

**VŠB** TECHNICKÁ  
UNIVERZITA  
OSTRAVA

**FAKULTA  
MATERIÁLOVĚ  
TECHNOLOGICKÁ**

Diplomová práce

# **Příprava a charakterizace nanovláken polykaprolaktonu s antimikrobiální složkou**

Jméno autora: Bc. Michaela Ščuková

Rok odevzdání: 2022

## Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Michaela Ščuková**

Studijní program: N0719A270002 Nanotechnologie

Téma: **Příprava a charakterizace nanovláken polykaprolaktonu s antimikrobiální povahou**  
**Preparation and characterization of polycaprolactone nanofibers with antimicrobial nature**

Jazyk vypracování: čeština

### Zásady pro vypracování:

Cílem diplomové práce je příprava a charakterizace antimikrobiálních nanokompozitů polykaprolaktonu ve formě nanovláken. Antimikrobiální účinnost těchto polymerních nanovláken bude zajištěna přidávkou hybridního nanoplátna na bázi jílového minerálu vermikulitu s vázanou antimikrobiální účinnou složkou anorganické či organické povahy. Samotná nanovláknina budou připravena technikou elektrospinningu ve spolupráci s Centrem polymerních systémů, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. V rámci diplomové práce bude kladen důraz zejména na charakterizaci struktury všech připravených materiálů, a to pomocí dostupných technik jako jsou XRD, FTIR, SEM, DVC, TGA/DSC, a další. Součástí experimentální části bude také vyhodnocení základního testování antimikrobiální povahy připravených nanovláken a to ve spolupráci se ZÚ Ostrava. V teoretické části diplomové práce bude kladen důraz na literární rešerši dle přiložené osnovy:

- Polymerní nanovláknina
  - Elektrostatické zvlákňování (elektrospinning, fyzikální princip elektrostatického zvlákňování, parametry zvlákňování, vlastnosti roztoku, vlastnosti zvlákňovacího přístroje, vlastnosti okolního prostředí)
  - Antimikrobiální polymerní nanovláknina, Antimikrobiální kompozity polymerních nanovláken a jílových minerálů
  - Polykaprolakton (vlastnosti a použití, nanovláknina polykaprolaktonu, antimikrobiální nanovláknina polykaprolaktonu)
- Vermikulit (struktura, vlastnosti, použití, antimikrobiální nanokompozity polymer/jílový minerál)
- ZnO (vlastnosti a použití), Chlorhexidin (vlastnosti a použití), Ciclopiroxolamin (vlastnosti a použití)

### Seznam doporučené odborné literatury:

FADIL, Fatirah, Nor Dalila Nor AFFANDI, Mohd Iqbal MISONON, Noor Najmi BONNIA, Ahmad Mukifza HARUN a Mohammad Khursheed ALAM. Review on Electrospun Nanofiber-Applied Products. *Polymers* 2021, vol. 13, p. 2087. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym13132087

IBRAHIM, Hassan M. a Anke KLINGNER. A review on electrospun polymeric nanofibers: Production parameters and potential applications. *Polymer Testing* 2020, vol. 90, p. 106647. ISSN 01429418.

Dostupné z: doi: 10.1016/j.polymertesting.2020.106647.

PANTHI, Gopal, Mira PARK, Hak-Yong KIM a Soo-Jin PARK. Electrospun polymeric nanofibers encapsulated with nanostructured materials and their applications: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2015, vol. 24, p. 1-13. ISSN 1226086X. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jiec.2014.09.011

GAO, Yuan, Yen BACH TRUONG, Yonggang ZHU a Ilias LOUIS KYRATZIS. Electrospun antibacterial nanofibers: Production, activity, and in vivo applications. *Journal of Applied Polymer Science* 2014, vol. 131. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.40797.

XUE, Jiajia, Yuzhao NIU, Min GONG, Rui SHI, Dafu CHEN, Liqun ZHANG a Yuri LVOV. Electrospun Microfiber Membranes Embedded with Drug-Loaded Clay Nanotubes for Sustained Antimicrobial Protection. *ACS Nano* 2015, vol. 9, p. 1600-1612. ISSN 1936-0851. Dostupné z: doi:10.1021/nn506255e

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 SAPPPIA, 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

MOCHANE, Mokgaotsa Jonas, Teboho Simon MOTSOENENG, Emmanuel Rotimi SADIKU, Teboho Clement MOKHENA a Jeremia Shale SEFADI. Morphology and Properties of Electrospun PCL and Its Composites for Medical Applications: A Mini Review. *Applied Sciences* 2019, vol. 9. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app9112205

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 diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

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

Datum zadání: 01.02.2022

Datum odevzdání: 29.04.2022

---

*vedoucí katedry*

---

prof. Ing. Kamila Janovská,  
Ph.D.  
*děkanka fakulty*

## **Poděkování**

Velmi ráda bych touto formou poděkovala především vedoucí diplomové práce Ing. Sylvě Holešové, Ph.D. za odborné vedení, čas, konzultace, trpělivost a rady při vypracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Karle Čech Barabaszové, PhD., Ing. Marianně Hundákové, Ph.D., Ing. Gabriele Kratošové, Ph.D. a Mgr. Ing. Kamile Hrabovské, Ph.D. za konzultace při vyhodnocování. Diplomová práce byla vypracována za finanční podpory projektu SP 2022/31 „Příprava a charakterizace pokročilých materiálů“.

## **Abstrakt**

Tato diplomová práce je zaměřena na přípravu a charakterizaci nanovláken polykaprolaktonu s antimikrobiálním nanoplňivem, tvořeným přírodním jílovým minerálem vermikulitem jakožto nosičem s vázanými antimikrobiálními organickými účinnými složkami chlorhexidinem a ciklopiroxolaminem a za účelem možných synergických účinků s anorganickou účinnou složkou oxidem zinečnatým. Struktura práškových vzorků byla charakterizována rentgenovou difrakční analýzou, infračervenou spektroskopií, skenovací elektronovou mikroskopií s analýzou EDS, dále byla hodnocena distribuce velikosti částic a  $\zeta$ -potenciál, měrný specifický povrch a stanoven obsah organického uhlíku. Vyhodnocení struktury polymerních nanovláken bylo provedeno metodami skenovací elektronovou mikroskopií, stanovením úhlu smáčivosti, diferenční skenovací kalorimetrií a termogravimetrickou analýzou. Antimikrobiální aktivita vůči kmenům *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans* byla do jisté míry zaznamenána pouze u vzorku PCL/ZnOVER\_CPX.

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

## **Abstract**

This diploma thesis is focused on preparation and characterization of polycaprolactone nanofibers with antimicrobial nanofiller, formed by the natural clay mineral vermiculite as a carrier with bonded chlorhexidine and ciclopiroxolamine as organic antimicrobial component and for possible synergic effect, the inorganic active component zinc oxide was also bounded. The structure of powder samples was characterized by X-ray diffraction analysis, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy with EDS analysis, the particle size distribution and  $\zeta$ -potential, specific surface area and the organic carbon content. The evaluation of polymer nanofibers structure was performed by scanning electron microscopy, determining the wetting angle, differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis. At least, the antimicrobial activity against strains of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* was detected only with sample PCL/ZnOVER\_CPX.

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

## Obsah

<b>Seznam použitých zkratk</b> .....	9
<b>Seznam obrázků a tabulek</b> .....	12
<b>1 Úvod</b> .....	14
<b>2 Teoretická část</b> .....	15
2.1 Polymerní nanovlákn	15
2.2 Elektrostatické zvlákňování (elektrospining) – historie a princip .....	15
2.2.1 Parametry zvlákňování .....	17
2.2.1.1 Vlastnosti roztoku .....	17
2.2.1.2 Procesní parametry přístroje .....	19
2.2.1.3 Vlastnosti okolního prostředí .....	20
2.3 Antimikrobiální polymerní nanovlákn	21
2.4 Antimikrobiální kompozity polymerních nanovláken a jílových minerálů.....	23
2.5 Polykaprolakton – vlastnosti a použití .....	26
2.6 Nanovlákn polykaprolaktonu.....	27
2.7 Antimikrobiální nanovlákn polykaprolaktonu.....	29
2.8 Vermikulit – struktura, vlastnosti, použití .....	33
2.9 ZnO – vlastnosti a použití.....	34
2.10 Chlorhexidin – vlastnosti a použití.....	34
2.11 Ciklopiroxolamin – vlastnosti a použití .....	35
<b>3 Experimentální část</b> .....	37
3.1 Příprava antimikrobiálních nanoplňiv .....	37
3.1.1 Použité chemikálie .....	37
3.1.2 Příprava vermikulitu s antimikrobiální anorganickou složkou ZnO.....	37
3.1.3 Interkalace účinné antimikrobiální organické složky CPX .....	37
3.1.4 Interkalace účinné antimikrobiální organické složky CH.....	38
3.2 Příprava nanokompozitních polymerních nanovláken .....	38

3.2.1	Použité chemikálie .....	38
3.2.2	Příprava polymerního roztoku polykaprolaktonu .....	38
3.2.3	Příprava nanovláken PCL a PCL s nanoplňivou .....	39
3.3	Metody charakterizace a jejich nástroje .....	40
3.3.1	Práškové vzorky nanoplňiv .....	40
3.3.1.1	Rentgenová difrakční analýza .....	40
3.3.1.2	Infračervená spektroskopie .....	40
3.3.1.3	Skenovací elektronová mikroskopie, EDS .....	40
3.3.1.4	Velikosti částic a $\zeta$ -potenciál, měrný specifický povrch .....	40
3.3.1.5	Stanovení obsahu organického uhlíku .....	41
3.3.2	Polymerní nanovlákná .....	41
3.3.2.1	Skenovací elektronová mikroskopie .....	41
3.3.2.2	Stanovení úhlu smáčivosti .....	41
3.3.2.3	Diferenční skenovací kalorimetrie .....	41
3.3.2.4	Termogravimetrická analýza .....	42
3.3.2.5	Antimikrobiální testy .....	42
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskuze .....</b>	<b>43</b>
4.1	Vyhodnocení struktury vzorků práškových nanoplňiv .....	43
4.1.1	Rentgenová difrakční analýza .....	43
4.1.2	Infračervená spektroskopie .....	45
4.1.3	Skenovací elektronová mikroskopie, EDS .....	49
4.1.4	Velikost částic, $\zeta$ -potenciál a měrný specifický povrch .....	54
4.1.5	Stanovení obsahu organického uhlíku .....	56
4.2	Vyhodnocení struktury polymerních nanovláken .....	56
4.2.1	Skenovací elektronová mikroskopie .....	56
4.2.2	Vyhodnocení úhlu smáčivosti .....	59
4.2.3	Diferenční skenovací kalorimetrie .....	60

4.2.4	Termogravimetrická analýza .....	61
4.2.5	Zhodnocení antimikrobiálních testů .....	62
<b>5</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>65</b>
<b>6</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>67</b>



## Seznam použitých zkratk

A	antibakteriální účinek
AgNP	nanočástice stříbra
AMX	amoxicilin
BCD	beta cyklodextrin
BET	Brunauer, Emmett a Teller
C2C12	buněčná linie myšního myoblastu
CFU	počet kolonií
CHCl <sub>3</sub> :DMF	chloroform:dimetylformamid
CNC	nanokrystalická celulóza
COL	kolagenem
CPX	ciklopiroxolamin
Cur	kurkumin
DMF	dimetylformamid
$d_{43}$	mean (aritmetický průměr, pro objem nebo hmotnost), $\mu\text{m}$
$d_{50}$	medián (průměrná velikost částic), $\mu\text{m}$
$d_m$	mode, $\mu\text{m}$
EDS	energievě disperzní spektroskopie
ERY	erytromycin
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
$\Delta H^0$	změna vnitřní entalpie (100%), $\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$
HA	hydroxyapatit
HAL	halloysit
HDPE	vysokohustotní polyethylen
HNT	halloysitové nanotrubičky
CH	chlorhexidin

IČ	infračervená spektroskopie
kDa	kilodalton
LAP	laponit
LDPE	nízkohustotní polyethylen
LED	(Light-Emitting Diode) elektroluminiscenční dioda
lg	logaritmus
MB	methylenová modř
MEA	agar se sladovým extraktem (angl. malt extract agar)
MMT	montmorillonit
PCL	poly ( $\epsilon$ -kaprolakton)
pDA	polydopamin
PDMS	polydimethyloxan
PE	polyethylen
PEG	polyethylengykol
PLA	polymléčná kyselina
PLGA	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
P (MMA-co-MAA)	kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu
PU	polyurethan
PVA	polyvinylalkohol
RSPM	respirabilní suspendované částicové hmoty
RTG	rentgenové záření
SCDPL	sojový kasein, lecitin a polysorbát (angl. Soya Casein Digest Lecithin)
SEI	detektor sekundárních elektronů
SEM/TEM	skenovací elektronová mikroskopie/transmisní elektronová mikroskopie
SNE	mátový olej nanoemulze
TCH	tetracyklin hydrochlorid

TCN	tetracyklin
TGA	termogravimetrická analýza
THF	tetrahydrofuran
THY	tymol
TSA	Trypton-sójový agar
UV-VIS	ultrafialové-viditelné záření
UZ	ultrazvuk
VER	vermikulit
3D	3 dimenzionální
$\zeta$	zeta
$\theta$	úhel smáčení théta, °

## Seznam obrázků a tabulek

<b>Obr. 1.</b> Schéma elektrostatického zvlákňování tryskou, přejato a upraveno [6].	16
<b>Obr. 2.</b> Morfologie vláken v závislosti na stoupající viskozitě a-h, převzato a upraveno [10].	18
<b>Obr. 3.</b> Znázornění obsahu typů plniva v polymerní nanovlákněné matrici, přejato a upraveno [1].	23
<b>Obr. 4.</b> Strukturní vzorec poly ( $\epsilon$ -kaprolaktonu) (PCL) [31].	27
<b>Obr. 5.</b> Strukturní vzorec chlorhexidin [50].	35
<b>Obr. 6.</b> Strukturní vzorec ciklopirox olaminu [54].	36
<b>Obr. 7.</b> Roztoky polymeru PCL a PCL s plnivou k elektrostatickému zvlákňování.	39
<b>Obr. 8.</b> RTG záznam spekter práškových vzorků VER, CH, VER_CH, CPX, VER_CPX v rozmezí 2 – 12 $\mu\text{m}$ .	44
<b>Obr. 9.</b> RTG záznam spekter práškových vzorků ZnOVER, CH, ZnOVER_CH, CPX, ZnOVER_CPX.	45
<b>Obr. 10.</b> IČ spektra VER, CH, VER_CH, CPX a VER_CPX.	46
<b>Obr. 11.</b> IČ spektra ZnOVER, CH, ZnOVER_CH, CPX a ZnOVER_CPX.	47
<b>Obr. 12.</b> SEM snímky VER, VER_CH, VER_CPX ve zvětšení 400x, 2500x a 8000x.	49
<b>Obr. 13.</b> SEM snímky ZnOVER, ZnOVER_CH, ZnOVER_CPX ve zvětšení 400x, 2500x a 8000x.	50
<b>Obr. 14.</b> SEM snímky s EDS analýzou vzorku VER, 2500x.	51
<b>Obr. 15.</b> SEM snímky s EDS analýzou vzorku VER_CPX, 2500x.	52
<b>Obr. 16.</b> SEM snímky s EDS analýzou vzorku VER_CH, 2500x.	52
<b>Obr. 17.</b> SEM snímky s EDS analýzou vzorku ZnOVER, 2500x.	53
<b>Obr. 18.</b> SEM snímky s EDS analýzou vzorku ZnOVER_CPX, zvětšení 2500x.	53
<b>Obr. 19.</b> SEM snímky s EDS analýzou vzorku ZnOVER_CH, 2500x.	54
<b>Obr. 20.</b> SEM snímky nanovláken PCL s plnivou VER, VER_CH a VER_CPX a vyhodnocení úhlu smáčení.	58
<b>Obr. 21.</b> SEM snímky nanovláken PCL s plnivou ZnOVER, ZnOVER_CH a ZnOVER_CPX a vyhodnocení úhlu smáčení.	59
<b>Obr. 22.</b> TGA záznamy vzorků polymerních nanovláken s danými plnivou.	62
<b>Obr. 23.</b> Kolonie kmene (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>C. albicans</i> vzorků nanovláken v čase po 96 h, při daných zředěních.	64

