

VŠB – Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní programy

Nanotechnologie

**Tenké polymerní filmy s antimikrobiálním nanoplňivem**  
**Thin polymeric films with antimicrobial nanofiller**

Student:

Michaela Ščuková

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Sylva Holešová, Ph.D.

VŠB - Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní programy

Centrum nanotechnologií

## Zadání bakalářské práce

Student: **Michaela Ščuková**

Studijní program: B3942 Nanotechnologie

Studijní obor: 3942R001 Nanotechnologie

Téma: **Tenké polymerní filmy s antimikrobiálním nanoplňivem**  
**Thin polymeric films with antimicrobial nanofiller**

Jazyk vypracování: čeština

Zásady pro vypracování:

Cílem bakalářské práce je syntéza a charakterizace tenkých polymerních filmů tvořených polymerní maticí polykaprolaktonu - PCL a antimikrobiálním nanoplňivem na bázi jílových minerálů s vázanou účinnou antimikrobiální složkou. U těchto filmů budou především posuzovány jejich strukturní charakteristiky a antimikrobiální vlastnosti. Experimentální část bude kromě testů antimikrobiální aktivity obsahovat také charakterizaci připravených nanoplňiv, stejně tak polymerních filmů pomocí základních technik (XRD, IR, SEM, DVC, a další). V teoretické části práce bude kladen důraz na literární rešerši dle přiložené osnovy.

Doporučený obsah teoretické a experimentální části bakalářské práce:

- Polymerní nanokompozity s antimikrobiálními vlastnostmi
- Polymerní nanokompozity modifikované jílovými minerály
- Struktura a klasifikace jílových minerálů
- Antimikrobiální nanokompozity jílových minerálů s vázanou účinnou složkou anorganické povahy (zejména ZnO)
- Antimikrobiální nanokompozity jílových minerálů s vázanou účinnou složkou organické povahy
- Experimentální příprava výše uvedených nanoplňiv a polymerních tenkých vrstev
- Charakterizace připravených materiálů pomocí výše uvedených technik
- Určení antimikrobiální aktivity připravených materiálů

Seznam doporučené odborné literatury:

SINHA RAY, Suprakas and Masami OKAMOTO. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. Progress in Polymer Science 2003, vol. 28, p. 1539-1641. ISSN 0079-6700. Dostupné z DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2003.08.002

WOODRUFF, Maria Ann and Dietmar Werner HUTMACHER. The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century. Progress in Polymer Science 2010, vol. 35, p. 1217–1256. ISSN 0079-6700. Dostupné z DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002

FELICE, Betiana, María Alejandra SÁNCHEZ, María Cecilia SOCCI, Luciano David SAPPÍA, María Inés GÓMEZ, María Karina CRUZ, Carmelo José FELICE, Mercè MARTÍD, María Isabel PIVIDORI, Gabriela SIMONELLI and Andrea Paola RODRÍGUEZ. Controlled degradability of PCL-ZnO nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering and their antibacterial activity. Materials Science & Engineering C 2018, vol. 93, p. 724–738. ISSN 0928-4931. Dostupné z DOI: 10.1016/j.msec.2018.08.009

SAJEENDRA BABU, Snigdha, Nandakumar KALARIKKAL, Sabu THOMAS, and Edayileveetil Krishnankutty RADHAKRISHNAN. Enhanced antimicrobial performance of cloisite 30B/poly ( $\epsilon$ -caprolactone) over cloisite 30B/poly (L-lactic acid) as evidenced by structural features. Applied Clay Science 2018, vol. 153, p. 198–204. ISSN 0169-1317. Dostupné z DOI: 10.1016/j.clay.2017.12.003

HOLEŠOVÁ, Sylva, Magda RELI, Marianna HUNDÁKOVÁ, Karla Čech BARABASZOVÁ, Michal RITZ, Eva PLEVOVÁ and Erich PAZDZIORA. Synthesis and Antimicrobial Activity of Polyethylene/Chlorhexidine/Vermiculite Nanocomposites. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 2019, vol. 19, p. 2925-2933. ISSN 1533-4880. Dostupné z DOI: 10.1166/jnn.2019.15850

VALÁŠKOVÁ, Marta. Vybrané vrstevnaté minerály a jejich modifikované nanomateriály. 2. vyd. Brno: CERM Akademické nakladatelství, s.r.o., 2014. 167 s. ISBN 978-80-7204-886-1.

Formální náležitosti a rozsah bakalářské práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Sylva Holešová, Ph.D.**

Konzultant bakalářské práce: Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.

Datum zadání: 02.12.2019

Datum odevzdání: 08.05.2020

---

prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.  
*vedoucí katedry*

---

Ing. Zdeňka Chmelíková, Ph.D.  
*prorektorka pro studium*

# Zásady pro vypracování bakalářské práce

## I.

Bakalářskou prací (dále jen BP) se ověřují vědomosti a dovednosti, které student získal během studia, a jeho schopnosti využívat je při řešení teoretických i praktických problémů.

## II.

Uspořádání bakalářské práce:

- |  |  |
|--|--|
| 1. Titulní list  | 6. Abstrakt + klíčová slova česky a anglicky |
| 2. Originál zadání BP  | 7. Obsah BP                                  |
| 3. Zásady pro vypracování BP                                       | 8. Textová část BP                           |
| 4. Prohlášení + místopřísežné prohlášení                           | 9. Seznam použité literatury                 |
| 5. Prohlášení zástupce spolupracující právnické nebo fyzické osoby | 10. Přílohy                                  |

ad 1) Titulní list je koncipován podle požadavků příslušné oborové katedry.

ad 2) Originál zadání BP obdrží student na oborové katedře.

ad 3) Tyto „Zásady pro vypracování bakalářské práce“ následují za originálem zadání BP.

ad 4) Prohlášení + místopřísežné prohlášení napsané na zvláštním listu a vlastnoručně podepsané studentem s uvedením data odevzdání BP.

ad 5) V případě, že BP vychází ze spolupráce s jinými právnickými a fyzickými osobami obsahuje citlivé údaje, je na zvláštním listě vloženo prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním BP.

ad 6) Abstrakt a klíčová slova jsou uvedena na zvláštním listu česky a anglicky v rozsahu max. 1 strany pro obě jazykové verze.

ad 7) Obsah BP se uvádí na zvláštním listu. Zahrnuje názvy všech číslovaných kapitol, podkapitol a statí textové části BP, odkaz na seznam příloh a seznam použité literatury s uvedením příslušné stránky. Předpokládá se desetinné číslování.

ad 8) Textová část BP obvykle zahrnuje:

- Úvod, obsahující charakteristiku řešeného problému a cíle jeho řešení v souladu se zadáním BP;
- Vlastní rozpracování BP (včetně obrázků, tabulek, výpočtů) s dílčími závěry vhodně členěné do kapitol a podkapitol podle povahy problému;
- Závěr, obsahující celkové hodnocení výsledků BP z hlediska stanoveného zadání.

BP bude zpracována v rozsahu min. 35 stran (včetně obsahu a seznamu použité literatury).

Text musí být napsán vhodným textovým editorem počítače po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4 při respektování následující doporučené úpravy - písmo Times New Roman 12b; řádkování 1,5; okraje – horní, dolní – 2,5 cm, levý – 3 cm, pravý 2 cm. Fotografie, schémata, obrázky, tabulky musí být očíslovány a musí na ně být v textu poukázáno. Budou zařazeny průběžně v textu, pouze je-li to nezbytně nutné, jako přílohy (viz ad 10).

Odborná terminologie práce musí odpovídat platným normám. Všechny výpočty musí být přehledně uspořádány tak, aby každý odborník byl schopen přezkoušet jejich správnost. Matematické vzorce musí být číslovány (v kulatých závorkách). U vzorců, údajů a hodnot převzatých z odborné literatury nebo z praxe musí být uveden jejich pramen - u literatury citován číselným odkazem (v hranatých závorkách) na seznam použité literatury. Nedostatky ve způsobu vyjadřování, nedostatky gramatické, neopravené chyby v textu mohou snížit klasifikaci práce.

ad 9) BP bude obsahovat alespoň 10 literárních odkazů, z toho nejméně 3 v některém ze světových jazyků. Seznam použité literatury se píše na zvláštním listě. Citaci literatury je nutno uvádět důsledně v souladu s ČSN ISO 690. Na práce uvedené v seznamu použité literatury musí být uveden odkaz v textu BP.

ad 10) Přílohy budou obsahovat jen ty části (speciální výpočty, zdrojové texty programů aj.), které nelze vhodně včlenit do vlastní textové části, např. z důvodu ztráty srozumitelnosti.

### III.

Bakalářskou práci student odevzdá ve dvou knihařsky svázaných vyhotoveních, pokud katedra garantující studijní obor neurčí jiný počet. Vnější desky budou označeny takto:

nahoře: *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*

uprostřed: *BAKALÁŘSKÁ PRÁCE*

dole: *Rok* *Jméno a příjmení*

Kromě těchto dvou knihařsky svázaných výtisků odevzdá student kompletní práci také v elektronické formě do IS EDISON. Práce vložená v elektronické formě do IS EDISON se musí zcela shodovat s prací odevzdanou v tištěné formě. Po vložení BP do IS EDISON bude provedena její kontrola na plagiátorství.

### IV.

Nesplnění výše uvedených zásad pro vypracování bakalářské práce může být důvodem nepřijetí práce k obhajobě. O nepřijetí práce k obhajobě rozhoduje v tomto případě garant příslušného studijního oboru. Tyto zásady jsou závazné pro studenty bakalářského studijního programu Nanotechnologie Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava od akademického roku 2019/2020.

Ostrava 25. 11. 2019

Ing. Zdeňka Chmelíková, Ph.D.  
prorektorka pro studium  
VŠB-TU Ostrava

### **Místopřísežné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a že všechny použité podklady a literární zdroje jsem správně a úplně citovala.

V Ostravě dne 08. 05. 2020

..... Podpis autora

## Prohlášení

Prohlašuji, že

- jsem byla seznámena s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména § 35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního (§ 60 – školní dílo);
- beru na vědomí, že Vysoká škola Báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB – TUO) má právo nevydělečně ke své vnitřní potřebě bakalářskou práci užít (§ 35 odst. 3);
- souhlasím s tím, že bakalářská práce bude archivována v elektronické formě v databázi Ústřední knihovny VŠB – TUO a jeden výtisk bude uložen u vedoucí bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o bakalářské práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB – TUO;
- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- bylo sjednáno, že užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, který byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do její skutečné výše);
- beru na vědomí, že odevzdáním své bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (Zákon o vysokých školách) bez ohledu na výsledek obhajoby.

V Ostravě dne 08. 05. 2020

.....

Podpis (jméno a příjmení studenta)

## **Poděkování**

Velmi ráda bych touto formou poděkovala vedoucí bakalářské práce Ing. Sylvě Holešové, Ph.D. za odborné vedení, čas, rady a především trpělivost při vypracování bakalářské práce.



## Abstrakt

Tato bakalářská práce se věnuje přípravě a charakterizaci tenkých polymerních filmů s antimikrobiálním nanoplňivem, kdy účinnou organickou složkou je antimykotická sloučenina ciklopiroxolamin. Za účelem možných synergických účinků byly také připraveny vzorky v kombinaci s anorganickou antimikrobiální účinnou složkou oxidem zinečnatým. Jako polymerní matrice byl použit biodegradabilní polymer polykaprolakton a nosičem antimikrobiálních složek byl přírodní jílový minerál vermikulit. Struktura připravených vzorků byla charakterizována pomocí rentgenové difrakční analýzy (RTG), infračervené spektroskopie (IČ) a skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). Dále byl u práškových vzorků stanoven obsah organického uhlíku a byla měřena distribuce velikosti částic (DVC) a  $\zeta$ -potenciál. Antimikrobiální účinnost jak práškových nanoplňiv, tak výsledných polymerních filmů byla testována proti bakteriálním kmenům *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* a dále proti kvasince *Candida albicans*. Testované materiály se jeví být aktivní především v delších časových intervalech.

*Klíčová slova:* vermikulit, oxid zinečnatý, ciklopiroxolamin, polykaprolakton, antimikrobiální účinek

Bibliografická citace:

ŠČUKOVÁ, Michaela. *Tenké polymerní filmy s antimikrobiálním nanoplňivem*. Ostrava, 2020. 60 s. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Ing. Sylva Holešová, Ph.D.

## Abstract

This bachelor thesis deals with the preparation and characterization of thin polymer films with antimicrobial nanofiller, where the active organic antimicrobial component is antifungal ciclopiroxolamine. For possible synergistic effects, sample in combination with inorganic antimicrobial active ingredient zinc oxide was also prepared. The biodegradable polymer polycaprolactone was used as the polymer matrix and the carrier of antimicrobial components was the natural clay mineral vermiculite. The structure of the prepared samples was characterized by X-ray diffraction (X-ray) analysis, infrared spectroscopy (IR) and scanning electron microscopy (SEM). Furthermore, the organic carbon content was determined for powder samples and the particle size distribution (PSD) and  $\zeta$ -potential were also measured. The antimicrobial activity of both powder nanofillers and the resulting polymer films was tested against bacterial strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and against the yeast *Candida albicans*. The tested materials seem to be active mainly in longer time intervals.

*Keywords:* vermiculite, zinc oxide, ciclopiroxolamine, polycaprolactone, antimicrobial effect

Reference format:

ŠČUKOVÁ, Michaela. *Thin polymeric films with antimicrobial nanofiller*. Ostrava, 2020. 60 s. Bachelor thesis. Vysoká škola báňská – Technical university of Ostrava. Supervisor Ing. Sylva Holešová, Ph.D.

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>Teoretická část</b> .....	<b>15</b>
2.1	Polymerní materiály s antimikrobiální aktivitou .....	15
2.2	Nanokompozity polymer/jílový minerál .....	15
2.2.1	<i>Jíl a jílové minerály</i> .....	17
2.2.2	<i>Struktura a klasifikace vrstevnatých fylosilikátů</i> .....	17
2.3	Vermikulit - jílová složka/nosič připravených tenkých filmů .....	21
2.4	Antimikrobiální nanokompozity polymer/jílový minerál .....	22
2.5	Polykaprolakton – polymerní matrice připravených tenkých filmů .....	29
2.6	ZnO – anorganická antimikrobiální složka připravených tenkých filmů .....	30
2.7	Ciklopiroxolamin – organická antimikrobiální složka připravených tenkých filmů .....	30
<b>3</b>	<b>Experimentální část</b> .....	<b>32</b>
3.1	Příprava antimikrobiálních nanoplňiv .....	32
3.1.1	<i>Použité chemikálie</i> .....	32
3.1.2	<i>Příprava vermikulitu s antimikrobiální anorganickou složkou ZnO</i> .....	32
3.1.3	<i>Interkalace účinné antimikrobiální organické složky CPX</i> .....	32
3.1.4	<i>Příprava tenkých nanokompozitních polymerních filmů</i> .....	33
3.2	Metody charakterizace a jejich nástroje .....	33
3.2.1	<i>Rentgenová difrakční analýza</i> .....	33
3.2.2	<i>Infračervená spektroskopie</i> .....	34
3.2.3	<i>Skenovací elektronová mikroskopie</i> .....	34
3.2.4	<i>Distribuce velikosti částic a <math>\zeta</math>-potenciál</i> .....	34
3.2.5	<i>Stanovení obsahu organického uhlíku</i> .....	34
3.2.6	<i>Antimikrobiální testy</i> .....	35
3.2.7	<i>Pracovní postup antimikrobiálních testů práškových vzorků</i> .....	35

3.2.8	<i>Pracovní postup antimikrobiálních testů tenkých polymerních filmů</i> .....	35
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskuze</b> .....	<b>37</b>
4.1	Vyhodnocení struktury antibakteriálních kompozitů .....	37
4.1.1	<i>Rentgenová difrakční analýza</i> .....	37
4.1.2	<i>Infračervená spektroskopie</i> .....	40
4.1.3	<i>Skenovací elektronová mikroskopie</i> .....	45
4.1.4	<i>Distribuce velikosti částic a <math>\zeta</math>-potenciál</i> .....	47
4.1.5	<i>Stanovení obsahu organického uhlíku</i> .....	49
4.2	Zhodnocení antimikrobiálních testů .....	49
<b>5</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>53</b>
<b>6</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>55</b>

## Seznam zkratek

CA	chlorhexidin diacetát
C30B	cloisite 30B
CFU	počet kolonií
CPX	ciklopiroxolamin
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
DTA	diferenční termická analýza
DVC	distribuce velikosti částic
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
IČ	infračervená spektroskopie
LDPE	nízkohustotní polyethylen
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MMT	montmorillonit
OMMT	organický montmorillonit
PCL	polykaprolakton
PDMS	polydimethyloxan
PLA	polymléčná kyselina
PU	polyurethan
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
TGA	termogravimetrická analýza
VER	vermikulit
WAXD	širokoúhlá rentgenová difrakce
XRD	Rentgenová difrakční analýza

# 1 Úvod

Polymerní nanokompozity s antimikrobiálními vlastnostmi jsou v současné době materiály využívané v mnoha vědních disciplínách, přičemž jednou z majoritních oblastí je medicína. Užití těchto materiálů je možné jak při ochraně povrchů proti účinkům mikrobů, tak při přípravě zdravotnického materiálu a v neposlední řadě pro cílenou dopravu a uvolňování účinných léčivých složek z vhodných lékových forem, třeba právě na bázi polymerních nanokompozitů. Z vyčtených možností aplikace těchto nanokompozitních materiálů je zřejmé, že kritéria pro jejich přípravu a vlastnosti jako netoxicity, stabilita a další, jsou vysoká.

