků s antimikrobiální úpravou po 24 hodinách.

K testování byly použity dva druhy bakteriálních kolonií. Ty byly vybrány tak, aby splňovaly požadavky této normy. Jednalo se o *Staphylococcus aureus* CCM 4516 a *Escherichia coli* CCM 4517.

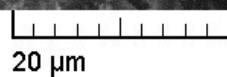
7 VÝSLEDKY A JEJICH DISKUSE

7.1 SEM mikroskopie



SEM MAG: 2.00 kx
SEM HV: 10.00 kV
Vac: HiVac

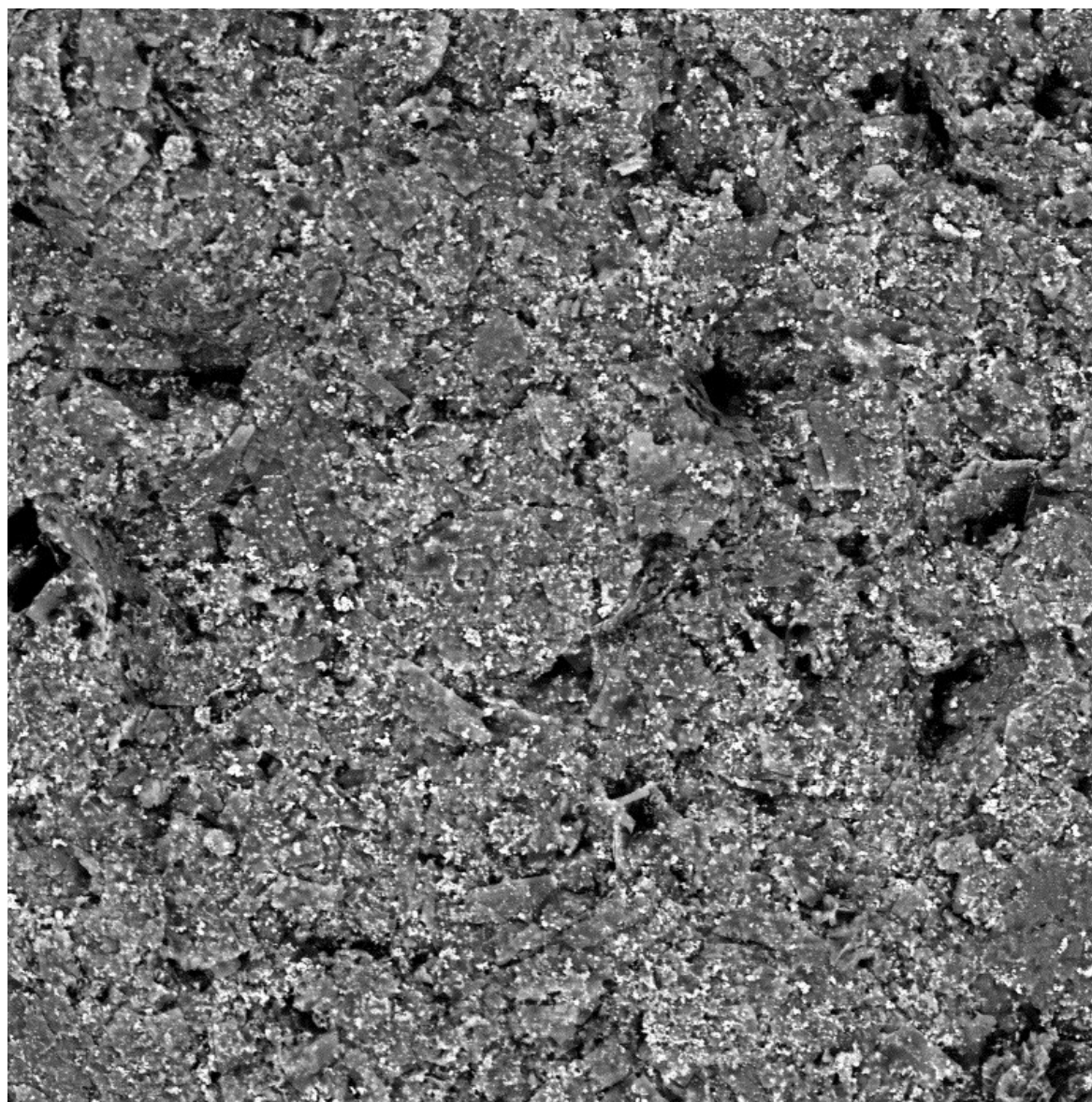
Det: SE Detector
SM: RESOLUTION
Date(m/d/y): 05/10/10



VEGA\\ TESCAN

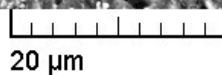
Digital Microscopy Imaging 

Obrázek 27: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 2000x – SE detektor



SEM MAG: 2.00 kx
SEM HV: 10.00 kV
Vac: HiVac

Det: BSE
SM: RESOLUTION
Date(m/d/y): 05/10/10



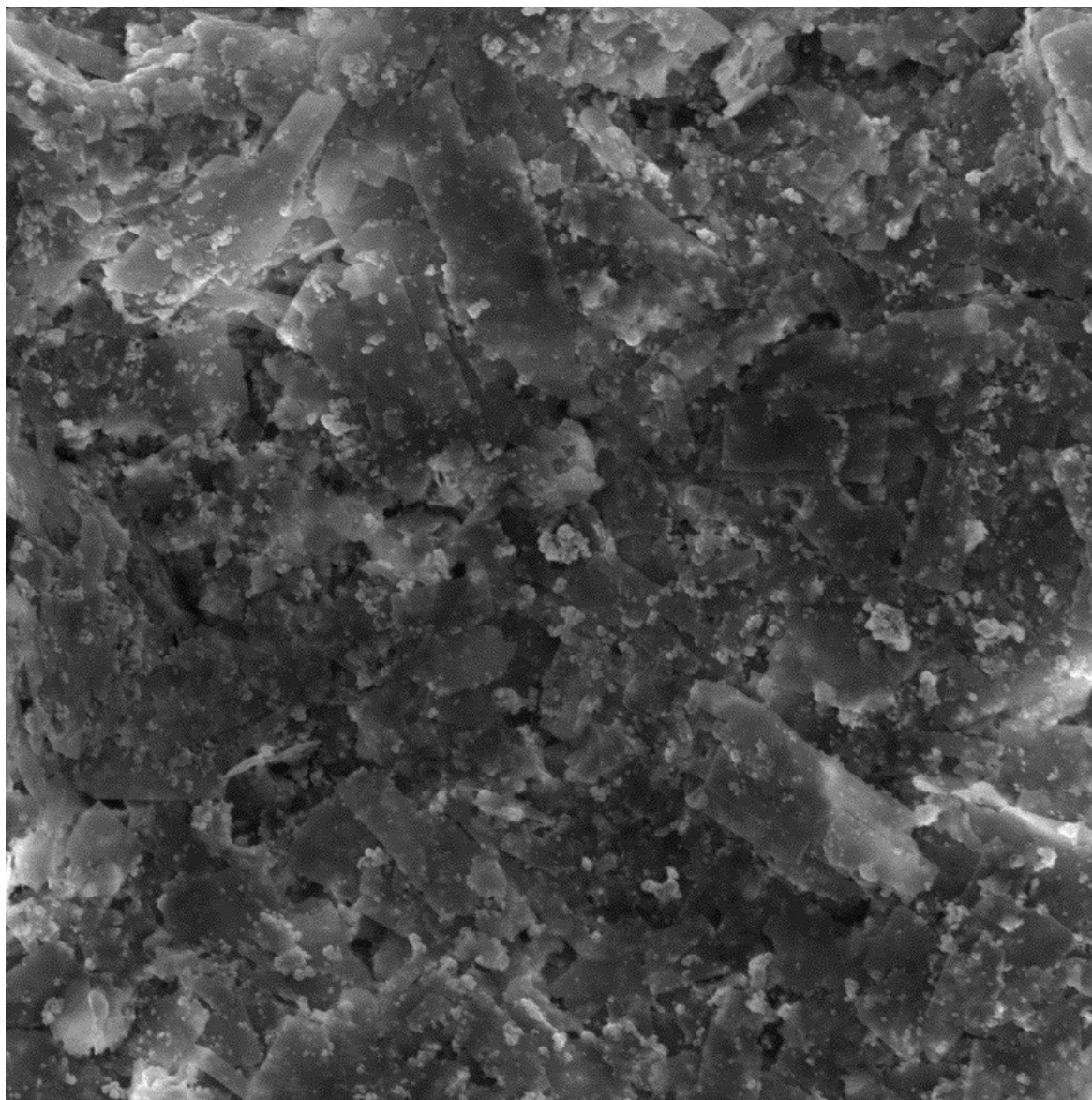
20 μ m

VEGA\\ TESCAN

Digital Microscopy Imaging

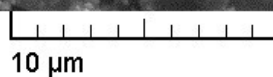


Obrázek 28: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 2000x – BSE detektor




SEM MAG: 5.01 kx
SEM HV: 10.00 kV
Vac: HiVac

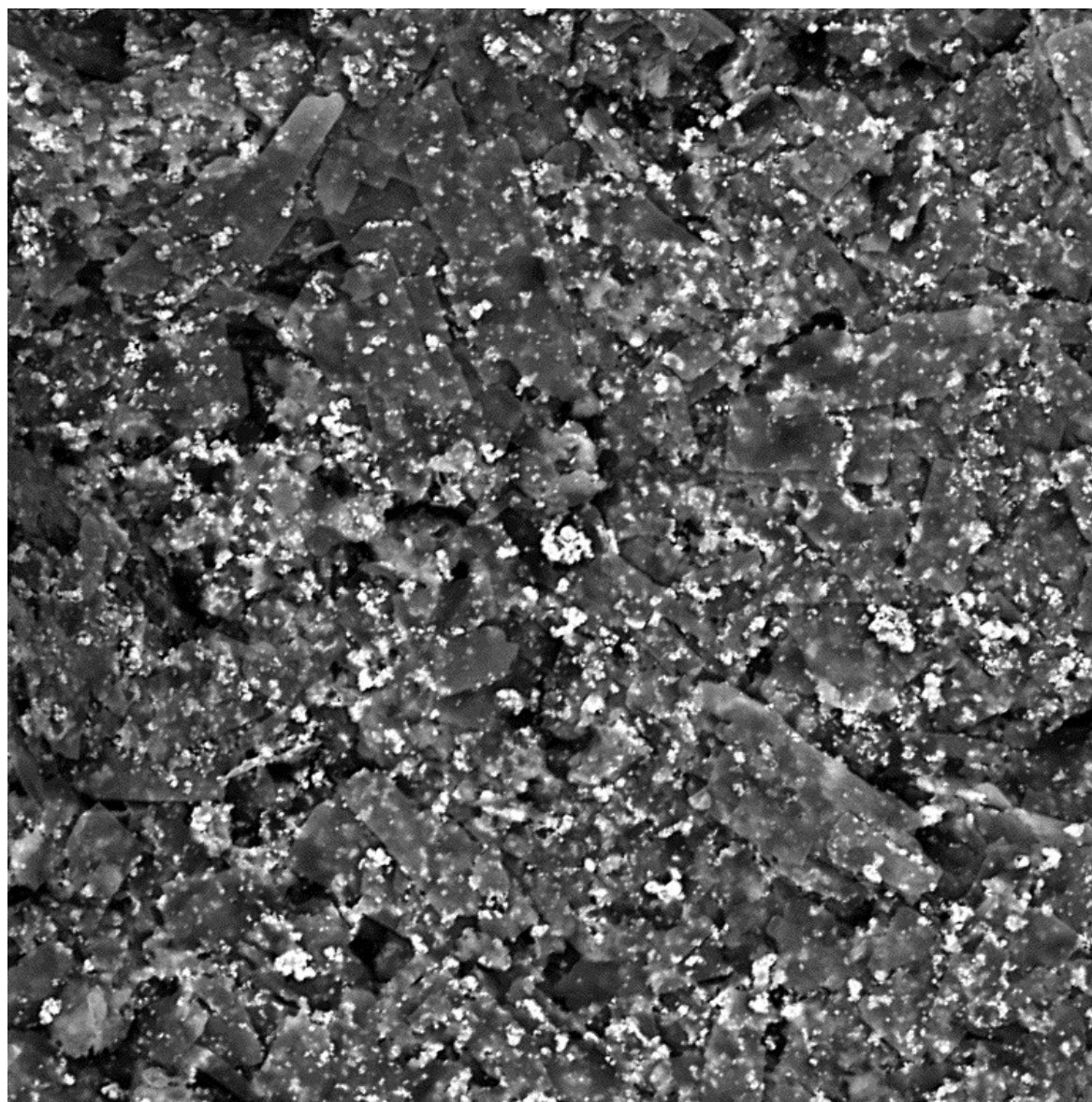
Det: SE Detector
SM: RESOLUTION
Date(m/d/y): 05/10/10



VEGA\\ TESCAN

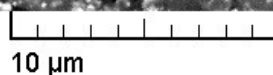
Digital Microscopy Imaging 

Obrázek 29: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 5000x – SE detektor