<b>Tabulka 1.</b> Značení připravených práškových vzorků a příslušné hmotnostní poměry....	38
<b>Tabulka 2.</b> Značení připravených práškových vzorků a příslušné hmotnostní poměry....	38
<b>Tabulka 3.</b> Souhrn vhodných kombinací rozpouštědel k přípravě roztoků pro zvláknování.....	39
<b>Tabulka 4.</b> Nejvýznamnější vlnočty absorpčních pásů vzorků VER, CPX, CH, ZnOVER a jejich přiřazení charakteristickým vibracím [59, 60].....	48
<b>Tabulka 5.</b> Velikosti částic $d_{50}$ , $d_{43}$ a $d_m$ , $\zeta$ -potenciál a měrný specifický povrch práškových vzorků.....	55
<b>Tabulka 6.</b> Hodnoty stanovení obsahu organického uhlíku práškových vzorků.....	56
<b>Tabulka 7.</b> Průměrné hodnoty úhlů smáčivosti vzorků nanovláken. ....	60
<b>Tabulka 8.</b> Hodnoty diferenční skenovací kalorimetrie daných vzorků. ....	61
<b>Tabulka 9.</b> Hodnoty termogravimetrické analýzy jednotlivých vzorků polymerních nanovláken.....	62
<b>Tabulka 10.</b> Hodnoty pro posouzení antibakteriálního účinku připravených nanovláken pro kmen <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	63
<b>Tabulka 11.</b> Hodnoty pro posouzení antibakteriálního účinku připravených nanovláken pro kmen <i>Candida albicans</i> .....	64

# 1 Úvod

Antimikrobiální polymerní kompozity s nanovláknennou strukturou představují v současné době perspektivní materiál především pro oblast biomedicínských aplikací. Díky svým specifickým vlastnostem nabízí řešení celé řady problémů spojenými s nežádoucími mikroorganismy, zejména s jejich rezistencí. Dále nachází uplatnění při aplikacích týkajících se filtrace, obvazových materiálů, ochranných textilií, tkáňových lešení či biomedicínských zařízení. Vzhledem k oblastem jejich možné aplikace, jsou kladeny vysoké nároky na jejich přípravu a s ní spojené výsledné vlastnosti připravených materiálů jako stabilitu, netoxicitu, uvolňování účinných složek a podobně.

Aktuálně existuje řada studií, které se zabývají přípravou a charakterizací antimikrobiálních kompozitů s různými typy polymerních nanovláknenných matic v kombinaci s fylosilikátovými plnivými obsahujícími účinné antimikrobiální složky. Při studiu vlastností těchto materiálů je kladen důraz především na stabilitu, biodegradabilitu a antimikrobiální vlastnosti, kdy tyto vlastnosti úzce souvisí nejen s vhodnou volbou plniva a účinných složek, ale také s jejich poměrem a vhodnou kombinací typu polymerní matrice, jílového nosiče a účinných složek. Přesto tato oblast poskytuje stále nové výzkumné výzvy v přípravě cílených nanovláknenných polymerních kompozitů s vylepšenými vlastnostmi.

Cílem této diplomové práce byla příprava a charakterizace nanovláken polykaprolaktonu s antimikrobiálním plnivem tvořeným jílovým nosičem vermikulitem s vázanými organickými složkami chlorhexidinem a ciklopiroxolaminem a za účelem synergických účinků byly připraveny také plniva s vermikulitem modifikovaným anorganickou složkou oxidem zinečnatým. Tato polymerní nanovláknena mohou nalézt využití jako zdravotnický materiál s postupným uvolňováním účinné látky na požadovaném místě účinku.

## **2 Teoretická část**

### **2.1 Polymerní nanovlákná**

Polymerní vlákna jsou považována za nanovlákná, pakliže je jejich průměr menší než 100 nm. Charakteristickými rysy a výhodami nanovláken jsou především jejich flexibilita, povrchová funkčnost, vynikající mechanická odolnost, malý průměr pórů a vysoká pórovitost [1, 2].

Díky vysokému poměru povrchu k hmotnosti, vykazují nanovlákná specifické vlastnosti, díky nimž je výhodné jejich užití pro širokou škálu aplikací v různých vědních a průmyslových oblastech, jako jsou například medicína, spotřební zboží, průmyslové až high-tech aplikace pro letecký a kosmický průmysl, dále pro tranzistory, kondenzátory, odlučovače baterií, cílenou dopravu léčiv, palivové články, skladování energie a informační technologie. Běžně se pro tyto aplikace užívají nanovlákná připravená z polymerů jako je nylon, polyakrylonitril, polystyren, polykarbonát, polyethylen tereftalát a další. Dále se k výrobě polymerních nanovláken užívají přírodní polymery jako je kolagen, želatina, chitosan, kyselina hyaluronová a hedvábný fibrion, přičemž tyto typy nanovláken mají potenciál pro tvorbu podpůrné struktury pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Některé typy polymerních nanovláken se také využívají pro zvýšení rozpustnosti ve vodě, biologického rozpoznávání a biokompatibility. Požadavky u nanovláken pro medicínské aplikace jsou vysoká účinnost zapouzdření, vysoká kapacita dávkování léčiva a souběžné dodávání různých terapií. Mimo jiné má tedy užití nanovláken slibnou budoucnost v biomedicínské oblasti i v pooperační lokální chemoterapii. Díky svým jedinečným vlastnostem lze nanovlákná použít jako inteligentní polymerní nanočástice pro dopravu léčiv do rakovinových buněk [3].

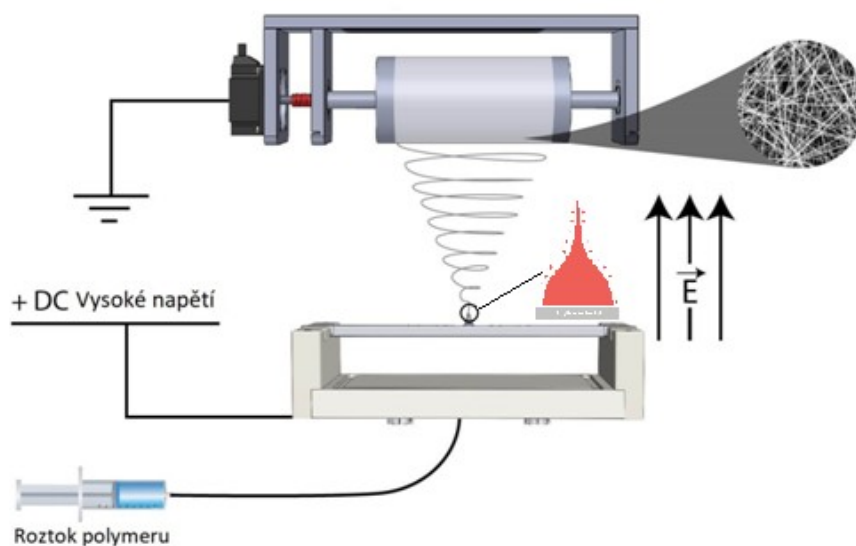
Syntéza nanovláken se provádí různými technikami, včetně použití fyzikálních, chemických, tepelných a elektrostatických metod, jako jsou fázová separace, tavné vyfukování, samo sestavování a syntéz templátů, přičemž jednou z nejvíce studovaných metod je elektrostatické zvlákňování, které se také přednostně užívá ve velkovýrobě [2, 3].

### **2.2 Elektrostatické zvlákňování (elektrospining) – historie a princip**

Elektrostatické zvlákňování je jednoduchá, flexibilní a přímá elektrodepoziční technika pro výrobu nanovláken s navrženou strukturou a morfologií, jejíž historie sahá do 19. století, přičemž důležitým mezníkem byl rok 1900, kdy John Francis Cooley podal první patent elektrostatického zvlákňování [4, 5]. Metodou elektrostatického zvlákňování mohou být

připravena jak polymerní nanovlákna, tak vlákna jejich kompozitů [1, 2]. Proces přípravy vláken kompozitů různých polymerů patentoval v roce 1930 Formhals [4].

Zařízení pro elektrostatische zvlákňování mají dvě hlavní nastavení, vertikální a horizontální a skládají se ze třech hlavních součástí, kterými jsou napájecí zdroj (vysoké napětí – emitor), stříkačka (zvlákňovací tryska) a sběrač (elektroda – kolektor) - (Obr. 1) [4]. V základu se při přípravě polymerních nanovláken elektrostatickým zvlákňování vychází z roztoku daného polymeru, jež je přiváděn na elektrodu (emitor) v podobě kovové jehly s dutým otvorem, která je pod vysokým napětím, a to až desítky tisíc voltů. Kovový kolektor pak může být různých tvarů. Při působení silného elektrického pole se generují elektrické náboje, které se hromadí na povrchu polymeru. Tyto náboje se vzájemně odpuzují tak, že při kritickém elektrickém poli jsou schopny překonat povrchové napětí roztoku a vytvořit z polymerního roztoku tzv. Taylorův kužel (v roce 1969 popsal Sir Geoffrey Ingram Taylor teoretický základ elektrostatische zvlákňování matematickým modelováním tvaru kužele tvořeného kapkou tekutiny pod působením elektrického pole), z jehož vrcholu vystřeluje tenké vlákno, které se dostává vlivem gradientu elektrického pole směrem k druhé uzemněné elektrodě (kolektoru). Během toho procesu dochází současně k odpařování rozpouštědla a tuhnutí vlákna. Nakonec je vytvořena netkaná textilie se specifickými vlastnostmi [4].



**Obr. 1.** Schéma elektrostatische zvlákňování tryskou, přejato a upraveno [6].



### 2.2.1 Parametry zvlákňování

Proces zvlákňování může být ovlivněn několika faktory, například vlastnostmi roztoku (koncentrace, povrchové napětí, viskozita, apod.), okolními podmínkami (tlak, teplota, vlhkost), a také nastavením přístroje a procesními podmínkami jako jsou vzdálenost emitoru od kolektoru či povaha a síla elektrického pole [4, 7].

#### 2.2.1.1 Vlastnosti roztoku

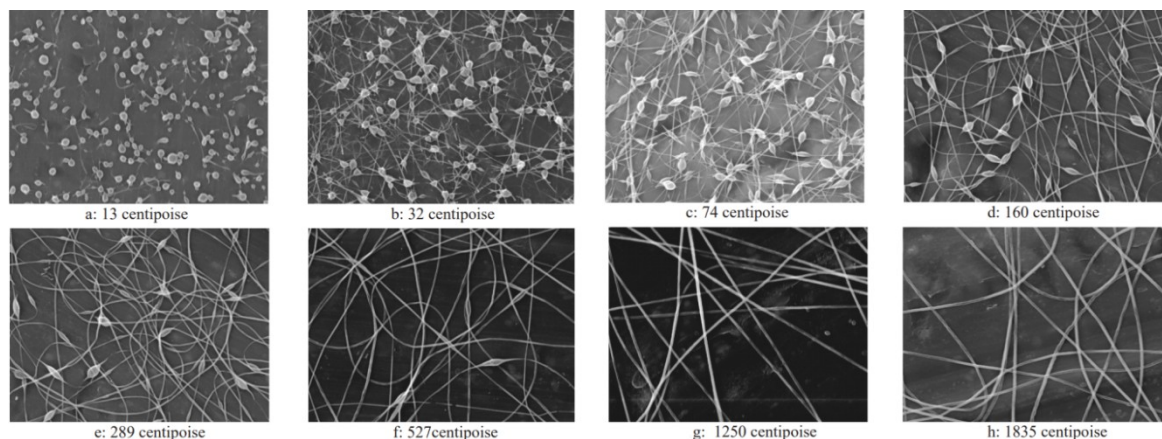
Vlastnosti polymerního roztoku hrají důležitou roli při tvorbě nanovláken z hlediska jejich průměru a morfologie. Tvorba a přítomnost perliček v jednotlivých vláknech při elektrostatickém zvlákňování souvisí s vlastnostmi zvlákňovaného roztoku, zejména jeho viskozitou a povrchovým napětím [8].

##### *Povrchové napětí roztoku*

Jednou z klíčových vlastností roztoku v procesu elektrostatického zvlákňování je povrchové napětí, jež určuje elektrospinabilitu procesu, přičemž uvažujeme povrchové napětí jako primární sílu, která působí proti aplikovanému napětí. Roztoky s nízkým povrchovým napětím pak produkují hladká vlákna bez perliček (od zcela kulatých až po podlouhlé). Nižší povrchové napětí roztoku navíc pomáhá vytvářet vlákna při nižším poli. Avšak ne všechny roztoky s nízkým povrchovým napětím lze pomocí elektrostatického zvlákňování připravit. Minimální napětí pro výrobu nanovláken se zvyšuje s povrchovým napětím roztoku, ale ne vždy lineárně [4]. Povrchové napětí polymerních roztoků se mění v závislosti na koncentraci, chemickém složení a teplotě [8].

##### *Koncentrace polymeru a viskozita roztoku*

Výše zmíněné povrchové napětí jde ruku v ruce s koncentrací a viskozitou polymerního roztoku. U polymerních roztoků s příliš nízkou koncentrací dochází k nedostatečné deformaci/propletení polymerních sítí a působením elektrostatického pole a povrchového napětí před depozicí vlákna na kolektor se mohou tyto rozbít na menší částičky, a jsou poté příčinou tvorby nanovláken s perličkami. V souvislosti s koncentrací polymerního roztoku a jejími změnami, pak uvažujeme také závislost na viskozitě, která je úměrná koncentraci. Zvyšováním koncentrace polymerního roztoku tedy roste jeho viskozita a dochází k většímu vzájemnému proplétání polymerních řetězců. Takto propletená vlákna překonávají povrchové napětí, až nakonec dojde k tvorbě hladkých vláken (Obr. 2) [7, 9].