V současné době existuje řada studií, jež se zabývají přípravou a studiem vlastností antimikrobiálních nanokompozitů s použitím různých typů polymerních matric a v závislosti na požadovaných vlastnostech také v kombinaci s různými fylosilikátovými plnivy a účinnými antimikrobiálními složkami. Požadavky u těchto materiálů jsou kladeny především na stabilitu, biodegradabilitu a antimikrobiální vlastnosti, přičemž závisí nejen na poměru plniva s účinnou antimikrobiální složkou, ale také na vhodné kombinaci typu polymeru, jílového minerálu a účinné složky.

V této bakalářské práci se zabývám přípravou a charakterizací tenkých polymerních antimikrobiálních filmů s nanoplňivem, tvořených polymerní maticí polykaprolaktonu, což je netoxický biodegradabilní polymer. Jako antimikrobiální nanoplňivo jsem použila jílový minerál vermikulit, jež je díky svému vysokému zápornému náboji vrstev schopen dobře vázat účinnou antimikrobiální složku. Za účelem možných synergických účinků jsem také připravila plňivo vermikulitu modifikovaného oxidem zinečnatým jako anorganickou účinnou složku, pro které byly potvrzeny antimikrobiální účinky, přičemž v obou případech jsem jako účinnou organickou antimikrobiální složku užila ciklopiroxolamin, jež se řadí mezi skupinu antimykotických účinných látek. Tyto nanokompozitní polymerní filmy mohou nalézt využití jako zdravotnický materiál s postupným uvolňováním účinné látky na požadovaném místě účinku či jako antimikrobiální obalový materiál.

## **2 Teoretická část**

### **2.1 Polymerní materiály s antimikrobiální aktivitou**

Infekce zapříčiněné patogenními organismy způsobují zásadní problém v mnoha oblastech, zejména pak co se týče zdravotnictví. Konkrétně se jedná o zdravotnická zařízení či přístroje, nemocniční prostředí jako jsou povrchy, nábytek, dentální i jiná zdravotnická zařízení a dále potom celý proces týkající se podávání a užívání léčiv. Tento problém vzniká také v oborech hygienických aplikací, systémech čištění vod, textilním průmyslu, balení a skladování potravin a podobně. Řešením pro zmírnění či eradikaci těchto infekcí je aplikace silných a specifických antimikrobiálních systémů. Z tohoto důvodu roste zájem o polymerní materiály s antimikrobiálními vlastnostmi jak z akademického, tak i z průmyslového hlediska [1].

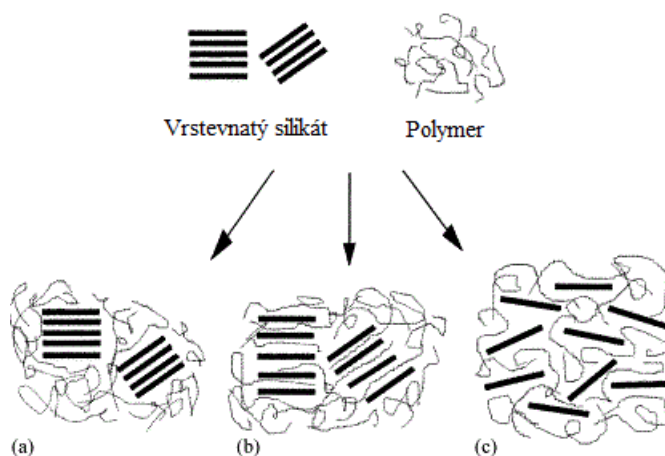
Polymery slouží především jako matrice pro antimikrobiální látky. Hydrofilní vlastnosti polymeru nebo jeho molekulová hmotnost podstatně ovlivňují konečnou antimikrobiální aktivitu celého systému [1].

### **2.2 Nanokompozity polymer/jílový minerál**

Nanokompozity obecně můžeme definovat jako kompozitní materiály s alespoň jednou složkou v rozsahu nanometrů. Obvykle mají nanokompozity lepší vlastnosti než jednotlivé složky, nebo se také stávají multifunkčními materiály s požadovanými vlastnostmi. Nanokompozity často obsahují organickou matrici, jež může být tvořena syntetickým či přírodním polymerem, v níž jsou dispergovány anorganické nanočástice, jakožto konvenční plnivo, mezi něž lze řadit také vlákna a deskovité částice. U takových polymerních nanokompozitů jsou zaznamenány zlepšené mechanické, magnetické, optické, tepelné a další vlastnosti, a to díky kombinaci vhodných vlastností anorganických složek, jako jsou velká povrchová plocha, tepelná stabilita, vysoká povrchová reaktivita, vysoké mechanické síly spolu s vlastnostmi polymeru, jako jsou dobrá zpracovatelnost, elasticita, flexibilita a podobně. Aplikace nanokompozitů s takto charakteristickými vlastnostmi vede k pokroku ve vývoji nových funkčních materiálů. Pro přípravu polymerních nanokompozitů s požadovanými a vylepšenými strukturami, vlastnostmi a potenciálními aplikacemi se používá řada přístupů, přičemž způsoby přípravy polymerních nanokompozitů, jež můžeme nejčastěji najít v literatuře, jsou například modifikace povrchu roubovaného polymeru, spincoating, depozice na základě chemických interakcí (chemická depozice par), zesílení a další [2, 3].

Nejčastěji zkoumanými nanokompozitními prekurzory a plnivými jsou vrstevnaté jílové minerály, jejichž struktura je tvořena vrstvami o tloušťce jednoho až několika nanometrů. Jejich hojné využití také souvisí s jejich relativně snadnou dostupností, a také z toho důvodu, že interkalační chemie je studována již řadu let [3].

Rozeznáváme tři typy kompozitů polymer/jílový minerál, přičemž za nanokompozity lze považovat druhý a třetí uvedený typ. Jsou to tedy **konvenční mikrokompozity**, u kterých jsou jemně dispergovány mikrokrytalické částice jílových minerálů uvnitř polymerní matrice (Obr. 1a), dále **interkalované nanokompozity**, kde jsou některé polymerní řetězce schopné se interkalovat mezi jílové vrstvy, kdy je ještě stále zachováno kladení jednotlivých vrstev podél osy c (Obr. 1b). Tyto lze také nazývat delaminovanými nanokompozity, jelikož pojem delaminace se užívá k označení oddělení mezi rovinnými plochami dvou sousedních vrstev. Třetím typem jsou **exfoliované nanokompozity**, u kterých již vrstvy nejsou uspořádány, ale jsou odděleny a homogenně rozptýleny v matrici (Obr. 1c). V mnoha případech dochází k získání směsi interkalované a exfoliované struktury. Nejlepší výsledné vlastnosti jsou dosaženy, pokud jsou jílové vrstvy dobře dispergovány [4]. Již malá množství, obvykle méně než 5 hm%, jílových minerálů dispergovaných v polymeru, mohou dramaticky zlepšit některé z jeho vlastností. Zejména pak mezifázová interakce mezi vrstvou jílu a organickým polymerem má vliv nejen na pevnost. Z toho vyplývá, že povaha a struktura jílového minerálu ovlivňuje vlastnosti kompozitu [5].



**Obr. 1.** Typy kompozitů polymer/jílový minerál (a) konvenční mikrokompozity (b) interkalované nanokompozity (c) exfoliované nanokompozity [6].



### 2.2.1 Jíl a jílové minerály

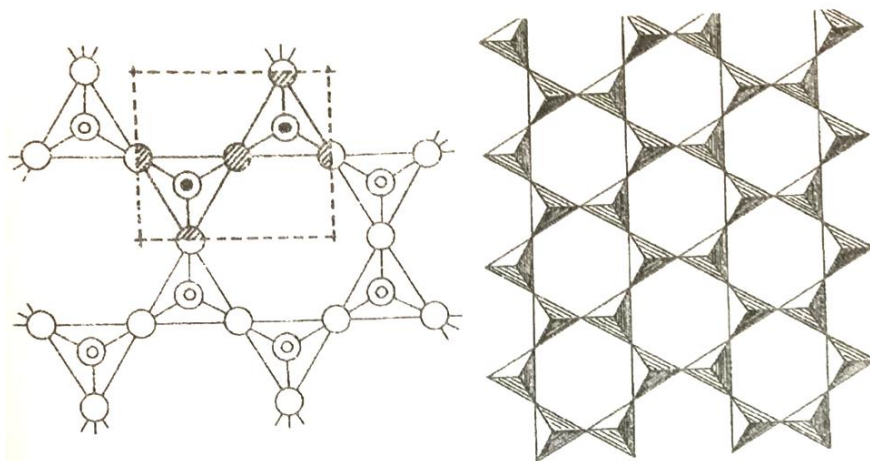
Jíl je charakterizován jako směsný přírodní materiál, vznikající procesy zvětrávání a sedimentací, přičemž je složen, ze směsi jílových minerálů s příměsí jiných minerálů, jako jsou karbonáty, živce, zeolity, krystalické i nekrystalické modifikace  $\text{SiO}_2$ , oxidy a hydroxidy železa a hliníku, dále mohou obsahovat organickou hmotu [7, 8].

Mezi jílové minerály jsou řazeny všechny fylosilikáty, tj. silikáty vrstevnaté struktury, minerály skupiny alofanu, některé hydroxidy, oxy-hydroxidy a oxidy, díky kterým mohou mít jíly plastický charakter a po vysušení či vypálení se vytvrzují. Vyčtené skupiny jsou však na rozdíl od fylosilikátů obvykle minoritními složkami jílu. Dle dohody nomenklaturní komise AIPEA (Association Internationale Pour l'Étude des Argiles) a CMS (Clay Minerals Society) můžeme minerály přítomné v jílech rozdělit do dvou skupin na jílové minerály a doprovodné minerály, jež mohou být v jílech obsaženy, ale neřadíme je k zmíněným jílovým minerálům [8]. Smíšené vrstevnaté struktury jílových minerálů, často se vyskytující v přírodě, jsou označovány jako interstratifikované vrstevnaté struktury [7].

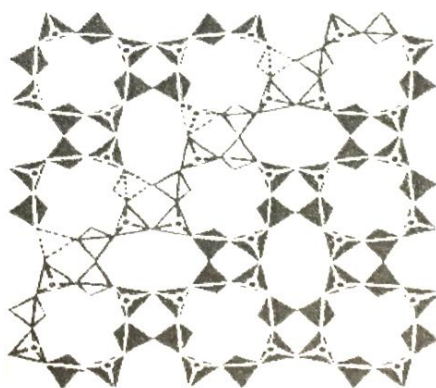
Díky své vrstevnaté struktuře jsou jak přírodní, tak modifikované jílové minerály užívány jako sorbenty například pro čištění odpadních plynů, vod, kalů a také k likvidaci radioaktivních odpadů. Oproti přírodním formám jílových minerálů mají modifikované lepší vlastnosti, jako je sorpční kapacita. Modifikované formy jílových minerálů jsou takové, které jsou buď převedeny na monoionní formu nebo jsou do jejich mezivrstevního prostoru interkalovány anorganické či organické molekuly. Při interkalaci molekul, dochází ke zvětšení mezivrstevního prostoru a nárůstu specifického povrchu [9].

### 2.2.2 Struktura a klasifikace vrstevnatých fylosilikátů

Silikáty jsou nejvýznamnější skupinou minerálů zemské kůry, jejich struktura je tvořena tetraedry  $[\text{SiO}_4]^{4-}$ , které jsou základní strukturální stavební jednotkou silikátů a kationty, jež kompenzují jejich záporný náboj, například  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ , přičemž vyrovnání záporného náboje nastává také vzájemným propojením uvedeným tetraedrů. Struktura *fylosilikátů*, ke kterým se řadí silikáty s nekonečnými dvojrozměrnými sítěmi tetraedrů, které mohou být jednoduché a dvojné, je znázorněna na obrázku 2 a 3. U dvojrozměrných sítí se tetraedry spojují do šestičlenných prstenců [7].



**Obr. 2.** Jednoduché nerozvětvené sítě tetraedrů [7].



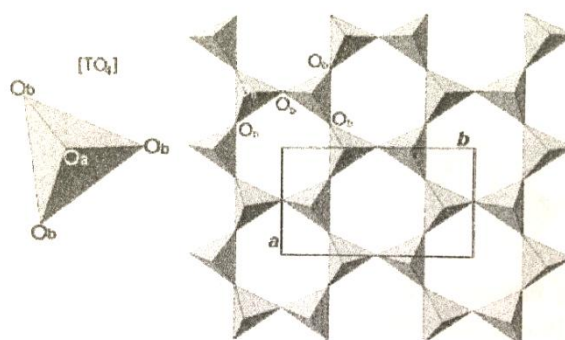
**Obr. 3.** Dvojité sítě tetraedrů [7].

Kromě tetraedrů  $[\text{TO}_4]^-$  jsou základní koordinační polyedry, neboli stavebními prvky, také oktaedry  $[\text{MA}_6]^-$ . T a M uvedené v hranatých závorkách reprezentují centrální kationty, které mohou být u tetraedrů nejčastěji  $\text{Si}^{4+}$ , ale také  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ge}^{4+}$ , v případě oktaedrů pak například  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ .

### ***Tetraedrická síť***

Spojením vrcholů bazálních atomů kyslíku tetraedrů vzniká dvojrozměrně periodická síť tetraedrů, kde čtvrtý atom kyslíku, značen jako vrcholový či apikální, směřuje k libovolné straně kolmo na rovinu sítě tetraedrů. V ideálním případě má tetraedrická síť hexagonální symetrii. Síť fylosilikátů jsou tvořeny tetraedry  $[\text{SiO}_4]^{4-}$ ,  $[\text{AlO}_4]^{5-}$  nebo  $[\text{FeO}_4]^{5-}$ . Chemické složení je obvykle vymezeno *základní ortogonální buňkou* s obecným vzorcem  $\text{T}_4\text{O}_{10}$ , nebo *základní hexagonální buňkou*  $\text{T}_2\text{O}_5$ . U substitucí centrálního kationtu v tetraedrech existuje

uspořádání v malých doménách struktury, což se projevuje tak, že pravděpodobnost výskytu centrálního atomu Si, Al, či Fe je pro každý ze dvou sousedících tetraedru stejná. Experimentálně bylo zjištěno, že v určitých strukturách není tetraedrická síť hexagonální, ale z důsledku rotace tetraedrů dochází k desymetrizaci či ditrigonalizaci a tedy k deformaci celé sítě [7, 8]. Schematické vyobrazení tetraedrická sítě je uvedeno na obrázku 4.

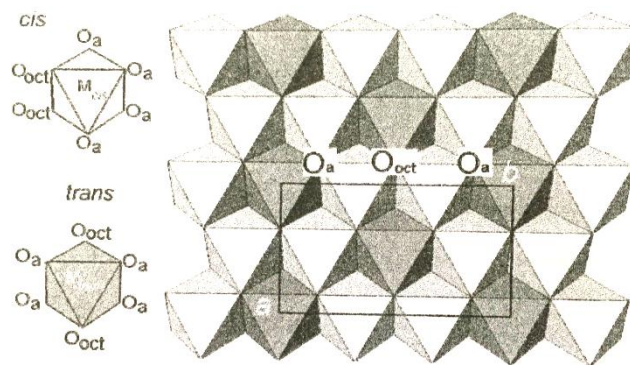


**Obr. 4.** Tetraedrická síť [7].

Samotná tetraedrická síť ve struktuře fylosilikátů neexistuje, je tedy vždy těsně spojena s oktaedrickou sítí, kdy spojení je realizováno přes rovinu vrcholových tetraedrických kyslíků. Tento fakt se projevuje ve formě ditrigonalizace tetraedrická sítě.

### ***Oktaedrická síť***

Oktaedrickou sítí tvoří dvě těsně uspořádané roviny aniontů  $O^{2-}$  a  $OH^-$ , centrální kationové pozice jsou nejčastěji obsazeny kationty  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  a dalšími již méně častými kationty jako jsou  $Li^+$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $V^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Ti^{4+}$ . Hranami a vrcholy jsou pak mezi sebou jednotlivé oktaedry spojeny. Vzdálenost mezi dolní a horní rovinou aniontů udává výšku oktaedrické sítě, přičemž anionty jsou v síti buď *cis* nebo *trans* orientovány. Nejmenší strukturální jednotku tvoří tři oktaedrické pozice [7]. Vyobrazení struktury oktaedrů a oktaedrické sítě je uvedeno na obrázku 5.



**Obr. 5.** Oktaedry a oktaedrická síť [7].

U fylosilikátů můžeme podle typu oktaedrické sítě rozlišit *trioctaedrické vrstevnaté silikáty*, jež mají všechny tři oktaedrické pozice obsazeny kationty, zatímco u *dioktaedrických vrstevnatých silikátů* jsou dvě ze tří pozic obsazeny kationty a třetí je vakantní, další možnosti jsou pak *monooktaedrické sítě*, u kterých jsou dvě pozice vakantní a třetí je obsazena kationty. Dle způsobů obsazení centrálních pozic pak lze oktaedrické sítě rozdělit do tří skupin, *homooktaedrické* (v každé trojici sousedících oktaedrů jsou obsazeny centrální pozice), *mesooktaedrické* (v každé trojici sousedících oktaedrů jsou obsazeny dvě centrální pozice stejným způsobem, třetí jiným, a to uspořádaně v rámci celé sítě) a *heterooktaedrické* (v každé trojici sousedících oktaedrů jsou centrální pozice obsazeny různým způsobem, uspořádaně v celé síti). Jak již bylo zmíněno u tetraedrických sítí, tak i u oktaedrických sítí dochází vlivem nestejných rozměrů tetraedrické a oktaedrické sítě k jejich deformacím [7].

### ***Vrstevnaté struktury***

Jak bylo popsáno výše, fylosilikáty jsou charakteristické svou vrstevnatou strukturou, kdy struktury vrstev fylosilikátů můžeme rozdělit do dvou základních poměrů vrstev tetraedrických a oktaedrických sítí, a to 1:1 a 2:1 [7].