SEM MAG: 5.01 kx
SEM HV: 10.00 kV
Vac: HiVac

Det: BSE
SM: RESOLUTION
Date(m/d/y): 05/10/10

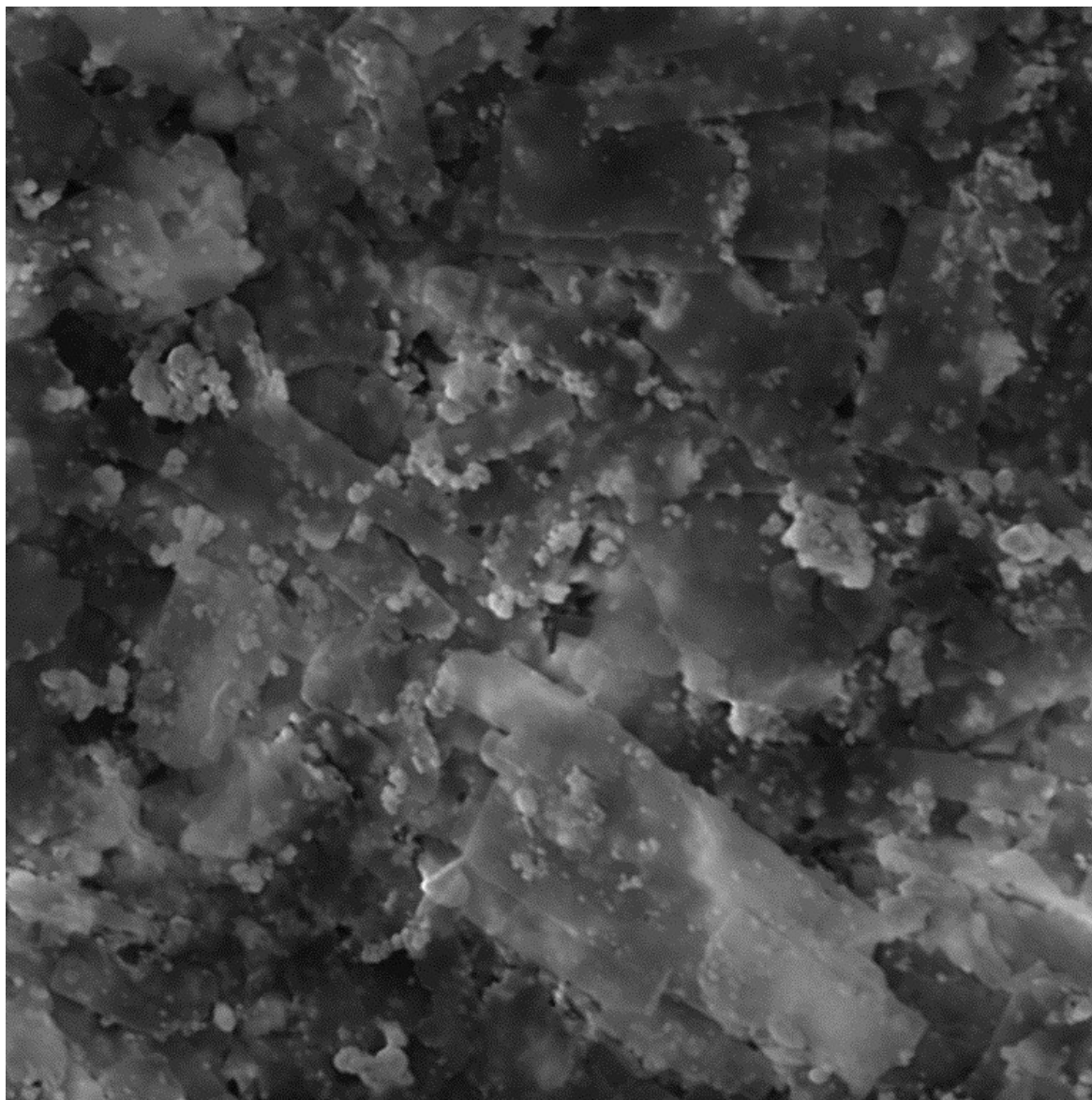


10 μ m

VEGA\\ TESCAN

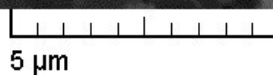
Digital Microscopy Imaging

Obrázek 30: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 5000x – BSE detektor



SEM MAG: 10.00 kx
SEM HV: 10.00 kV
Vac: HiVac

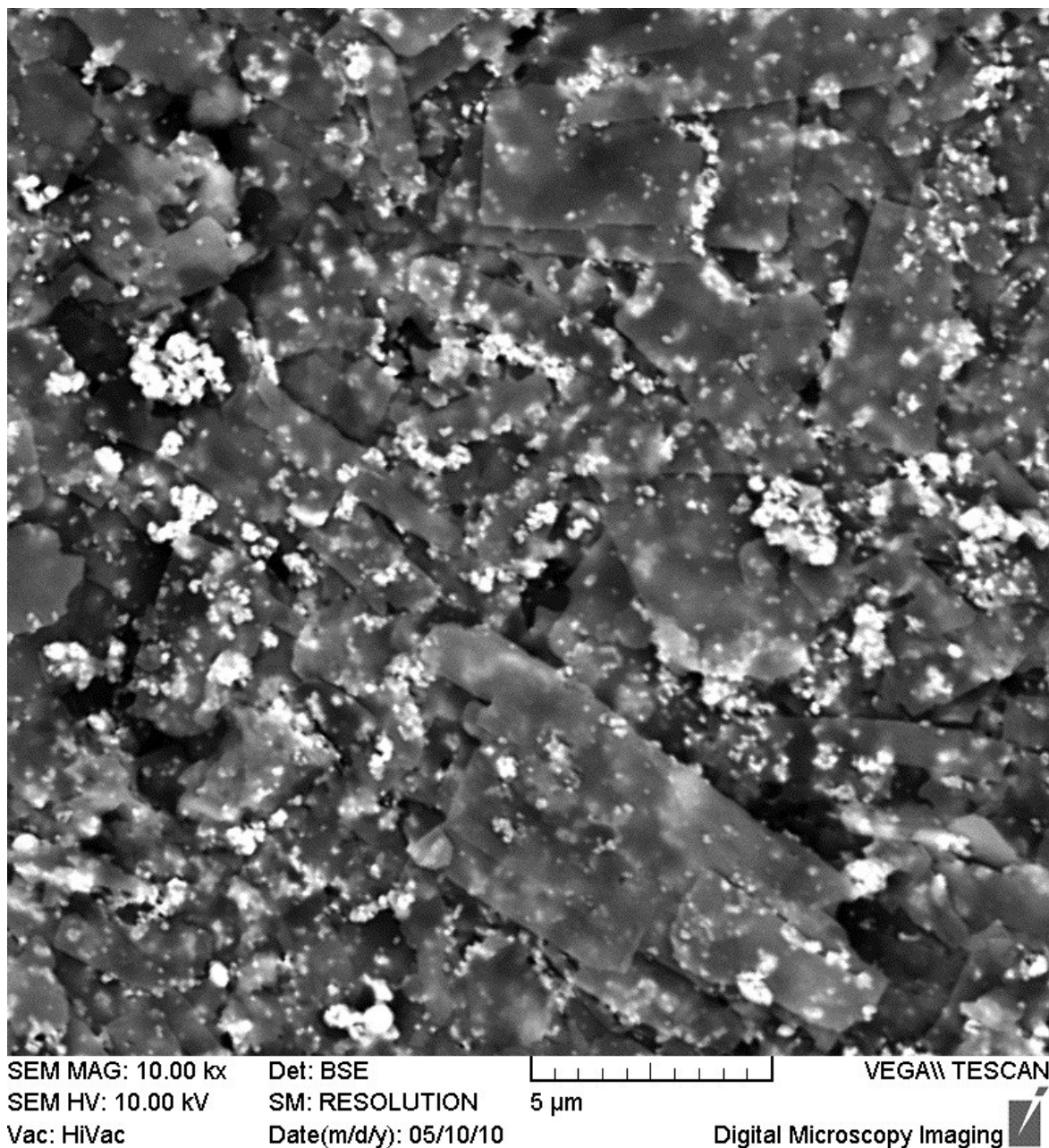
Det: SE Detector
SM: RESOLUTION
Date(m/d/y): 05/10/10



VEGA\\ TESCAN

Digital Microscopy Imaging 

Obrázek 31: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 10000x –SE detektor



Obrázek 32: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 10000x – BSE detektor

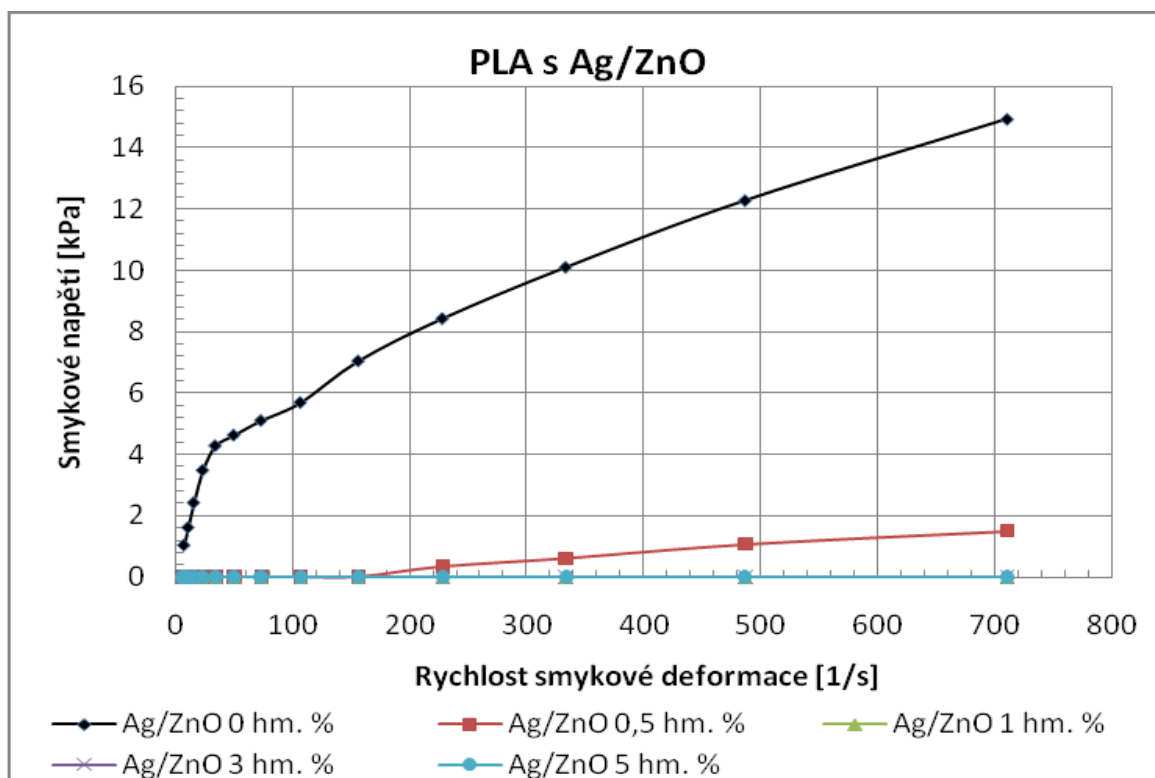
Při charakterizaci tvaru částic vzniklých při MW syntéze plniva Ag/ZnO bylo zjištěno, že výsledné útvary jsou složeny z jemných listů (či destiček), které byly vygenerovány působením MW záření na vstupní směs popisovanou v kapitole 5.2.1.1. Takto vzniklé ZnO destičky jsou relativně výhodného tvaru vzhledem k jejich poměrně velkému měrnému povrchu. Tyto útvary je možné vidět především při zvětšení 5000x a 10000x (na obrázcích 29 – 32), podle kterých mají destičky hrany o velikosti v řádu jednotek mikrometrů a tloušťka je pravděpodobně již v submikronových (nanometrových) měřítcích. Při pohledu

na obrázky 30 a 32 je možné vidět mezi destičkovými ZnO útvary a na jejich povrchu bílé částice a agregáty, které jsou viditelné právě díky použití BSE detektoru, poskytující materiálový kontrast. Tyto bílé fragmenty představují nanočástice stříbra a jejich agregáty. Stříbrné částice na ZnO destičkách v podstatě ulpívají a díky tomu ZnO slouží také jako jejich nosič.

7.2 Reologické vlastnosti

Reologické vlastnosti připravovaných směsí budou v této kapitole zpracovány především graficky. Číselné hodnoty použité pro jejich vyhodnocení jsou k nahlédnutí v příloze P 1.

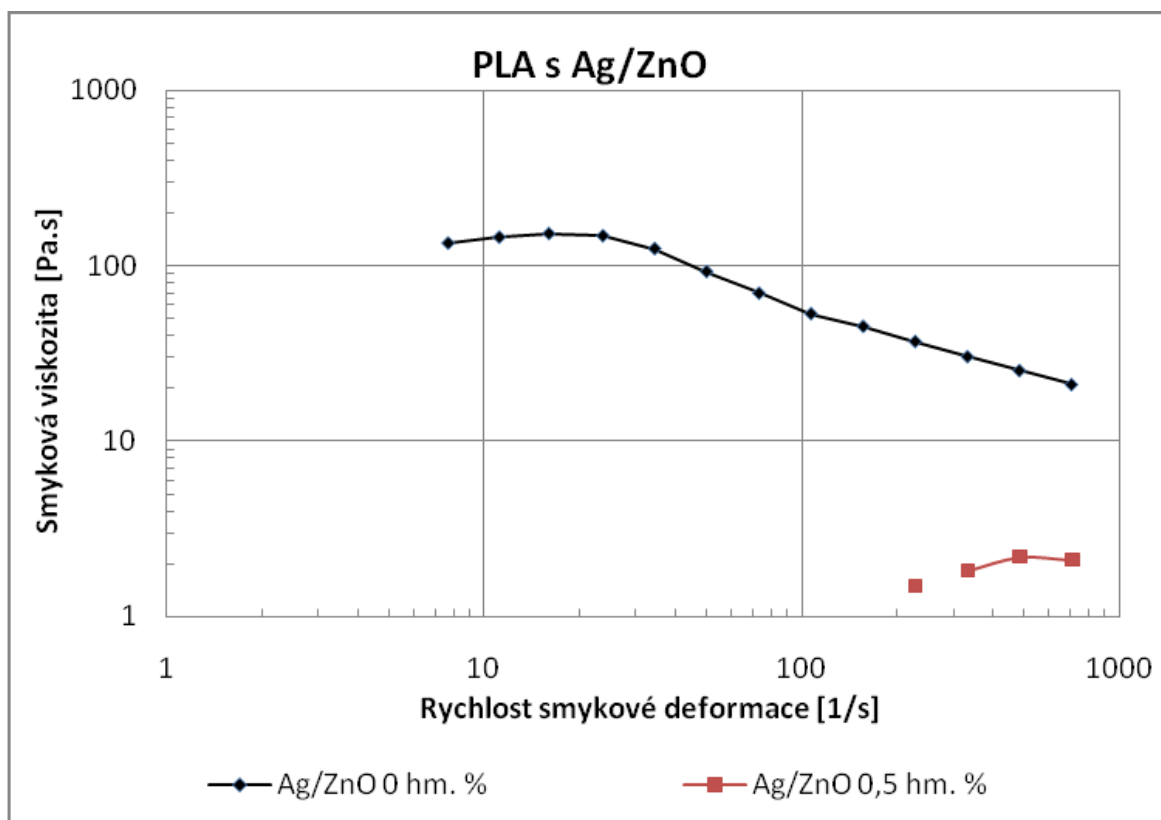
7.2.1 PLA s přídavkem Ag/ZnO



Graf 1: Závislost rychlosti smykové deformace na smykovém napětí pro PLA plněné Ag/ZnO

Grafické znázornění závislosti rychlosti smykové deformace na smykovém napětí viditelné na *grafu 1* slouží především pro ilustraci situace, při které byly PLA směsi s Ag/ZnO měřeny. Při pohledu na křivku zaznamenávající tuto závislost u čistého PLA je možno vidět klasický průběh, u něhož se při rostoucí rychlosti smykové deformace lineárně zvyšuje i smykové napětí. Křivka nejprve roste s vyšší směrnici, ale po překročení cca 35 s^{-1} rychlosti smykové deformace se její směrnice snižuje na přibližně ustálenou hodnotu až do vyšších rychlostí smykové deformace. Tento přechod je pravděpodobně způsoben rozrušením zapletenin polymerních klubek mezi sebou. Při měření této závislosti u směsi PLA plněných Ag/ZnO plnivem byl bohužel zaznamenán fakt, že není možné měřit tokové vlastnosti těchto tavenin v intervalu rychlostí smykové deformace, které dokáže vyvinout mikrohnětič HAAKE MiniLab II. Výjimkou je jen PLA s nejnižším plněním, čili 0,5 hm. %, u něhož byl při překonání hranice 180 s^{-1} rychlosti smykové deformace (0,25 kPa odpovídající smykové napětí) ještě zaznamenán lineární nárůst smykového napětí.