**Obr. 2.** Morfologie vláken v závislosti na stoupající viskozitě a-h, převzato a upraveno [10].

Pokud by však došlo k překročení dané mezní hodnoty koncentrace, zpomalí se průtok roztoku hrotem jehly, může dojít k zaschnutí polymeru a následně k ucpání špičky jehly, a tedy k dalším možným defektům vláken nebo opět k tvorbě perliček. Se změnou viskozity dochází ke změně tvaru perliček. Roztoky s nižší viskozitou obsahují kulaté perličky, s rostoucí viskozitou se postupně jejich tvar protahuje až do podoby hladkých vláken. Pro tvorbu vláken pomocí elektrospinningu je tedy nutné nalézt optimální viskozitu roztoku, jelikož při velmi nízké viskozitě se získávají perličky místo vláken a při velmi vysoké viskozitě je obtížné vytlačit roztok polymeru ze zvlákňovací trysky. Viskoelastická síla uvnitř paprsku nabitého polymerem je klíčovou při působení proti Coulombickému odpuzování, což je hlavní síla vedoucí k prodloužení paprsku po vrcholu Taylorova kužele. Předchozí studie prokázaly vliv viskozity napájecího roztoku na velikost vlákna a obecně větší viskozita znamená větší velikost vlákna a jeho rovnoměrnější tvorbu [7, 9].

### ***Vodivost roztoku***

Stejně tak jako typ polymeru, použitého rozpouštědla, popř. přídavek solí ovlivňují vodivost, tak následně vodivost roztoku má vliv na průměr nanovláken. U roztoku s nízkou vodivostí bude kapka bez povrchového náboje, nedojde k vytvoření Taylorova kužele a ani k procesu zvlákňování. Pokud dojde ke zvýšení vodivosti roztoku na kritickou hodnotu, vzroste povrchový náboj kapky, vytvoří se Taylorův kužel a po dalším zvýšení vodivosti roztoku bude průměr vláken vlivem elektrického pole klesat. Avšak překročení kritické hodnoty vodivosti roztoku opět zabrání tvorbě Taylorova kužele, jelikož vysoce vodivé polymerní roztoky jsou v silném poli nestabilní [4]. Na konečný průměr vláken mají významný vliv délka stabilní trysky a chování polymeru v oblasti bičování, kdy díky

natahování vláken vlivem povrchových nábojů v oblasti bičování bývá dosaženo nanorozměrů vláken [10].

### ***Rozpouštědla***

Na výsledný tvar nanovláken při procesu zvlákňování má klíčový vliv volba vhodného rozpouštědla. Je podstatné, aby byl polymer v daném rozpouštědle dokonale rozpustný za vzniku homogenního roztoku a rozpouštědlo bylo přiměřeně těkavé, jelikož těkavá rozpouštědla se během formování nanovláken snadno vypařují. Avšak pokud by bylo na jednu stranu použito vysoce těkavé rozpouštědlo, došlo by k jeho rychlému odpaření a zasychání roztoku na hrotu jehly a jejímu ucpání, což by vedlo k přerušení zvlákňovacího procesu. Nebo pokud by naopak bylo použito málo těkavé rozpouštědlo, jež by se nevypařilo úplně, na kolektoru by se usadila nanovláknina s obsahem rozpouštědla a mohlo by tak dojít k tvorbě perliček. Velmi často se také využívá kombinace rozpouštědel, kdy v jednom z nich není polymer rozpustný, a takto je možné vytvořit vysoce porézní nanovláknina, jelikož rozdílná míra vypařování rozpouštědel způsobí separaci fází a tvorbu pórů ve vlákněch [4].

#### **2.2.1.2 Procesní parametry přístroje**

Vzdálenost hrotu jehly ke kolektoru, napětí, průtok či typ použitého kolektoru a průměr jehly představují další důležité parametry ovlivňující morfologii elektrovlákňovaných nanovláken.

##### ***Vzdálenost jehly a kolektoru***

Nastavení vzdálenosti hrotu jehly (emitoru) ke sběrači (kolektoru) se využívá k ovlivnění průměru a morfologie nanovláken. Dochází tak ke změnám síly elektrostatického pole a jeho rozložení, a tedy i depozičního času, míry odpaření rozpouštědla a velikosti nestabilní oblasti bičování, proto je třeba určit a udržovat optimální vzdálenost mezi elektrodami, abychom připravili hladká a jednotná vlákna. Při příliš malé vzdálenosti dochází k tvorbě vláken o velkém průměru a s mnoha defekty. Zvyšující vzdálenost pak způsobuje pokles průměru vláken [4].

##### ***Typ kolektoru***

Správná volba kolektoru má vliv na samotný proces elektrovlákňování, kdy za kolektor považujeme vodivé elektrody, jež tvoří nanovláknina. Jedním z častých typů kolektorů je hliníková (Al) fólie. U tohoto typu je však problém s odebráním vytvořených nanovláken z jejího povrchu. Mezi další typy kolektorů pro přípravu uspořádaných vláken patří například vodivá tkanina, síťovina a papír, kolík, rovnoběžná nebo mřížová tyč a rotující tyč nebo

kotouč. Nanovlákná jsou na kolektoru zvlákňována nahodile, a to vlivem nestability vysoce nabitého ohnutého paprsku. Pro získání zarovnaných vláken je možné použít terč/kolektor s konstantní rychlostí otáčení. V dnešní době je pro přípravu takto srovnaných nanovláken používán kolektor v podobě rotujícího bubnu nebo kotouče. Navíc rozdělené elektrody se skládají ze dvou vodivých kovů s mezerou a jsou použity pro sběr/uchycení vytvořených nanovláken [4].

### ***Průměr hrotu jehly***

Důležitým faktorem, jenž ovlivňuje výsledný průměr nanovlákná a jeho morfologii, je vnitřní průměr jehly. Zmenšení vnitřního průměru jehly je doprovázeno zmenšením poloměru kapiček polymeru, přičemž zmenšování jejího vnitřního průměru může také způsobit ucpání jehly. Při zachování konstantního průtoku a elektrického pole se při snižování průměru vycházejícího paprsku polymeru zvyšuje jeho rychlost, a proto se doba pohybu od špičky jehly ke kolektoru snižuje, což má za následek snižování odpařování rozpouštědla a štěpení paprsku za vzniku elektrosvlákněných nanovláken o malém průměru a úzké distribuci. Malý vnitřní průměr jehly, vysoká rychlost proudění polymeru a nízké odpařování rozpouštědla pak vedou k tvorbě vláken nízké kvality [4].

### ***Objemový průtok hrotem jehly***

Průtok polymerního roztoku ze stříkačky má také důležitou roli v procesu elektrostatického zvlákňování. Důvodem je ovlivnění počáteční rychlosti trysky a rychlost pohybu polymeru. Tvorbu nanovláken bez přítomnosti kuliček podporuje nízký průtok související s dostatečným časem pro odpaření rozpouštědla. Vysoký průtok vede k produkci korálkových vláken z důvodu nedostatku času pro sušení během pohybu vláken na kolektor [4].

#### **2.2.1.3 Vlastnosti okolního prostředí**

Průměr a morfologii nanovláken ovlivňují také okolní podmínky, jako jsou teplota a relativní vlhkost.

### ***Teplota***

Existuje přímá spojitost mezi těkavostí rozpouštědla, jeho odpařováním a teplotou. Kdy teplota ovlivňuje také povrchové napětí a viskozitu polymerního roztoku [4].

### ***Relativní vlhkost a teplota***

Konkrétně v závislosti na chemickém základu zvlákňovaného polymeru, hraje důležitou roli změna vlhkosti, kterou lze do určité míry regulovat průměr nanovláken [10].

Morfologie nanovláken je ovlivněna také vlhkostí, kdy při jejím zvyšování dochází k tvorbě pórů ve vláknech. Regulací vlhkosti jsou pak tvořena modifikovaná elektrovlákněná nanovlákná. Existuje také další spojitost mezi nízkou vlhkostí, obdobně jak bylo popsáno výše, kdy při velmi nízké vlhkosti, dochází k rychlému odpařování těkavého rozpouštědla, což vede k ucpaní jehly. Vysoká vlhkost pak může způsobit vybití nanovláken. Je tedy potřeba dobře regulovat/sledovat okolní parametry procesu elektrostatického zvláknění [4].

### 2.3 Antimikrobiální polymerní nanovlákná

Polymerní nanovlákná připravená elektrostatickým zvlákněním, s vázanou antimikrobiální složkou, mají velký potenciál v řešení problematiky přítomnosti celé řady nežádoucích mikroorganismů, a to například při aplikacích týkajících se filtrace, obvazových materiálů, ochranných textilií, tkáňových lešení či biomedicínských zařízení [11].

Mnohé studie se zabývají různými typy polymerních nanovláken s řadou antimikrobiálních látek a shrnují účinky vázání antimikrobiálních složek na vlastnosti roztoků prekurzorů různých polymerních systémů a vlastnosti výsledných nanovláken. Je také diskutován antimikrobiální mechanismus jednotlivých složek a rozdílné metody pro maximalizaci antimikrobiálního účinku nanovláken připravených metodou elektrostatického zvláknění [11].

Vzhledem k prevalenci antimikrobiální rezistence patogenů, jsou za potenciální alternativu zdravotnických materiálů považovány přírodní materiály s dlouhodobou antimikrobiální aktivitou. Polymerní nanovlákná umožňují imobilizaci antimikrobiálních sloučenin a jejich struktura, jež je podobná extracelulární matici, má vysokou porozitu, což umožňuje propustnost plynů, ale zabraňuje bakteriím penetrovat, a tak působí jako fyzická bariéra. Pro tyto účely je zkoumána příprava a charakterizace řady biodegradabilních polymerních nanovláken jako jsou například polykaprolakton (PCL), polymléčná kyselina (PLA), kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) a další přírodní polymery jako polysacharidy, proteiny, polyestery a podobně [12].

Biologicky rozložitelné syntetické krycí a podpůrné materiály představují velký příslib pro oblast orální a kraniofaciální regenerace tkání a kostí, jelikož zde dochází k hojnému množení bakteriálních patogenů. Za tímto účelem bývá volena aplikace průvodce regenerace tkáně a kostní regenerace jako podstatné regenerační přístupy k obnovení zdraví a funkce parodontálních tkání a kraniofasciálních kostních defektů. Membrána je situována v oblasti defektu kosti jako bariéra pro tvorbu a udržování prostoru proti invazi epiteliálních a jiných

měkkých tkání a zároveň umožňující osteogenním buňkám repopulaci kostního defektu. Mezi membrány tohoto typu, jsou řazena biologicky rozložitelná syntetická lešení, jejichž atraktivita spočívá především v biodegradabilitě a schopnosti posloužit jako lokální doručovací systém pro dosažení vysoké lokální koncentrace dodávané sloučeniny. Membrány na bázi polymeru byly průběžně vylepšovány zakomponováním kompatibilních systémů uvolňování léčiv a zajištěním buněčné integrity při regulaci dynamiky extracelulárního mikroprostředí. Vzhledem k biologické kompatibilitě a rozložitelnosti těchto materiálů, jejich pružné mechanické kapacitě a kontrolovatelné dopravě bioaktivních materiálů, jsou syntetické polymery jako PLGA, PCL a další široce užívány v metodě elektrostatického zvláknění a jako základní matrice s 3D porézní strukturou, která napodobuje uspořádání nativní extracelulární matrice. Takto zvlákněná polymerní matrice poskytuje správný 3D mezivlákněný prostor dostatečný k přizpůsobení buněčné adhezi a expanzi podél náhodně orientovaných nanovláken. Avšak osteogenní a antibakteriální vlastnosti těchto syntetických lešení bývají často omezené nebo chybí. Za účelem zlepšení schopnosti regenerace tkání byly zkoumány kombinace těchto membrán s dalšími účinnými materiály, například dentální materiály obsahující stříbro (Ag) kvůli zvýšení antimikrobiálních vlastností a proti tvorbě zubního kazu [13].

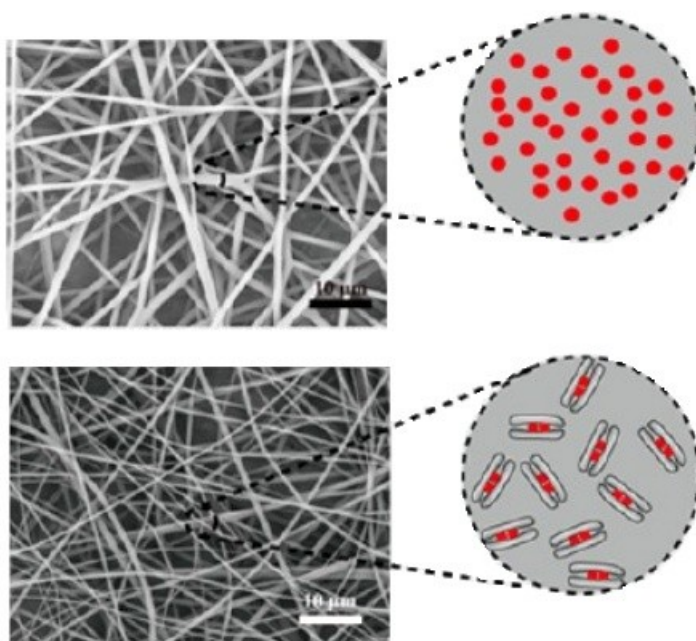
Význam polymerních nanovláken jako nosiče k cílené dopravě účinných antimikrobiálních a léčivých složek potvrzuje také práce, jež věnuje pozornost polymernímu nosiči na bázi PLA mikro/nanovláken, obsahující hydrofóbní léčivé složky jako imunosupresivum cyklosporin A a cytostatikum paklitaxel. Lokální zvýšení koncentrace těchto léčiv při dlouhodobém uvolňování pak umožní snížení celkové dávky léčiv a tím výrazně snížit nežádoucí účinky aplikace. Ke zvýšení celkové kompatibility systému a ovlivnění rychlosti uvolňování hydrofobního léčiva do vodného prostředí, byly do vláken během přípravy inkorporovány amfifilní molekuly polyethylenglykolu (PEG) o různých molekulových hmotnostech (6,20 a 35 kDa). Bylo zjištěno, že přidání PEG do nanovláken způsobilo významný nárůst uvolněného množství léčiv a přispělo k prodloužení doby uvolňování. Přítomnost PEG ve vláknech současně vyvolala násobný nárůst uvolněného léčiva do hydrogelů v porovnání s uvolňováním do vodných médií. Ve výsledku jsou PLA-PEG nanovláknata potenciálně vhodná k užití jako účinné nosiče pro potlačení lokální zánětlivé reakce, odpovědi imunitního systému a pro lokální léčbu recidivujících nádorů [14].