V případě struktury s vrstvami 1:1 je síť oktaedrů spojená sítí tetraedrů, kdy atomy vrcholových kyslíků jsou společné pro obě sítě. U stran tetraedrů je povrch vrstev tvořen bazálními atomy kyslíku, tzv. *siloxanový povrch*. Povrch stran oktaedrů je tvořen hydroxylovými skupinami OH<sup>-</sup> skupinami, tzv. *aluminiový povrch* [7].

Struktura s vrstvami 2:1 je tvořena dvěma tetraedrálními sítěmi opačné polarity, přičemž tyto sítě jsou spojeny jednou oktaedrální sítí, která je navázána mezi sítěmi tetraedrů. Povrch tetraedrických sítí je tvořen bazálními kyslíky, je tedy *siloxanový*.

### ***Mezivrství a kationtově-výměnná kapacita***

Jako mezivrství je označován prostor mezi dvěma vrstvami, přičemž tento prostor je u mezivrstevních materiálů popsán jako soubor iontů, atomů či jejich hydratovaných forem, koordinačních polyedrů či jejich sítí umístěných v mezivrství. Jak již bylo zmíněno výše, mezivrství spolu s jednou vrstvou, jež je popsána jako spojení sítě tetraedrů se sítěmi oktaedrů sdílením aniontů, vytváří základní strukturní jednotku fylosilikátů, která představuje jeho úplné složení [8].

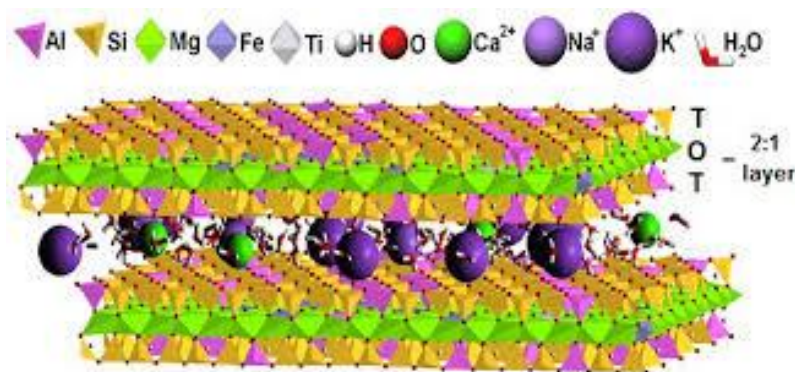
Ionty obsažené v mezivrství mají schopnost výměny za jiné ionty, tzv. iontová výměna, nebo je možné do jeho prostoru interkalovat jiné organické či anorganické molekuly a to v závislosti na schopnosti iontové výměny u daných fylosilikátů. Může tedy docházet jak k úplné, tak pouze k částečné výměně iontů, což závisí na druhu kationtu. Při výměně kationtů jsou také směrodatné přitažlivé síly kationtu a strukturní vrstvy, přičemž u dvojmocných kationtů jsou tyto síly menší než u jednomocných, u trojmocných by tedy teoreticky měla interkalace probíhat ještě ochotněji [10].

### **2.3 Vermikulit - jílová složka/nosič připravených tenkých filmů**

Chemické složení vermikulitu může být znázorněno následujícím vzorcem:



,kde prvky v první závorce představují ionto-výměnnou vrstvu, prvky ve druhé závorce představují kationy oktaedrické vrstvy a prvky uvnitř třetí závorky obsahuje tetraedrická vrstva. V přírodě se velmi často vyskytují jako šupinkové agregáty, někdy se lze setkat i s velkými a poměrně dobře vyvinutými tabulkovitými krystaly, přičemž jejich krystalová struktura je tvořena 2:1 vrstvami, kde mezivrstevní prostor je obsazen hydratovanými výměnnými kationty. Vermikulity mohou mít jak dioktaedrický tak trioktaedrický charakter. Jako dominantní oktaedrický kationt vystupuje Mg. Molekuly vody a výměnné mezivrstevní kationty  $M_i$  mají v mezivrství definované polohy a tvoří jakousi obdobu mezivrstevní oktaedrické sítě chloritů (Obr. 6). U přírodních vermikulitů je nejčastějším mezivrstevním výměnným kationtem  $Mg^{2+}$ , jehož obsah se obvykle pohybuje mezi 0,2 až 0,5 (procentuálně tedy 20 až 50 %), ale u některých vzorků byly zjištěny také zvýšené obsahy  $Ca^{2+}$  a  $Na^+$  [8, 11].



**Obr. 6.** Model struktury vermikulitu [12].

Vlastností vermikulitu je, že je schopen výměny kationtů a organických látek v mezivrstevním prostoru. Při zahřátí se šupinky vermikulitu od sebe vzdalují a dochází ke zvětšení objemu, při zahřátí asi na 1100 °C expanduje na 6–20 násobek objemu. Tepelně expandovaný má mnoho účelů využití, například jako plnivo snižující hustotu v plastech, zvukově izolační a termoizolační materiál, mazadlo, plnivo a jako nosič chemikálií. Neexpandovaný se využívá k zachycování radioaktivního a toxického odpadu a dále v bytových přepážkách snižuje nebezpečí požáru. Modifikované vermikulity jsou tedy velmi slibnými materiály pro potenciální použití v různých katalytických procesech [13-15].

Tvrdość vermikulitu je 1–1,5; hustota 2,3–2,7 g·cm<sup>-3</sup> a dále má dokonalou štěpnost s nepravidelným lomem. Maximální teplota použití 1100 °C, je nerozpustný ve vodě a organických rozpouštědlech a absorpce vody je vysoká až 240 % [13].

#### **2.4 Antimikrobiální nanokompozity polymer/jílový minerál**

Velkou skupinu nanokompozitů polymer/jílový minerál tvoří ty, jež vykazují antimikrobiální chování. Antimikrobiální vlastnosti nanokompozitů polymer/jílový minerál, závisí nejen na užití vhodného plniva jako nosiče antimikrobiálních účinných složek, ale také na použití antimikrobiálních polymerních materiálů jako matrice, což zvyšuje účinnost antimikrobiálních látek. K tomu je třeba také dodat, že polymery jako jsou například polylaktid, poly(glykolidy), polyvinylalkohol, polyethylenglykol a polykaprolakton mají pro účely této aplikace žádoucí vlastnosti, jako je biodegradabilita a biokompatibilita. Celkově má potom na účinnost antimikrobiálního činidla vliv také čas, teplota, pH a koncentrace. Vzhledem k tomu, že jsou jílové minerály schopny absorbovat antimikrobiální látky a nanokompozity polymer/jílový minerál vykazují lepší bariérové vlastnosti, mechanickou pevnost a tepelnou odolnost než tradiční polymery, stává se vývoj těchto nanokompozitů

velmi slibným směrem materiálového výzkumu. Především pak organojílové polymerní nanokompozity vykazují značné zlepšení vlastností oproti původnímu polymeru či konvenčním mikro a makro kompozitům [16, 17].

Při užití nanokompozitů je interakce efektivnější a to proto, že mnoho biologických struktur má také vlastnosti odpovídající materiálům o nanorozměrech [17].

Existuje řada prací, v nichž se autoři zabývají přípravou a popisem antimikrobiálních vlastností různých nanokompozitů polymer/jílový minerál. Mezi prozatím nejvíce prostudované polymery, do kterých bylo jako plnivo použito modifikovaný jílový minerál a kdy výsledný nanokompozit vykazoval antimikrobiální chování, patří bezesporu polyethylen.

V práci Joshi a kol. [18] zabývající se antimikrobiálními vlastnostmi nanokompozitních vláken na bázi vysokohustotního polyethylenu (HDPE) a montmorillonitu (MMT) modifikovaného třemi typy kovových nanočástic konkrétně stříbra, mědi a oxidu zinečnatého, bylo porovnáno jejich antimikrobiální chování. Nanokompozity byly připravovány technikou míchání taveniny a zvláknováním za přítomnosti kompatibilizátoru, přičemž koncentrace modifikovaného montmorillonitu byla 1, 3 a 5 hm. %. U připravených nanokompozitů HDPE/modifikovaný-MMT byl zaznamenán pokles bakteriálních kolonií *E. coli* a *S. aureus* a tyto vykazovaly výrazné antimikrobiální chování v závislosti na koncentraci, přičemž typ HDPE/Ag-MMT vykazoval nejvyšší aktivitu (> 99 %). Při porovnání antimikrobiální aktivity bylo určeno pořadí HDPE/Ag-MMT > HDPE/Cu-MMT > HDPE/ZnO-MMT [18]. Tato práce navazuje na předchozí práci autorů [19], jež se zabývala antimikrobiálním chováním čistě nanokompozitů HDPE/ZnO-MMT s cílem připravit netoxickou náhradu antimikrobiálních látek na bázi stříbra. Byly připraveny dva typy interkalátů MMT, výměnnou reakcí Na-MMT s ionty  $Zn^{2+}$  pomocí octanu zinečnatého byl připraven Zn-MMT a redukcí nanočástic ZnO o středním průměru 20 nm na povrchu MMT s NaOH byl připraven ZnO-MMT. Tato plniva byla zamíchána v různých koncentracích do HDPE, kdy pomocí TEM a WAXD analýz bylo zjištěno, že HDPE nanokompozity vykazovaly při nižších koncentracích plniva směs interkalované a exfoliované mikrostruktury, zatímco při vyšších koncentracích převažovala interkalovaná mikrostruktura s občasnou tvorbou taktoidů. Dále zjistili, že nanokompozity HDPE vykazovaly výraznou antimikrobiální aktivitu proti bakteriím *E. coli*, *S. aureus* a houbám *A. niger*. Antimikrobiální chování se zlepšovalo se zvyšujícím se množstvím interkalátů Zn-MMT. Z důvodu stále se zvyšujícího zájmu o nano-toxikologii nanočástic byly takto připravené nanokompozity hodnoceny proti lidským erytrocytům a dermálním

fibroblastovým buňkám a porovnány s kompozitem HDPE/ZnO bez přítomnosti MMT. Zatímco u nanokompozitů HDPE/Zn-MMT a HDPE/ZnO-MMT byla prokázána jejich netoxická povaha, HDPE/ZnO vykazoval mírné hemotoxické a cytotoxické chování, což potvrzuje význam jílové struktury MMT při výrobě těchto nanokompozitů. Ve výsledku se dá říci, že tyto bioaktivní HDPE nanokompozity jsou bezpečné, nákladově efektivní a vysoce účinné, a mohou tak proniknout na trh biomedicínských plastů pro aplikace jako jsou katétry, hadičky, lékařské obaly a další [19].

Jednou z oblastí pro využití antimikrobiálních polymerních nanokompozitů jsou také obalové materiály v potravinářském průmyslu.

Tým chilských vědců se zabýval antimikrobiální účinností nanokompozitů na bázi nízkohustotního polyethylenu (LDPE) a  $\text{Cu}^{2+}$ MMT oproti bakteriálnímu kmeni *E. coli*, kdy 4 hm. % tohoto plniva způsobily 94 % redukci bakterií [20]. V této práci byly v extrudéru, pomocí techniky míchání v tavenině připraveny nanokompozity  $\text{Cu}^{2+}$ MMT/LDPE s různými koncentracemi  $\text{Cu}^{2+}$ MMT. Z měření metodami DSC a TGA bylo zjištěno, že oproti čistému LDPE se teplota rozkladu nanokompozitů LDPE/ $\text{Cu}^{2+}$ MMT zvyšuje se zvyšujícím se množstvím modifikovaného jílu, který vytváří lepší tepelnou bariéru. Z měření pomocí XRD bylo zjištěno, že vrstvy MMT byly interkalovány. Pozorováním SEM snímků byla v těchto nanokompozitech až na výjimky, jež měly vlivem slabé interakce mezi LDPE a  $\text{Cu}^{2+}$ MMT, tendenci tvořit aglomeráty, zjištěna rovnoměrná distribuce nanočástic. Přítomnost malého množství jílu způsobuje nižší modul pevnosti v tahu a délkového prodloužení při přetržení oproti čistému LDPE, který je více křehký. Ve výsledku lze říci, že by tento nanokompozit mohl splnit požadavky na mechanické vlastnosti potravinářských obalů [20].

Studiem polyethylenových filmů pro obalové aplikace potažených tenkou antimikrobiální vrstvou tvořenou halloysitovými nanotrubičkami s obsahem účinné látky karvakrolu, jež je aktivní složkou tymiánového oleje, se zabývali Unal a kol. [21]. Antimikrobiální povlaky v tenkých vrstvách o tloušťce 225 nm výrazně redukovaly životaschopnost potravinového patogenu *Aeromonas hydrophilia* a to až o 85 % a dále aerobní počet bakterií na povrchu kuřecího masa až o 48 % [21]. Přírodní a bezpečné složení těchto filmů může přispět k výrobě bezpečnějších obalových materiálů pro potraviny.

Další prací zabývající se nanokompozity LDPE s nanoplňivem připraveným z jílového minerálu vermikulitu (VER) a ZnO mechanochemickou cestou, kdy výsledné polymerní nanokompozity jsou ve formě destiček, je práce autorů Čech Barabaszová a kol. [17]. Autoři



v této práci řešili krom antimikrobiálního chování, jež potvrdilo dlouhotrvající efekt, také strukturní a povrchové vlastnosti daných nanokompozitů. K charakterizaci byly technikou míchání taveniny připraveny vzorky polymerních nanokompozitů s různým obsahem nanoplniva ZnO-np/VER. Připravené vzorky byly podrobeny analytickým metodám XRD, FTIR, a DTA/TGA z jejichž výsledků bylo zjištěno, že nanočástice ZnO-np/VER o průměrné velikosti 5  $\mu\text{m}$  byly homogenně dispergovány v matrici LDPE, kdežto nanočástice ZnO-np/VER s průměrnou velikostí 20  $\mu\text{m}$  vyčnívaly z povrchu LDPE destičky, z čehož vyplývá částečná nehomogenita připravených nanokompozitů. U všech nanokompozitích destiček byla prokázána postupná a dlouhodobá antibakteriální aktivita proti grampozitivním bakteriím *E. faecalis* [17].

Oblasti syntézy a antimikrobiální aktivity nanokompozitů LDPE/chlorhexidin/vermikulit se věnovali autoři Holešová a kol., kdy metodou tavení připravili sadu nanokompozitů LDPE se zvyšujícím se množstvím antimikrobiálního nanoplniva [16]. Metodami XRD a FTIR byla potvrzena úspěšná interkalace antimikrobiální léčivé látky chlorhexidin diacetátu (CA) do struktury vermikulitu a do jeho sodné formy. Termogravimetrická analýza pak prokázala, že přidáním organojílové formy způsobilo zvýšení tepelné stability připravených nanokompozitů LDPE. Ve výsledném srovnání byly zaznamenány lepší antimikrobiální výsledky s nanokompozity LDPE s obsahem nanoplniva CA\_NaVER připraveného ze sodné monoionní formy VER než nanoplnivo CA\_VER připravené z původního VER. Všechny připravené nanokompozity LDPE vykazovaly velmi dobrou aktivitu pro delší časové intervaly, což dělá tyto materiály velmi slibnými z pohledu dlouhodobě působící antimikrobiální aktivity [16].

I další studie autorů Holešová a kol. [22] se zabývá nanokompozitem s polyethylenovou maticí využívající chlorhexidin diacetát (CA) jako organickou účinnou složku. V rámci studie připravili opět sadu nanokompozitů LDPE/jíl se zvyšujícím se množstvím organojílového nanoplniva (3, 6 a 10 hm. %). V tomto případě byl chlorhexidin začleněn do struktury  $\text{Zn}^{2+}$  formy vermikulitu a bylo tedy vytvořeno plnivo CA/ZnVer. Připravené vzorky s velmi nízkým obsahem účinné složky CA mimo jiné vykazovaly velmi dobrou antimikrobiální aktivitu s dlouhodobým účinkem proti *S. aureus* a mírně slabší účinek proti *E. coli*. Tyto výsledky ukazují na velký potenciál pro použití nanokompozitů polymer/jílový minerál v široké oblasti antimikrobiálních aplikací [22].

Účinná látka chlorhexidin vázaná na jílový minerál, kdy se vzniklý materiál používá jako nanoplnivo do polymerní matrice, se objevuje také v několika dalších pracích.

J. Gajdziok a kol. [23] se ve své studii zabývali přípravou a testováním bioadhezivních polymerů ve formě mukoadhezivních orálních filmů, složených z mukoadhezivního polymeru ve formě sodné soli karmelosy, kdy do struktury filmů byl vmíchán jílový minerál vermikulit s interkalovanou antiseptickou složkou chlorhexidinem a to pomocí technik lití rozpouštědla a impregnace. Cíleným účinkem takto připraveného filmu bylo uvolňování léčiva přímo v určené oblasti. Po vyhodnocení antimikrobiální a antimykotické aktivity, s cílem nalézt nejvhodnější složení pro klinickou aplikaci, byly obecně lepší výsledky získány u vzorku s obsahem 20 mg chlorhexidin diacetátu interkalovaného na vermikulit, kdy film karmelosy obsahoval ve své struktuře navíc netkanou textilií. U vzorku byly taktéž zaznamenány slibné fyzikálně-mechanické, chemické a mukoadhezivní vlastnosti, a mimo jiné také inhibice růstu stafylokoků, přičemž byla prodloužena doba účinku. Ve výsledku byla prokázána vhodnost připraveného materiálu pro klinické užití [23].

Další, kdo použil CA jako účinnou antimikrobiální složku, je tým čínských vědců Zhou a kol. [24], kteří jej užili jako součást nanoplňiva pro jiný typ polymeru, jímž je polydimethyloxan (PDMS). Vzorky nanokompozitních filmů PDMS/CA-MMT byly připraveny interkalací z roztoku. Antimikrobiální organo-jílová forma CA-MMT, byla připravena z  $\text{Na}^+\text{MMT}$  a CA iontovou výměnou. Z charakterizace metodami TEM a XRD bylo zjištěno, že při obsahu plniva CA-MMT menším než 0,5 hm. %, nanokompozity vykazují vynikající mechanické vlastnosti. Z TGA analýzy pak bylo potvrzeno zvýšení tepelné stability kompozitu po přidání CA-MMT. Nanokompozitní filmy PDMS/CA-MMT vykazovaly silnou inhibici růstu celé řady mikroorganismů, včetně gram-pozitivních a gram-negativních bakterií, přičemž antimikrobiální aktivita, jež byla hodnocena testy inhibiční zóny, byla testována proti *E. coli* a *S. aureus* [24].