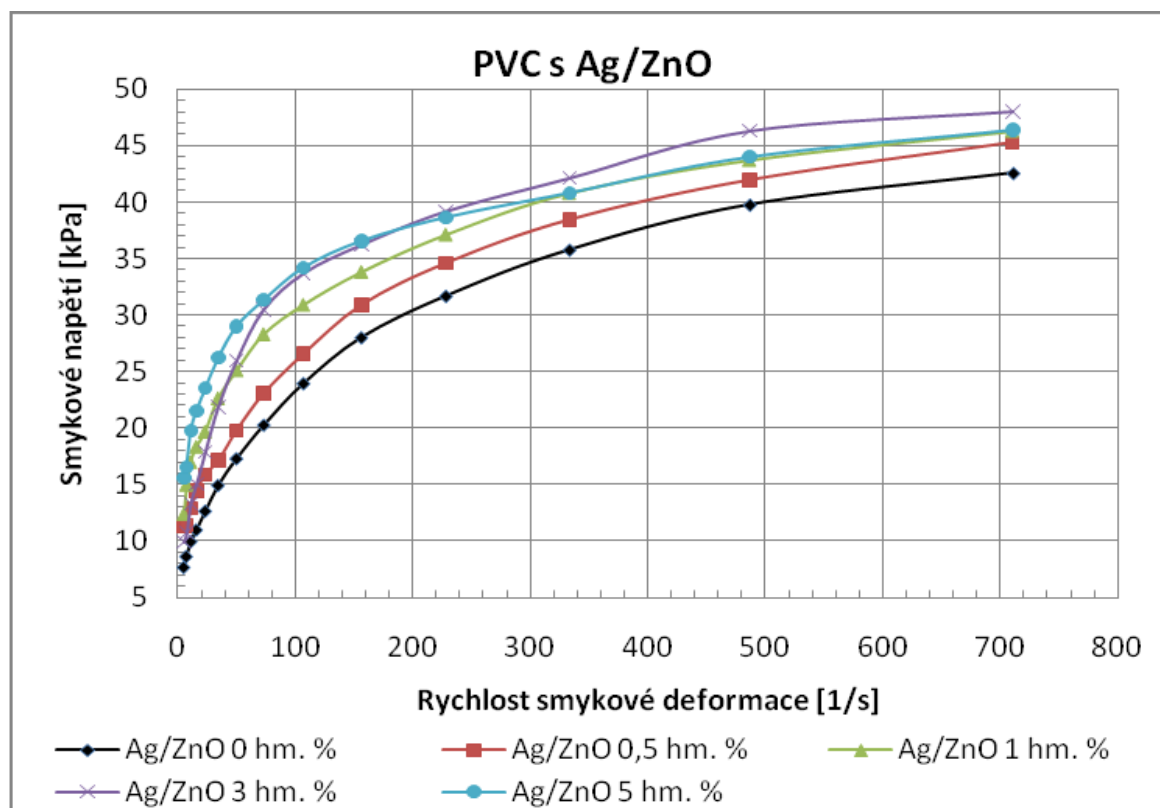
Důvodem tak náhlé změny tokových vlastností plněných tavenin PLA je s nejvyšší pravděpodobností fakt, že plnivo obsahuje oxid zinečnatý, který způsobuje částečnou dekompozici a štěpení makromolekul a snižuje výslednou molekulovou hmotnost polymeru. Tuto domněnku podporuje také fakt, že při výrobě PLA může být použito ke katalýze polymerační reakce některých kovových sloučenin, k nimž patří i sloučeniny zinku (viz *kapitola 2.1*).



Graf 2: Závislost rychlosti smykové deformace na smykovou viskozitu pro PLA plněné Ag/ZnO

Na tokové křivce v *grafu 2* je možné vidět závislost rychlosti smykové deformace na smykové viskozitě (osy jsou zlogaritmovány) a to především pro neplněný PLA. V tomto případě je na počátku křivky zaznamenávané od 7 s^{-1} rychlosti smykové deformace viditelná oblast zhruba vodorovná s osou x končící při hranici 35 s^{-1} . Smyková viskozita v této oblasti se pohybuje přibližně kolem hodnoty $140 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Tato část křivky je charakteristická pro oblast newtonského plata, ve kterém se tavenina chová částečně newtonsky, tj. smyková viskozita se nemění se změnou rychlosti smykové deformace. Po překonání zapletenin polymerních klubek (odpovídá rychlosti smykové deformace 35 s^{-1}), o nichž byla řeč výše, dochází k náhlé změně smykové viskozity se zvyšující se rychlostí smykové deformace. Tavenina se začíná chovat pseudoplasticky. Částečně byla také zaznamenána toková křivka PLA s $0,5 \text{ hm. \% Ag/ZnO}$, u které bylo možné při 220 s^{-1} rychlosti smykové deformace naměřit smykovou viskozitu na hodnotě $1,5 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Smyková viskozita dosáhla v případě této křivky nejvyšší hodnoty $2,2 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ a dále již klesala jako v případě měření čistého PLA. Ostatní koncentrace Ag/ZnO v PLA nejsou v tomto *grafu 2* zahrnuty, z důvodu jejich nezměřitelných tokových vlastností v tomto případě.

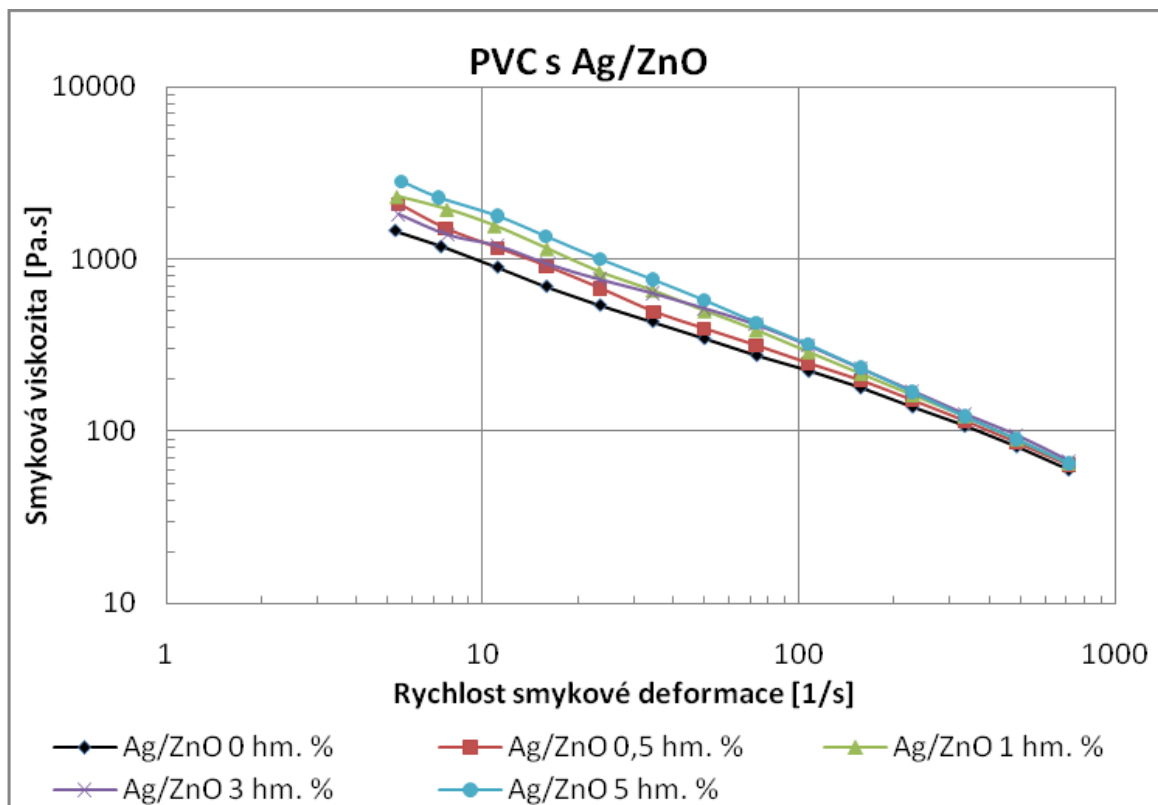
7.2.2 PVC s přídavkem Ag/ZnO



Graf 3: Závislost rychlosti smykové deformace na smykovém napětí pro PVC plněné Ag/ZnO

Při měření tokových vlastností PVC a jeho plněných obdůb byl v *grafu 3* zaznamenán poměrně rychlý nárůst smykového napětí se vzrůstající rychlostí smykové deformace, obdobně jako tomu bylo v případě měření této závislosti u čistého PLA. A i v tomto případě se postupně sklon křivky snižoval. Na rozdíl od předešlého měření s PLA však byl u PVC se zvyšujícím se plněním zaznamenáno, že se u takto plněných směsí postupně zvyšuje smykové napětí ve stejných oblastech smykové deformace jako u čistého PVC.

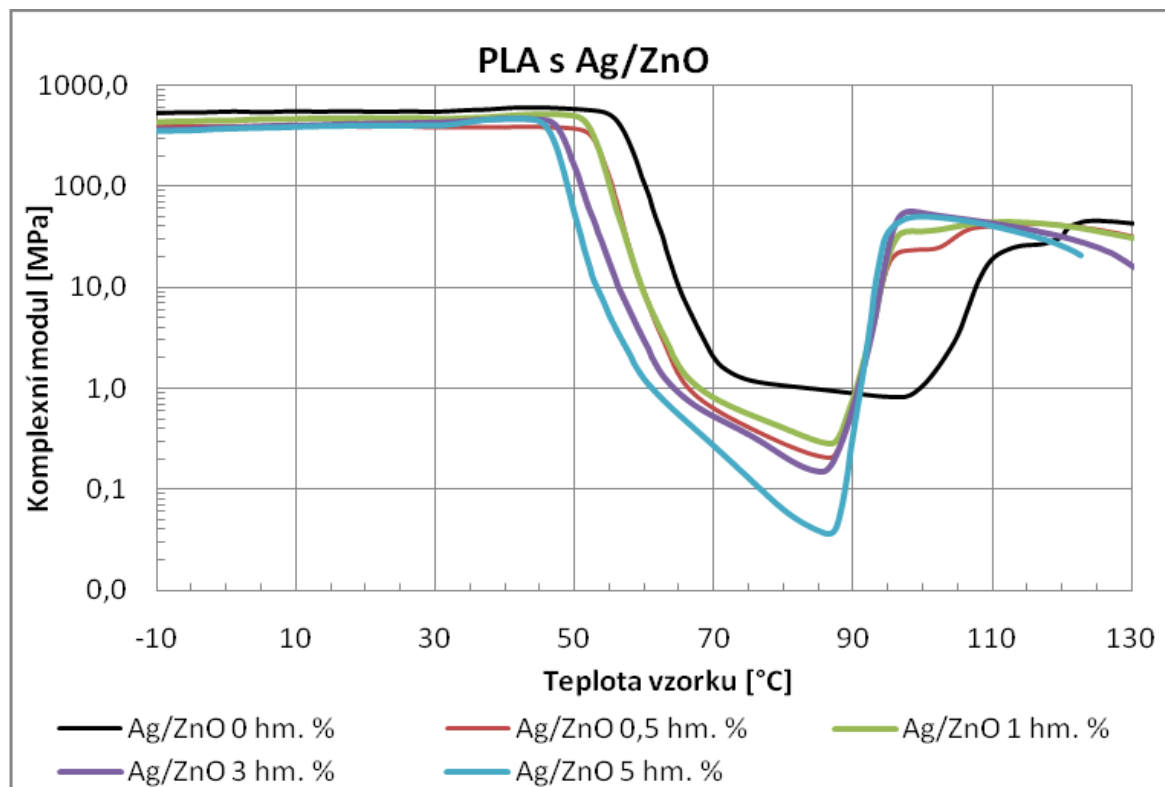
Tak tomu bylo i v případě trendu závislosti rychlosti smykové deformace na smykovou viskozitu (viz *graf 4* s osami v logaritmických souřadnicích), kdy se smyková viskozita taveniny s plněním postupně zvyšovala. Tavenina PVC se i s plněním chovala běžně pseudoplasticky. Tyto trendové závislosti podporují fakt, že plnivo jako takové nemá vliv na snižování viskozity taveniny a její tokové vlastnosti, ba naopak plnivo běžně smykovou viskozitu zvyšuje, pokud s polymerem chemicky nereaguje, jako tomu bylo v případě PLA.