Další studií věnující se přípravě a možnostem využití polymerních nanovláken jako obvazových materiálů ve zdravotnictví je práce autorů *Yuan Gao a kol* [15]. V této studii byly

do polymerních nanovláken zakomponovány různé biocidy, například antibiotika, kvartérní amoniové soli, triklosan, biguanidy, nanočástice (Ag, TiO<sub>2</sub>, ZnO) a chitosan. Jednotlivé látky byly do nanovláken začleněny různými technikami. Vlivem malého průměru vláken pak při kontaktu s vodným prostředím docházelo k uvolňování biocidů, kdy k udržení uvolňování po dobu několik dní bylo možno použití několika strategií zahrnující strukturu jádrového pláště nanovlákná, kovalentní vazby biocidu na povrchu vláken a absorpce biocidu v nanostrukturách [15].

#### 2.4 Antimikrobiální kompozity polymerních nanovláken a jílových minerálů

Důležitou vlastností nosičů je schopnost absorbovat různé účinné např. antimikrobiální látky, kdy takto dostáváme modifikované formy plniv pro polymerní matrice (Obr. 3). Díky této schopnosti jsou vhodnými kandidáty pro nosiče antimikrobiálních sloučenin právě jílové minerály, u nichž byla sledována modifikace jak anorganickými/kovovými/oxidy kovů nanočástic (Ag, Cu, Zn, ZnO atd.) tak organickými látkami (terbinafin, chlorhexidin diacetátu atd.). Následně připravené nanokompozity polymer/jílový minerál pak vykazují zlepšení bariérových vlastností, mechanické pevnosti a tepelné odolnosti na rozdíl od samotných polymerů [16, 17]. Organojílové polymerní nanokompozity vykazují zlepšení vlastností oproti původnímu polymeru či konvenčním mikro a makro kompozitům. V neposlední řadě je pak užítí nanokompozitů vhodné kvůli efektivnější interakci s biologickými strukturami, jelikož vlastnosti těchto struktur korespondují s vlastnostmi materiálů o nanorozměrech [18].



Obr. 3. Znázornění obsahu typů plniva v polymerní nanovláknenné matrici, přejato a upraveno [1].

Antimikrobiální vlastnosti skupiny nanokompozitů polymer/jílový minerál v základu závisí na užití vhodného plniva s funkcí nosiče antimikrobiálních účinných složek, současně také na vhodně zvolené antimikrobiální polymerní matici, kdy při vhodné kombinaci je zvýšena účinnost antimikrobiálních látek. Je zapotřebí zohlednit také konkrétní vlastnosti polymerů pro tvorbu matrice jako je biodegradabilita a biokompatibilita. Polymery s těmito vlastnostmi jsou například PLA, poly(glykolidy), polyvinylalkohol (PVA), PEG a PCL. Účinnost antimikrobiální činidla je dále ovlivněna časem, teplotou, pH a koncentrací [18, 19].

Řada prací se zabývá přípravou a popisem antimikrobiálních vlastností různých nanokompozitů na bázi polymer/jílový minerál. Ve studiích je jedním z nejčastěji popisovaných polymerů, jež tvoří matici s plnivem modifikovaného jílového minerálu, polyethylen, kdy výsledný nanokompozit vykazoval antimikrobiální účinek [16]. Při studiu nanokompozitů s polymerní maticí jak vysokohustotního (HDPE), tak nízkohustotního (LDPE) polyethylen, byly sledovány jak mechanické tak antimikrobiální vlastnosti připravených nanokompozitů s řadou zakomponovaných modifikovaných plniv typů jílových minerálů jako je montmorillonit [16, 17, 20] a vermikulit [19, 18, 21, 22]. Jako další polymery k přípravě matic byly v dřívějších studiích použity také polydimethyloxan (PDMS), polyurethan (PU), PLA, PCL a další [16].

Ve studii *Xiangyang Shi a kol.* [1] se autoři zabývali zapouzdřením léčiva amoxicilinu (AMX) v nanovlákních kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) společně s laponitem (LAP) pro biomedicínské aplikace. Nejprve byly nanodisky syntetického jílového minerálu LAP použity k zapouzdření AMX a následně byly začleněny do PLGA nanovláken prostřednictvím metody elektrostatického zvláknování za vzniku hybridních nanovláken LGA/LAP/AMX. U připravených vzorků hybridních nanovláken byl zkoumán profil uvolňování léčiva *in vitro*, antimikrobiální aktivita a cytokompatibilita. Bylo zjištěno, že začlenění AMX do nanodisků LAP, nevedlo ke změně morfologie LAP, krystalické struktury ani změně morfologie nanovláken PLGA, přičemž začlenění AMX do LAP dopovaných nanovláken PLGA umožnilo trvalé uvolňování AMX a to mnohem pomaleji oproti jednomu nosiči LAP nebo PLGA nanovláken. Dále bylo zjištěno, že antimikrobiální aktivita AMX vůči inhibici růstu modelové bakterie *S. aureus* není po vložení do hybridních nanovláken ohrožena a nanovlákná PLGA/LAP/AMX vykazují cytokompatibilitu podobnou čistým PLGA nanovláknům. Díky profilu prodlouženého uvolňování a rezervované antimikrobiální aktivitě může tento systém pro dodání léčiv na bázi organicko/anorganických



hybridních nanovláken najít různé aplikace v oblasti tkáňového inženýrství a ve vědní oblasti farmacie [1].

Přípravou nanovláčenných membrán a kombinací s jílovým minerálem nesoucím účinnou antimikrobiální složku se zabývali také autoři *Pushpamalar a kol.* [23]. Kdy byla vytvořena vícevrstvá porézní membrána tvořená polymléčnou kyselinou (PLA) a halloysitem (HAL) se zapouzdřeným aminoglykosidovým antibiotikem gentamicinem metodou elektrostatického zvláknování. Membrána vykazovala hladkou morfologii a rovnoměrnou distribuci vláken, různé vrstvy PLA rohoží byly dohromady těsně spojeny. Membrána PLA s HAL dopovaným gentamicinem vykazovala významné zlepšení mechanických vlastností, stability a vlivem přítomnosti HAL zlepšení tepelné stability nanovláčenných membrán. Bylo zaznamenáno nejprve postupné uvolňování gentamicinu, po kterém následovalo zpomalení uvolňování až na 48 hodin. Antimikrobiální aktivita testovaná proti grampozitivnímu kmenu *S. aureus* a gramnegativnímu kmenu *E. coli* bakteriím ukázala zachování antimikrobiální aktivity gentamicinu při uvolňování z nanovláčenné membrány. Získané výsledky těchto nanokompozitních membrán poukazují na využití pro prevenci infekcí při regeneraci kostí [23].

Přípravu fotodynamických materiálů tvořených elektrostaticky zvlákněnými nanovláčny kopolymeru kyseliny methakrylové a methylnmethakrylatu (P (MMA-co-MAA)) dopovanými montmorillonitem (MMT) a dále fotocitlivým kationem methylenové modře (MB) se zabývali autoři *Ghiladi, Wei a kol.* [24]. Výsledná kompozitní nanovláčna byla charakterizována spektroskopickými (IČ, UV-VIS, fluorescenční) a fyzikálními (SEM/TEM, gravimetrie) metodami. Přidáním MMT (0 – 6 hm. %) se zvýšila adsorpce fotosenzibilizátoru methylenové modři a to z 21,5 mg (67,1  $\mu\text{mol}$ )/g P(MMA-co-MAA) mateřského kopolymeru na 30,0 mg (93,8  $\mu\text{mol}$ )/g P(MMA-co-MAA)/MMT-6 kompozitních nanovláčen. Kompozitní nanovláčna vykazovala 99,997 % (4,8 log jednotek) a 97 % (1,8 log jednotek) snížení CFU/ml vůči kmenu *S. aureus* a *E. coli* po osvětlení viditelným světlem (LED lampa, 30 minut,  $35 \pm 5 \text{ mW/cm}^2$ ), což ukazuje, že zvýšené zatížení fotosenzibilizátoru vedlo ke zvýšení účinnosti fotodynamické deaktivace o 1-2 log jednotky. Ve výsledku mohou MMT a podobná aditiva být univerzální metodou pro zvýšení adsorpční kapacity kationových fotosenzibilizátorů v nanovláčnech, čímž mohou vzniknout materiály se zlepšenou účinností fotodynamické inaktivace, aniž by se významně měnila morfologie vláken, náklady či snadnost výroby [24].

Dalším jílovým minerálem užitým jako nosič účinného antibiotického léčiva při přípravě kompozitních polymerních nanovláken za účelem vytvoření systému nanovláken pro dodání léčiv s vlastností řízeného uvolňování, byl halloysit. Autoři této práce připravili kompozitní nanovlákná tvořená tetracyklin hydrochloridem (TCH), halloysitovými nanotrubičkami (HNT) a PLGA (TCH/HNTs/PLGA). Výsledky testování připraveného materiálu prokázaly, že začlenění HNT plněných TCH do nanovláken PLGA zlepšila pevnost v tahu a zároveň zachování trojrozměrné struktury nanovláknenných rohoží. Test životaschopnosti in vitro a pozorování ze SEM snímků myších fibroblastových buněk nanosených na vláknitá lešení ukázala, že kompozitní nanovlákná TCH/HNTs/PLGA jsou cytotokompatibilní a jsou schopna uvolňovat antibakteriální léčivo TCH udržitelným způsobem po dobu 42 dnů a vykazují antimikrobiální aktivitu spojenou pouze se zapouzdřeným léčivem TCH. Díky tomu, může být vyvinut kompozitní nanovláknenný materiál pro dodání léčiv a užíván jako terapeutické lešení pro tkáňové inženýrství a další aplikace cíleného dodání léčiv [25].

Popsány byly také nanovláknenné rohože, konkrétně sericin/polyvinyl alkohol (PVA)/jílový minerál (cloisit 30B), připravené elektrostatickým zvlákněním, jež byly užity jako antimikrobiální masky pro filtraci vzduchu. Při přípravě nanovláken byly vhodně voleny parametry pro proces elektrostatického zvlákněvání za účelem tvorby nanovláken bez přítomnosti korálek v závislosti na obsahu jílového minerálu. Průměr zvlákněných vláken se pohyboval od 300 do 400 nm za různě specifických podmínek. Připravené nanovláknenné rohože jsou významné svými strukturálními, mechanickými a antimikrobiálními vlastnostmi. Byl proveden test respirabilní suspendované částicové hmoty (RSPM) za účelem kontroly absorpční kapacity částic (PM 2,5) u nanovláknenných rohoží. Výsledky ukázaly, že tento typ nanovláknenných kompozitních rohoží je vhodný pro výrobu ochranných vzdušných filtračních masek [26].

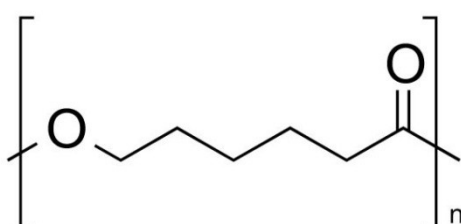
## **2.5 Polykaprolakton – vlastnosti a použití**

Poly ( $\epsilon$ -kaprolakton) je semikrystalický, biodegradabilní a biokompatibilní alifatický polyester. Obdobně jako jiné syntetické polymery, také polykaprolakton (PCL) má oproti přírodním polymerům řadu výhod jako reprodukovatelnost výroby, široké spektrum mechanických vlastností jako pevnost, elasticitu a rychlost degradace [14].

Díky jedinečné kombinaci mechanických vlastností podobných polyolefinům a hydrolizovatelnosti dané u polyesterů, poskytuje PCL dobrou kompatibilitu se širokou škálou dalších polymerů jak ve směsích, tak v kopolymerových formách. Biokompatibilita, pomalý biologický rozklad, nízká cena a snadná zpracovatelnost dělají z PCL jeden

z nejpoužívanějších syntetických polymerů pro biomedicínské aplikace, kde nachází využití nejen pro biologické implantáty, materiály pro dodání léčiv, šicích materiálů, ale také pro balení potravin a zemědělské užití [2, 27]

Dalšími vlastnostmi PCL jsou dobrá rozpustnost a nízká teplota tání (59-64 °C). Na druhou stranu má PCL kvůli nedostatku funkčních skupin ve své struktuře, jež je uvedena na Obr. 4, hydrofóbní povrch, v jehož důsledku není původní čistá forma příliš vhodným kandidátem pro buněčnou adhezi. Aby tedy bylo možné využít jeho vlastností, je pozornost věnována jeho nanostrukturované úpravě [28-30].



**Obr. 4.** Strukturální vzorec poly ( $\epsilon$ -kaprolaktonu) (PCL) [31].

PCL je taky velmi perspektivním polymerem pro biomedicínské aplikace například pro cílenou dopravu léčiv, regeneraci kůže v tkáňovém inženýrství, matrice pro fibroblasty podporující růst osteoblastů, v podobě nanokompozitů pro opravu kostí a v neposlední řadě pro elektrostaticky zvlákněné kompozitní nanovlákná [32].

## 2.6 Nanovlákná polykaprolaktonu

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, kombinací inherentních vlastností matrice polykaprolaktonu s charakteristikou nanovláknenných částic, dává vzniku slibným materiálům, jež mohou být vhodné pro různé aplikace, včetně oblasti biomedicíny [2].

Ačkoliv PCL sám o sobě nabízí celou škálu žádoucích vlastností, nabízí se možnost jejich vylepšení kompatibilitou s dalšími polymery, a to jak ve směsích, tak i kopolymerových formách. Užitím PCL jako matrice v nanokompozitech s přidanými mikro a nanočásticemi, jak v podobě filmů, tak nanovláknenné matrice, má za následek vylepšení nejen mechanických vlastností, ale i teplotní stability. Možností pro zlepšení tepelných a mechanických vlastností PCL je také možné přidání derivátů celulózy, jež byly považovány za optimální výztužné materiály pro biopolymery díky jejich biodegradabilitě [27].

Za nejvhodnější techniku k přípravě PCL vláken, pro aplikace dodávání léčivých látek v podobě nanokompozitních vláken a pro tkáňové inženýrství z hlediska efektivity, jednoduchosti, všestrannosti a schopnosti řízení strukturálních a funkčních vlastností prostřednictvím relativně jednoduchého a nákladově efektivního přístupu, je považován proces elektrostatického zvlákňování. Tato technika je výhodná především kvůli konzistentní produkci široké škály netkaných rohoží z roztoku polymeru, jež je vystaven vysokým elektrickým polím, která umožňují tvorbu velkoplošného povrchu s vysokou pórovitostí, čímž napodobují strukturu extracelulární matrice [27].

Pro účely tkáňového inženýrství mohou být PCL vlákna modifikována anorganickými nanočásticemi. Nanočástice hydroxyapatitu jsou anorganickou bioaktivní a biokompatibilní složkou kostí, vykazující dobrou osteokonduktivitu a schopnost pojení kosí. Mohou tak vést ke zlepšení mechanických a biologických vlastností [27].