Dále se tento tým autorů zabýval přípravou nanokompozitů PDMS, kdy plnivo na bázi MMT obsahovalo antifugální sloučeninu terbinafin [25]. Nanokompozitní filmy byly opět získány interkalací z roztoku. Nanoplňivo bylo připraveno iontovou výměnou z  $\text{Na}^+\text{MMT}$  a terbinafin-hydrochloridu (Ter-HCl). Připravené nanokompozity byly jako v předchozí studii charakterizovány metodami TEM a XRD, dále byl zkoumán vliv plniva MMT-Ter-HCl na mechanické vlastnosti a tepelnou stabilitu. Při obsahu plniva 1 hm. % vykazovaly nanokompozity vynikající mechanické vlastnosti, opět bylo potvrzeno zvýšení tepelné stability kompozitu metodou TGA po přidání plniva. Antifugální aktivita byla vyhodnocena testy inhibiční zóny. Po testování polymerů na antimykotickou aktivitu proti *C. albicans* byly zjištěny silné inhibiční vlastnosti [25].

Autoři Saha a kol. [26] studovali a porovnávali nanokompozitní nanovlákněné struktury z polyurethanu (PU) s obsahem léčiva pro lokální dodání účinné složky, kdy byly tyto materiály připraveny metodou elektrostatického zvláknění. Antiseptickou účinnou složkou byl CA, který byl nanesen na jílový minerál MMT. Takto modifikovaný CA-MMT byl začleněn do PU nanovláken. Jako srovnávací vzorek byl připraven PU roztok s čistým CA, následně byl roztok zvlákněn stejnou metodou. Bylo dosaženo hladkého povrchu a rovnoměrných nanovláken za optimalizovaných podmínek. U připravených vzorků byla sledována porozita, měření kontaktního úhlu a antibakteriální aktivita, což jsou důležité vlastnosti pro lokální aplikaci léčiva. Antibakteriální test prokázal širokospektrální antibakteriální aktivitu proti gram-pozitivním i gram-negativním bakteriím u obou srovnávaných vzorků. Profil uvolňování léčiva z nanovláken s obsahem čistého léčiva indikoval okamžité, rychlé uvolnění, kdežto interkalované léčivo vykazovalo požadovanou aktivitu prodlouženého uvolňování [26].

Jedním z velmi zkoumaných polymerů, navíc v kombinaci s nanoplňivy na bázi jílových minerálů a vybrané účinné složky tvořící antimikrobiální nanokompozity polymer/jílový minerál, je biodegradabilní polykaprolakton (PCL). Hlavním důvodem, proč jsou následující práce zaměřeny na vývoj antimikrobiálních a zároveň biodegradabilních obalových materiálů pro potraviny, je důležitý aspekt ochrany životního prostředí.

Autoři Babu a kol. [27] se ve své studii, s cílem vývoje antibakteriálních a antibiofilmových povrchů, věnovali přípravě nanokompozitů PCL/Cloisite 30B (Cloisite 30B je komerčně dostupný organojíl odvozený od montmorillonitu a kvartérní amoniové soli) metodou odlévání rozpouštědlem. Takto připravené nanokompozitní filmy vykazovaly antibakteriální aktivitu a působily jako vynikající bariéra vůči pronikání okolních mikroorganismů. Přičemž takto žádané vlastnosti byly prokázány již při nízké koncentraci plniva a to 5 hm. % a 1 hm. %. Kompozitní filmy PCL/jílový minerál jsou slibnými kandidáty v biomedicínských aplikacích jako je problematika infekcí, díky své antiinfekční povaze a vynikajícím bariérovým vlastnostem [27].

Nutnost volby vhodné polymerní matrice v závislosti s kombinací nanoplňiva prokázala studie autorů Radhakrishnan a kol. [28], kteří zkoumali vztah mezi typem polymeru a jeho účinky na antimikrobiální vlastnosti antimikrobiálního organojílu. Ke studiu interakcí s Cloisite 30B a jeho antimikrobiálními vlastnostem byly užity polymery polykaprolakton (PCL) a polymléčná kyselina (PLA). PCL/C30B nanokompozit vykazoval výrazně vyšší antimikrobiální aktivitu v porovnání s nanokompozitem PLA/C30B. Na druhou stranu větší

míra interkalace mezi PLA a C30B podporuje pomalejší uvolňování aktivní složky a tím vede k antagonistické mikrobicidní aktivitě. Vzhledem k tomu by měly být polymery a jejich plniva vybírány s ohledem na požadavky finálních aplikací [28].

Autoři Cesur a kol. [29] se ve své práci zabývali biologicky rozložitelnými antimikrobiálními potravinářskými obaly s aplikací polymerního nanokompozitního filmu PCL/organojíl/chitosan. V rámci své studie připravili vzorky PCL s nanokompozitním organojílovým plnivem, přičemž jako účinná antimikrobiální složka, za účelem zvýšení antimikrobiálních vlastností biologicky rozložitelné PCL kompozitní fólie, byl přidán chitosan. Vzorky PCL\_C0.4\_G5 (0,4 hm. % organojílu C, 5 hm. % glycerol monooleátu G) a PCL\_C0.4\_O5 (0,4 hm. % organojílu C, 5 hm. % olejové kyseliny O) vykazovaly antimikrobiální účinky proti *C. albicans* (mikroorganismus zkracující dobu skladování). Dále bylo mimo jiné zjištěno, že zatímco čistý chitosan (K) vykazuje antimikrobiální účinky vůči *E. coli*, tak nanokompozitní film PCL\_C0.4\_G10\_K25 (0,4 hm. % organojílu C, 10 hm. % glycerol monooleátu G, 25 hm. % chitosanu K) vykazoval antimikrobiální účinky nejen proti *E. coli*, ale také vůči *P. aeruginosa* a *C. albicans*, přičemž vzorek PCL\_C0.4\_O20\_K50 (0,4 hm. % organojílu C, 20 hm. % kyseliny olejové O, 50 hm. % chitosanu K) s větším obsahem chitosanu a antimikrobiálními účinky vůči *E. coli*, *P. aeruginosa* a *C. albicans* pak již vykazoval nízké mechanické vlastnosti. Vzorek PCL\_C0.4\_O10\_K25 pak vykazoval antimikrobiální účinky pouze proti *C. albicans* a vzorky PCL\_C0.4\_G30\_K75, PCL\_C0.4\_G20\_K50 a PCL\_C0.4\_O30\_K75 pak neprokázaly antimikrobiální účinky. Co se týče biodegradability, měla by biodegradace proběhnout do 6 měsíců, aby byl polymer považován za kompostovatelný. Přičemž množství chitosanu v nanokompozitních filmech snížilo dobu jejich biodegradace a to konkrétně u vzorků PCL\_C0.4\_G10\_K25, PCL\_C0.4\_G20\_K50, PCL\_C0.4\_O10\_K25 a PCL\_C0.4\_O30\_K75, jež za 5 měsíců úplně degradovaly, z čehož vyplývá, že je můžeme považovat za kompostovatelné. Mechanické testy pak prokázaly špatné mechanické vlastnosti chitosanu, což ovlivnilo mechanické vlastnosti jeho konečných nanokompozitů, jejichž hodnoty byly nižší než u běžných polymerů. S ohledem na vlastnosti čistého PCL je tedy potřeba vzít v úvahu užití antimikrobiální účinné složky [29].

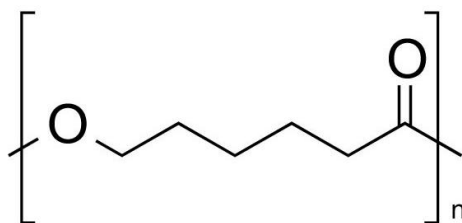
Vývoji antimikrobiálních nanokompozitních filmů PCL/jílový minerál se zvýšenou mechanickou schopností a vlastností bariéry proti vodní páře pro aplikace balení se věnovali autoři Yahiaoui a kol. [30]. Antimikrobiální bionanokompozity na bázi PCL byl připraveny procesem míchání taveniny za užití dvou kvartérních amoniových modifikovaných

montmorillonitů OMMT. U dvou vzorků PCL/OMMT1 a PCL/OMMT2 byly zkoumány morfologické, tepelné, mechanické, bariérové a antibakteriální vlastnosti. Přičemž jejich teploty skelného přechodu ( $T_g$ ) a teploty tání ( $T_m$ ) zůstaly téměř beze změny a jejich tepelná stabilita se mírně snížila oproti čisté PCL matici. Tyto nanomateriály jinak vykazovaly zlepšení jejich mechanických, bariérových a antimikrobiálních vlastností, jež jsou pro obalové aplikace strategické. Ve výsledku bylo zjištěno, že při přidání 3 % OMMT do PCL matrice byla inhibice růstu kolem 90 % původně naočkovaných bakterií, zvýšený Youngův modul stejně jako tvrdost a snižující propustnost vodní páry [30].

Dalšími autory zabývajícími se ve své studii antimikrobiálními nanobiokompozity na bázi PCL pro účely balení jsou Benhacine a kol. [31], kteří procesem odlévání úspěšně připravili vzorky nanokompozitu PCL/AgMMT, přičemž byly připraveny hlavně exfoliované struktury, kdy nanočástice stříbra o středním průměru 14 nm byly náhodně rozptýleny. Analýza mechanických vlastností nanokompozitu ukázala zlepšení v tahu oproti původnímu PCL. Při zkoumání potenciálu uvolňování stříbrných iontů z PCL/AgMMT filmů výsledky ukázaly, že migrace z nanokompozitů lze považovat nejen za povrchový jev, ale také difúzní proces, ve kterém se stříbrné entity musí pohybovat z vnitřku vzorku na povrch, který má být uvolňován. Také byla prokázána antibakteriální aktivita PCL/AgMMT nanokompozitních filmů proti *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* a *P. aeruginosa*, kdy byla zaznamenána úplná inhibice růstu bakterií v důsledku přítomnosti nanočástic biocidního stříbra s dlouhou životností. Analýza propustnosti vodní páry pak ukázala, že přidáním AgMMT do PCL matrice podpořilo významné snížení odrážející jeho bariérový účinek. Kdežto analýza DSC ukázala zvýšené hodnoty krystalinity v nanokompozitech, jež zdůrazňují pozitivní vliv jílové formy na proces nukleace [31].

## **2.5 Polykaprolakton – polymerní matrice připravených tenkých filmů**

Polymer poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL), jehož struktura je zobrazena na Obr. 7, je biodegradabilní, hydrofóbní, semikrystalický polyester, jehož krystalinita má tendenci klesat s rostoucí molekulovou hmotností. Vlastnosti jako dobrá rozpustnost, nízký bod tání (59-64°C) a výjimečná kompatibilita ve směsích předurčují PCL k potenciálním biomedicínským aplikacím, kde nachází využití nejen pro biologické implantáty, materiály pro dodání léčiv, šicích materiálů, ale také pro balení potravin a zemědělské užití [27, 32].



**Obr. 7.** Strukturální vzorec PCL [33].

Krom biodegradability, patří k výhodám PCL také jeho stabilita v abiotických podmínkách a netoxické účinky [27].

Hybridní materiály tvořené PCL a nanokompozity mohou vykazovat velká zlepšení určitých vlastností, např. mechanických, bariérových, tepelných a dalších jako je hořlavost, adsorpce vody, odolnost proti tečení (*creepu*) [32].

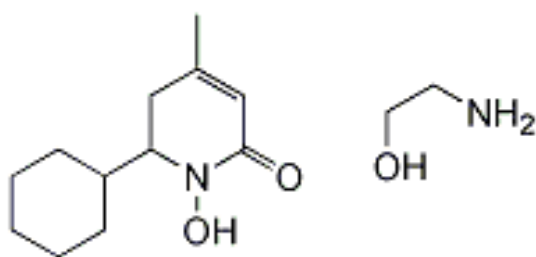
## 2.6 ZnO – anorganická antimikrobiální složka připravených tenkých filmů

Oxid zinečnatý je anorganická sloučenina, jež se přirozeně vyskytuje ve formě minerálu zinkitu, přičemž ale většina ZnO se vyrábí synteticky. Je užíván v řadě výrobních procesů. Můžeme jej nalézt například v kaučucích, plastech, keramice, skle, cementu, mazivech, barvách, mastech, lepidlech, tmelech, pigmentech, potravinách, bateriích, feritech, retardérech hoření, atd. [34]. Je také široce užíván k léčbě různých kožních stavů (krémy, prášky, šampóny, antiseptické masti).

Nanočástice oxidu zinečnatého představují levný a k životnímu prostředí šetrný materiál, přičemž jsou sledovány jeho toxické účinky na lidské prostředí. Po přidání ZnO do sytkého materiálu zvyšuje jeho mechanické vlastnosti a antimikrobiální aktivitu, jež byla doposud nejčastěji testována a diskutována proti bakteriím *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumonia* a *Salmonella*. Studiemi byl potvrzen vliv antibakteriální aktivity ZnO na určité faktory, kterými jsou velikost částic, krystalografická struktura, aglomerace částic, morfologie povrchu, defekty, energie, plocha, koncentrace a rozpustnost [35].

## 2.7 Ciklopiroxolamin – organická antimikrobiální složka připravených tenkých filmů

Ciklopiroxolamin (6-cyklohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2(1*H*)-pyridon), dále jen CPX (Obr. 8), se řadí mezi skupinu antimykotik, hydroxypyridony, které jsou aktivní proti kvasinkám, dermatofytům a vláknitým houbám. CPX je tedy širokospektrální antimykotické činidlo s dalšími antibakteriálními a protizánětlivými účinky, používá se tedy při léčbě určitých mykotických kožních onemocněních. [36]



**Obr. 8.** Strukturní vzorec CPX [37].

Některá antimykotika se potýkají s problémem omezení kvůli nízké rychlosti rozpouštění ve vodném médiu, což vede k nízké biologické dostupnosti, což by řešil systém dodávání léčiva, jež může minimalizovat vedlejší účinky a zvýšit biologickou dostupnost [38].

### 3 Experimentální část

#### 3.1 Příprava antimikrobiálních nanoplňiv

##### 3.1.1 Použité chemikálie

Vstupním materiálem pro přípravu nanoplňiva byl jílový minerál vermikulit (VER) z ložiska v Brazílii a to frakce pod 4  $\mu\text{m}$ . Dalšími použitými chemikáliemi s čistotou p.a. byly rozpouštědla ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ), chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), destilovaná voda. Jako účinná antimikrobiální organická složka byl použit ciklopiroxolamin (CPX, 2-aminoethanolová sůl 6-cyklohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2(1*H*)-pyridinu), účinná anorganická složka oxid zinečnatý (ZnO) byla připravena z prekursoru chloridu zinečnatého ( $\text{ZnCl}_2$ ) za užití chloridu sodného (NaCl) a uhličitanu sodného ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). K přípravě polymerní matrice byl použit poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL).

##### 3.1.2 Příprava vermikulitu s antimikrobiální anorganickou složkou ZnO

K přípravě nanokompozitního materiálu ZnO/VER sonochemickou metodou byl v první části připraven 1M roztok chloridu sodného. Ve 100 ml destilované vody bylo rozpuštěno 5,85 g NaCl a zahříváno na 80 °C na elektrickém ohříváči. Do roztoku bylo postupně vmícháno 5 g vermikulitu, 2,5 g  $\text{ZnCl}_2$  a 2,5 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Po rozpuštění byla do suspenze vložena titanová sonotroda (UP100H, Hielscher) a celá směs byla podrobena působení ultrazvuku po dobu 15 minut při celém cyklu a 50% amplitudě. Po ukončení působení ultrazvuku, byl vzorek promýván destilovanou vodou a odstředován v centrifuze do vymizení chloridů. Pevný podíl nanokompozitního materiálu byl vysušen v sušárně při teplotě 80 °C a homogenizován. Takto připravený vzorek byl dále podroben kalcinaci při 350 °C po dobu 1,5 hodiny.

##### 3.1.3 Interkalace účinné antimikrobiální organické složky CPX

Účinná antimikrobiální organická složka CPX byl interkalován do práškových vzorků VER a ZnO/VER.

Do Erlenmayerovy baňky byly naváženy 4 g VER a přilito 100 ml destilované vody, dále byly přidány 4 g CPX s 50 ml ethanolu a vloženo míchadlo. Takto připravená směs byla vložena na elektromagnetickou míchačku s teplotním čidlem a za stálého míchání byla směs zahřívána při 75 °C po dobu 5 hodin.



Při interkalaci CPX na ZnO/VER byly naváženy 2 g ZnO/VER a 2 g CPX, přidáno 80 ml destilované vody a 40 ml ethanolu, přičemž další postup byl obdobný jako u interkalace do VER.

Po interkalaci byly směsi odstředěny v centrifuze, přičemž pevný podíl byl vložen do sušárny. Po vysušení byly vzorky rozetřeny v třecí misce na jemný prášek. Označení připravených vzorků je uvedeno v následující tabulce 1.