Graf 4: Závislost rychlosti smykové deformace na smykovou viskozitu pro PVC plněné Ag/ZnO

7.3 DMA

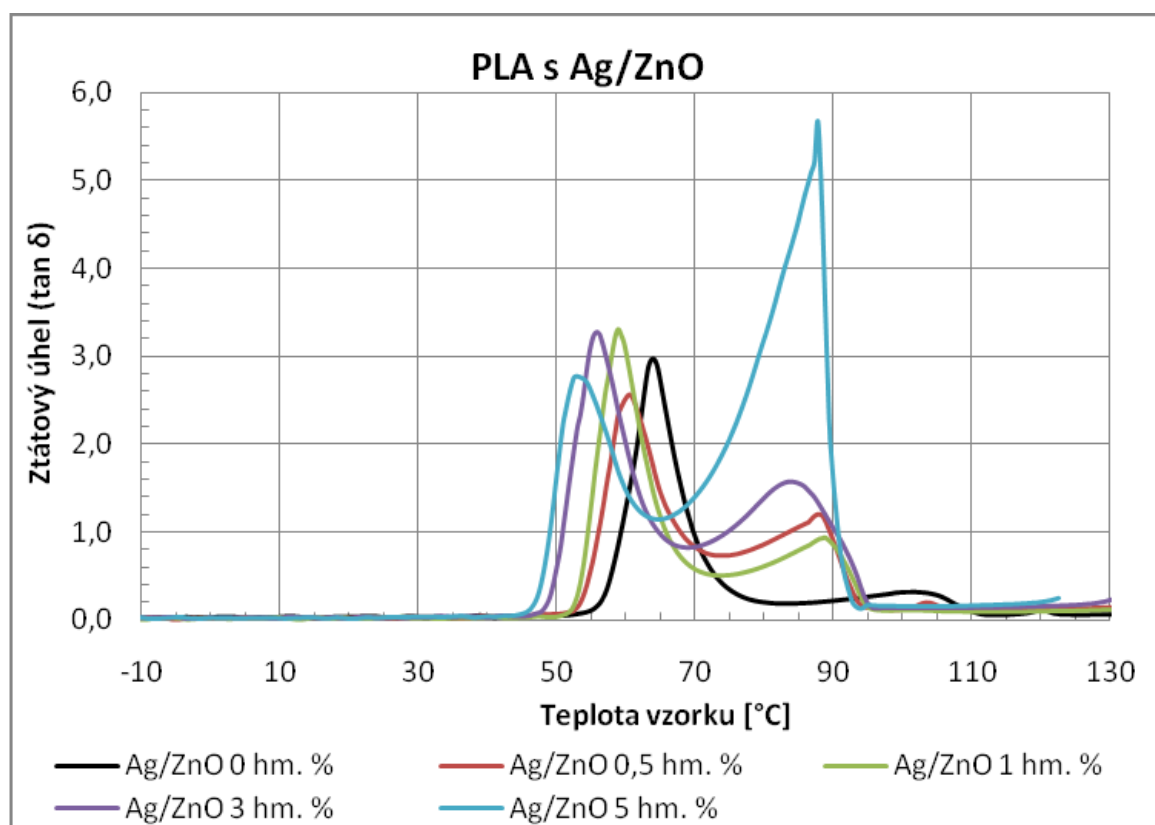
7.3.1 PLA s přidavkem Ag/ZnO



Graf 5: Závislost komplexního smykového modulu na teplotu vzorku PLA s přidavky Ag/ZnO

Při vyhodnocování PLA s plnivem Ag/ZnO pomocí DMA byl u všech vzorků v rozmezí teplot $-10 - +30$ °C zaznamenán počáteční komplexní modul ve smyku (dále jen komplexní modul či modul) na hodnotě od 460 MPa u nejvíce plněného PLA (5 hm. % Ag/ZnO), který se postupně zvyšoval s ubývajícím množstvím plniva v matrici až na hodnotu přibližně 590 MPa (pro neplněný PLA). Při dosažení teploty vzorků v rozmezí přibližně od 45 do 55 °C je na *grafu 5* možné zpozorovat náhlý pokles komplexního modulu u všech vzorků, přičemž modul se začal snižovat nejprve u nejvíce plněného PLA a přibližně při 57 °C došlo k prudkému poklesu i u neplněného PLA. Tento jev poukazuje na dosažení teploty skelného přechodu materiálu, kterýžto začíná při této teplotě nepatrně měknout. Komplexní modul u neplněného vzorku postupně poklesl až na 0,9 MPa a při teplotě 100 °C se začal opět zvyšovat téměř na hodnotu 45 MPa. U vzorků plněných je trend poklesu a vzestu-

pu v této části podobný. V obou případech pravděpodobně dochází k rekrystalizaci polymerních řetězců PLA, což vysvětluje známky odporu vůči aplikované smykové deformaci. Hodnoty komplexního modulu poklesly u nejméně plněného vzorku až na 0,2 MPa o něco výše se oproti předpokládanému trendu umístil komplexní modul PLA s 1 hm. % Ag/ZnO. Výrazně oproti ostatním vzorkům klesl modul nejvíce plněného PLA, což však odpovídá předpokládanému vývoji. Postupně se i u plněných PLA kompozitů začal zvyšovat komplexní modul téměř uniformně kolem 85 °C. Toto opětovné navyšování komplexního modulu probíhalo u nejvíce plněného PLA po teplotu 95 °C, kde se modul ustálil na 45 MPa, poté se modul se zvyšující teplotou začal opět snižovat. Analogicky tomu bylo u všech ostatních plnění, s tím rozdílem, že se teplota, do které dosáhlo toto lokální maximum, postupně zvyšovala až po čisté PLA. U něhož toto maximum dosáhlo 40 MPa při 120 °C.



Graf 6: Závislost ztrátového úhlu na teplotu vzorku PLA s přísadkou Ag/ZnO

Graf 6 představuje závislost ztrátového úhlu (tangens podílu ztrátového modulu k smykovému modulu) na teplotě vzorku a je velmi vhodný pro zobrazení teploty skelného přechodu daného materiálu, kterou charakterizuje vrchol píku vzniklé křivky. V grafickém zobrazení je vidět jasný trend snižování T_g od čistého PLA po nejvíce plněný. V *tabulce 1* jsou vypsány T_g charakteristické pro každé plnění. Druhé píky, které se objevují na každé křivce v *grafu 6*, jsou v podstatě charakteristické pro počátek rekrystalizace namáhaného materiálu, jak již bylo avizováno výše a také viděno jako nejnižší body na křivkách v *grafu 5*.

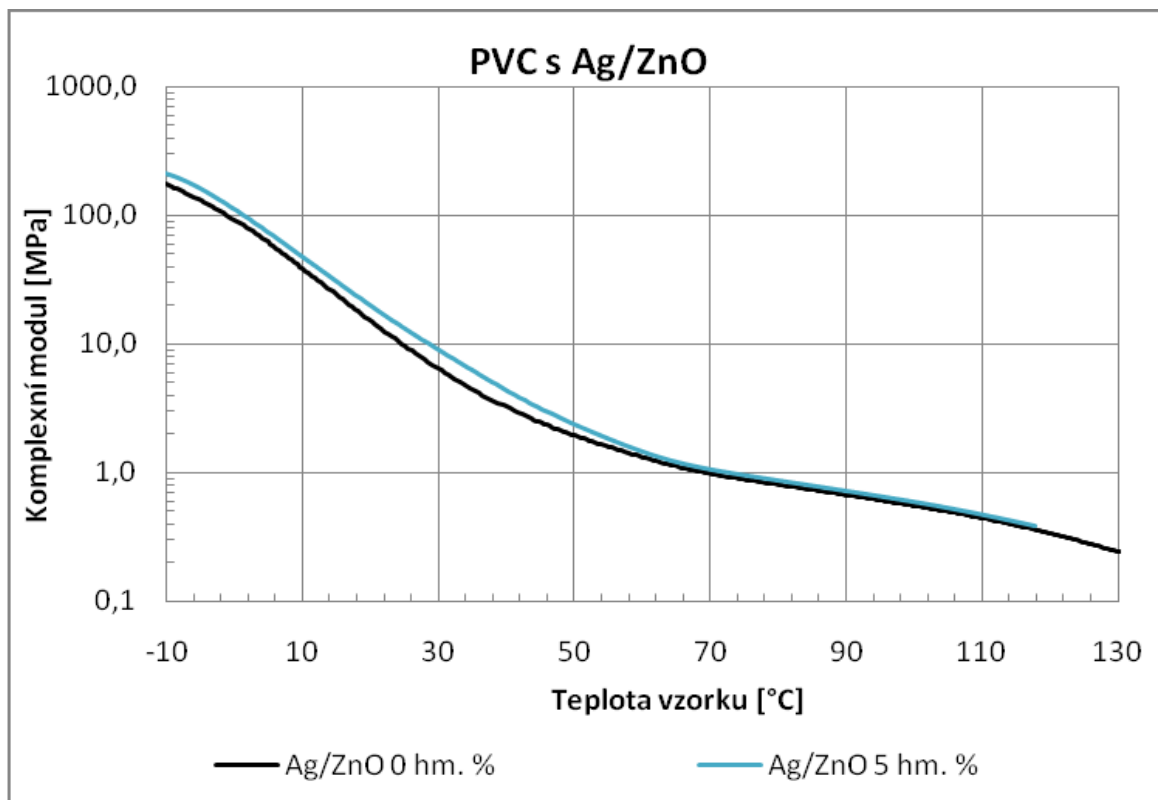
Tabulka 1: Vliv plnění PLA matrice Ag/ZnO plnivem na T_g

Koncentrace Ag/ZnO v PLA [hm. %]	0	0,5	1	3	5
T_g [°C]	63	61	58	55	52

Na úplný závěr této části nutno podotknout, že teplotní a mechanické vlastnosti PLA kompozitů s Ag/ZnO nejsou přímo ovlivňovány tímto plnivem po fyzikální stránce, ale jak již bylo zmiňováno v *kapitole 7.2* – totiž ovlivnění výsledných vlastností, je způsobeno účinkem ZnO resp. zinečnatými kationty, které se zvyšující se koncentrací v tavenině PLA způsobují četnější štěpení polymerních makromolekul. Tento fakt nakonec podporují i výsledky DMA analýzy, resp. jejich trendové závislosti s postupným plněním PLA Ag/ZnO plnivem.

7.3.2 PVC s přídavkem Ag/ZnO

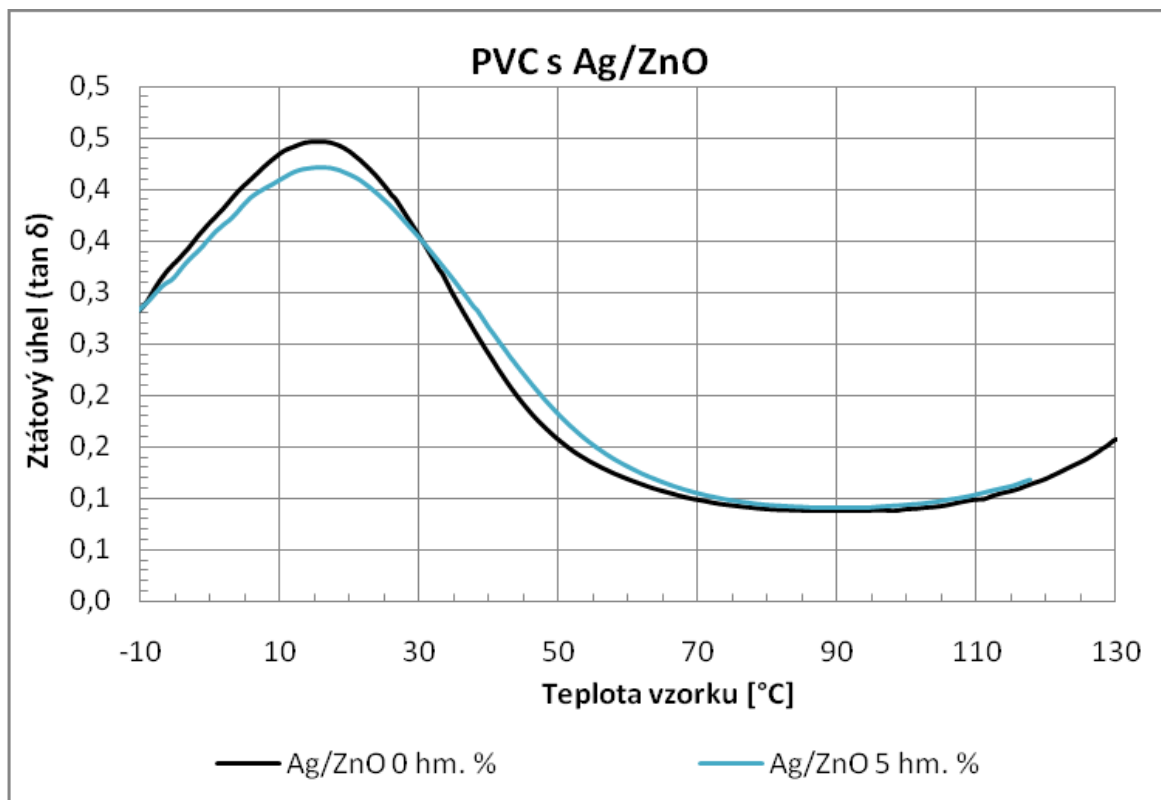
Dynamická mechanická analýza byla také provedena pro PVC plněné Ag/ZnO. Ovšem v tomto případě pouze pro čisté PVC a PVC plněné tímto plnivem v 5 hm. %. Důvodem, proč tak bylo učiněno, je především to, že plnění PVC tímto plnivem nemá velký vliv na jeho výsledné mechanické a tepelné vlastnosti, což je viditelné na *grafech 7 a 8*.



Graf 7: Závislost komplexního smykového modulu na teplotu vzorku PVC s přísávkou Ag/ZnO

Graf 7 popisující závislost komplexního smykového modulu (dále jen komplexní modul či modul) na teplotu názorně poukazuje na běžný fakt, že se při plnění polymeru plnivem zvyšuje jeho výsledný komplexní modul. V tomto konkrétním případě Ag/ZnO plnivo zvyšuje komplexní modul plněného vzorku (5 hm. %) při $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ o 16 MPa oproti neplněnému PVC při stejné teplotě. Se zvyšující teplotou je z *grafu 7* následně vidět snižování rozdílu komplexního modulu u obou vzorků.