Studie uvádějí, že materiály s takto vláknitou strukturou, mohou být užity pro regeneraci nervových tkání vzhledem k jejich morfologické podobnosti organizace neuronů, což bylo zaznamenáno u elektrostaticky připravených vláken PCL s chitosanem. Pro zlepšení mechanických vlastností je také možné přidat grafen, jehož přítomnost může přispět také ke zvýšené antimikrobiální aktivitě [27].

Jedna ze studií se pak zabývala přípravou PCL vláken z polymerního roztoku PCL (10 hm%), kdy PCL bylo rozpuštěno ve směsi rozpouštědel  $\text{CHCl}_3$ :DMF v poměru 4:1 pomocí magnetické míchačky a směs byla míchána 24 hodin při pokojové teplotě. Pro přípravu PCL nanovláken s obsahem 1 hm% nanočástic byl použit obdobný postup s ohledem na polymerní matici a organické i anorganické nanočástice jako CNC (nanokrystalická celulóza), CNC-g-PCL, chitosan, grafen, Ag, HA,  $\text{SiO}_2$ . Pro přípravu nanokompozitních vláken byly použity konkrétně nanočástice nanokrystalické celulózy, chitosanu a grafenu, dále jako anorganické plniva pak byly použity nanočástice stříbra, hydroxyapatitu a pyrogenního oxidu křemičitého. Stupeň krystalinity připravené matrice PCL vláken byl asi 50%. Při přidání všech uvedených částic bylo zjištěno zvýšení maximální degradační teploty příslušných nanokompozitních vláken, což naznačuje dobrou interakci mezi nanočásticemi a polymerní maticí. Z hlediska mechanických vlastností byly nejvyšší hodnoty Youngova modulu získány u vzorků s přidanými částicemi grafenu, CNC a nanočástic stříbra. Na druhou stranu všechny použité nanočástice, organické i anorganické, způsobily zvýšení flexibility nanokompozitních vláken [27].

Vlastnosti nanovláken bývají sledovány také s ohledem na schopnost hojení ran. Popisovány bývají ve třech fázích hojení, čistící nebo zánětlivé, granulační (zde dochází ke vzniku nových cév a vyplnění rány granulační tkání) a epitelizační fáze. Získané údaje prokázaly, že účinnost hojení je dána především porozitou vláken a prodyšností nebo smáčitelností povrchu vláken, kdy vhodná hydrofilita s vysokou porozitou usnadňují hojení především v první fázi (zánětlivé). Také průměr vláken a jejich antibakteriální aktivita jsou podstatnými faktory [33].

Nanovlákná syntetického PCL nachází mimo jiné využití při léčbě kosterních defektů, kdy se na nanovláknenný nosič aplikují mezenchymální kmenové buňky. Po uplynutí jednoho týdne pak dochází k penetraci buněk skrze nosič, tvorbě extracelulárního matrixu a k migraci buněk uvnitř polymerního nosiče [34].

## 2.7 Antimikrobiální nanovlákná polykaprolaktonu

Jak již bylo nastíněno jednou z hlavních oblastí ve sledování vlastností tohoto typu nanovláken pro možnosti biomedicínských aplikací je jejich antimikrobiální aktivita, kdy konkrétně antimikrobiální vlastnosti PCL nanovláken jsou sledovány v souvislosti s různými formami/typy přidaných anorganických či organických účinných antimikrobiálních složek nebo jejich kombinací. Studovány byly například membrány PCL/želatina/nanočástice stříbra, kdy byly in vivo prokázány jejich antibakteriální účinky, ochrana a podpora hojení ran [35].

Dalšími možnostmi mohou být přidání nanočástic stříbra pro vyztužení PCL vláken pro obvazový materiál, díky jejich vysokým antibakteriálním vlastnostem [36].

Za účelem zlepšení vlastností současných materiálů z hlediska osteogenních a antimikrobiálních vlastností, byly studovány stříbrem modifikované, polydopaminem (pDA) a kolagenem (COL) potažené PCL nanovláknenné krytiny (PP-pDA-Ag-COL), jež byly připraveny metodou elektrostatického zvláknění. PLGA/PCL matrice byla impregnována nanočásticemi stříbra (AgNP) in situ redukcí a polydopaminovým povlakováním a následným potažením kolagenem. PLGA/PCL (PP), PLGA/PCL-polydopamin (PP-pDA) a PLGA/PCL-polydopamin-Ag (PP-pDA-Ag) byly použity jako kontrolní řešení. U vzorků PP-pDA-Ag-COL a PP-pDA-Ag byl zjištěn širší antimikrobiální účinek, kdy u stříbrem modifikovaných vláken došlo ke snížení bakteriální fluorescence po 24 hodinách proti bakteriálním kmenům *S. aureus* a *S. mutant*. V modelu parodontu u myši bylo pro vzorek PP-pDA-Ag-COL zjištěno zlepšení regenerace alveolární kosti (31,8 %) a tedy účinné v léčbě parodontitidy. Výsledky

prokázaly zvýšenou biokompatibilitu, osteogenní a antibakteriální vlastnosti vzorku PP-pDA-Ag-COL. Výhody také zahrnují snížení antibiotické zátěže s omezenou rezistencí vůči antibiotikům a zlepšení kostní regenerace [13].

Přípravou nanovláken PCL s nanočásticemi stříbra a jejich antibakteriálními vlastnostmi se také zabývali autoři *Hinojos-Márquez a kol.* [32]. Metodou elektrostatického zvlákňování v binárním rozpouštědle (DMF a THF), byla připravena vlákna PCL-AgNP s hladkým povrchem s rovnoměrným průměrem (160 nm). U vláken byla pozorována dobrá antimikrobiální aktivita proti různým gram pozitivní a gram negativním bakteriálním kmenům, jako *E. coli*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* a *P. aeruginosa*. Inhibice bakteriálního růstu byla zaznamenána při nízké koncentraci AgNP. Potenciální využití těchto kompozitních nanovláken je pro antimikrobiální terapie proti multirezistentním bakteriím, jež představují závažný problém ve zdravotnictví [32].

Jako další možnost antimikrobiálního materiálu zahrnujícího také anorganické účinné složky pro biomedicínské aplikace se nabízejí nanovláknenná lešení polykaprolaktonu (PCL) se zakomponovanými nanočásticemi zlata a nanoemulzí mátového oleje (SNE). Pro tento materiál byly připraveny nanočástice zlata kulového tvaru v dobře stabilizované formě, využívající potenciální sílu xanthanu (polysacharid s vysokomolekulovou hmotností) jako účinného redukčního a stabilizačního činidla. Nanoemulze SNE pak byla připravena pomocí vysokorychlostního homogenizátoru. Připravené nanočástice a nanoemulze s různými koncentracemi pak byly smíchány s roztokem PCL a podrobeny procesu elektrostatického zvlákňování. Výsledná nanovláknena byla následně systematicky charakterizována z hlediska jejich složení, morfologie a kontaktního úhlu. Antimikrobiální vlastnosti vzniklých nanovláken byly hodnoceny proti čtyřem typům mikrobů (*E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* a *P. aeruginosa*), přičemž byla zaznamenána vynikající antimikrobiální aktivita. Začlenění nanočástic Au a SNE tedy hrálo významnou roli v prevenci růstu mikrobů a poskytlo tak vysokou účinnost proti testovaným kmenům. Kromě toho taková příměs snižuje stykový úhel nanovláken PCL na žádoucí limit, což podporuje jeho použití jakožto nový materiál pro krytí ran [37].

Za účelem zjištění vlivu oxidu zinečnatého (ZnO) na průměr, morfologii, zvýšení antibakteriální aktivity a zvýšení buněčné proliferace netkané textilie nanovláknenné membrány polykaprolaktonu (PCL), byla zkoumána povaha interakce mezi PCL a nanočásticemi oxidu zinečnatého, mechanika, stabilita a antimikrobiální aktivita připraveného materiálu. Byly zaznamenány změny v průměru a morfologii vláken v závislosti na přidané

koncentraci ZnO. Po začlenění nanočástic ZnO do PCL matrice se změnila její inherentní elastická povaha na křehkou. Celkově vykazovala vlákna dobrou antimikrobiální aktivitu vůči kmenům *E. coli* a *S. aureus*, což naznačuje schopnosti připraveného materiálu zabránit lokální proliferaci bakterií. PCL/ZnO membrány tak prokázaly vynikající připojení a proliferaci fibroblastových buněk, což umožňuje jejich účinnou aplikaci jako materiál lešení pro tkáňové inženýrství, zejména u regenerace poškozené kůže, kde jsou nezbytné antimikrobiální a přísné vlastnosti buněčné proliferace. Membrány s nanočásticemi ZnO vykazovaly zlepšenou mechanickou stabilitu, antibakteriální vlastnosti, proliferaci fibroblastů a zlepšenou metabolickou aktivitu buňky [38].

Prostřednictvím elektrostatického zvláknování byla také připravena biologicky odbouratelná, biokompatibilní, ekologická a netoxická nanovlákna PCL s halloysitovými nanotrubičkami (HNT) jako nosiči pro erythromycin (ERY). Nanovlákna PCL/HNT/ERY vykazovala vynikající antibakteriální vlastnosti, jež vedly k inhibici růstu kmenů bakterií *E. coli* a *S. aureus*. Při účinku antimikrobiální účinné složky bylo zaznamenáno postupné uvolňování ERY z nanovláken, které bylo detekováno jako opakující se antimikrobiální aktivita na připraveném naočkovaném růstu media. Kromě antibakteriálních vlastností bylo dosaženo významného zlepšení mechanických vlastností začleněním nemodifikovaných i ERY zatížených HNT, což zvýšilo možnost užití pro lékařské aplikace a mají tedy velký potenciál jako progresivní nový biomedicínský materiál jak v tkáňovém inženýrství, tak pro řadu dalších biomedicínských aplikací [39].

Pro prevenci tvorby infekcí ran a urychlení jejich hojení byla také popsána elektrostaticky zvlákněná PCL nanovlákna plněná kurkuminem (Cur) a polyethylenglykolem (PEG). U připravených nanovláken byly sledovány biologické charakteristiky jako je životaschopnost buněk, jejich připojení, protizánětlivé a antibakteriální vlastnosti a schopnost hojení ran in vivo. Spojení PCL s PEG mělo za následek tvorbu pórů na nanovlákněch, což podporuje životaschopnost a proliferaci buněk. Buněčná linie myšího myoblastu C2C12 pod účinkem nanovlákněné podložky PCL-PEG s Cur, pak vykazovala asi 80% životaschopnost. Extrémní přichycení a rozprostření buněk po povrchu Cur PCL-PEG nanovlákněné podložky bylo zjištěno ze snímků skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Přítomnost 0,5 hm. % Cur v PCL-PEG nanovlákněch způsobila inhibici nadměrné produkce oxidu dusnatého (NO) v makrofázích myší a byla zjištěna 95% účinnost inhibice vůči bakteriálnímu kmenu *S. aureus* a to po 12 hodinách. In vivo hojení ran pak prokázalo významně vyšší rychlost uzavření rány (99%) v době desátého dne v porovnání s čistými PCL vlákny (59%). Výsledky

tedy naznačují, že matrice tvořená nanovlákný PCL obsahující Cur a PEG může usnadnit hojení ran s proliferací buněk a protizánětlivými vlastnostmi [40].

Využití polymerních nanovláken pro cílenou dopravu léčiv k léčbě periodontálního onemocnění se ve své práci zabývali autoři *Cortés a kol.* [41], přičemž porovnávali dva systémy nanovláken a to z polykaprolaktonu plněného tetracyklinem (TCN) a polykaprolaktonu plněného tetracyklinem/-cyklodextrinem (TCN:BCD). Při porovnání výsledků antimikrobiálního difuzního testu nanovláken s mikroorganismy *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a *Porphyromonas gingivalis*, jež přispívají k periodontálnímu onemocnění, byly získány profily uvolňování in vitro a byla provedena charakterizace pomocí dalších metod (tepelná analýza, RTG prášková difrakce, IČ absorpční spektroskopie a rastrovací elektronová mikroskopie). Profily nanovláken prokázaly uvolňování léčiva po dobu 14 dní, kdy nanovlákná BCD lépe chránila a zlepšila biologickou absorpci TCN díky tvorbě inkluzního komplexu TCN:BCD [41].

PCL nanovlákná byla mimo jiné studována kvůli vlivu chemické struktury přidaného léčiva a také vlivu samotného polymeru. V porovnání s PLA nanovlákný bylo zjištěno uvolňování inkorporovaného tetracyklinu 75 % (oproti PLA 10 %) během prvních 20 minut. I přes velmi podobnou strukturu chlorocyklinu, bylo pozorováno uvolnění pouze 30 % léčiva za stejný čas. Rozdílné uvolňování bylo pravděpodobně zapříčiněno jinou rozpustností léčiv ve zvláknovací směsi i v prostředí uvolňování. Při přidání amfotericinu B do PCL nanovláken bylo pozorováno relativně pomalé uvolňování v prvních 90 minutách. Dále po 3 hodinách bylo uvolněno kolem 30 % celkového obsahu léčiva. Při kombinaci PCL a PLA v různých poměrech pak došlo k uvolnění až 70 % léčiva v prvních 30 minutách, což však neodpovídá medicínám požadavkům, kvůli příliš rychlému nástupu uvolňování. Z PCL nanovláken tedy došlo k rychlejšímu uvolňování, a proto se PLA nanovlákná jeví jako vhodnější pro medicínské aplikace kvůli delšímu udržení léčiva [27].

Jako další slibný kandidát pro aplikaci obvazových materiálů byla pomocí metody elektrostatického zvláknování připravována polykaprolaktonová (PCL) nanovlákná plněná 14,92 ± 1,31 hm % tymolu (THY). Přičemž byly dále sledovány nejen antimikrobiální vlastnosti připravených nanovláken, ale také mechanické vlastnosti jako prodloužení při přetržení a pevnost v tahu. In vivo studie materiálu z posmrtně analyzovaných vzorků, kdy progrese infekce byla hodnocena semikvantitativní metodou a kvantitativní polymerázovou řetězovou reakcí, ukázaly inhibiční funkci vláken PCL plněného THY proti růstu kmene *S. aureus*, přičemž jeho účinnost byla srovnána a potvrzena shodná efektivita jako v případě

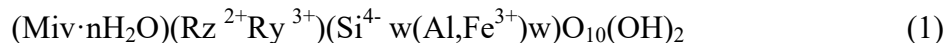


účinku chlorhexidinu (CH). Histopatologické a imunohistochemické studie ukázaly, že v případě aplikace materiálu PCL-THY byly rány téměř bez zánětlivé reakce. Což tedy prokazuje, že obvazové materiály polymerních nanovláken obsahující přírodní sloučeniny mohou zabránit infekci, podporují hojení ran a také rychlou regeneraci. Nanovláknenná krytina PCL-THY tedy výrazně snižuje poškození tkáně, což umožňuje její potenciální medicínské aplikace [12].