**Tabulka 1.** Značení připravených práškových vzorků a příslušné hmotnostní poměry.

Vzorek	VER	ZnO/VER	VER:CPX(1:1)	ZnO/VER:CPX(1:1)
Hmotnostní poměr	-	-	1:1	1:1

### 3.1.4 Příprava tenkých nanokompozitních polymerních filmů

K přípravě jednotlivých tenkých nanokompozitních polymerních filmů byl do kádinky vždy navážen 1 g PCL a přidáno 20 ml rozpouštědla chloroformu. Roztok byl vložen do ultrazvukové lázně na dobu 1 hodiny. Poté bylo do roztoku přidáno 1 hm. % příslušného plniva a opět vloženo do ultrazvukové lázně po dobu 1 hodiny. Následně bylo dle typu plniva a potřeby pro rovnoměrné vylití vzorku, přidáno potřebné množství chloroformu a vloženo do ultrazvukové lázně na dobu 15 minut. Nakonec byl připravený nanokompozitní materiál rovnoměrně a v tenké vrstvě rozlit na Petriho misku a sušen v sušárně při teplotě 40 °C. Dané vzorky tenkých nanokompozitních filmů jsou uvedeny v tabulce 2.

**Tabulka 2.** Připravené vzorky tenkých nanokompozitních polymerních filmů.

Matrice	PCL				
Plnivo	-	VER	ZnO/VER	VER:CPX(1:1)	ZnO/VER:CPX(1:1)
Tenký film	PCL	PCL/VER	PCL/ZnOVER	PCL/VER:CPX(1:1)	PCL/ZnOVER:CPX(1:1)

## 3.2 Metody charakterizace a jejich nástroje

### 3.2.1 Rentgenová difrakční analýza

Difrakční záznamy všech připravených vzorků byly pořízeny na rentgenovém difraktometru RIGAKU Miniflex600 (Rigaku, Japonsko, scintilační detektor, Cu-lampa, NiK $\beta$  filtr, Bragg-Brentanovo uspořádání). Vzorky byly umístěny v automatickém 6-místném

měníči vzorků. Podmínky měření byly 30 kV, 15 mA, rozsah měření 2-70°2theta, rychlost měření 2,4°/min.

### **3.2.2 Infračervená spektroskopie**

Infračervená spektra práškových vzorků byla měřena technikou tablet KBr, kdy 1 mg vzorku byl rozetřen s 200 mg vysušeného KBr a z této směsi byla v lisu vytvořena tableta. Infračervená spektra byla následně pořízena pomocí FTIR spektrometru Nicolet iS50 (ThermoFisher, USA) s DTGS detektorem. Parametry měření byly následující: spektrální rozsah 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ , rozlišení 4  $\text{cm}^{-1}$ , 64 skenů.

Vzorky polymerních filmů byly měřeny na stejném přístroji, ale technikou ATR pomocí diamantového ATR krystalu. Parametry měření byly stejné jako v případě měření práškových vzorků.

### **3.2.3 Skenovací elektronová mikroskopie**

Snímky všech připravených vzorků byly pořízeny pomocí skenovacího transmisního elektronového mikroskopu JEOL JSM-7610F Plus (Jeol, Francie).

Práškové vzorky byly připevněny na kovové terčičky pomocí uhlíkové pásky a pokoveny práškovým zlatem. Při měření bylo použito urychlovací napětí 15 kV a detektor sekundárních elektronů (SEI). V případě polymerních filmů, které byly taktéž připevněny na kovové terčičky pomocí uhlíkové pásky, byla k pokovení použita platina. Měření probíhalo za urychlovacího napětí 15 kV a byly použity dva typy detektorů sekundárních elektronů (LEI – tzv. lower detektor, SEI – tzv. upper detektor).

### **3.2.4 Distribuce velikosti částic a $\zeta$ -potenciál**

Měření distribuce velikosti částic (DVC) práškových vzorků bylo provedeno pomocí přístroje HORIBA Laser Scattering Particle Size Distribution LA – 950 v destilované vodě. Analýza velikosti částic byla provedena s hodnotami indexu lomu 1,540 pro VER, 1,50 pro ZnO, 1,54 pro CPX a 1,333 pro destilovanou vodu.

Měření  $\zeta$ -potenciálu bylo realizováno pomocí analyzátoru HORIBA Nanopartica SZ - 100.

### **3.2.5 Stanovení obsahu organického uhlíku**

Obsah organického uhlíku u práškových vzorků byl stanoven pomocí analyzátoru fázového uhlíku, volné a vázané vody LECO RC612. Vzorky byly naváženy do keramické

lodičky a spalovány v atmosféře kyslíku v teplotním režimu od 100 do 1 000 °C. Uhlík je detekován v IR celách jako CO<sub>2</sub>.

### 3.2.6 Antimikrobiální testy

Antimikrobiální testy na práškových vzorcích a tenkých filmech byly provedeny ve Zdravotním ústavě se sídlem v Ostravě, v Centru klinických laboratoří.

### 3.2.7 Pracovní postup antimikrobiálních testů práškových vzorků

Minimální inhibiční koncentrace (MIC) je nejnižší koncentrace antimikrobiální chemické látky, která zabraňuje bakteriálnímu růstu (% w/v). Tato hodnota byla určena u všech připravených vzorků.

Na mikrotitrační desce s 96 jamkami bylo provedeno ředění a kultivace vzorků. V první sérii jamek byl obsažen příslušný vzorek ve formě 10% (w/v) vodné disperze. Dále byla tato disperze zředěna trojkovou zředovací metodou v glukózovém základu, kdy série jamek od druhé do sedmé obsahovaly vzorek o koncentraci 3.33%, 1.11%, 0.37%, 0.12%, 0.04% a 0.01%. Pro kontrolu obsahovala osmá série čistý roztok glukózy. K připraveným koncentrovaným disperzím antimikrobiálního kompozitu byl přidán pomocí inokulátoru 1 µl glukózové suspenze příslušného kmene bakterií, *Staphylococcus aureus* CCM 3953 ( $1.1 \times 10^9$  cfu ml<sup>-1</sup>), *Escherichia coli* CCM 3954 ( $1.1 \times 10^9$  cfu ml<sup>-1</sup>) a kvasinky *Candida albicans* ATC 90028 ( $1.1 \times 10^9$  cfu ml<sup>-1</sup>), poskytnutých Českou sbírkou mikroorganismů (CCM). Připravená mikrobiální suspenze byla vždy po uplynutí 30, 60, 90, 120, 180, 240 a 300 minut, poté během 5 dní v 24 hodinových intervalech přenesena z každé jamky do 100 µl čerstvého glukózového základu. Bakterie byly inkubovány při 37 °C po dobu 24 a 48 hodin. Vzniklým zákalem, který zobrazuje bakteriální růst, byla hodnocena antibakteriální účinnost.

### 3.2.8 Pracovní postup antimikrobiálních testů tenkých polymerních filmů

Pro stanovení antibakteriální účinnosti polymerních filmů byla použita modifikace metody JIS Z 2801/ISO 22196 – Measurement of Antibacterial Activity on Plastics Surfaces (Plastics). K testu byly použity bakteriální kmeny *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Escherichia coli* CCM 3954 a *Candida albicans* CCM 90028. Před provedením testu byly připraveny suspenze testovaných bakteriálních kmenů v Erlenmayerových baňkách, které se nechaly 24 hodin inkubovat v termostatu při teplotě 35±2 °C. Po inkubaci byly zředěním fyziologickým roztokem a pomocí denzilometru připraveny pracovní suspenze o koncentraci 10<sup>5</sup> CFU/ml.

K provedení testu byly filmy umístěny na sterilní podložní skla v Petriho miskách s obsahem destilované vody, která sloužila k udržení vyšší vlhkosti v misce. Na povrch testovaných filmů byly inokulovány suspenze kmenů *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Candida albicans* o denzitě  $10^5$  CFU/ml. Po inokulaci byly kapky přikryty filmem z polypropylenu a misky byly vystaveny dennímu světlu. Ve zvoleném čase působení byly filmy přeneseny do označené plastové nádoby s neutralizačním roztokem, ve které se vytřepaly. Část této směsi se inokulovala do sterilní Petriho misky a zalila 15 ml TSA agaru ochlazeného na  $45 \pm 2$  °C. Odběry dalších vzorků byly prováděny v doporučených intervalech 4 h a 24 h.

Pro lepší počítání kolonií bylo vytvořeno ředění  $10^{-1}$  a z tohoto ředění byla také odebrána alikvóta a zalita TSA agarem. Všechny agary byly kultivovány v termostatu 24 hodin při teplotě  $35 \pm 2$  °C. Po inkubaci se u všech agarů hodnotil počet narostlých kolonií.

## 4 Výsledky a diskuze

### 4.1 Vyhodnocení struktury antibakteriálních kompozitů

#### 4.1.1 Rentgenová difrakční analýza

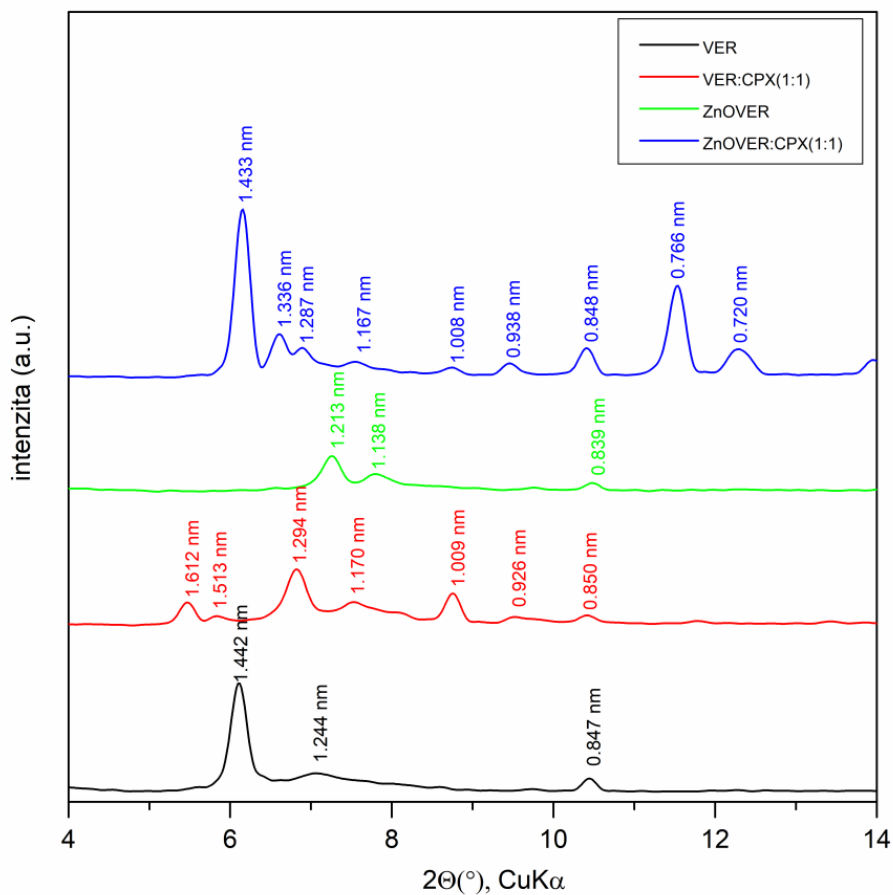
Rentgenové difrakční záznamy byly pořízeny pro původní vzorek vermikulitu, připravené práškové vzorky a výsledné nanokompozitní filmy. Obr. 9 zachycuje difrakční záznamy jak výchozího VER, tak jeho modifikovaných forem VER:CPX (1:1), ZnOVER a ZnOVER:CPX (1:1) při nižších úhlech  $2\theta$  (4-14). Z RTG difrakčního záznamu původního VER lze pozorovat dané bazální difrakce s hodnotou mezivrstevní vzdálenosti a to  $d = 1.442$  nm, která odpovídá dvěma vrstvám molekul vody kolem hydratovaných mezivrstevních kationtů vermikulitu,  $d = 1.244$  nm odpovídající jedné vrstvě molekuly vody a  $d = 0.847$  nm, jež představuje příměsi amfibolového minerálu [39].

Na difrakčním záznamu pro VER:CPX (1:1) (Obr. 9) byly zaznamenány hodnoty mezirovinné vzdálenost  $d = 1.612$  nm a  $d = 1.513$  nm poukazující na částečnou interkalaci ciklopiroxolaminu do mezivrsteví vermikulitu. Hodnota  $d = 1.294$  nm vypovídá o snížení obsahu vody v mezivrsteví po interkalaci CPX, hodnota  $d = 1.170$  nm odpovídá jedné vrstvě vody,  $d = 1.009$  dehydratované struktury a  $d = 0.850$  nm příměsi amfibolového minerálu. Při vyšších úhlech  $2\theta$  (Obr. 10) pak můžeme pozorovat další difrakce charakteristické pro CPX.

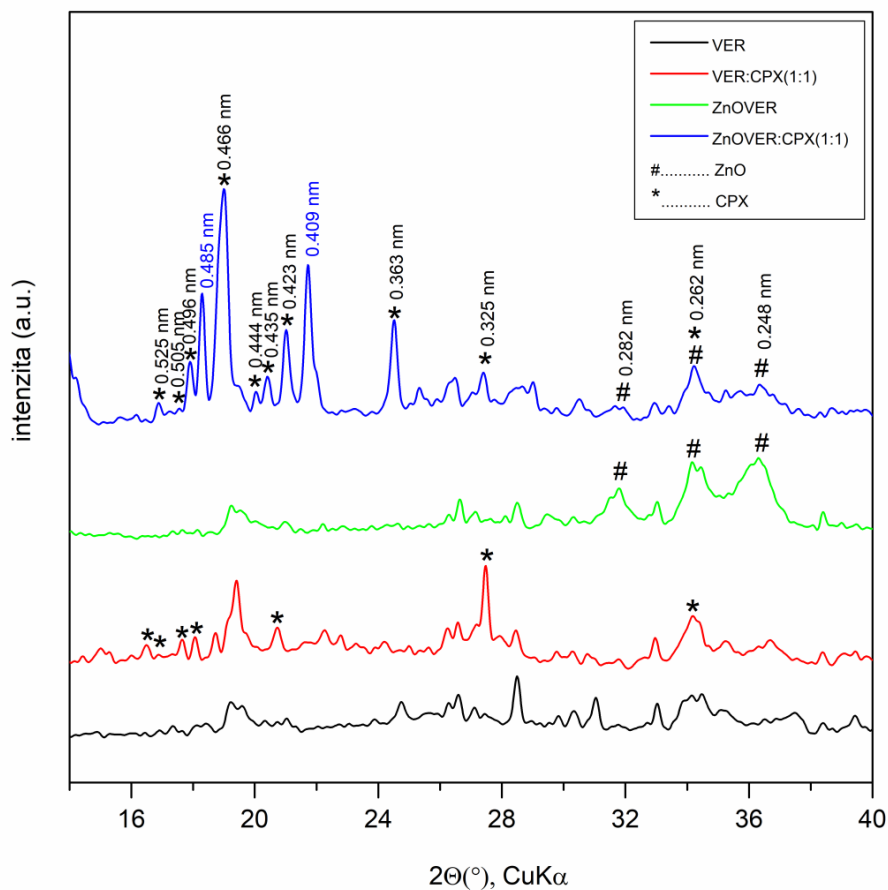
Částečnou interkalaci ZnO do mezivrsteví vermikulitu pro vzorek ZnOVER lze určit z hodnoty  $d = 1.213$  nm (Obr. 9), přičemž je proces interkalace/navázání ZnO při  $350$  °C doprovázené částečnou dehydratací, již odpovídá hodnota  $d = 1.138$  nm a dále zde opět vidíme příměsi amfibolového minerálu  $d = 0.839$  nm. Přítomnost ZnO na VER lze určit také z hodnot bazálních difrakcí charakteristických pro ZnO  $d(100) = 0.282$  nm,  $d(002) = 0.262$  nm a  $d(101) = 0.248$  nm (Obr. 10).

Z hodnot  $1.433$  nm a  $1.336$  nm u vzorku ZnOVER:CPX (1:1) (Obr. 9) lze usuzovat o interkalaci CPX do mezivrsteví ZnOVER, se současnou výměnou za molekuly vody. Úbytku vody v mezivrsteví po interkalaci CPX odpovídají také hodnoty  $1.287$  nm a  $1.167$  nm, přičemž druhá hodnota je také charakterizována pro jednu vrstvu molekul vody. Všechny 4 uvedené hodnoty tedy značí interkalovaný CPX a odrážejí způsob uspořádání a obsah vody v mezivrsteví, kde dehydratované formě pak odpovídá hodnota  $1.008$  nm a příměsi amfibolového minerálu  $0.848$  nm. Následné bazální reflexe po interkalaci CPX značí hodnoty  $0.766$ ,  $0.720$  nm. Můžeme tedy říci, že v tomto případě se CPX pravděpodobně nainterkaloval

s lepším uspořádáním ve struktuře, což lze pozorovat z intenzivnějších difrakcí než je tomu u vzorku VER:CPX (1:1) (Obr. 9), a to zřejmě proto, že u vstupního ZnOVER byl již nižší obsah vody a mezivrstevních kationtů než v případě interkalace do VER. Stejně jako u předchozího vzorku se pak při vyšších úhlech objevují difrakce CPX a ZnO (Obr. 10).