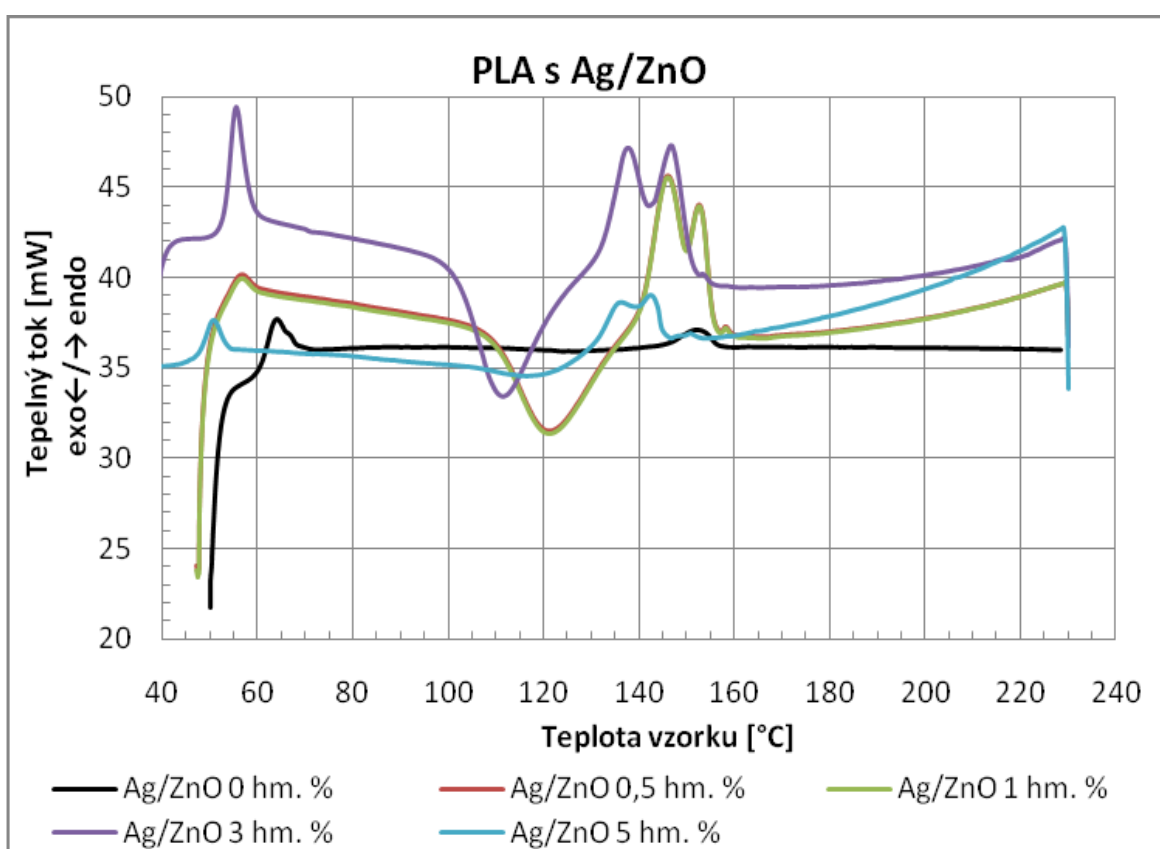
Co se týče teploty skelného přechodu těchto dvou vzorků, *graf 8* dokazuje, že plnivo Ag/ZnO nemá téměř žádný vliv na jeho změnu. Pro oba vzorky, je zde T_g určeno na hranici $15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tato skutečnost také potvrzuje fakt, že Ag/ZnO plnivo téměř nemá vliv na výsledné tepelné vlastnosti polymerní směsi pokud s ní chemicky nereaguje.



Graf 8: Závislost ztrátového úhlu na teplotu vzorku PVC s přísavky Ag/ZnO

7.4 DSC

Při vyhodnocování pomocí metody DSC byl zkoumán jen PLA čistý a plněný plnivem Ag/ZnO. Touto metodou byl sice otestován i čistý PVC, ale vzhledem k jeho vysoké amorfní povaze, u jeho záznamu nebyly dle předpokladů v oblasti 25 – 125 °C zaznamenány žádné vyhodnotitelné poznatky. Plnění vzorku PVC plnivem Ag/ZnO by nemělo mít vliv na jeho přechodové teploty, což dokazují i výsledky DMA, a proto také nebyly dále pomocí DSC materiály na bázi PVC vyhodnocovány.



Graf 9: DSC křivky vyhodnoceny pro čisté PLA a s různými přídávky Ag/ZnO

Graficky si lze výsledek DSC prohlédnout na *grafu 9*, tento v sobě zahrnuje všechny koncentrace PLA s Ag/ZnO. Pro objasnění je nutné uvést, že PLA s plněním 0,5 a 1 hm. % Ag/ZnO v tomto grafu opisují téměř stejné hodnoty (překrývají se), a proto se může na první pohled jevit, že zde jeden z těchto skenů chybí.

První píky na křivkách v tomto grafickém provedení představují fázový přechod druhého řádu charakteristický pro teplotu skelného přechodu. Jak je vidět se zvyšujícím se plněním se T_g snižuje, přesně tak jak bylo zaznamenáno i u metody DMA.

Dalším důležitým úsekem na křivkách je exoterm, představující průběh studené krystalizace, tj. krystalizace, jež je pozorována při ohřevu materiálu. Z výsledku skenů je patrné, že teplota krystalizace se snižuje se zvyšujícím se plněním. Jedinou výjimkou v tomto případě je PLA plněný 5 hm. % Ag/ZnO, který má T_c mírně vyšší jak PLA plněný 3 hm. %. V případě čistého PLA se tento úsek od plněných velmi výrazně liší, jeho exoterm je totiž na grafu nepatrný a tomu odpovídá i jeho velmi malá plocha, která souvisí s převahou amorfni struktury u čistého PLA.

Posledním výrazným jevem na DSC skenech v *grafu 9* je endotermní jev, který se v případě plněných PLA směsí vyznačuje dvojicí píků na rozdíl od čistého PLA, který má vrchol jen jeden. Pro všechny křivky je tato oblast známá jako teplota tání. Ovšem rozdvojení píku u plněného PLA může v tomto případě být způsobeno již zmiňovaným štěpením polymerních řetězců oxidem zinečnatým. Je pravděpodobné, že každá z dvojice vrcholů reprezentuje různou polymerní frakci, které vzniknou po rozštěpení makromolekul. Může se také dokonce jednat o rozdílné typy PLA, protože PLA Ingeo 4042D je tvořen jak laktidem L tak minoritním množstvím laktidu D [73]. Jednalo by se v tomto případě o kopolymer dvou příbuzných směsí. V případě obou píku se u všech křivek jejich charakteristická teplota snižuje s výší plnění plnivem Ag/ZnO a dokonce se s tímto množstvím zvyšuje druhý pík na úkor druhého.

K bližšímu výkladu výsledků DSC může posloužit *tabulka 2*, která numericky postupně popisuje všechny zmiňované jevy.

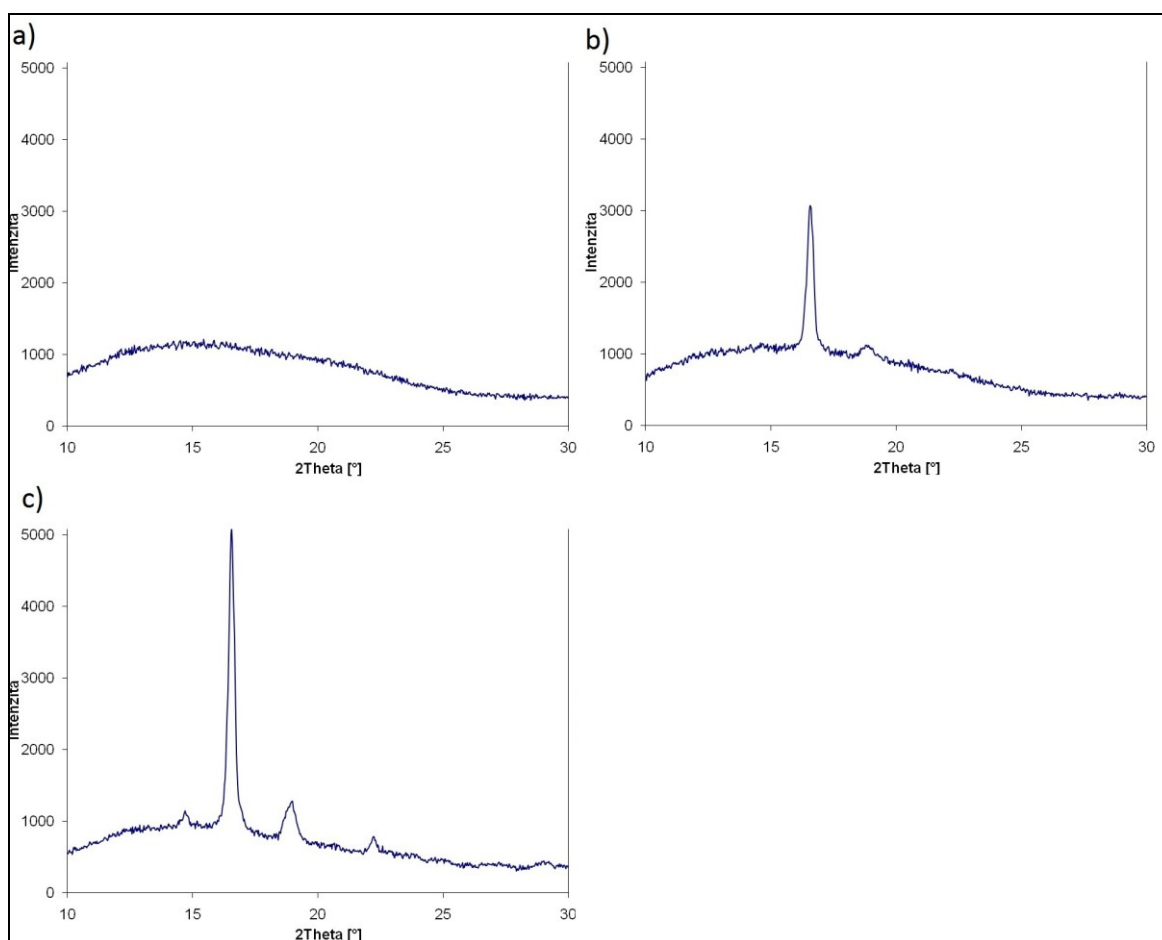
Tabulka 2: DSC – vyhodnocená data

Koncentrace Ag/ZnO [hm. %]	T_g [°C]	T_c [°C]	Měrné teplo krystalizace [J/g]	T_m [°C]		Měrné teplo tání [J/g]
				1. pík	2. pík	1. + 2. pík
0	63,295	127,259	-1,341	152,324	-	1,314
0,5	55,489	121,081	-29,478	146,050	153,052	29,430
1	55,159	121,081	-29,778	146,050	153,052	29,130
3	55,299	111,379	-28,116	137,714	146,718	28,375
5	50,546	118,730	-8,759	135,424	142,433	8,668

7.5 XRD

Pro tuto analýzu byl z obou materiálů vybrán jen PLA. PVC jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole je vysoce amorfní a zcela jistě by bylo jeho vyhodnocování bezvýsledné.

XRD analýzou byl podroben jeden reprezentativní vzorek z PLA. Jak je patrné z předchozích výsledků, směs PLA naplněna 3 a 5 hm. % plniva se z hlediska popisu materiálových vlastností v čase jevila jako vysoce nestabilní. Z tohoto důvodu byla zvolena směs obsahující 0,5 hm. % aktivního plniva, jako vzorek zastupující i PLA plněný 1 hm. %, jak naznačují velmi podobné výsledky DSC a DMA u těchto materiálů.



Graf 10: WAXS difraktogram PLA s 0,5 hm. % Ag/ZnO – a) tepelně neupravovaný vzorek, b) střední rychlost chlazení, c) nízká rychlost chlazení

V *grafu 10 a)* je vyhodnocen difraktogram PLA s 0,5 hm. % Ag/ZnO, který nebyl tepelně nijak upravován vyjma jeho zamíchání se samotným plnivem při přípravě této směsi. Vzniklý difraktogram tohoto vzorku nevykazuje žádnou krystalickou strukturu a je na něm viditelné pouze jedno široké amorfnní maximum, nazývající se v tomto případě jako tzv. amorfnní halo. Silná amorfnní povaha tohoto vzorku je s nejvyšší pravděpodobností způsobena rychlým chlazením směsi v chladícím lisu při odformování vzorků, kde se nestihla vytvořit téměř žádná krystalická fáze.

Na dalším difraktogramu v *grafu 10 b)* je provedena RTG difrakce u vzorku ze stejné sady jako v předešlém případě (stejná tepelná historie), avšak konkrétně pro tuto analýzu byl vzorek opětovně tepelně upraven. Úprava spočívala v jeho zahřátí na teplotu cca 120 °C (teplota jeho studené krystalizace viz DSC) a v následném pozvolném ochlazení na laboratorní teplotu rychlostí přibližně 30 °C/minutu. Při pohledu na vyhodnocení v b) části grafu je viditelné zastoupení krystalické fáze patrně minimálně z jednoho reflexního maxima.

Třetí a poslední difraktogram v *grafu 10 c)* představuje opět v základu vzorek se stejnou tepelnou historií jako předešlé dva, ale s jinou následnou tepelnou úpravou pro tuto zkoušku. Tento vzorek byl opět vyhřát na přibližnou teplotu 120 °C, ovšem nyní byl zchlazen oproti předešlému případu nižší rychlostí. V tomto difraktogramu jsou k vidění minimálně dvě krystalické fáze, které jsou identifikovatelné pomocí typicky úzkých reflexí (píků). Není zcela jasné, zda jsou i nižší píky identifikovatelné jako krystalické oblasti. Je však možné, že se jedná o krystalické mřížky s jiným uspořádáním. Nejvyšší z píků představuje pravděpodobně stejné krystalické uspořádání, jako nejvyšší reflexe z předešlého difraktogramu, oba se objevují při přibližně stejném úhlu 16,57 °. Výsledek tohoto vyhodnocení naznačuje, že se krystalinita oproti předchozímu vzorku poměrně výrazně zvýšila.

Účelem této diskuze bylo poukázání na velice silnou teplotní závislost už u nejméně plněného PLA. Tato analýza potvrzuje, že již při nejnižším plnění se PLA stává silně nestabilní směsí, u které je dosažení stejných vlastností výsledného kompozitu jen velmi obtížné. Z tohoto důvodu nebyla vyhodnocována ani přesná krystalinita jednotlivých směsí, protože není jednoduše možné u všech vzorků zaručit stejné podmínky předchozí tepelné úpravy. Na závěr je nutné zmínit, že toto zkoumání nebylo primárním účelem této práce, a proto tento jev necháváme otevřen pro další bádání.