V posledních letech byla také studována antimikrobiální nanovláknena připravena z prekursorového roztoku polykaprolaktonu a chlorhexidinu (CH), pomocí střídavého elektrostatického zvlákňování, kdy bylo zjištěno, že přidání CH do prekursorového roztoku PCL nejen zlepšilo proces zvlákňování, ale také měl pozitivní vliv na morfologii vláken, průměr vláken a viskozitu prekursorového roztoku [42].

## 2.8 Vermikulit – struktura, vlastnosti, použití

V přírodě se vermikulit často nachází v podobě šupinkových agregátů, někdy také jako velké a poměrně dobře vyvinuté tabulkové krystaly. Strukturně se jedná o 2:1 fylosilikát, v jehož mezivrstevním prostoru se nacházejí hydratované výměnné kationty. Chemické složení vermikulitu je možné vyjádřit formou následujícího vzorce:



kde prvky první závorky znázorňují ionto-výmennou vrstvu, druhá závorka obsahuje kationy oktaedrické vrstvy a třetí závorkou je vyjádřena tetraedrická vrstva [43, 44].

Vermikulity mohou být jak dioktaedrického, tak trioktaedrického charakteru. Dominantním oktaedrickým kationtem je Mg. Molekuly vody spolu s významnými mezivrstevními kationty  $M_i$  zaujímají definované polohy v mezivrstvi, přičemž tvoří obdobu mezivrstevní oktaedrické sítě chloritů. Nejčastějším výměnným mezivrstevním kationtem u přírodních vermikulitů je  $Mg^{2+}$ . Jeho obsah se obvykle pohybuje v rozmezí 0,2 až 0,5 (tedy 20 až 50 %). V některých případech pak byly zjištěny také zvýšené obsahy kationtů  $Ca^{2+}$  a  $Na^+$  [43, 44].

Tvrдость vermikulitu je 1-1,5; hustota 2,3-2,7 g · cm<sup>-3</sup>. Také má dokonalou štěpnost o nepravidelném lomu. Je nerozpustný ve vodě a organických rozpouštědlech. Absorpce vody je pak až 240 % [45].

Z předchozích informací je možné vyvodit, že vermikulit je schopen výměny kationtů a organických látek v mezivrstvi. Také je možné při jeho zahřátí způsobit oddělení šupinek

vermikulitu, kdy se od sebe vzdalují za zvětšení objemu. Při zahřátí na teplotu 1100 °C dojde k expanzi struktury na 6 – 20 násobek jeho objemu, kdy tato teplota je maximální pro jeho užívání. Obecně se neexpandovaný vermikulit užívá pro zachycení radioaktivního a toxického odpadu, v bytových přepážkách snižuje nebezpečí požáru. Tepelně expandovaný vermikulit má mnoho možností využití, jako plnivo do plastů, jež snižuje hustotu, zvukově a termoizolační materiál, mazadlo, plnivo, a nejen díky své vrstevnaté struktuře, ale i zápornému povrchovému náboji, jako nosič chemikálií. Modifikované vermikulity jsou pak velmi slibné mimo jiné k potenciálnímu užití v katalytických procesech [45-47].

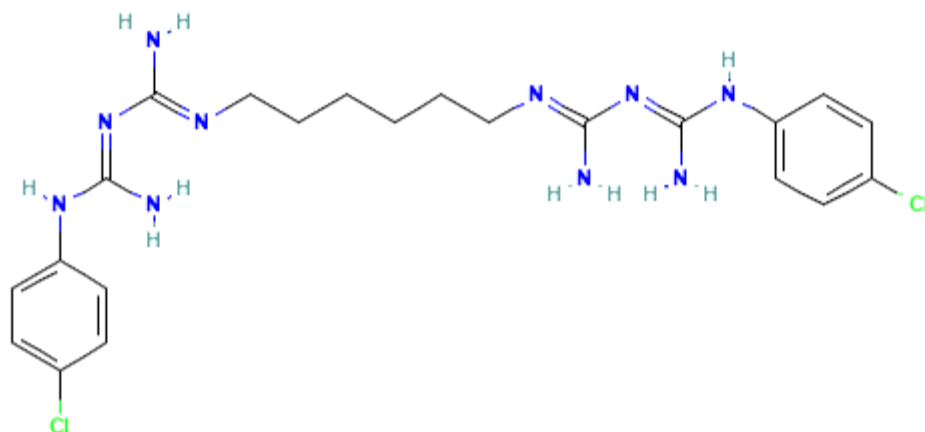
## 2.9 ZnO – vlastnosti a použití

V přírodě se anorganická sloučenina oxid zinečnatý (ZnO) vyskytuje ve formě minerálu zinkitu. Většina ZnO je však vyráběna synteticky. Oxid zinečnatý se využívá v mnoha výrobních procesech, například jej můžeme nalézt v kaučucích, plastech, keramice, skle, cementu, mazivech, barvách, mastech, lepidlech, tmelech, pigmentech, potravinách, bateriích, feritech a retardérech hoření. Široce je také užíván pro léčbu různých kožních stavů. ZnO v podobě nanočástic představuje relativně levný materiál, šetrný k životnímu prostředí, kdy jsou sledovány jeho toxické účinky na lidské prostředí [48].

Přídavkem ZnO do sypkého materiálu je možné docílit zvýšení jeho mechanických vlastností a antimikrobiální aktivity doposud nejběžněji testované vůči bakteriálním kmenům *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumonia* a *Salmonella*. Určité studie potvrdily souvislost antibakteriální aktivity ZnO s parametry jako velikost částic, krystalografická struktura, aglomerace, morfologie povrchu, výskyt defektů, energie, plocha, koncentrace a rozpustnost. [49].

## 2.10 Chlorhexidin – vlastnosti a použití

Chlorhexidin je širokospektrální antimikrobiální biguanidová sloučenina se strukturou skládající se ze dvou (p-chlorfenyl)guaidových jednotek a dvou biguanidových skupin spojených centrálním hexamethylenovým řetězcem (Obr. 5). Používá se jako lokální antiseptické činidlo s topickou antibakteriální aktivitou a méně výraznou antifungální aktivitou. Chlorhexidin má kladný náboj a reaguje se záporně nabitým povrchem mikrobiálních buněk, čímž ničí integritu buněčné membrány. Následně chlorhexidin proniká do buňky a způsobuje únik intracelulárních složek vedoucích k buněčné smrti. Vzhledem k tomu, že grampozitivní bakterie jsou více záporně nabitě, jsou citlivější na toto činidlo [50].



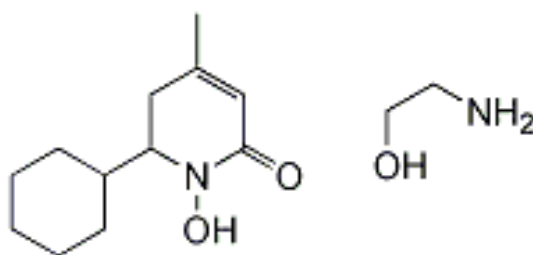
**Obr. 5.** Strukturní vzorec chlorhexidin [50].

Po mnoho desetiletí je široce používán jako širokospektrální antiseptikum v medicíně. V zubní praxi se užívá k léčbě zánětlivých zubních stavů způsobených mikroorganismy. Konkrétně byl také podáván jako mateřský vaginální výplach, celotělový čistící prostředek na novorozenecké pokožky a pro čištění pupeční šňůry, kvůli zabránění infekce u novorozenců, přičemž bylo doporučeno použití 1% koncentrace chlorhexidinu [51].

Dále je možná indikace chlorhexidinu ve veterinární medicíně u psů a koček s kožními infekcemi a suchou až normální kůží. Bylo zjištěno, že má větší účinnost u bakteriálních infekcí, zejména *Staphylococcus* spp, než u kvasinkových nebo dermatofytních infekcí. Obvykle se přidává v koncentracích mezi 0,5% a 3%. Pro zlepšení účinku šampónů proti kvasinkovým a plísňovým infekcím je doporučena kombinace s mikonazolem [52].

### 2.11 Ciklopiroxolamin – vlastnosti a použití

Ciklopiroxolamin (6-cyklohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2(1H)-pyridon), dále jen CPX (Obr. 6), je řazen do skupiny antimykotik, hydroxypyridonu, aktivním proti kvasinkám, dermatofytům a vláknitým houbám. Jde tedy o širokospektrální antimykotikum s dalšími antibakteriálními a protizánětlivými účinky. Je užíván při léčbě určitých mykotických kožních onemocněních [53].



**Obr. 6.** Strukturní vzorec ciklopirox olaminu [54].

Účinek ciklopiroxol aminu spočívá v chelataci polyvalentních kationtů ( $\text{Fe}^{3+}$  nebo  $\text{Al}^{3+}$ ) přítomných v buňkách kvasinek/bakterií a tím je narušena rovnováha, vnitřní prostředí a enzymatické pochody v buňce. Způsobuje také intracelulární vyčerpání základních substrátů, draselných iontů a dalšího intracelulárního materiálu a může také blokovat příjem těchto intracelulárních materiálů z média. Používá se lokálně k léčbě infekcí *tinea versicolor*, seboroické dermatitidy pokožky hlavy a onychomykózy [55].

Šampon Ciklopirox (1 až 1,5%) je schválen FDA pro léčbu seboroické dermatitidy, kdy prokázal konzistentní účinnost a míru relapsů při udržovací léčbě v klinických studiích. V poslední době se ciklopirox ukázal jako účinné adjuvantní topické činidlo při léčbě *tinea capitis*, což ukazuje podobnou míru mykologického vyléčení ve srovnání s 1% šamponem sulfidu selenu [56].

## 3 Experimentální část

### 3.1 Příprava antimikrobiálních nanoplňiv

#### 3.1.1 Použité chemikálie

Pro přípravu nanoplňiva byl jako vstupní materiál použit jílový minerál vermikulit (VER) z Brazílského ložiska, konkrétně frakce pod 4  $\mu\text{m}$ . Dalšími použitými chemikáliemi s čistotou p.a. byly rozpouštědla ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) a destilovaná voda. Jako účinné antimikrobiální organické složky byly použity ciklopiroxolamin (CPX, 2-aminoethanolová sůl 6-cyklohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2(1H)-pyridinu) a chlorhexidin diacetát (CH), účinnou anorganickou složkou byl oxid zinečnatý (ZnO), jež byl připraven z prekursoru chloridu zinečnatého ( $\text{ZnCl}_2$ ) za užití chloridu sodného (NaCl) a uhličitanu sodného ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).

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

Nanokompozitní materiál ZnOVER byl připraven sonochemickou metodou, kdy v první části byl připraven 1M roztok chloridu sodného. Ve 200 ml destilované vody bylo rozpuštěno 11,71 g NaCl a zahříváno na 80 °C na elektrickém ohříváči. Do roztoku bylo postupně vmícháno 10 g VER, 5 g  $\text{ZnCl}_2$  a 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 následně podroben kalcinaci při 350 °C po dobu 1,5 hodiny.

#### 3.1.3 Interkalace účinné antimikrobiální organické složky CPX

Účinná antimikrobiální organická složka CPX byla interkalována do práškových vzorků VER a ZnOVER. Do Erlenmayerovy baňky bylo naváženo 8 g VER a přilito 150 ml destilované vody, dále bylo přidáno 8 g CPX s 80 ml ethanolu a vloženo míchadlo. Připravená směs byla vložena na elektromagnetickou míchačku s teplotním čidlem a za stálého míchání zahřívána při 75 °C po dobu 5 hodin. Při interkalaci CPX na ZnOVER bylo naváženo opět 8 g ZnOVER a 8 g CPX, přidáno 150 ml destilované vody a 80 ml ethanolu, přičemž další postup byl obdobný jako u interkalace do VER. Po interkalaci byly směsi odstředěny v centrifuze, kdy 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	ZnOVER	VER_CPX	ZnOVER_CPX
Hmotnostní poměr	-	-	1:1	1:1

### 3.1.4 Interkalace účinné antimikrobiální organické složky CH

Účinná antimikrobiální organická složka CH byl také interkalován do práškových vzorků VER a ZnOVER. Postup při navažování a přípravy je odpovídající postupu u interkalace CPX. Označení připravených vzorků je uvedeno v tabulce 2.

**Tabulka 2.** Značení připravených práškových vzorků a příslušné hmotnostní poměry.

Vzorek	VER	ZnOVER	VER_CPX	ZnOVER_CPX
Hmotnostní poměr	-	-	1:1	1:1

## 3.2 Příprava nanokompozitních polymerních nanovláken

Nanokompozitní polymerní vlákna byla připravena technikou elektrospinningu na přístroji SpinLine 40 ve spolupráci s Centrem polymerních systémů, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

### 3.2.1 Použité chemikálie

K přípravě matrice polymerních nanovláken byl použit poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL) a prášková plniva byla VER, VER\_CH, VER\_CPX, ZnOVER, ZnOVER\_CH, ZnOVER\_CPX. Dále byla použita rozpouštědla o čistotě p.a. dimethylformamid (DMF), aceton a toluen.

### 3.2.2 Příprava polymerního roztoku polykaprolaktonu

K přípravě roztoku pro zvlákňování byla v první fázi hledána vhodná rozpouštědla pro daný polymer. Na základě praktických zkušeností byla vybrána a testována rozpouštědla či kombinace rozpouštědel v různých poměrech, kdy z 11 testovaných je část nejvhodnějších vybraných rozpouštědel a jejich poměrů uvedena v tabulce 3.

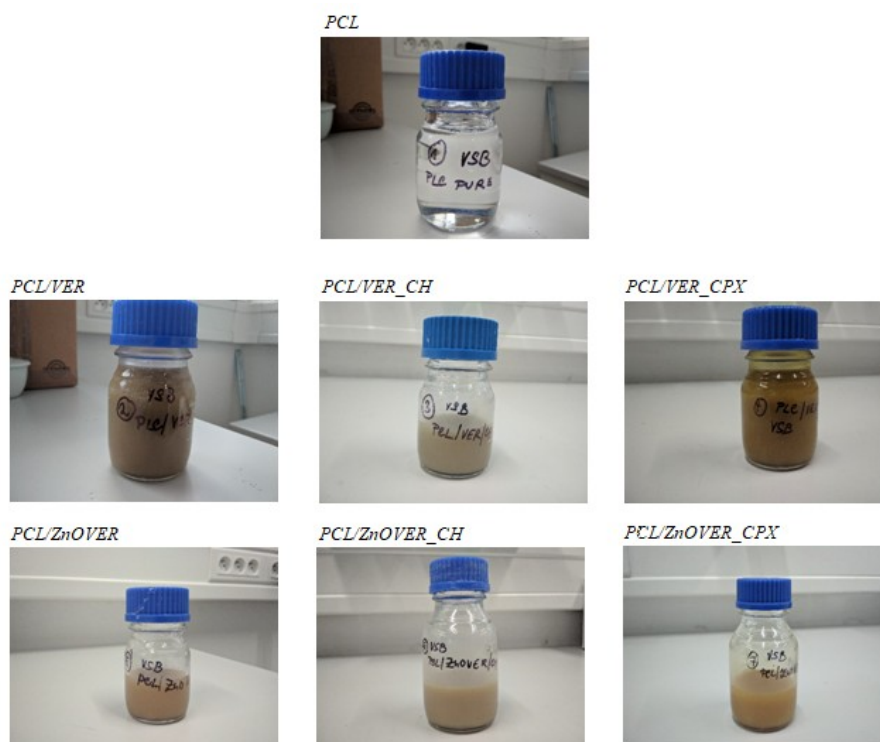
Pro přípravu nanovláken PCL byla zvolena kombinace rozpouštědel DMF/toluen v poměru 75/25.