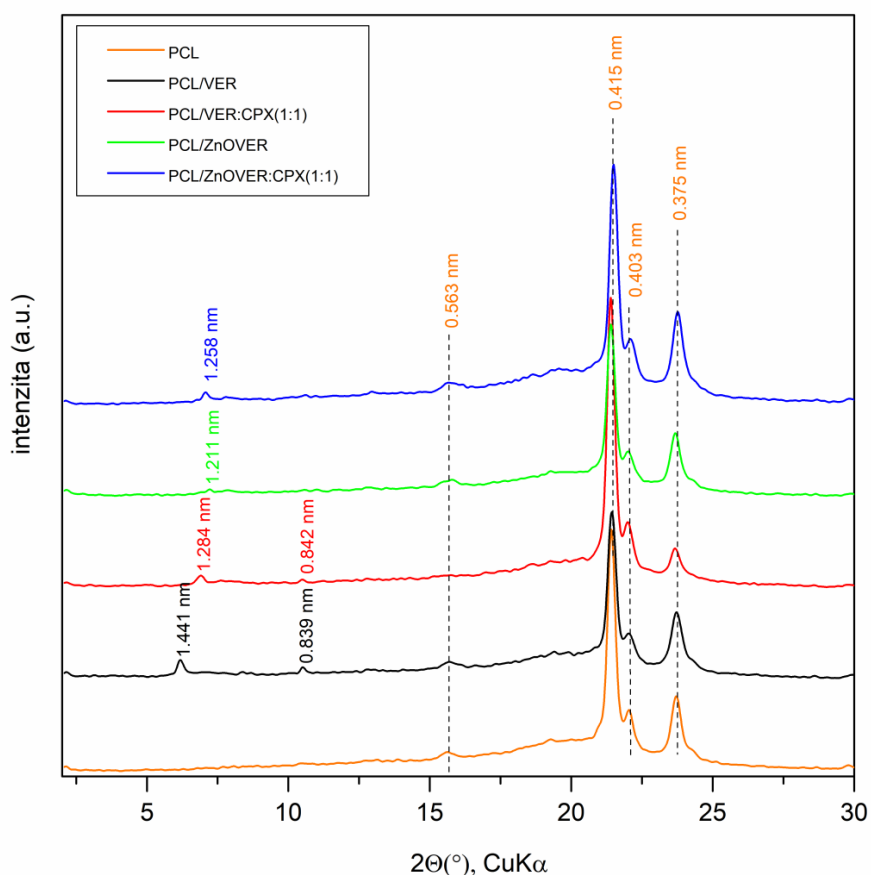


**Obr. 9.** RTG záznam spekter práškových vzorků VER, VER:CPX (1:1), ZnOVER a ZnOVER:CPX (1:1) v rozmezí 4 – 14 2θ.



**Obr. 10.** RTG záznam spekter práškových vzorků VER, VER:CPX (1:1), ZnOVER a ZnOVER:CPX (1:1) v rozmezí 14 – 40  $2\theta$ .

Z RTG difrakčního záznamu pro vzorky polymerních filmů (Obr. 11) lze pozorovat především hlavní difrakce charakterizující PCL, a dále se v záznamech projevují některé charakteristické difrakce pro dané plnivo pouze v minimální míře a to z důvodu velmi malého množství 1hm%. V porovnání s čistým PCL je pak intenzita difrakcí nižší.



**Obr. 11.** RTG záznam spekter PCL, PCL/VER, PCL/VER:CPX(1:1), PCL/ZnOVER a PCL/ZnOVER:CPX (1:1).

#### 4.1.2 Infračervená spektroskopie

IČ spektra byla měřena pro vzorek vermikulitu a jeho modifikovaných forem, vzorek ciklopiroxolaminu, polykaprolaktonu a jednotlivých nanokompozitních filmů.

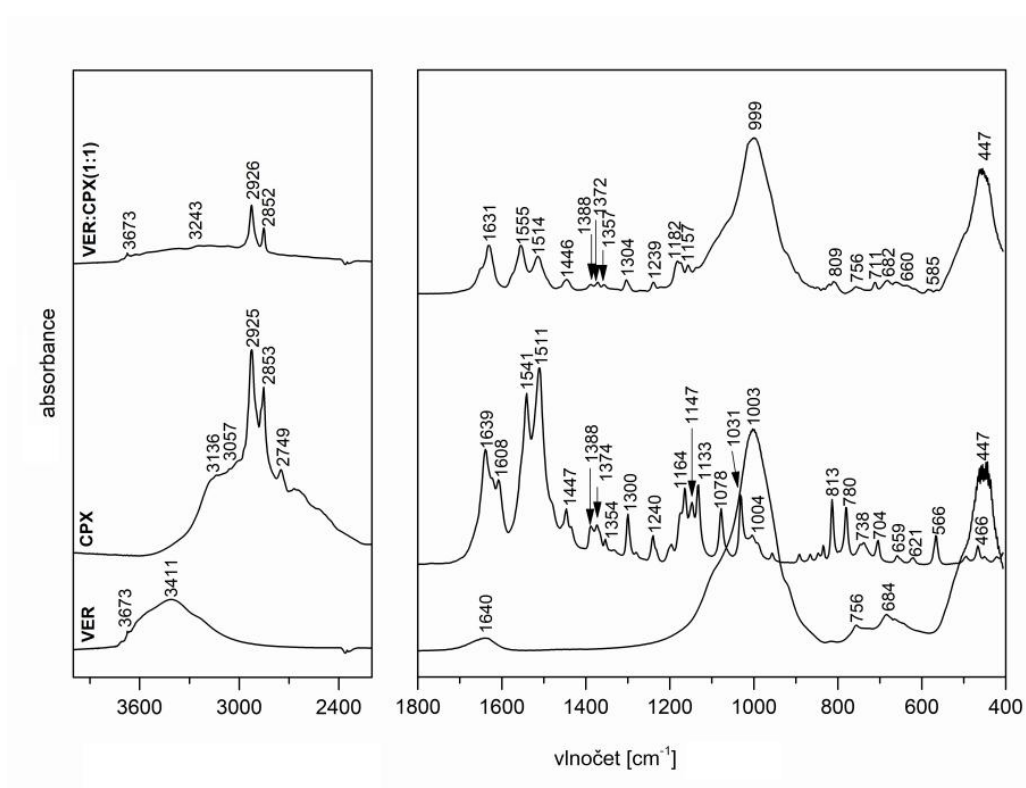
Co se týče práškových vzorků, na Obr. 12 jsou vyobrazena IČ spektra VER, CPX, VER:CPX (1:1) a na Obr. 13 jsou IČ spektra ZnOVER, CPX, ZnOVER:CPX (1:1). Z těchto spekter lze vyčíst především změny, ke kterým došlo v důsledku navázání organické složky na jílový nosič. V Tabulce 3 jsou pak pro vzorky VER, CPX, ZnO\_VER a PCL shrnuty vlnočty nejvýznamnějších absorpčních pásů a přiřazeny jejich charakteristické vibrace dle literatury [40-42].

Z porovnání spekter vzorků VER, CPX a VER:CPX (1:1) (Obr. 12) lze u záznamu spektra pro VER:CPX (1:1) pozorovat posun v oblasti charakteristických valenčních vibrací pro OH skupinu ( $3243\text{ cm}^{-1}$ ) a to z původního VER ( $3411\text{ cm}^{-1}$ ), což by mělo potvrzovat navázání

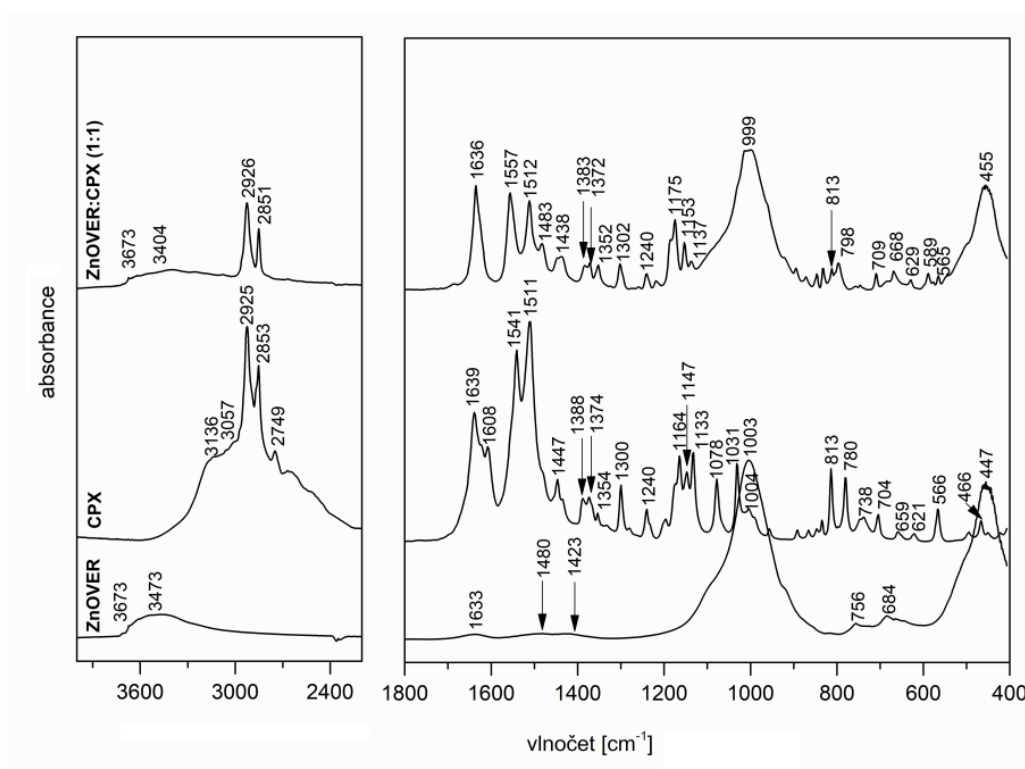


CPX, nejspíš za pomoci vodíkové vazby, mezi strukturálními OH skupinami VER a OH skupinami CPX. Obdobně se tento posun projevil u charakteristických valenčních vibrací OH skupin vzorků ZnOVER ( $3473\text{ cm}^{-1}$ ) a ZnOVER:CPX (1:1) ( $3404\text{ cm}^{-1}$ ) (Obr. 13). Dále můžeme pozorovat u obou typů materiálů, že po navázání CPX dochází k posunu v oblasti odpovídající valenčním vibracím skupiny C=O, která náleží do amidického uspořádání, a to z původní hodnoty  $1541\text{ cm}^{-1}$  na  $1555\text{ cm}^{-1}$  pro VER:CPX (1:1) (Obr. 12) a  $1557\text{ cm}^{-1}$  pro ZnOVER:CPX (1:1) (Obr. 13). Dále o přítomnosti CPX v obou typech vzorků vypovídají další absorpční pásy pro CPX charakteristické, a to zejména asymetrické a symetrické valenční vibrace C-H vazeb, deformační vibrace C-H vazeb, valenční vibrace N-O a C-N vazeb (viz. Tabulka 3).

Zároveň lze při porovnání spekter VER a ZnOVER vidět pokles intenzity charakteristických valenčních a deformačních vibrací OH skupin odpovídajících sorbované vodě, což je dáno sníženým obsahem vody u ZnOVER v důsledku výpalu při  $350^\circ\text{C}$ . Stejně tak můžeme pozorovat intenzivnější pásy po interkalaci CPX na ZnOVER než u interkalace na VER. Tyto skutečnosti pozorujeme také u výsledků z RTG záznamů.



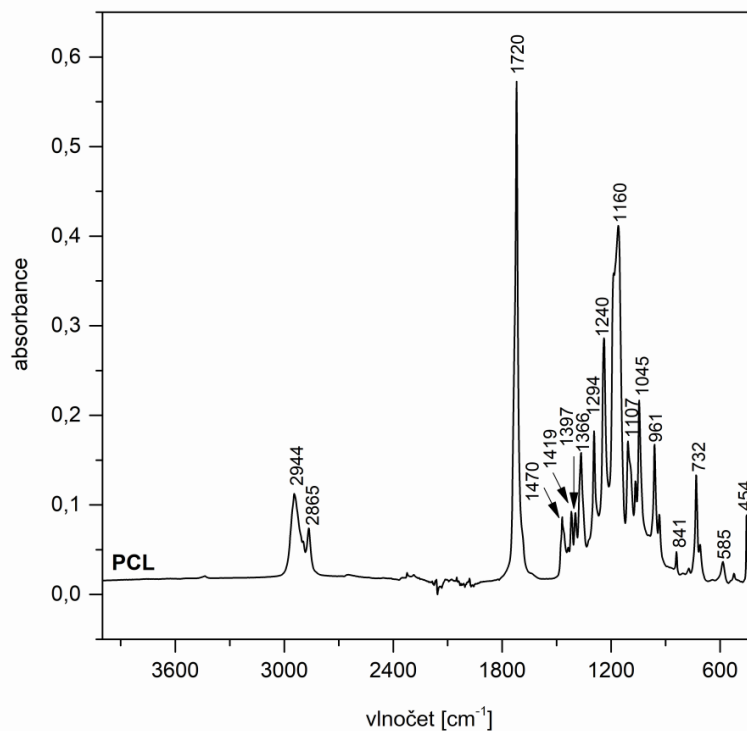
**Obr. 12.** IČ spektra VER, CPX a VER:CPX (1:1).



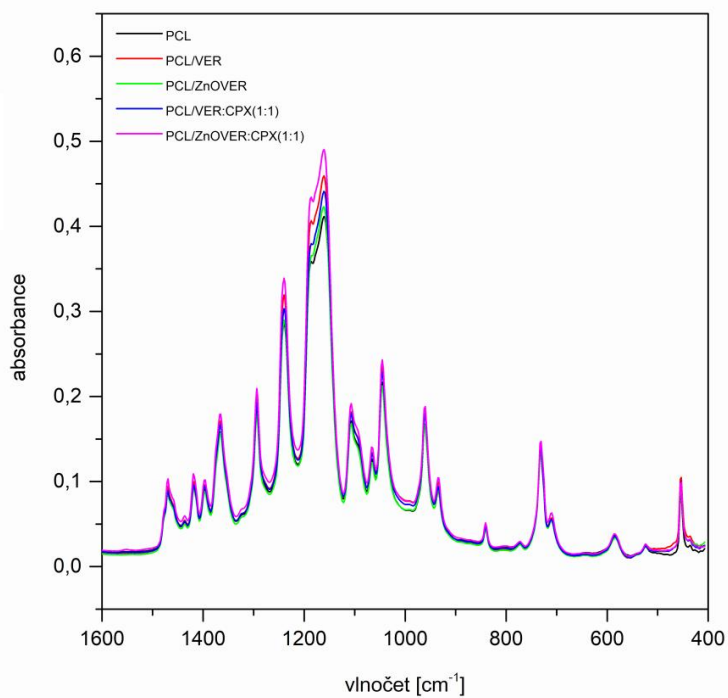
**Obr. 13.** IČ spektra ZnOVER, CPX a ZnOVER:CPX (1:1).

Na Obr. 14 je spektrum pro čistý PCL, kdy nejvýznamnější charakteristické vibrace jsou popsány v Tabulce 3.

Na Obr. 15 pozorujeme srovnání intenzit charakteristických vibrací pro vzorky PCL, PCL/VER, PCL/ZnOVER, PCL/VER:CPX (1:1) a PCL/ZnOVER:CPX (1:1) a srovnání intenzit proto, že jinak u všech vzorků filmů převažují hlavně charakteristické vibrace PCL a to z důvodu zavádění pouze nepatrného množství 1 hm%nanoplniva, které se ve spektrech neprojevovalo. Výraznější změny intenzit se projeví po zavedení daného nanoplniva pouze v oblasti v rozmezí 1300 – 1100 cm<sup>-1</sup> odpovídající valenčním vibracím uskupení C-O-C. Nejintenzivnější píky přísluší spektru PCL\_ZnOVER:CPX (1:1), tato skutečnost by mohla souviset s uspořádáním.



**Obr. 14.** IČ spektrum PCL.



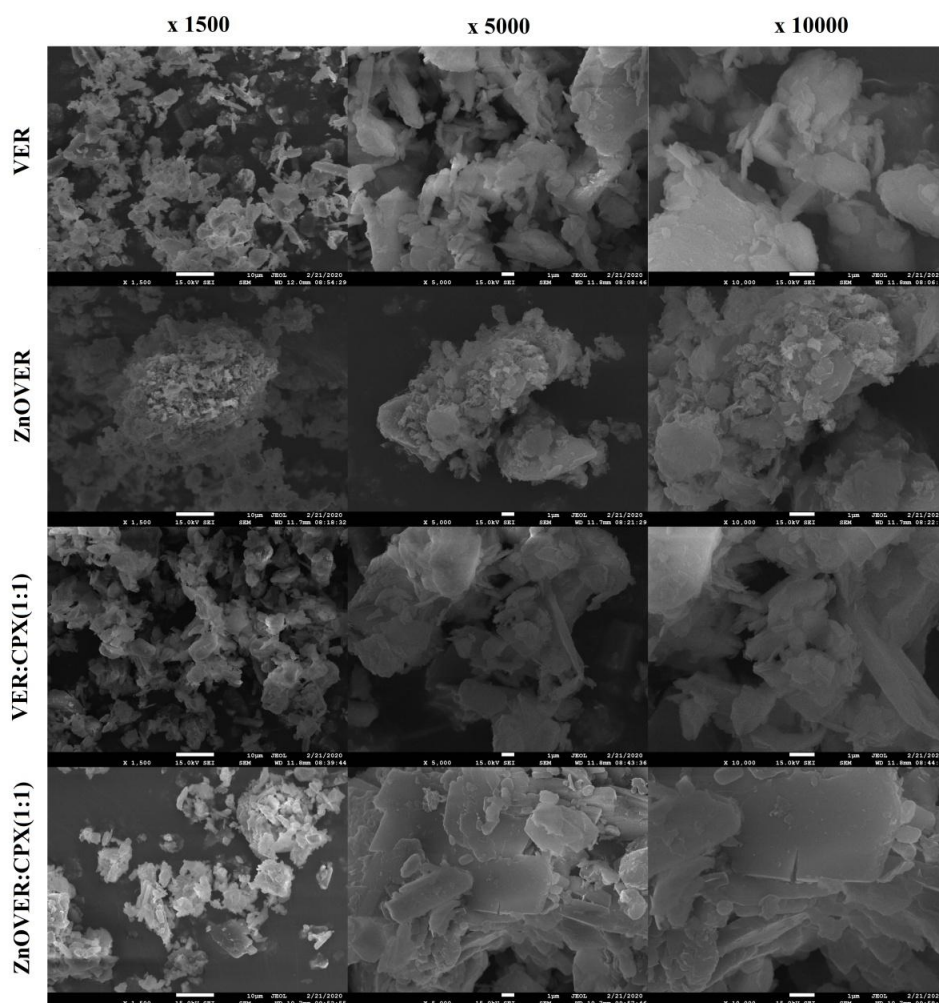
**Obr. 15.** IČ spektra PCL, PCL/VER, PCL/ZnOVER, PCL/VER:CPX (1:1), PCL/ZnOVER:CPX (1:1) - porovnání intenzit jednotlivých píků.