7.6 Měření povrchové antibakteriální aktivity připravených vzorků

Při měření antibakteriální povrchové aktivity byly testovány oba plněné materiály (PVC i PLA) a oba byly také vystaveny kolonizaci jejich povrchu jak kmenem *E. coli* tak *S. Aureus*. V průběhu měření bylo zjištěno, že oba materiály v plnění 0,5 hm. % Ag/ZnO neprokazovali žádnou antibakteriální aktivitu vůči kmenu *S. aureus*, proto bylo rozhodnuto, že testování v tomto plnění na tento bakteriální kmen nebude prováděno.

Tabulka 3 uvádí jednotlivé počty životaschopných bakterií, které byly sejmuty ze vzorků po 24 hodinové inkubaci (při 35 °C). K těmto hodnotám se došlo spočítáním kolonií, které narostly v šikmých agarrech po 24 hodinové inkubaci, do těchto agarů byla předtím zalita SCDLP suspenze obsahující smyté bakteriální inokulum ze vzorků. Na základě znalosti počtu kolonií bylo následně možné pomocí rovnice 2 vypočítat zmiňované počty životaschopných bakterií.

Ke každému plnění obou polymerů je dopsán také počet životaschopných bakterií, které byly sejmuty po 24 hodinách z polymerů neobsahující žádné plnivo. Tato hodnota je důležitá proto, že zohledňuje koncentraci inokula, které bylo nanášeno na oba vzorky simultánně. Z obou těchto hodnot je následně možné vypočítat antibakteriální aktivitu (podle rovnice 3) konkrétního plněného vzorku, proto je k výpočtu vždy nutné znát obě hodnoty.

Tabulka 3: Počet sejmutých životaschopných bakterií z PLA po 24 hodinové inkubaci

Koncentrace Ag/ZnO	Počet sejmutých životaschopných bakterií po 24 hodinách inkubace [buněk/cm ²]			
	<i>E. coli</i>		<i>S. Aureus</i>	
-	Sejmuto z plněných PLA	Sejmuto z čistých PLA	Sejmuto z plněných PLA	Sejmuto z čistých PLA
0,5	2,56E+08	2,63E+08	-	-
1	1,44E+08	3,29E+08	1,31E+08	1,99E+08
3	9,14E+06	3,29E+08	7,23E+07	1,99E+08
5	4,13E+02	2,63E+08	3,06E+07	1,99E+08

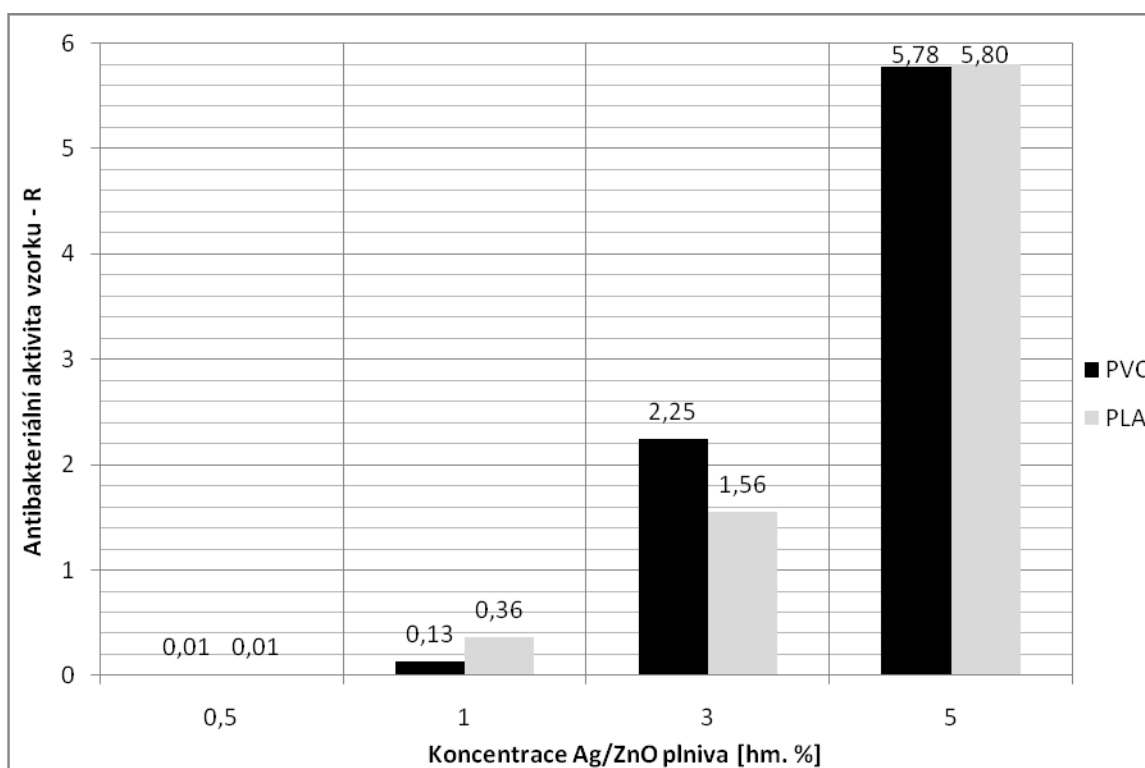
Tabulka 4: Počet sejmutých životaschopných bakterií z PVC po 24 hodinové inkubaci

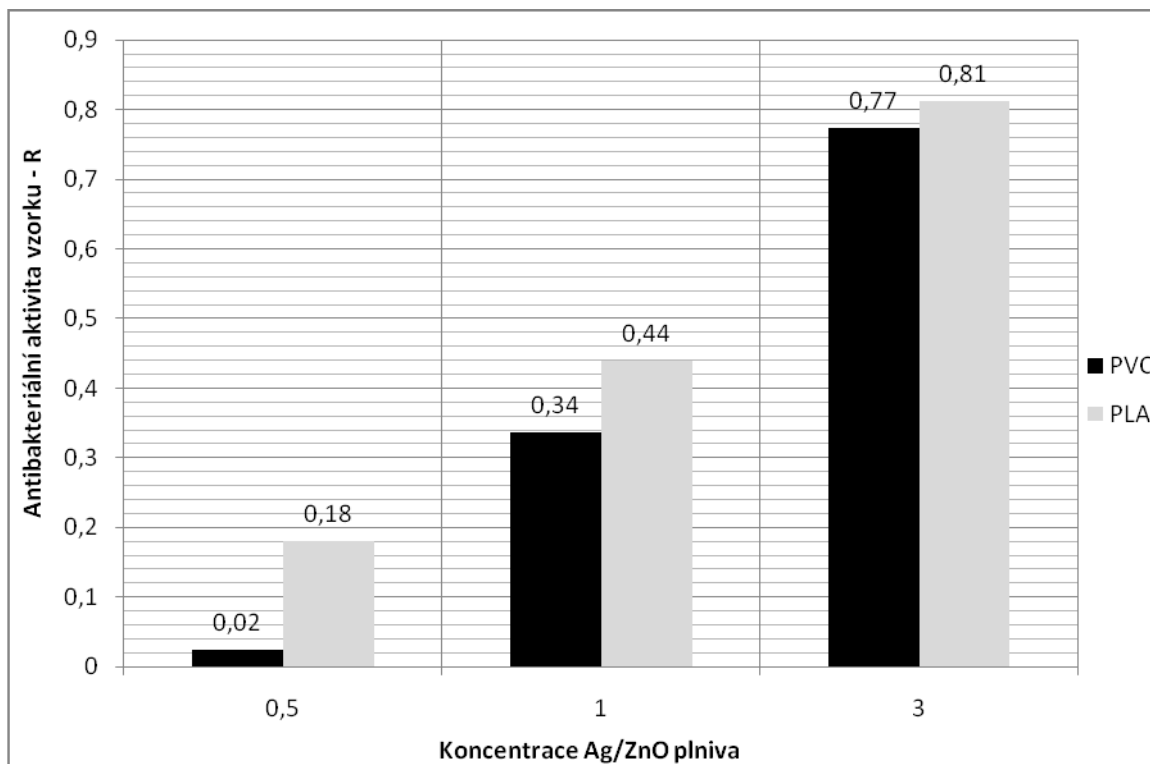
Koncentrace Ag/ZnO	Počet sejmutých životaschopných bakterií po 24 hodinách inkubace [buněk/cm ²]			
	<i>E. coli</i>		<i>S. Aureus</i>	
-	Sejmuto z plněných PVC	Sejmuto z čistých PVC	Sejmuto z plněných PVC	Sejmuto z čistých PVC
0,5	2,75E+08	2,80E+08	-	-
1	2,08E+08	2,80E+08	9,98E+07	1,06E+08
3	2,44E+06	4,29E+08	4,86E+07	1,06E+08
5	7,11E+02	4,29E+08	1,78E+07	1,06E+08

Tabulka 5: Výsledná antibakteriální aktivita polymerů plněných Ag/ZnO

Koncentrace Ag/ZnO [hm. %]	PLA		PVC	
	Antibakteriální aktivita - R		Antibakteriální aktivita - R	
	<i>E. coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Aureus</i>
0,5	0,0105	-	0,0081	-
1	0,3598	0,1801	0,1298	0,0244
3	1,5564	0,4394	2,2457	0,3372
5	5,8037	0,8127	5,7808	0,7730

V tabulce 5 jsou vypsány číselné hodnoty pro oba materiály a také bakterie, kterými byly tyto kompozity podrobovány. Vždy je tedy ke každému materiálu s různým plněním a použitou bakterií vypsána hodnota R charakterizující jeho schopnost hubit tento bakteriální kmen. Z vypočtených dat je na první pohled viditelné, že s vzrůstajícím plněním neroste jejich R lineárně, ale spíše exponenciálně (především v případě působení na kmen *E. coli*). Tuto skutečnost si lze lépe představit při pohledu na grafy 11 a 12, které shrnují poznatky tabulky 5 v grafické podobě.

Graf 11: Výsledky antibakteriální aktivity vzorků vůči *E. coli*



Graf 12: Výsledky antibakteriální aktivity vzorků vůči *S. aureus*

Dalším zjištěním, které bylo uváděno na začátku této kapitoly bylo, že Ag/ZnO plnivo je mnohem účinnější vůči gramnegativnímu kmenu *E. coli* jak ke grampozitivnímu *S. Aureus* a to celkově téměř o 80 %. Tento trend se dá předpokládat pro široké spektrum gramnegativních a grampozitivní bakterií. Důvodem nejspíše bude složitost buněčné stěny *S. aureus* (grampozitivní kmen) oproti *E. coli* (gramnegativní kmen), o které je řeč v kapitole 1.2. Podle těchto indicií se dá uvažovat, že hlavním činitelem při hubení gramnegativních bakterií byly v tomto případě nanočástice stříbra, zdůvodnění této hypotézy je podpořeno informacemi z kapitoly 3.4.1. Díky přítomnosti ZnO je pravděpodobně umožněna bakteriicidní aktivita plniva vůči grampozitivním bakteriím. ZnO je obecně považováno za velmi účinnou antibakteriální látku působící na grampozitivní typy bakterií, jak bylo zmiňováno také v kapitole 3.4.2. Je také možné, že buňky *S. aureus* jsou napadány i nanočásticemi stříbra, které jsou nesené destičkami ZnO a lépe tak umožňují dispergaci nanoplنiva v polymeru, což bývá mnohdy problémem.

Posledním důležitým poznatkem v této části je, že téměř ve všech případech vykazuje vyšší antibakteriální aktivitu PLA plněný stejným množstvím Ag/ZnO jako PVC. Výjimku tvoří jen situace působení plněných polymerních směsí 3hm. %, kdy vyšší antibakteriální aktivitu má plněné PVC. Celkový rozdíl antibakteriální aktivity mezi těmito materiály se však pohybuje okolo 2 %. Zdůvodnění tohoto jevu by mohlo být opodstatněno tím, že PLA je ve své podstatě biodegradabilní polymer, a proto v průběhu svého přirozeného rozkladu může uvolňovat antibakteriální složky obsažené ve své matici.

ZÁVĚR

Prvotním cílem této diplomové práce bylo připravit vzorky PLA a PVC s antibakteriálně aktivním plnivem připraveným pomocí MW syntézy. Plnivo bylo před svým zpracováním nasnímáno skenovací elektronovou mikroskopií. Zavedení této hybridní Ag/ZnO přísady do výše zmiňovaných polymerů proběhlo v tavení a tímto způsobem byly připraveny kompozity obsahující čtyři různé hmotnostní koncentrace plniva. Následně byly tyto vzorky přichystány pro další testování. Mezi testy, které byly na vzorcích prováděny, patřilo ohodnocení jejich tokových vlastností, ohodnocení tepelně mechanických vlastností dynamic-kou mechanickou analýzou, dále pak byly vyhodnoceny tepelné a morfologické vlastnosti diferenciální skenovací kalorimetrií a provedena difrakce RTG záření pro analýzu morfologických a tepelně citlivostních charakteristik zkoumaných kompozitních materiálů. Stěžejním analýzou celé experimentální činnosti bylo ohodnocení antibakteriální povrchové aktivity těchto kompozitů v souladu s relativně nově zavedenou normou ISO 22196.

Během provádění zmiňovaných testování bylo zjištěno, že modifikace vlastností PLA není úplně ideální využitím výše uvedeného plniva. Přísada sice zajišťuje jeho povrchovou antibakteriální aktivitu, ale do jisté míry uvádí tento kompozit již při nejnižším připraveném naplnění do poměrně nestabilních forem, které nezaručují ani ideální zpracovatelnost, ani odpovídající výsledné mechanické vlastnosti. Pokud by se ovšem našla příhodná aplikace, dostatečně nízké naplnění zkoumanou přísadou na bázi Ag/ZnO by se dalo využít, v souvislosti s předpokládanou vyšší kinetikou biodegradace komerčně dostupné polymer-ní matrice, například pro řízené uvolňování dalšího aktivního plniva z finálního produktu na bázi PLA. To by však vyžadovalo další výzkum a detailnější popis samotného děje. Na druhou stranu pokud je zkoumanou aktivní složkou modifikováno PVC, nedochází k výrazným změnám v jeho výsledných vlastnostech a jen z části se mění jeho zpracovatelnost. Z pohledu antibakteriální schopnosti oba modifikované polymery vykazují poměrně silnou aktivitu vůči gramnegativnímu kmenu *E. coli*. Na grampozitivní kmen *S. aureus* byla baktericidní aktivita zaznamenána řádově nižší. Dále bylo zjištěno, že PLA plněný stejným množstvím hybridu Ag/ZnO jako PVC disponoval vyšší povrchovou antibakteriální schopností zdůvodňovanou biodegradabilní povahou PLA a tím pádem eventuálním snadnějším uvolňováním aktivního plniva z matrice.