**Tabulka 3.** Souhrn vhodných kombinací rozpouštědel k přípravě roztoků pro zvlákňování.

rozpuštědlo/a	koncentrace (%)	čas míchání, ohřev, UZ (ultrazvuk)	vzhled roztoku	zvlákňování
DMF/toluen 75/25	12	25 °C, 3 h, 40 °C, 1h	transparentní	✓
DMF/toluen 80/20	12	25 °C, 3 h, 40 °C, 1h	transparentní	✓
DMF/toluen 85/15	12	25 °C, 3 h, 40 °C, 1h	transparentní	✓

### 3.2.3 Příprava nanovláken PCL a PCL s nanoplňivy

Výchozí roztok pro přípravu čistých PCL nanovláken obsahoval 12,23 hm % PCL v rozpouštědle DMF/toluen 75/25 a pro přípravu nanovláken s plnivem 13,79 hm % PCL/plnivo v poměru 85/15 na sušinu v rozpouštědle DMF/toluen (75/25). Pro lepší dispergaci plniva byla využita UZ vana po dobu 20 minut a míchání 3h při 25°C a 1h při 40 °C. Viskozita roztoků byla 0,6 Pa · s a vodivost 118,5 μS/cm. Vzhled disperzí před elektrostatickým zvlákňováním je uveden na Obr. 7.



**Obr. 7.** Roztoky polymeru PCL a PCL s plnivem k elektrostatickému zvlákňování.

Zvlákňování pomocí elektrospinningu probíhalo z 8 jetů, při napětí 61-63 kV, vzdálenosti elektrod 18 cm, dávkování 0,12 – 0,2 ml/min. Nanovláknina byla ukládána na netkanou polypropylenovou textilii rychlostí 0,1 m/min, v šíři cca 20 cm a ta byla kryta PE fólií.

### **3.3 Metody charakterizace a jejich nástroje**

#### **3.3.1 Práškové vzorky nanoplňiv**

##### **3.3.1.1 Rentgenová difrakční analýza**

Difrakční záznamy vzorků byly pořízeny na rentgenovém difraktometru RIGAKU Ultima IV (Rigaku, Japonsko) vybaveném scintilačním detektorem, záření  $\text{CuK}\alpha$ ,  $\text{NiK}\beta$  filtr, uspořádání Bragg-Brentano. Měření bylo prováděno v reflexním módu za konstantních podmínek 40 mA, 40 kV, rychlost měření  $2,4^\circ/\text{min}$ , rozsah měření  $1,5 - 70^\circ 2\theta$ .

##### **3.3.1.2 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 spektrální rozsah  $4000-400\text{ cm}^{-1}$ , rozlišení  $4\text{ cm}^{-1}$ , 64 skenů.

##### **3.3.1.3 Skenovací elektronová mikroskopie, EDS**

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

Práškové vzorky byly připevněny na kovové terčíky pomocí uhlíkové pásky a pokoveny práškovou platinou. Při měření bylo použito urychlovací napětí 20 kV a detektor sekundárních elektronů (SEI) v režimu COMPO. Pomocí systému EDS byla také provedena prvková analýza vzorků.

##### **3.3.1.4 Velikosti částic a $\zeta$ -potenciál, měrný specifický povrch**

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, 1,509 pro CH a 1,333 pro destilovanou vodu.

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

Měrný specifický povrch (SSA) práškových nanoplňiv byl měřen pomocí přístroje Thermo Scientific Surfer (Thermo Scientific, Itálie) v atmosféře dusíku, kdy vzorky byly



odplyněny při vakuu ( $10^{-6}$  torr) při teplotě 80 °C po dobu 24 h. Měrný specifický povrch byl počítán dle rovnice BET (Brunauer–Emmett–Teller).

### 3.3.1.5 Stanovení obsahu organického uhlíku

U práškových vzorků byl stanoven obsah organického uhlíku 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>.

## 3.3.2 Polymerní nanovlákná

### 3.3.2.1 Skenovací elektronová mikroskopie

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

V případě polymerních nanovláken, které byly taktéž připevněny na kovové terčíky pomocí uhlíkové pásky, byla k pokovení použita platina. Měření probíhalo za urychlovacího napětí 15 kV a byl použit detektor sekundárních elektronů SEI – tzv. upper detektor.

### 3.3.2.2 Stanovení úhlu smáčivosti

Úhel smáčivosti jednotlivých vzorků polymerních nanovláken byl měřen kapkovou metodou pomocí softwaru PIXEL FOX, verze 5.10 a kamery s rozlišením 2048x1536 pixel, kdy byla jako smáčecí kapalina použita destilovaná voda. Pro každý vzorek byla provedena vždy tři měření a ze zjištěných hodnot byla vypočtena průměrná hodnota úhlu smáčení. Měření bylo prováděno pomocí aproximace kapek na sféru, což lze jen v případě, je-li kapka dostatečně malá a lze tedy zanedbat hydrostatický tlak. Byly vždy odečteny hodnoty průměru  $R$  a výšky  $h$  sféry (kružnice) a podle vzorce (2):

$$h = R(1 - \cos \theta) \quad (2)$$

a tedy

$$\theta = \cos^{-1}\left(1 - \frac{h}{R}\right) \quad (3)$$

podle vzorce (3) byl vypočten úhel smáčivosti  $\theta$  [57].

### 3.3.2.3 Diferenční skenovací kalorimetrie

Pro zjištění krystalinity a teploty tání byly vzorky polymerních nanovláken podrobeny diferenciální skenovací kalorimetrii na přístroji DSC131 evo (Setaram, Francie) za

následujících podmínek: atmosféra argonu, teplotní rozsah 0 – 120 °C, rychlost zahřívání 5°C/min, navážka vzorku cca 4,5 mg.

#### **3.3.2.4 Termogravimetrická analýza**

Polymerní nanovláknna byla podrobena termogravimetrické analýze na přístroji Sestys Evolution Setaram (Setaram, Francie) za následujících podmínek: atmosféra argonu (průtok 50 ml/min), teplotní rozsah 30 – 1000 °C, rychlost zahřívání 10°C/min, navážka vzorku cca 7 mg.

#### **3.3.2.5 Antimikrobiální testy**

Antimikrobiální testy byly provedeny ve Zdravotním ústavě se sídlem v Ostravě, v Centru klinických laboratoří.

Testy byly provedeny dle modifikace certifikované metody ISO 20743 – Textilie – zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků. Jako kontrolní materiál sloužila v tomto testu bavlna. Před provedením testu byly připraveny suspenze testovaných kmenů v Erlenmayerových baňkách, které se nechaly 24 hodin inkubovat v termostatu při teplotě 35±2 °C (resp. 30 ± 1 °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 vzorky nanovláken o velikosti 4x4 cm umístěny na sterilní podložní skla v Petriho miskách s obsahem destilované vody, která sloužila k udržení vyšší vlhkosti v misce. Na povrch testovaných nanovláken byly inokulovány suspenze (200 µl) kmenů *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 10<sup>5</sup> CFU/ml. Po inokulaci byla suspenze přikryta filmem z polypropylenu a misky byly vystaveny dennímu světlu. Ve zvoleném čase působení byly filmy přeneseny do označené plastové nádoby s neutralizačním roztokem SCDLP (20 ml), ve které se vytřepaly. Část této směsi (2x 1 ml o ředění 10<sup>0</sup>) se inokulovala do sterilní Petriho misky a zalila 15 ml TSA (resp. MEA) agaru ochlazeného na 45±2 °C. Odběry dalších vzorků byly prováděny v doporučených intervalech 24, 48, 72 a 96 h. Všechny agary byly kultivovány v termostatu 24 hodin při teplotě 35±2 °C (resp. 30 ± 1 °C). Po inkubaci se u všech agarů hodnotil počet narostlých kolonií.

## 4 Výsledky a diskuze

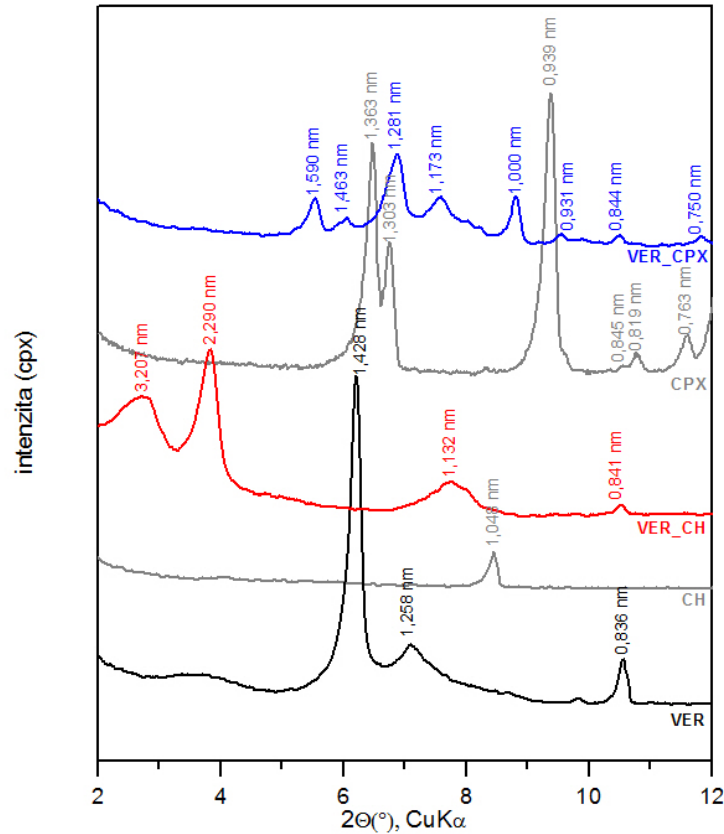
### 4.1 Vyhodnocení struktury vzorků práškových nanoplňiv

#### 4.1.1 Rentgenová difrakční analýza

Pro práškové vzorky VER, ZnOVER, CH, VER\_CH, CPX, VER\_CPX, ZnOVER\_CH a ZnOVER\_CPX byly pořízeny rentgenové difrakční záznamy. Na Obr. 8 je difrakční záznam vzorků s původním nosičem VER, jednotlivých organických složek a VER modifikovaných forem při nižších úhlech  $2\theta$  (2-12). U původního VER lze z RTG difrakčního záznamu pozorovat dané bazální difrakce s hodnotou mezivrstevní vzdálenosti  $d = 1.428$  nm, jež odpovídá dvěma vrstvám molekul vody okolo hydratovaných mezivrstevních kationtů vermikulitu,  $d = 1.258$  nm odpovídající jedné vrstvě molekuly vody a  $d = 0.836$  nm, jež představuje příměsi amfibolového minerálu [58].

Hodnoty mezivrstevní vzdálenosti vzorku VER\_CPX (Obr. 8)  $d = 1,590$  nm a  $d = 1,463$  nm poukazují na částečnou interkalaci ciklopiroxolaminu do mezivrství vermikulitu a hodnota  $d = 1,281$  nm vypovídá o snížení obsahu vody v mezivrství po interkalaci CPX,  $d = 1,173$  nm pak odpovídá jedné vrstvě molekul vody,  $d = 1.000$  nm dehydratované struktury a  $d = 0.844$  nm příměsi amfibolového minerálu. U vzorku VER\_CH (Obr. 8) hodnota  $d = 1,132$  nm odpovídá obdobnému snížení obsahu vody po navázání chlorhexidinu do mezivrství vermikulitu, kdy o jeho interkalaci napovídají také hodnoty  $d = 3,207$  nm a  $d = 2,290$  nm. Hodnota  $d = 0.841$  nm pak odpovídá příměsi amfibolového minerálu.

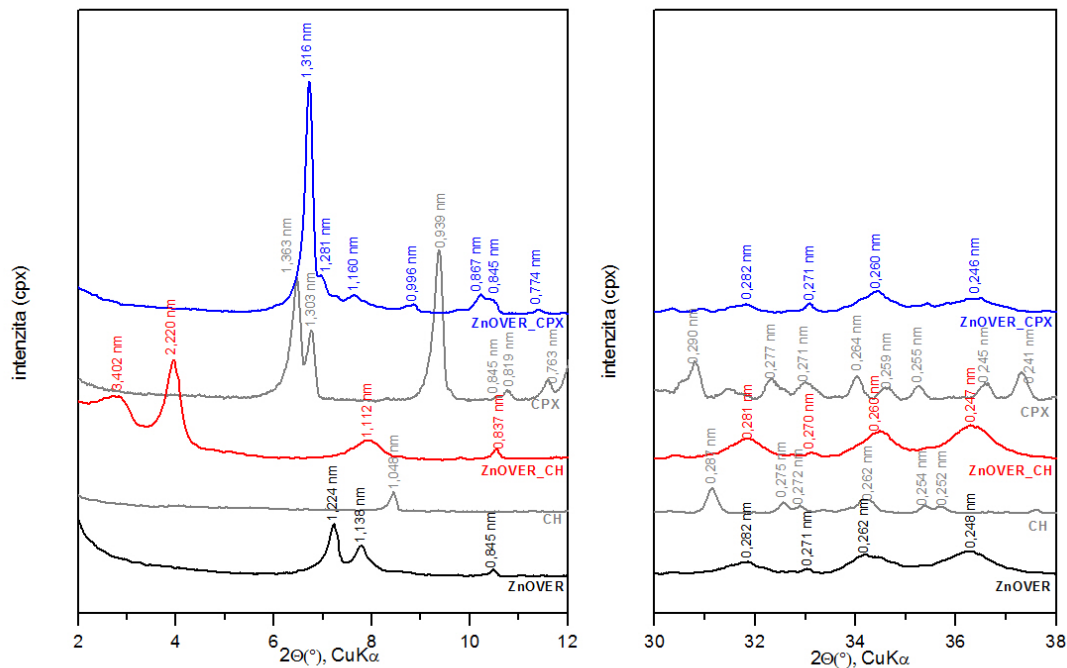
Na Obr. 9 jsou uvedeny RTG difrakční záznamy vzorků ZnOVER modifikovaných forem při úhlech  $2\theta$  (2-12), ale také při vyšších úhlech  $2\theta$  (30-38), kde lze pozorovat difrakce odpovídající ZnO a tedy jeho přítomnost na VER konkrétně z hodnot bazálních difrakcí charakteristických pro ZnO  $d(100) = 0.282$  nm,  $d(002) = 0.262$  nm a  $d(101) = 0.248$  nm.