**Tabulka 3.** Nejvýznamnější vlnočty absorpčních pásů vzorků VER, CPX, ZnOVER, PCL a jejich přiřazení charakteristickým vibracím [40-42].

	Vlnočty [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Charakteristická vibrace
VER	3673	Valenční vibrace OH skupin (uskupení $\text{Mg}_3\text{OH}$ )
	3411	Valenční vibrace OH skupin (sorbovaná voda)
	1640	Deformační vibrace OH skupin (absorbovaná voda)
	1003	Si-O valenční vibrace
	756	Deformační vibrace OH skupin
	684	Deformační vibrace OH skupin
	447	Si-O deformační vibrace
CPX	3136	Valenční vibrace OH skupin (uskupení $-\text{C}=\text{O}\dots\text{H}-\text{O}-$ )
	3057	Valenční vibrace $=\text{C}-\text{H}$ skupin (aromatika)
	2925, 2853	Asymetrické a symetrické valenční vibrace C-H skupin (uskupení $-\text{CH}_2-$ )
	2749	Deformační overtone $-\text{CH}_3$ skupiny
	1639, 1541, 1511	Valenční vibrace C=O skupiny (amidické uskupení $-\text{CO}-\text{N}$ )
	1608, 1164, 780	Deformační vibrace N-H skupin (alifatické aminy), ...
	1447, 1388, 1374, 1354	Deformační vibrace C-H skupin (uskupení $\text{CH}_2$ a $\text{CH}_3$ )
	1300-1130	Valenční vibrace N-O, valenční vibrace C-N, deformační vibrace N-H skupin (primární alifatické aminy), C-H skupin (alifatické uhlovodíky)
1078	Valenční vibrace O-H (primární alkohol)	
ZnO_VER	3673	Valenční vibrace OH skupin (uskupení $\text{Mg}_3\text{OH}$ )
	3473	Valenční vibrace OH skupin (sorbovaná voda)
	1633	Deformační vibrace OH skupin (absorbovaná voda)
	1480	Valenční vibrace C=O skupiny (zbytkové, karbonátová skupina z $\text{ZnCO}_3$ )
	1423	Valenční vibrace C=O skupiny (zbytkové, karbonátová skupina z $\text{ZnCO}_3$ )
	1003	Si-O valenční vibrace
	756	Deformační vibrace OH skupin
	684	Deformační vibrace OH skupin
447	Si-O deformační vibrace	
PCL	2944, 2856	Asymetrické, symetrické valenční vibrace $\text{CH}_2$ skupiny
	1720	Valenční vibrace karbonylové C=O skupiny
	1294	Valenční vibrace C-O a C-C skupin v krystalické fázi
	1240	Asymetrická valenční vibrace COC skupiny
	1160	Valenční vibrace C-O a C-C skupin v amorfní fázi

### 4.1.3 Skenovací elektronová mikroskopie

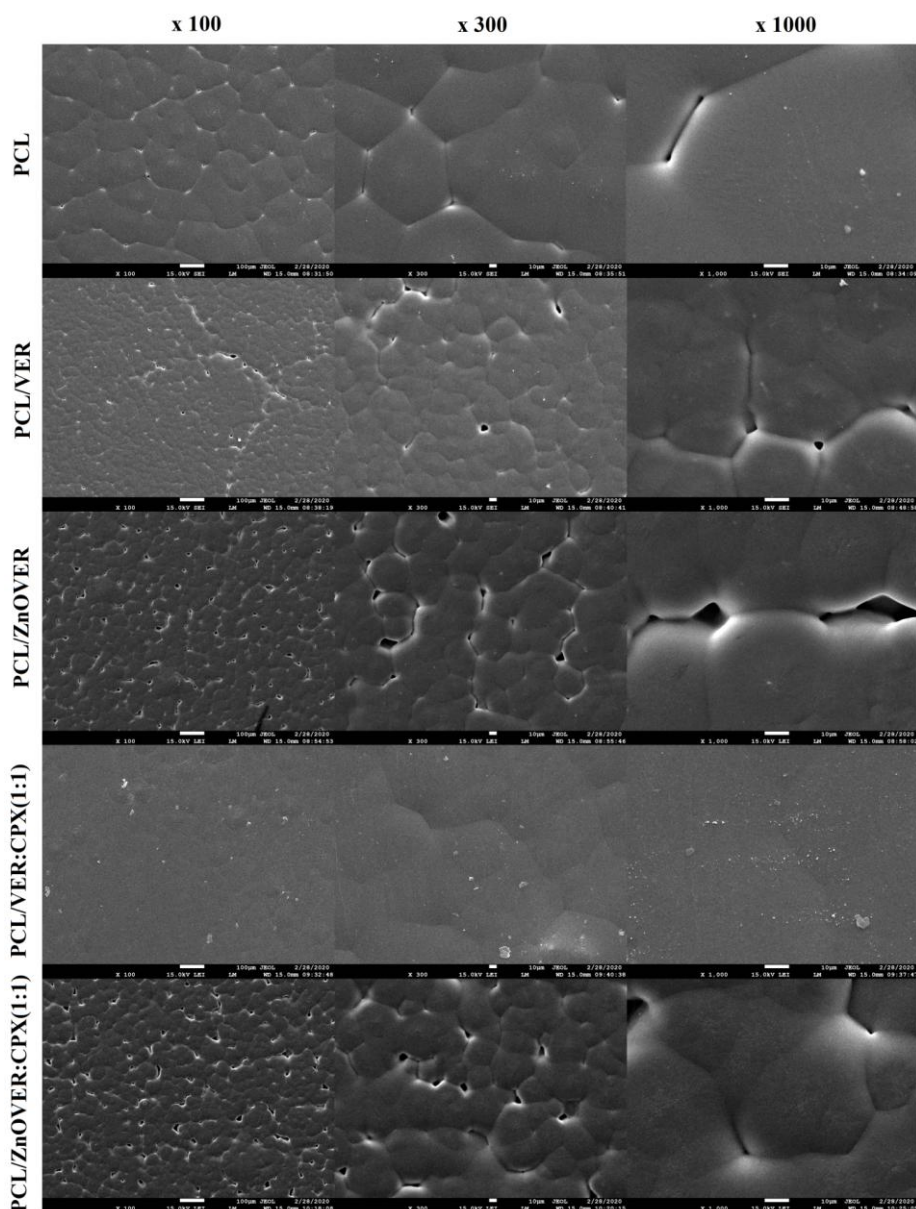
Obr. 16 znázorňuje SEM snímky práškových vzorků VER, ZnOVER, VER:CPX (1:1) a ZnOVER:CPX (1:1), přičemž každý vzorek je zobrazen ve zvětšení x 1500, x 5000 a x 10000. Ze snímků vzorku VER je patrná jeho vrstevnatá struktura, kdy můžeme pozorovat jednotlivé destičky VER. Přítomnost ZnO ve vzorku ZnOVER lze pozorovat ve formě světlých menších aglomerujících částic a to především na hranách VER. U snímků vzorku VER:CPX je viditelná více narušená a delaminovaná struktura oproti původnímu vzorku VER. Také můžeme vidět hladší povrch jednotlivých desek a ostřejší hrany. Stejně tak v případě vzorku ZnOVER:CPX (1:1) způsobil přidavek organické fáze vyhlazení povrchu jednotlivých destiček VER a došlo k vytvoření ostré kontury jednotlivých částic, přičemž pozorujeme, jak jsou větší částice obklopeny menšími a vrstevnatá struktura VER je v tomto případě lépe pozorovatelná než u výchozího ZnOVER.



**Obr. 16.** SEM snímky VER, ZnOVER, VER:CPX (1:1), ZnOVER:CPX (1:1) ve zvětšení 1500x, 5000x a 10000x.

Na Obr. 17 jsou SEM snímky vzorků polymerních filmů PCL, PCL/VER, PCL/ZnOVER, PCL/VER:CPX (1:1) a PCL/ZnOVER:CPX (1:1). Jednotlivé vzorky jsou vždy vyobrazeny ve zvětšení x 100, x 300 a x 1000. Ze snímků vzorku čistého PCL můžeme pozorovat hladkou strukturu tvořenou více či méně pravidelnými šestistěnými sfeluritů, jež jsou charakteristické pro některé druhy polymerů a vytváří se při jejich krystalizaci. U snímků zobrazujících vzorek filmu PCL/VER vidíme zmenšení jednotlivých zrn sfeluritů, přičemž jsou spíše nepravidelné oproti čistému PCL. Dále pozorujeme větší praskliny mezi jednotlivými útvary, přičemž při detailnějším pohledu je viditelná přítomnost plniva uvnitř polymeru. Podobně menší nepravidelná zrna oproti původnímu PCL a větší praskliny mezi zrny v celém objemu vzorku jsou patrné u PCL/ZnOVER. U vzorku PCL/VER:CPX je ze snímků zřejmé, že přítomnost další organické fáze (CPX) způsobila vyhlazení povrchu filmu, nyní jsou již pozorovatelné jen nepatrné obrysy původních sfeluritických útvarů PCL. Obdobně jako v případě vzorku PCL/ZnOVER je tomu u PCL/ZnOVER:CPX, kde přítomnost ZnO ještě více podtrhuje růst jednotlivých sfeluritických zrn ze středu zrna, přičemž mezi zrny se opět objevují velké praskliny.

Celkově tedy můžeme pozorovat, že obecně přítomnost plniva zdrobňuje strukturu sfeluritických zrn PCL, konkrétně přítomnost ZnO pak způsobuje nepravidelnost jejich tvaru a větší praskliny mezi jednotlivými zrny a přítomnost organické fáze CPX pak vyhlazuje strukturu filmů.



**Obr. 17.** SEM snímky PCL, PCL/VER, PCL/ZnOVER, PCL/VER:CPX (1:1), PCL/ZnOVER:CPX (1:1) ve zvětšení 100x, 300x a 1000x.

#### 4.1.4 Distribuce velikosti částic a $\zeta$ -potenciál

Pro vyhodnocení DVC analýz byly využity parametry průměru  $d_m$  (modus),  $d_{43}$  (mean, geometrický průměr) a span. Hodnota span charakterizuje rozpětí distribuční křivky. Dosahuje-li hodnoty vyšší jak 2, vypovídá o bimodálním charakteru DVC a/nebo o silné aglomeraci částic. Vzhledem k různorodé povaze distribuce velikosti částic (jak modální tak i bimodální rozdělení) experimentálních vzorků byly jako stěžejní hodnoty velikosti částic využity průměry  $d_m$  (modus). Přičemž u bimodálních distribucí jsou uvedeny vždy dvě  $d_m$  hodnoty. Výsledky měření DVC jsou uvedeny v Tabulce 4.

**Tabulka 4.** Distribuce velikosti částic a  $\zeta$ -potenciál práškových vzorků.

Vzorek	$d_m$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{43}$ [ $\mu\text{m}$ ]	span [-]	$\zeta$ -potenciál [mV]
VER	4.75	4.64	0.88	-58.7
ZnOVER	0.34, 6.72	5.87	2.13	-34.8
VER:CPX(1:1)	7.18	12.80	1.62	-44.1
ZnOVER:CPX(1:1)	0.34, 11.57	13.25	2.32	-36.5

Přírodní materiál VER vykazoval úzkou distribuci velikosti částic s hodnotou  $d_{43} = 4.64 \mu\text{m}$ . Ultrazvukový růst krystalů ZnO vedl k bimodální povaze DVC s dvěma maximy  $d_{m1} = 0.34 \mu\text{m}$  a  $d_{m2} = 6.72 \mu\text{m}$ .

Interkalace CPX do struktury VER (vzorek VER:CPX (1:1)) vedla k rozšíření DVC, což se projevilo nárůstem hodnot  $d_{43}$  a  $d_m$ . Vyšší hodnota  $d_{43}$  koreluje se strukturálním chováním VER částic, které bylo pozorováno pomocí SEM (Obr. 16), kdy VER částice spolu vzájemně interagují hranami.

Obdobné chování bylo z hlediska DVC zaznamenáno u vzorku ZnOVER:CPX (1:1), kdy zůstala zachována velikostní frakce  $d_{m1} = 0.34 \mu\text{m}$  a došlo k velikostnímu nárůstu majoritní frakce na  $d_{m2} = 11.57 \mu\text{m}$ . Tyto distribuční změny byly pozorovány rovněž na SEM snímcích (Obr. 16), kdy minoritní frakce ( $0.34 \mu\text{m}$ ) obklopovala majoritní frakci ( $11.57 \mu\text{m}$ ).

Stabilita a predikce aglomerace částic (práškových vzorků) pro přípravu polymerních filmů byla hodnocena s využitím analýzy  $\zeta$ -potenciálu, resp. elektrokinetického potenciálu. Měření  $\zeta$ -potenciálu bylo realizováno pomocí analyzátoru HORIBA Nanopartica SZ - 100. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 4.

Z tabulky 4 je patrné, že všechny připravené práškové vzorky jsou velmi stabilní, jejich hodnota  $\zeta$ -potenciálu je vyšší než  $-30 \text{ mV}$ . Nejstabilnější částice tvoří vstupní VER a následně interkalovaný VER:CPX (1:1). Přítomnost anorganické fáze ve formě nanočástic ZnO vedlo ke snížení hodnot  $\zeta$ -potenciálu. Hodnoty  $\zeta$ -potenciálu odpovídají velikostním změnám jednotlivých práškových vzorků. Je evidentní, že s nižší velikostí částic jsou práškové vzorky povrchově stabilnější.



#### 4.1.5 Stanovení obsahu organického uhlíku

Jelikož přírodní jílové minerály neobsahují žádný typ uhlíku, odráží hodnoty uvedené v Tabulce 5 pouze množství uhlíku, které bylo do daného vzorku dodáno formou sloučeniny CPX, čili se jedná výlučně o organický uhlík. Z tabulky je patrné, že více CPX bylo navázáno/interkalováno v případě výchozího materiálu ZnOVER, což je i v souladu s výsledky XRD a FTIR analýz. Zajímavostí proto jsou výsledky antimikrobiálních testů práškových vzorků v následující kapitole 4.2, kdy bychom očekávali, že vyšší množství antimikrobiální sloučeniny poskytne také vyšší účinnost.

**Tabulka 5.** Hodnoty stanovení obsahu organického uhlíku práškových vzorků

Vzorek	Teoretické hodnoty	Skutečné hodnoty
	[%]	[%]
VER:CPX(1:1)	31,30	19,96
ZnOVER:CPX(1:1)	31,30	31,09

#### 4.2 Zhodnocení antimikrobiálních testů

Antimikrobiální aktivita připravených jak práškových vzorků, tak vzorků polymerních filmů byla testována proti gram-pozitivnímu bakteriálnímu kmeni *Staphylococcus aureus*, gram-negativnímu bakteriálnímu kmeni *Escherichia coli* a kvasince *Candida albicans*. Výsledné hodnoty MIC pro práškové vzorky jsou zaznamenány v tabulkách 6, 7 a 8, v časových intervalech 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 180 min, 240 min, 300 min, 1 až 5 dní po 24 h. Hodnoty CFU vzorků polymerních filmů jsou uvedeny v tabulce 9, v časových intervalech 0, 4 a 24 h.

V krátkých časových intervalech se jevil účinný vůči všem testovaným kmenům pouze vzorek VER:CPX (1:1), kdy především z antimykotické povahy CPX dochází k nejlepšímu působení vůči kvasince *C. albicans* (Tabulka 8). Po 24 h a delších časových intervalech došlo dokonce k poklesu hodnot MIC a to k nejnižším koncentracím na hodnoty 0.014 %w/v (Tabulka 8).

Obdobně nacházíme nejnižší hodnoty MIC 0.014 %w/v pro vzorek VER:CPX (1:1) po 3 dnech a to u gram-pozitivního kmene *S. aureus* (Tabulka 6) a také v případě gram-negativního kmene *E. coli* (Tabulka 7) po 3 dnech.

Vzorek ZnOVER vykazoval vůči zmiňovaným kmenům pouze mírnou aktivitu a to pouze v delších časových intervalech, kdy nejlepších výsledků bylo dosaženo vůči kmenu *E. coli* (Tabulka 7).

Očekávaný synergický účinek ZnO a CPX ve vzorku ZnOVER:CPX (1:1) prokázán nebyl. Naopak přítomnost ZnO působí opačným způsobem, přestože samotný ZnOVER vykazuje antimikrobiální chování a navíc dle analýzy organického uhlíku je ve vzorku ZnOVER:CPX (1:1) přítomno větší množství CPX (Tabulka 5) než u VER:CPX (1:1) a tudíž bychom očekávali vyšší antimikrobiální aktivitu.