Následující zjištění dokazují poměrně dobrou antibakteriální aktivitu hybridu Ag/ZnO v plněných polymerních směsích. S ohledem na jednoduchost a nenáročnosti přípravy tohoto nanoplňiva vyvstává fakt, že by se tato aktivní složka mohla dočkat reálného aplikačního nasazení, což by jistě mělo přínos pro společenskou praxi. Dále by stálo za zvážení otestovat toto plnivo nejen na plastikářských směsích, ale také na gumárenských, kde by modifikované ZnO mohlo zlepšovat vulkanizační charakteristiky i/nebo výsledné vlastnosti pryže a zároveň by spolu s Ag částicemi mohlo působit jako baktericidní složka.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KAPRÁLEK, F. *Základy bakteriologie*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2000. 241 s. ISBN 8071848115.
- [2] *Encyklopedie BOZP* [online]. 2007, 12.10.2007 [cit. 2009-10-15]. Baktérie. Dostupné z WWW: <<http://web.vubp-praha.cz/wiki/index.php/Bacteria>>.
- [3] ČECHOVÁ, L.; JANALÍKOVÁ, M. *Obecná mikrobiologie*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007. 190 s. ISBN 9788073185169.
- [4] ČECHOVÁ, L. *Základy obecné mikrobiologie*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 142 s. ISBN 8073184877.
- [5] RŮŽIČKA, J. *Mikrobiologie pro technology životního prostředí*. Vyd. 1. Zlín: Vysoké učení technické v Brně, 1999. 124 s. ISBN 8021413743.
- [6] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Encyklopedie hydrobiologie* [online]. Verze 1.0. Praha: VŠCHT, 2006 [cit. 2010-10-23]. Dostupné z WWW: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/index.html.
- [7] JULÁK, J. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2006. 404 s. ISBN 80-246-1270-4.
- [8] VOTAVA M. *Lékařská mikrobiologie II – Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii*. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, 2000. 309 s. ISBN 80-210-2272-8.
- [9] VEGER, J; BAUDIŠOVÁ, D. *Bakterie z čeledi Enterobacteriaceae ve vodním prostředí*. Vyd. 1. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, 1996. 100 s. ISBN 80-85900-11-4.
- [10] SEDLÁČEK, I. *Taxonomie prokaryot*. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, 2007. 312 s. ISBN 8021042079.
- [11] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3. Praha: Academia, 2002. 364 s. ISBN 8020010246.
- [12] DOMB, A. J.; KOST, K. J.; WISEMAN, D. M. *Handbook of Biodegradable Polymers*. 7. Amsterdam : CRC Press, 1997. 544 s. ISBN 9057021536.

- [13] CHERNG-JU, K. *Advanced Pharmaceutics : Physicochemical Principles*. Vyd. 1. New York : CRC Press, 2004. 512 s. ISBN 9780849317293.
- [14] STEINBUCHER, A.; MERCHESSAULT, R. H. *Biopolymers for medical and pharmaceutical applications*. Vyd. 1. [s.l.]: Wiley, 2005. 1145 s. ISBN 9783527311.
- [15] *NatureWorks LLC* [online]. 2005 [cit. 2009-02-14]. NatureWorks® PLA Polymer 4060D. Dostupné z WWW: <http://www.natureworkslc.com/product-and-applications/ingeo-biopolymer/technical-resources/~media/Product%20and%20Applications/Ingeo%20Biopolymer/Technical%20Resources/Technical%20Data%20Sheets/TechnicalDataSheet_4060D_pdf.ashx>.
- [16] RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E. Biomedical applications of polymer-composite materials : a review. *Composite Science and Technology*. 2001, 61, s. 1189-1224.
- [17] IKADA, Y.; YOSHIHIKO, S. *Tissue Engineering for Therapeutic Use 4* . Vyd. 4. [s.l.] : International Symposium Of Tissue Engineering For Therapeutic Use, 2000. 198 s. ISBN 0444502939.
- [18] KUBÍK, Josef; GRUNDĚL, František. *PVC : Výroba, zpracování a použití*. Vyd. 2. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1965. 660 s. ISBN 0461965.
- [19] MLEZIVA, J.; ŠNUPÁREK, P. *Polymery: výroba, struktura, vlastnosti a použití*. Vyd. 2. Praha: Sobotáles, 2000. 544 s. ISBN 8085920727.
- [20] MAIN, K., et al. Human Breast Milk Contamination with Phthalates and Alterations of Endogenous Reproductive Hormones in Infants Three Months of Age. *Environ Health Perspect.* 2006, 114, č. 2, s. 270 – 276.
- [21] OTTOVÁ, V.; HÄUSLER, J.; KUNC, F. *Mikrobiologie: Pro posluchače studijního oboru technologie vody*. Vyd. 1. Praha: VŠCHT, 1991. 120 s. ISBN 8070801360.
- [22] MASÁK, J.; PELECHOVÁ, J.; PLACHÝ, J. *Speciální mikrobiální technologie*. Vyd. 1. Praha: VŠCHT, 1992. 300 s. ISBN 8070801425.

- [23] BEDNÁŘ, M.; FRAŇKOVÁ, V.; SCHINDLER, J. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996. 558 s. ISBN 8071693650.
- [24] FRAISE, A.; LAMBERT, P. A.; MAILLARD, J. *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization*. Vyd. 4. New York: Wiley, 2003. 688 s. ISBN 9781405101998.
- [25] MARTÍNKOVÁ, J., et al. *Farmakologie: Pro studenty zdravotnických oborů*. Vyd. 1. Praha: Grada Publishing, 2007. 380 s. ISBN 9788024713564.
- [26] KENAWY, E.; WORLEY, S. D.; BROUGHTON, R. The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State-of-the-Art Review. *Biomacromolecules*. 2007, roč. 8, č. 5, s. 1359 – 1384.
- [27] APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2002, č. 3, s. 113 – 126.
- [28] BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. P.; KLINE, L. R. *Active Packaging for Food Applications*. Vyd. 1. Duluth (Georgia): CRC Press, 2001. 236 s. ISBN 9781587160455.
- [29] MATSUMURA, Y.; YOSHIKATA, K.; KUNISAKI, S. Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate. *Appl Environ Microbiol.* 2003, roč. 7, č. 69, s. 4278 – 4281.
- [30] HOTCHKISS, J. H. Packaging interactions influencing quality and safety. *Additives & Contaminants: Part A*. 1997, roč. 14, č. 6 - 7, s. 601 – 607.
- [31] ISHITANI, T. Active Packaging for food quality preservation in Japan. *Foods and Packaging Materials-Chemical Interactions*, 1995, s. 177 – 188.
- [32] APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Surface modification of poly(styrene) by the attachment of an antimicrobial peptide. *Journal of Applied Polymer Science*. 2001, roč. 3, č. 81, s. 609 – 616.
- [33] COMA, V., et al. Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers, fatty acids, and nisin incorporation to inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection*. 2001, roč. 4, č. 64, s. 470 – 475.

- [34] DEVLIEGHERE, F.; VERMEIREN, L.; BOCKSTAL, A. Study of antimicrobial activity of a packaging material containing potassium sorbate. *Acta Alimentaria*, 2000, roč. 2, č. 29, s. 137 – 146.
- [35] VOJDANI, F.; TORRES, J. A. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose multi-layer films. *Journal of Processing and Preservation*. 2007, roč. 6, č. 13, s. 417 – 430.
- [36] MOKREJŠ, P. *Aplikace přírodních polymerů*. Vyd. 2. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. 157 s.
- [37] GOLLWITZER, H., et al. Antibacterial poly(D, L-lactic acid) coating of medical implants using a biodegradable drug delivery technology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, č. 51, s. 585 – 591.
- [38] CHA, D. S.; PARK, H. J.; COOKSEY, D. K. Preparation and diffusion rate of a nisin incorporated antimicrobial film. *IFT: Annual Meeting*. 2001, č. 8, s. 1 -2.
- [39] KUWANO, K.; TANAKA, N.; SHIMIZU, T. Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, č. 26, 396-402.
- [40] BOWER, C.; MCGUIRE, J.; DAESCHEL, M. Suppression of *Listeria monocytogenes* colonization following adsorption of nisin onto silica surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, roč. 1, č. 6, 992-997.
- [41] DOBIÁŠ, J., et al. Active packaging-immobilization of preservatives on/in packaging materials. *Lebensmittelchemie*. 1998, č. 52, s. 33 – 36.
- [42] HAYNIE, S. L.; CRUM, G. A.; DOELE, B. A. Antimicrobial activities of amphiphilic peptides covalently bonded to a water-insoluble resin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995, roč. 2, č. 49, s. 301 - 307.
- [43] APPENDINI, P. *Immobilization of lysozyme on synthetic polymers for the application to packaging*. Ithaca (New York), 1996. 143 s. Dizertační práce. Cornell University.
- [44] LEWIS, K.; KLIBANOV, A. M. Surpassing nature: rational design of sterile-surface materials. *TRENDS in Biotechnology*. 2005, roč. 7, č. 23, s. 343 – 348.

- [45] WANG, S.; CHIO, S. Reversible Immobilization of Chitinase via Coupling to Reversibly Soluble Polymer. *Enzyme and Microbial Technology*. 1998, roč. 7, č. 22, s. 634 – 640.
- [46] GARCÍA, J. L.; GALINDO, E. An immobilization technique yielding high enzymatic load of nylon nets.. *Biotechnology Techniques*. 1990, roč. 4, č. 6, s. 425 – 428.
- [47] KANAZAWA, A.; IKEDA, T.; ENDO, T. Novel polycationic biocides: Synthesis and antibacterial activity of polymeric phosphonium salts. *Journal of Polymer Science: Part A Polymer Chemistry*. 2003, roč. 2, č. 31, s. 335 – 343.
- [48] APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. Antimicrobial activity of a 1,4-residue synthetic peptide against foodborne microorganisms. *Journal of Food Protection*, 2000, roč 7, č. 63, s. 889 – 893.
- [49] GOLDBERG, S.; DOYLE, R.; ROSENBERG, M. Mechanism of enhancement of microbial cell hydrophobicity by cationic polymers. *Journal of Bacteriology*, 1990, roč. 10, č. 172, s. 5650 – 5654.
- [50] US Patent: 4, 708, 870. USA. Method for imparting antimicrobial activity from acrylics, Pridni, S. 1987.
- [51] European Patent Application: EP0460385. Polymeric biocidal agents, Olstein, A. 1991.
- [52] PAIK, J.; DHANASEKHARAN, M.; KELLEY, M. Antimicrobial activity of UV-irradiated nylon film for packaging applications. *Packaging Technology and Science*, 1998, č. 11, s. 179 – 187.
- [53] FENG, Q. L., et al. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research : Part A*. 2000, roč. 4, č. 52, s. 662 – 668.
- [54] LIAU, S. Y.; READ, D. C.; PUGH, W. J.; Furr, J. R.; Russell, A. D. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Letters in Applied Microbiology*. 2003, roč. 4, 25, s. 279 – 283.

- [55] KIM, J. S., et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2007, č. 3, s. 95 - 101.
- [56] ATMACA, S.; GÜL, K.; ÇIÇEK, R. The Effect of Zinc On Microbial Growth. *Tr. J. of Medical Sciences*. 1997, č. 28, s. 595 - 597.
- [57] SAWAI, J., et al. Hydrogen Peroxide as an Antibacterial Factor in Zinc Oxide Powder Slurry. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1998, roč. 86, č. 5, s. 521 – 522.
- [58] GALYA, T.; SEDLAŘÍK, V.; KUŘITKA, I.; SEDLAŘÍKOVÁ, J.; SÁHA, P. Characterization of Antibacterial Polymeric Films Based on Poly (vinyl alcohol) and Zinc Nitrate for Biomedical Application. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2008, č. 13, s. 241 – 253.
- [59] LI, J. H., et al. Effect of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings. *Progress in Organic Coatings*. 2008, č. 64, s. 504 – 509.
- [60] HUANG, Z., et al. Toxicological Effect of ZnO Nanoparticles Based on Bacteria. *Langmuir*. 2008, č. 24, s. 4140 – 4144.
- [61] REDDY, K. M. *Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems*. Bois (USA), 2007. 20 s. Dizertační práce. Department of Physics and Department of Biology, Boise State University.
- [62] HÁJEK, M. *MIKROVLNY V AKCI* [online]. Praha : Ústav chemických procesů AV ČR, 2006 [cit. 2010-04-09]. Dostupné z WWW: <<http://archiv.otevrenaveda.cz/users/Image/default/C2Seminare/MultiObSem/112.pdf>>.
- [63] LOUPY, A. *Microwaves in Organic Synthesis*. Vyd. 2. Batiment : Wiley-VCH, 2002. 499 s. ISBN 9783527601776.
- [64] TSUJI, M., et al. Microwave-Assisted Synthesis of Metallic Nanostructures in Solution. *Chemistry : A European Journal*. 2004, roč. 11, č. 2, s. 440 – 452.
- [65] BILECKA, I.; ELSER, P.; NIEDERBERGER, M. Kinetic and Thermodynamic Aspects in the Microwave-Assisted Synthesis of ZnO Nanoparticles in Benzyl Alcohol. *ACS Nano*. 2009, roč. 3, č. 2, s. 467 – 477.