**Tabulka 6:** Hodnoty MIC pro práškové vzorky vůči *Staphylococcus aureus*.

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den	2 dny	3 dny	4 dny	5 dní
ZnO/VER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.11	1.11	1.11
VER:CPX(1:1)	10	10	10	10	10	10	10	1.11	1.11	0.014	0.014	0.014
ZnOVER:CPX(1:1)	-	-	-	-	-	-	-	0.37	0.12	0.37	0.37	0.37

**Tabulka 7:** Hodnoty MIC pro práškové vzorky vůči *Escherichia coli*.

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den	2 dny	3 dny	4 dny	5 dní
ZnO/VER	-	-	-	-	-	-	-	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11
VER:CPX(1:1)	3.33	3.33	3.33	3.33	3.33	3.33	3.33	3.33	0.37	0.014	0.014	0.014
ZnOVER:CPX(1:1)	-	-	-	-	-	-	-	3.33	1.11	1.11	1.11	1.11

**Tabulka 8:** Hodnoty MIC pro práškové vzorky vůči *Candida albicans*.

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den	2 dny	3 dny	4 dny	5 dní
ZnO/VER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	1.11
VER:CPX(1:1)	3.33	3.33	3.33	1.11	0.37	0.37	0.37	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
ZnOVER:CPX(1:1)	-	-	-	-	-	-	10	10	3.33	0.37	0.37	0.37

U vzorků polymerních filmů (Tabulka 9) byl antibakteriální účinek prokázán pouze u vzorku PCL/ZnOVER:CPX (1:1) a to pro kmen *Escherichia coli* po 24 hodinách. V případě kmene *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans* došlo pouze k mírnému poklesu růstu po 24 hodinách a účinek tedy nebyl prokázán. Pro ostatní vzorky všech testovaných kmenů nebyl antimikrobiální účinek prokázán v žádném testovaném čase. Tyto závěry však nejsou zcela relevantní, jelikož nebylo z časových možností Zdravotního ústavu provedeno delší testování dle standardních zvyklostí z předchozích prací na polymerních materiálech, kdy se testování provádělo především v intervalech několika dnů, a to 24, 48, 72 a 96, jež jsou pro tyto materiály a jejich dlouhodobé antimikrobiální vlastnosti stěžejní.

**Tabulka 9:** Hodnoty CFU pro vzorky polymerních filmů.

kmen	vzorek	Počet kolonií CFU		
		Doba kontaktu [h]		
		0	4	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	PCL	>330	223	>330
	PCL/VER	>330	127	>330
	PCL/ZnO/VER	>330	280	197
	PCL/VER:CPX(1:1)	>330	260	165
	PCL/ZnOVER:CPX(1:1)	303	245	26
<i>Escherichia coli</i>	PCL	>330	>330	>330
	PCL/VER	>330	296	>330
	PCL/ZnO/VER	>330	252	>330
	PCL/VER:CPX(1:1)	>330	>330	>330
	PCL/ZnOVER:CPX(1:1)	>330	252	0
<i>Candida albicans</i>	PCL	68	88	34
	PCL/VER	61	79	71
	PCL/ZnO/VER	111	77	93
	PCL/VER:CPX(1:1)	98	99	135
	PCL/ZnOVER:CPX(1:1)	93	82	22

## 5 Závěr

V rámci cíle bakalářské práce se podařilo připravit tenké polymerní nanokompozitní filmy s antimikrobiálními nanoplňivy. Jako polymerní matrice byl zvolen biodegradabilní polykaprolakton, nosičem pro antimikrobiální sloučeniny byl zvolen vermikulit, přičemž byl připraven vzorek nanoplňiva vermikulitu modifikovaného anorganickou účinnou složkou oxidem zinečnatým, organickou antifugální sloučeninou ciklopiroxolaminem a nakonec i jejich kombinací. Struktura všech připravených materiálů byla studována metodami rentgenové difrakční analýzy (RTG), infračervené spektroskopie (IČ) a skenovací elektronové mikroskopie (SEM). U práškových vzorků plniv byl pak stanoven obsah organického uhlíku, distribuce velikosti částic a  $\zeta$ -potenciál. Jak u práškových vzorků, tak u výsledných polymerních filmů bylo provedeno porovnání antimikrobiální aktivity.

Výsledky výše uvedených metod strukturních analýz potvrdily u práškových vzorků, že došlo k částečnému navázání účinných složek do mezivrstev VER, ale i na povrch jílového nosiče, přičemž lepší strukturní uspořádání vykazoval vzorek ZnOVER:CPX (1:1). Velice zajímavým způsobem ovlivňuje typ nanoplňiva strukturu polymerních filmů, což je patrné především ze SEM snímků, na kterých vidíme, že přítomnost nanoplňiva zdrobňuje strukturu sferulitických zrn PCL, přítomnost anorganické fáze ZnO způsobuje nepravidelnost tvaru zrn a větší praskliny mezi jednotlivými zrny a přítomnost organické fáze CPX pak vyhlazuje strukturu filmů. Z dalších analýz registrujeme pouze nepatrné náznaky přítomnosti plniva v polymerní matici a to z důvodu jeho malého množství 1hm%.

Antimikrobiální testy byly prováděny proti bakteriálním kmenům *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a kvasince *Candida albicans*. Výsledky práškových vzorků ukazují nejlepší účinky u VER:CPX (1:1) a to v první řadě vůči kvasince *C. albicans*, kdy tento vzorek je aktivní již v krátkých časových intervalech, což je způsobeno především antimykotickým charakterem CPX. V delších časových úsecích je tento vzorek aktivní i vůči kmeni *S. aureus* a *E. coli*. Očekávaný synergický účinek ZnO a CPX ve vzorku ZnOVER:CPX (1:1) prokázán nebyl, i když bychom u něj z výsledků antimikrobiálního chování a většího množství obsahu CPX oproti VER:CPX (1:1) předpokládali vyšší antimikrobiální aktivitu. Proto nejenom množství antimikrobiální sloučeniny, ale také její typ, kombinace a způsob navázání na jílovou podložku má vliv na výsledné antimikrobiální chování.

Z důvodu nestandardní délky testování vzorků polymerních filmů byl antimikrobiální účinek prokázán pouze u filmu PCL/ZnOVER:CPX (1:1) a to pro kmen *Escherichia coli* po 24 hodinách, přičemž u kmene *Staphylococcus aureus* a kvasinky *Candida albicans*, byl

detekován pouze mírný pokles růstu po 24 hodinách. Přesto je z výsledků u stěžejního kmene *C. albicans* patrný trend postupného snižování počtu kolonií, který by při delším testování zřejmě mohl dosáhnout cíleného antimikrobiálního účinku.

## 6 Literatura

- [1] MUÑOZ-BONILLA, Alexandra a Marta FERNÁNDEZ-GARCÍA. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science*. 2012, vol. 37, issue 2, s. 281–339. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.08.005>
- [2] SWAIN, Sarat Kumar a Mohammad JAWAID. Nanostructured Polymer Composites for Biomedical Applications. *Elsevier*, 2019, 552 s. ISBN 0128168927, 9780128168929.
- [3] PAVLIDOU, S. A C.D. PAPASPYRIDES. A review on polymer–layered silicate nanocomposites. *Progress in Polymer Science*. 2008, vol. 33, issue 12, s. 1119–1198. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.008>
- [4] DI GIANNI, A., E. AMERIO, O. MONTICELLI a R. BONGIOVANNI. Preparation of polymer/clay mineral nanocomposites via dispersion of silylated montmorillonite in a UV curable epoxy matrix. *Applied Clay Science*. 2008, vol. 42, issue 1-2, s. 116-124. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2007.12.011>
- [5] BERGAYA, F., C. DETELLIER, J.-F. LAMBERT a G. LAGALY. Introduction to Clay–Polymer Nanocomposites (CPN). *Handbook of Clay Science*. Elsevier, 2013, vol. 5, s. 655-677. ISBN 9780080993645. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-098258-8.00020-1>
- [6] ALEXANDRE, Michael a Philippe DUBOIS. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2000, vol. 28, issue 1-2, s. 1-63. Dostupné z doi: [https://doi.org/10.1016/S0927-796X\(00\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S0927-796X(00)00012-7)
- [7] VALÁŠKOVÁ, Marta. *Vybrané vrstevnaté silikáty a jejich modifikované nanomateriály*. 2. dopl. a opr. vyd. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2014. 167 s. ISBN 978-80-7204-886-1.
- [8] WEISS, Zdeněk; KUŽVART, Miloš. *Jílové minerály: Jejich nanostruktura a využití*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2005. 278 s. ISBN 80-246-0868-5.
- [9] MUCHA, Martin, Jiří PAVLOVSKÝ, Lenka HERCOVÁ, Dalibor MÍČEK a Hana VĚŽNÍKOVÁ. Možnosti přípravy materiálů na bázi jílu-huminová látka. *Chemické*

- listy*. 2012, vol. 106, s. 1140–1142. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012\\_12\\_1140-1142.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_12_1140-1142.pdf)
- [10] WU, Limei, Libing LIAO a Guocheng LV. Influence of interlayer cations on organic intercalation of montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2015, vol. 220, s. 1-7. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.04.021>
- [11] *Vermikulit exfoliovaný* [online]. s. 4-5. Dostupný z: <https://www.grena.cz/res/dwe-files/1404055601.pdf>
- [12] VALÁŠKOVÁ, M., G.S. MARTYNKOVÁ, Vermiculite: Structural Properties and Examples of the Use. VALÁŠKOVÁ, Marta, ed. *Clay Minerals in Nature - Their Characterization, Modification and Application* [online]. InTech, 2012, DOI: 10.5772/51237. ISBN 978-953-51-0738-5. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/clay-minerals-in-nature-their-characterization-modification-and-application/vermiculite-structural-properties-and-examples-of-the-use>
- [13] TRPSKÁ, Eva. *Vlastnosti kompozitů s plnivem Vermikulit*. Zlín, 2010. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Petr Zádrapa.
- [14] Vermiculite. *Encyclopedic Dictionary of Polymers* [online]. New York: Springer, New York, NY, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-30160-0>. Dostupné z: [https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-0-387-30160-0\\_12252#howtocite](https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-0-387-30160-0_12252#howtocite)
- [15] MAROSZ, Monika, Andrzej KOWALCZYK a Lucjan CHMIELARZ. Modified vermiculites as effective catalysts for dehydration of methanol and ethanol. *Catalysis Today*. 2019. In press. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2019.07.003>
- [16] HOLEŠOVÁ, Sylva, Magda RELI, Mariana HUNDÁKOVÁ, Karla ČECH BARABASZOVÁ, Michal RITZ, Eva PLEVOVÁ a Erich PAZDZIORA. Synthesis and Antimicrobial Activity of Polyethylene/ Chlorhexidine/Vermiculite Nanocomposites. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2019, vol. 19, s. 2925-2933. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.15850>
- [17] ČECH BARABASZOVÁ, Karla, Sylva HOLEŠOVÁ, Marianna HUNDÁKOVÁ, Erich, PAZDZIORA a Michal RITZ. Antibacterial LDPE Nanocomposites Based on Zinc Oxide Nanoparticles/Vermiculite Nanofiller. *Journal of Inorganic and*



- Organometallic Polymers and Materials*. 2017, vol. 27, issue. 4, s. 986-995. ISSN 1574-1443. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1007/s10904-017-0546-4>
- [18] JOSHI, Mangala, Anasuya ROY, B.S. BUTOLA. Antimicrobial performance of polyethylene nanocomposite monofilaments reinforced with metal nanoparticles decorated montmorillonite. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019, vol. 178, s. 87-93. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.045>
- [19] JOSHI, Mangala, Anasuya ROY, B.S. BUTOLA. Preparation and antimicrobial assessment of zinc-montmorillonite intercalates based HDPE nanocomposites: A cost-effective and safe bioactive plastic. *Journal of Cleaner Production*. 2019, vol. 212, s. 1518-1525. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.235>
- [20] BRUNA, J.E., A. PEÑALOZA, A. GUARDA, F. RODRÍGUEZ A M.J. GALOTTO. Development of MtCu<sup>2+</sup>/LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. *Applied Clay Science*. 2012, vol. 58, s. 79-87. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2012.01.016>
- [21] TAS, Buket Alkan, Ekin SEHIT, C. Erdinc TAS, Serkan UNAL, Fevzi C. CEBECI, Yusuf Z. MENCELOGLU, Hayriye UNAL. Carvacrol loaded halloysite coatings for antimicrobial food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*. 2019, vol. 20, s. 100300. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.01.004>
- [22] HOLEŠOVÁ, Sylva, Magda SAMLÍKOVÁ, Michal RITZ a Erich PAZDZIORA. Antibacterial polyethylene/clay nanocomposites using chlorhexidine as organic modifier. *Materials Today: Proceedings*. 2015, vol. 2, issue 1, s. 246-252. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2015.04.031>
- [23] GAJDZIOK, Jan, Sylva HOLEŠOVÁ, Jan ŠTEMBÍREK, Erich PAZDZIORA, Hana LANDOVÁ, Petr DOLEŽEL, a David VETCHÝ. Carmellose Mucoadhesive Oral Films Containing Vermiculite/Chlorhexidine Nanocomposites as Innovative Biomaterials for Treatment of Oral Infections. *Hindawi Publishing Corporation, BioMed Research International*. 2015, s. 15. Dostupné z doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/580146>
- [24] ZHOU, Ning-Lin, Jian SHEN, Shuang-Quan ZHANG a Na MENG. Synthesis and antimicrobial activities of polymer/montmorillonite–chlorhexidine acetate nanocomposite films. *Applied Clay Science*. 2009, vol. 42, issue 3-4, s. 667-670. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.06.016>

- [25] ZHOU, Ning-Lin, Jian SHEN, Shuang-Quan ZHANG a Na MENG. Synthesis and antifungal activities of polymer/montmorillonite-terbinafine hydrochloride nanocomposite films. *Applied Clay Science*. 2009, vol. 46, issue 2, s. 136-140. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2009.07.003>
- [26] SAHA, Kasturi, Bhupendra Singh BUTOLA a Mangala JOSHI. Drug-Loaded Polyurethane/Clay Nanocomposite Nanofibers for Topical Drug-Delivery Application. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014, vol. 131, 40230. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1002/app.40230>.
- [27] SNIGDHA, Sajeendra Babu, Mathew SHIJI, Kalarikkal NANDAKUMAR, Thomas SABU, E. K. RADHAKRISHNAN. Antimicrobial, antibiofilm, and microbial barrier properties of poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/cloisite 30B thin films. *3 Biotech*. 2016, s. 6:249. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0559-7>
- [28] RADHAKRISHNAN, E. K., Sajeendra Babua SNIGDHA, Kalarikkala NANDAKUMAR a Thomasa SABU. Enhanced antimicrobial performance of cloisite 30B/poly ( $\epsilon$ -caprolactone) over cloisite 30B/poly (L-lactic acid) as evidenced by structural features. *Applied Clay Science*. 2018, vol. 153, s. 198-204. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.12.003>
- [29] CESUR, Serap, Cansu KÖROĞLU, Hüsnüye Tansel YALÇIN. Antimicrobial and Biodegradable Food Packaging Applications of Polycaprolactone/Organo nanoclay/Chitosan Polymeric Composite Films. *Journal of vinyl & additive technology*. 2017. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1002/vnl.21607>
- [30] YAHIAOUI, Farida, Fayçal BENHACINE, Hafida FERFERA-HARRAR, Abderahmane HABI, Assia Siham HADJ-HAMOU a Yves GROHENS. Development of antimicrobial PCL/nanoclay nanocomposite films with enhanced mechanical and water vapor barrier properties for packaging applications. *Polym. Bull.* 2015, vol. 72, s. 235-254. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1007/s00289-014-1269-0>
- [31] BENHACINE, F., Assia Siham HADJ-HAMOU, Abderrahmane HABI. Development of long-term antimicrobial poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/silver exchanged montmorillonite nanocomposite films with silver ion release property for active packaging use. *Polym. Bull.* 2016, vol. 73, s. 1207-1227. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1543-9>

- [32] LUDUEÑA, L. N., A. VÁZQUEZ, V. A. ALVAREZ. Effect of the Type of Clay Organo-Modifier on the Morphology, Thermal/Mechanical/Impact/Barrier Properties and Biodegradation in Soil of Polycaprolactone/Clay Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1002/app.38425>
- [33] Polycaprolactone, MW 50000, powder. In: *Polysciences* [online]. 2020. Dostupné z: <https://www.polysciences.com/default/catalog-products/polycaprolactone-powdered-40869/>
- [34] Zinc oxide (Compound). *PubChem* [online]. Dostupné z: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/zinc\\_oxide](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/zinc_oxide)
- [35] ČECH BARABASZOVÁ, Karla, Sylva HOLEŠOVÁ, Kateřina ŠULCOVÁ, Michal RITZ a Jana KUPKOVÁ. Hybrid Antibacterial Nanocomposites Based on the Vermiculite/Zinc Oxide-Chlorhexidine. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2019, vol. 19, s. 3041-3048. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.15844>
- [36] CARRILLO-MUÑOZ, A.-J, S. BRIÓ, R. ALONSO, O. del VALLE, P. SANTOS a G. QUINDÓS. Ciclopiroxolamine: in vitro antifungal activity against clinical yeast isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2002, vol. 20, issue 5, s. 375-379. Dostupné z doi: [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(02\)00206-6](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(02)00206-6)
- [37] Ciclopirox olamine: Compound with free spectra: 1 FTIR and 1 Raman. In: *SpectraBase* [online]. Dostupné z: <https://spectrabase.com/compound/5DatAbVarfs>
- [38] HOLEŠOVÁ, Sylva, Jana KUPKOVÁ, Michal RITZ a Erich PAZDZIORA. Antimicrobial ciclopiroxolamine/clay nanocomposites. *Materials Today: Proceedings*. 2018, vol. 5, s. S20-S28. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.05.053>
- [39] VALÁŠKOVÁ, Marta, Jana KUPKOVÁ, Grażyna Simha MARTYNKOVÁ, Jana SEIDLEROVÁ, Vladimír TOMÁŠEK, Michal RITZ, Kamila KOČÍ, Volker KLEMM a David RAFAJA. Comparable study of vermiculites from four commercial deposits prepared with fixed ceria nanoparticles. *Applied Clay Science*. 2018, vol. 151, s. 164-174. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.10.006>
- [40] KRČOVÁ, M. *Nanokompozitní organofilové materiály s antimikrobiální účinností*. Ostrava, 2015. 44 s. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická Univerzita Ostrava.

- [41] ELZEIN, Tamara, Mohamad NASSER-EDDINE, Christelle DELAITE, Sophie BISTAC a Philippe DUMAS. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004, vol. 273, issue 2, s. 381-387. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.001>
- [42] SOCRATES, G., *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies, Tables and Charts*, Vyd. 3, Chichester: John Wiley&Sons Inc., 2001, 366 s. ISBN 978-0- 470-09307-2