- [66] KOVAČIČ, V.; MILITKÝ, J.; RUBNEROVÁ, J. *Technická univerzita v Liberci : Katedra textilních materiálů* [online]. Vyd. 1. Olomouc: Pedagogická fakulta UP, 1997 [cit. 2010-04-10]. Rastrovací elektronový mikroskop jako prostředek moderní výuky v oboru textilním. Dostupné z WWW: <<http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/?q=cs/rem>>.
- [67] VONDRÁČEK, P., et al. *Metody studia a charakterizace struktury polymerů*. Vyd. 1. Praha : VŠCHT, 1988. 235 s.
- [68] VANÍČEK, J. *Technická univerzita v Liberci : Katedra textilních materiálů* [online]. Vyd. 1. Liberec : 2008 [cit. 2010-05-11]. Metody termické analýzy. Dostupné z WWW: <<http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/files/20060106/prednaska7.pdf>>.
- [69] *Stránky s rentgenovou tematikou, návody, odborné články* [online]. Vyd. 1. 2007 [cit. 2010-05-3]. Rentgen. Dostupné z WWW: <<http://www.rentgen.eu/index.php?mnu=2,0>>.
- [70] *Fyzikální praktikum* [online]. Vyd. 1. Praha : MFF UK, 2004 [cit. 2010-05-4]. Rentgenová spektroskopie a difrakce, s. . Dostupné z WWW: <http://physics.mff.cuni.cz/vyuka/zfp/txt_421.pdf>.
- [71] AMIN, J.; LAUPUS, S.; OWEN, A. *ARMOR YOURSELF : KIRBY-BAUER METHOD* [online]. Vyd. 1. 2002 [cit. 2010-4-20]. BUGTALK. Dostupné z WWW: <<http://aminj.myweb.uga.edu/KIRBY-BAUER.html>>.
- [72] ISO 22196:2007 (E). *Plastics : Measurements of antibacterial activity on plastic surfaces*. Tokyo : Society of Industrial technology for Antimicrobial Articles, 2007. 16 s.
- [73] DUMITRIU, S. *Polymeric biomaterials*. Vyd. 2. New York : Marcel Dekker and Taylor & FrancisGroup, 2002. 1168 s. ISBN 0824705696.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PMMA	Polymethylmetakrylát.
PUR	Polyuretan.
µm	Mikrometry – jednotka délky.
DNA	Deoxyribonukleová kyselina.
nm	Nanometry – jednotka délky.
PLA	Polylaktid.
OLK	Otevírán laktidového kruhu.
°C	Stupně celsia – jednotka teploty.
PGA	Polyglykovlová kyselina.
PVC	Polyvinylchlorid
Pa	Pascal – jednotka tlaku.
Hz	Herz – jednotka frekvence.
UV	Ultrafialové záření.
pH	Jednotka kyselosti a zásaditosti rostoků.
TKF	Trikrezyf fosfát.
DBF	Dibutyl ftalát.
DOF	Dioktyl fumarát.
DEHP	Dietylhexyl ftalát.
V	Volt – jednotka elektrického napětí.
H ₂ O ₂	Peroxid vodíku.
KMnO ₄	Manganistan draselný.
HCl	Chlorovodík.
KJ	Jodid draselný.
-SH	Peptidoglykanová skupina.

-NH ₂	Amidová skupina.
-OH	Hydroxylová skupina.
-COOH	Karboxylová skupina.
KCN	Kyanid draselný.
PE	Polyetylen.
PP	Polypropylen.
PAD	Poylamid.
ABS	Akrylonitril butadien styren.
LDPE	Nízko-hustotní polyetylen.
EVA	Etylen-vinyl acetát.
PET	Polyetylentereftalát.
PVAL	Polyvinyl alkohol.
PVP	Polyvinylpirrolidon.
EMA	Polyetylmetakrylát.
EMMA	Kopolymer etylenu s metylmetakrylátem.
PVDC	Polyvinylidenchlorid.
EVOH	Etylenvinyl alkohol.
PS	Polystyren.
Ag ⁺	Kationt stříbra.
AgNO ₃	Dusičnan stříbrný.
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie.
ZnO	Oxid zinečnatý.
NP	Nanoparticles – nanočástice.
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie.
ISO	International Organization for Standardization.

Mol	Jednotka látkového množství.
Fe	Železo.
MW	Mikrovlny.
W	Watt – jednotka výkonu.
HTMA	Hexametylentetramin.
Ag/ZnO	Hybridní přísada stříbra a oxidu zinečnatého.
N	Jednotka síly.
DMA	Dynamická mechanická analýza
E	Elastický modul.
RTG	Rentgen.
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetrie.
XRD	Rentgenová difrakce.
WAXS	Širokoúhlá difrakce rentgenového záření.
°	Úhel značený ve stupních.
JIS	Japanese Industrial Standards
T _g	Teplota skelného přechodu.
T _c	Teplota krystalizace.
T _m	Teplota tání.
Γ	Rychlost smykové deformace.
H	Smyková viskozita.
τ _{xy}	Smykové napětí.
CCM	Czech collection of Microorganism.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Základní tvarové rozdělení bakteriálních buněk</i>	14
<i>Obrázek 2: Bakteriální buňka</i>	16
<i>Obrázek 3: Schéma cytoplazmatické membrány a buněčné stěny grampozitivní bakterie</i>	18
<i>Obrázek 4: Schéma cytoplazmatické membrány a buněčné stěny gramnegativní bakterie</i>	19
<i>Obrázek 5: Escherichia coli</i>	20
<i>Obrázek 6: Staphylococcus aureus</i>	21
<i>Obrázek 7: Výroba PLA metodou otevírání laktidového kruhu</i>	22
<i>Obrázek 8: Strukturní vzorec PVC</i>	24
<i>Obrázek 9: Místo účinku antibiotik v buňce</i>	33
<i>Obrázek 10: Schéma spojení antibakteriální složky s povrchem polymeru: a) antibakteriální složka je spojena s dlouhým polymerním řetězcem, který je kovalentně připojen k povrchu; b) Příklad spojení polymerní matrice s poly(4-vinyl-N-alkylpyridinem bromidu)</i>	38
<i>Obrázek 11: TEM snímek – Internální schéma E. coli</i>	41
<i>Obrázek 12: TEM snímek – Vliv Ag⁺ iontů na bakteriální buňku E. coli</i>	42
<i>Obrázek 13: TEM snímek – pohlcení nanočástic ZnO buňkami S. aureus</i>	44
<i>Obrázek 14: MW zařízení s přidanými laboratorními komponenty 1 – reakční baňka, 2 – prodlužovací nástavec, 3 – odplyňovací nástavec, 4 – odkapávač, 5 – zpětný chladič, 6 – MW zařízení</i>	51
<i>Obrázek 15: Fyzická podoba syntetizovaného hybridního plniva Ag/ZnO</i>	52
<i>Obrázek 16: Mikrohňtič Thermo Scientific HAAKE MiniLab II</i>	53
<i>Obrázek 17: Skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega II LMU</i>	56
<i>Obrázek 18: Toková doména mikrohňtiče HAAKE MiniLab II</i>	57
<i>Obrázek 19: DMA zařízení METTLER TOLEDO STAR[®]</i>	58
<i>Obrázek 20: Schéma jednotlivých částí přístroje METTLER TOLEDO STAR[®]</i>	59
<i>Obrázek 21: Modelová DSC křivka polymerů</i>	60
<i>Obrázek 22: DSC zařízení Perkin-Elmer Pyris 1</i>	61
<i>Obrázek 23: Blokové schéma přístroje Pyris 1</i>	62
<i>Obrázek 24: WAXS difraktometr X'PERT PRO MPD</i>	63

<i>Obrázek 25: Kirby-Bauerova disková metoda</i>	<i>64</i>
<i>Obrázek 26: Umístění krycího filmu na testovaný vzorek 1 – krycí fólie, 2 – 0,4 ml inokula, 3 – testovaný vzorek, 4 – petriho miska, 5 – víčko petriho misky</i>	<i>66</i>
<i>Obrázek 27: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 2000x – SE detektor</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek 28: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 2000x – BSE detektor.....</i>	<i>70</i>
<i>Obrázek 29: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 5000x – SE detektor</i>	<i>71</i>
<i>Obrázek 30: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 5000x – BSE detektor.....</i>	<i>72</i>
<i>Obrázek 31: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 10000x –SE detektor</i>	<i>73</i>
<i>Obrázek 32: SEM snímek plniva Ag/ZnO 012 při zvětšení 10000x – BSE detektor.....</i>	<i>74</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Vliv plnění PLA matrice Ag/ZnO plnivem na T_g.....</i>	82
<i>Tabulka 2: DSC – vyhodnocená data</i>	86
<i>Tabulka 3: Počet sejmutých životaschopných bakterií z PLA po 24 hodinové inkubaci</i>	89
<i>Tabulka 4: Počet sejmutých životaschopných bakterií z PVC po 24 hodinové inkubaci</i>	89
<i>Tabulka 5: Výsledná antibakteriální aktivita polymerů plněných Ag/ZnO</i>	90

SEZNAM ROVNIC

<i>Rovnice 1: Vztah popisující přeměnu MW energie na teplo</i>	49
<i>Rovnice 2: Počet ŽB na jeden testovaný vzorek</i>	67
<i>Rovnice 3: Antimikrobiální aktivita vzorku</i>	68

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P 1: Reologické vlastnosti připravovaných směsí

PŘÍLOHA P 1: REOLOGICKÉ VLASTNOSTI PŘIPRAVOVANÝCH SMĚSÍ

PLA s 0 hm. % Ag/ZnO			PLA s 0,5 hm. % Ag/ZnO			PLA s 1 hm. % Ag/ZnO		
$\dot{\gamma}$ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]	$\dot{\gamma}$ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]	$\dot{\gamma}$ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]
7,66	133,82	1,0254	5,58	0,00	0,0000	5,49	0,00	0,0000
11,11	144,49	1,6055	7,45	0,00	0,0000	7,45	0,00	0,0000
15,93	151,55	2,4141	10,99	0,00	0,0000	11,00	0,00	0,0000
23,59	147,29	3,4746	15,91	0,00	0,0000	15,75	0,00	0,0000
34,35	124,53	4,2773	23,47	0,00	0,0000	23,20	0,00	0,0000
50,10	92,28	4,6231	34,51	0,00	0,0000	34,44	0,00	0,0000
73,40	69,53	5,1035	50,22	0,00	0,0000	49,53	0,00	0,0000
107,00	53,16	5,6895	73,37	0,00	0,0000	73,16	0,00	0,0000
156,40	45,06	7,0488	107,00	0,00	0,0000	107,10	0,00	0,0000
228,30	36,94	8,4316	156,40	0,00	0,0000	156,40	0,00	0,0000
333,60	30,30	10,1074	228,30	1,49	0,3398	228,30	0,00	0,0000
486,80	25,24	12,2871	333,50	1,83	0,6094	333,70	0,00	0,0000
710,60	21,03	14,9414	486,80	2,19	1,0664	486,80	0,00	0,0000
			710,70	2,11	1,5000	710,80	0,00	0,0000

PLA s 3 hm. % Ag/ZnO			PLA s 5 hm. % Ag/ZnO		
$\dot{\gamma}$ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]	$\dot{\gamma}$ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]
5,64	0,00	0,0000	5,39	0,00	0,0000
7,61	0,00	0,0000	7,32	0,00	0,0000
11,08	0,00	0,0000	11,04	0,00	0,0000
15,98	0,00	0,0000	16,04	0,00	0,0000
23,38	0,00	0,0000	23,52	0,00	0,0000
34,56	0,00	0,0000	34,52	0,00	0,0000
50,08	0,00	0,0000	50,06	0,00	0,0000
73,37	0,00	0,0000	73,23	0,00	0,0000
107,10	0,00	0,0000	106,90	0,00	0,0000
156,50	0,00	0,0000	156,40	0,00	0,0000
228,30	0,00	0,0000	228,30	0,00	0,0000
333,60	0,00	0,0000	333,70	0,00	0,0000
486,80	0,00	0,0000	486,70	0,00	0,0000
710,50	0,00	0,0000	710,80	0,00	0,0000

PVC s 0 hm. % Ag/ZnO			PVC s 0,5 hm. % Ag/ZnO			PVC s 1 hm. % Ag/ZnO		
γ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]	γ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]	γ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]
5,28	1462,62	7,7227	5,42	2083,44	0,0053	5,35	2310,41	0,0054
7,36	1179,04	8,6777	7,63	1499,67	0,0074	7,70	1945,57	0,0076
11,13	897,69	9,9902	11,13	1157,25	0,0111	10,88	1560,70	0,0111
15,89	694,20	11,0332	15,93	906,37	0,0159	15,93	1150,62	0,0159
23,48	540,67	12,6973	23,56	674,35	0,0235	23,32	842,82	0,0236
34,45	434,52	14,9707	34,70	493,88	0,0345	34,44	656,80	0,0347
50,13	345,84	17,3379	50,22	394,11	0,0501	50,20	499,99	0,0502
73,42	276,52	20,3027	73,24	314,71	0,0734	73,12	386,81	0,0732
107,10	223,89	23,9766	107,10	247,96	0,1071	107,00	288,59	0,1071
156,40	179,28	28,0371	156,60	197,40	0,1564	156,50	216,00	0,1566
228,30	138,85	31,6992	228,20	151,52	0,2283	228,30	162,50	0,2282
333,50	107,30	35,7832	333,60	115,23	0,3335	333,40	122,29	0,3336
486,80	81,70	39,7676	486,90	86,16	0,4868	486,80	89,78	0,4869
710,90	59,87	42,5625	710,50	63,72	0,7109	710,60	65,11	0,7105

PVC s 3 hm. % Ag/ZnO			PVC s 5 hm. % Ag/ZnO		
γ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]	γ [s^{-1}]	η [Pa.s]	τ_{xy} [kPa]
5,42	1827,33	2,3104	5,51	2836,60	0,0054
7,77	1386,24	1,9456	7,25	2279,66	0,0078
11,11	1200,76	1,5607	11,11	1782,95	0,0111
16,09	936,33	1,1506	15,82	1357,98	0,0161
23,50	760,65	0,8428	23,47	1001,50	0,0235
34,38	635,49	0,6568	34,44	761,27	0,0344
50,04	518,80	0,5000	50,12	578,74	0,0500
73,08	417,22	0,3868	73,24	427,83	0,0731
107,10	314,66	0,2886	107,10	319,47	0,1071
156,50	231,56	0,2160	156,40	233,79	0,1565
228,20	171,68	0,1625	228,10	169,38	0,2282
333,70	126,25	0,1223	333,50	122,40	0,3337
486,90	95,07	0,0898	486,70	90,38	0,4869
710,70	67,55	0,0651	710,70	65,25	0,7107