**Obr. 8.** RTG difrakční záznamy práškových vzorků VER, CH, VER\_CH, CPX, VER\_CPX v rozmezí 2 – 12° 2θ.

Interkalaci CPX (Obr. 9) na ZnOVER odráží hodnota 1,316 nm, kdy došlo pravděpodobně opět k současné výměně CPX za molekuly vody, a nejspíš k interkalaci s lepším uspořádáním ve struktuře, o čemž vypovídá výrazně intenzivnější difrakce ve srovnání s VER\_CPX a to díky tomu, že u vstupního ZnOVER byl již nižší obsah vody a mezivrstevních kationtů než při interkalaci do původního VER. Hodnoty 1,281 nm a 1,160 nm odpovídají také úbytku vody v mezivrstvě po interkalaci CPX.

U vzorku ZnOVER\_CH (Obr. 9) došlo k obdobnému uspořádání jako v případě vzorku VER\_CH, kdy hodnota  $d = 1,112$  nm odpovídá obdobnému snížení obsahu vody po navázání CH do mezivrstev ZnOVER a jeho interkalaci potvrzují hodnoty  $d = 3,402$  nm a  $d = 2,220$  nm. Dále lze u těchto vzorků (Obr. 9) při vyšších úhlech vždy vidět, již zmíněné bazální difrakce charakteristické pro ZnO, jež jsou uvedeny výše. Na Obr. 8 a 9 můžeme pozorovat také charakteristické difrakce jednotlivých antimikrobiálních složek CPX a CH.



**Obr. 9.** RTG difrakční záznam práškových vzorků ZnOVER, CH, ZnOVER\_CH, CPX, ZnOVER\_CPX.

#### 4.1.2 Infračervená spektroskopie

IČ spektra byla měřena pro vzorek vermikulitu a jeho modifikovaných forem s oxidem zinečnatým, ciklopiroxolaminem a chlorhexidinem.

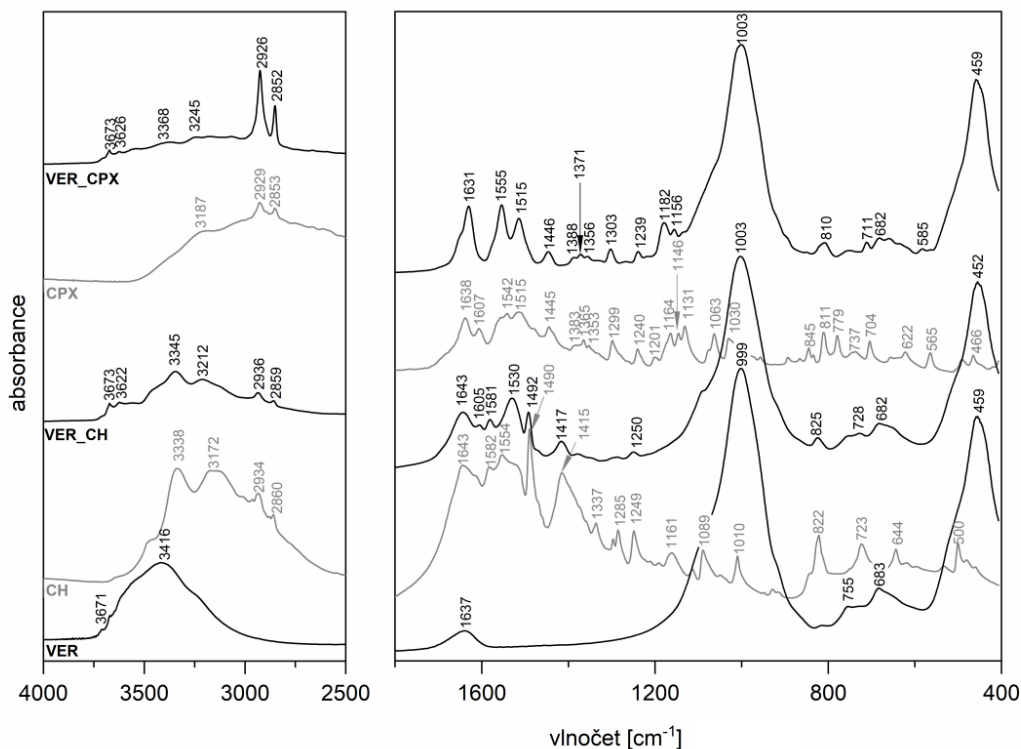
Na Obr. 10 jsou vyobrazena IČ spektra VER, CH, VER\_CH, CPX a VER\_CPX a na Obr. 11 jsou spektra ZnOVER, CH, ZnOVER\_CH, CPX a ZnOVER\_CPX. Z těchto spekter lze vyčíst změny, ke kterým došlo v důsledku navázání organické složky na jílový nosič a jeho modifikovanou formu se ZnO. V tabulce 4 jsou pak pro VER, CPX, CH a ZnOVER uvedeny vlnočty nejvýznamnějších absorpčních pásů a jejich charakteristické vibrace přiřazené dle literatury [59, 60].

Z porovnání spekter vzorků VER, CPX a VER\_CPX (Obr. 10) lze u záznamu spektra pro VER\_CPX pozorovat posun v oblasti charakteristických valenčních vibrací pro OH skupinu ( $3245\text{ cm}^{-1}$ ) a to z původního VER ( $3416\text{ cm}^{-1}$ ), což vypovídá o navázání CPX, nejspíš za pomoci vodíkové vazby, mezi strukturálními OH skupinami VER a OH skupinami CPX. Obdobně jako v předchozím případě se tento posun projevil také u charakteristických valenčních vibrací OH skupin vzorků ZnOVER ( $3449\text{ cm}^{-1}$ ) a ZnOVER\_CPX ( $3382\text{ cm}^{-1}$ ) (Obr. 11). Dále můžeme u obou zmíněných vzorků pozorovat, že po navázání CPX dochází k posunu v oblasti odpovídající valenčním vibracím skupiny C=O, která náleží do amidického

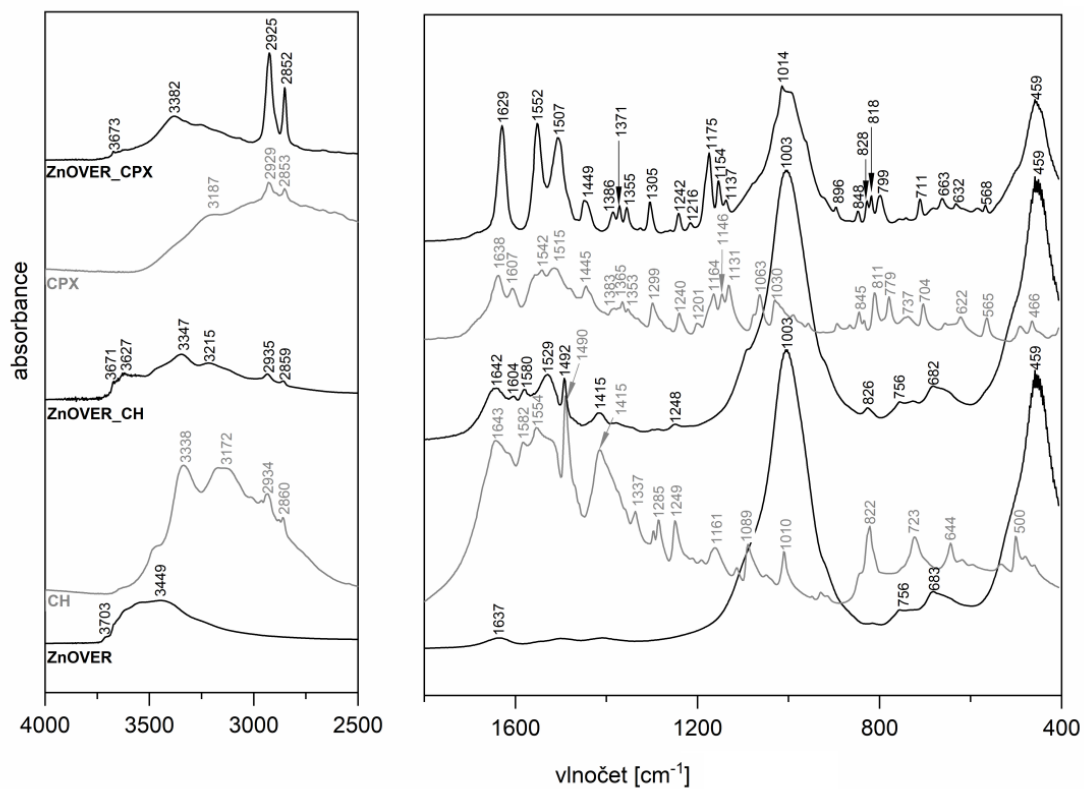
uspořádání, a to z původní hodnoty  $1542\text{ cm}^{-1}$  na  $1555\text{ cm}^{-1}$  pro VER\_CPX (Obr. 10) a  $1552\text{ cm}^{-1}$  pro ZnOVER\_CPX (Obr. 11). Dále o přítomnosti CPX v obou typech vzorků vypovídají další absorpční pásy charakteristické pro CPX charakteristické, především asymetrické a symetrické valenční vibrace C-H vazeb, deformační vibrace C-H vazeb, valenční vibrace N-O a C-N vazeb (viz. Tabulka 4).

V případě vzorků s chlorhexidinem pravděpodobně dochází pouze k fyzikálnímu navázání přes vodíkové můstky NH skupin chlorhexidinu na OH skupiny vermikulitu ( $3345\text{ cm}^{-1}$ ) a to z původního VER ( $3416\text{ cm}^{-1}$ ) pro VER\_CH (Obr. 10) a pro ZnOVER ( $3449\text{ cm}^{-1}$ ) na ZnOVER\_CH ( $3347\text{ cm}^{-1}$ ) na Obr. 11.

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  $350^\circ\text{C}$ .



Obr. 10. IČ spektra VER, CH, VER\_CH, CPX a VER\_CPX.



Obr. 11. IČ spektra ZnOVER, CH, ZnOVER\_CH, CPX a ZnOVER\_CPX.

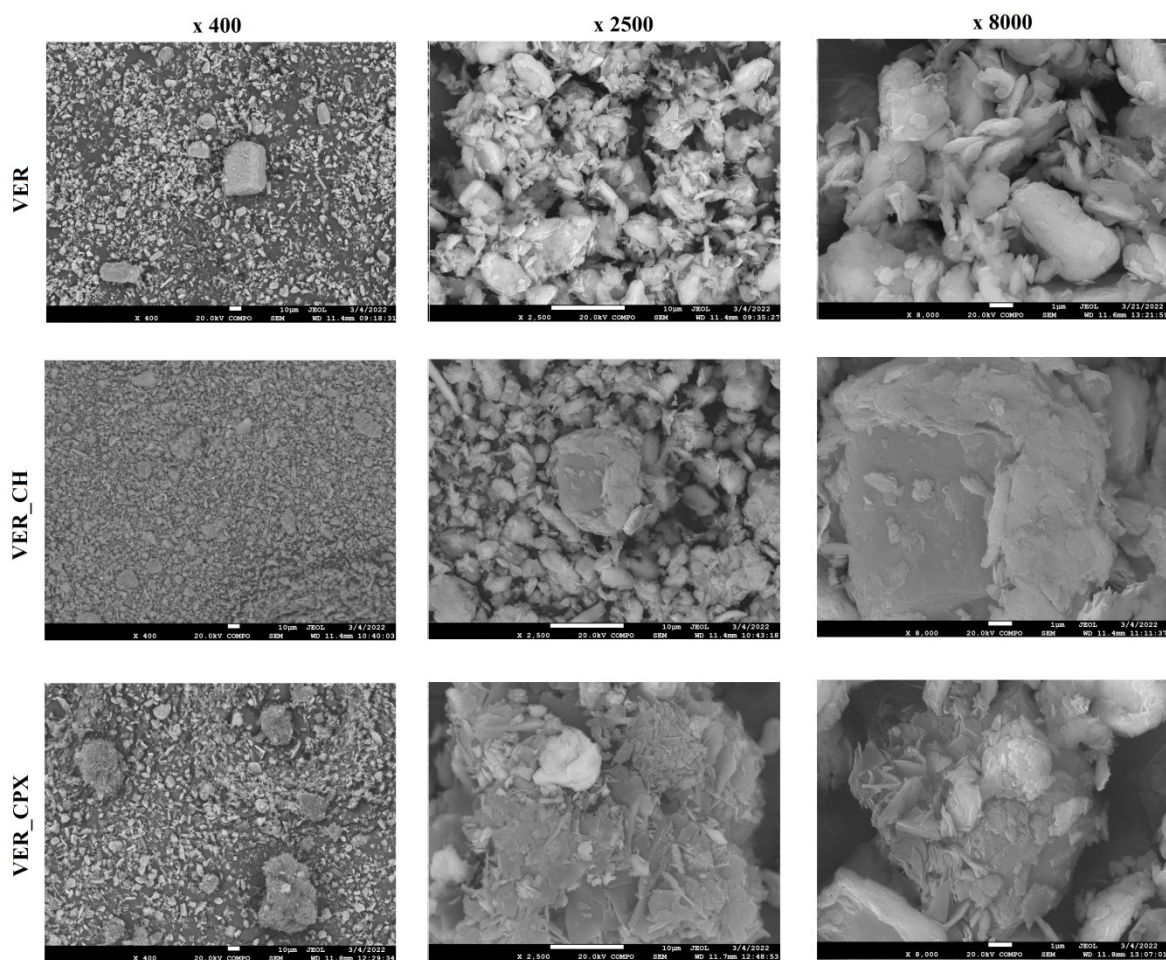
**Tabulka 4.** Nejvýznamnější vlnočty absorpčních pásů vzorků VER, CPX, CH, ZnOVER a jejich přiřazení charakteristickým vibracím [59, 60].

	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 $\text{C}=\text{O}$ 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)	
CH	3327, 3219	Asymetrické, symetrické valenční vibrace NH skupiny
	2936, 2860	Asymetrické a symetrické valenční vibrace C-H skupiny
	1641	Valenční vibrace iminové skupiny ( $\text{C}=\text{N}$ )
	1490, 1580	Valenční vibrace sekundárních aminových a iminových skupin (NH)
	1412	Valenční vibrace ( $\text{C}=\text{C}$ ) aromatického kruhu
	823	Mímorovinné ( $\text{C}-\text{H}$ ) deformační vibrace 1,4-disubstituovaného aromatického kruhu
ZnOVER	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 $\text{C}=\text{O}$ skupiny (zbytkové, karbonátová skupina z $\text{ZnCO}_3$ )
	1423	Valenční vibrace $\text{C}=\text{O}$ 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	



### 4.1.3 Skenovací elektronová mikroskopie, EDS

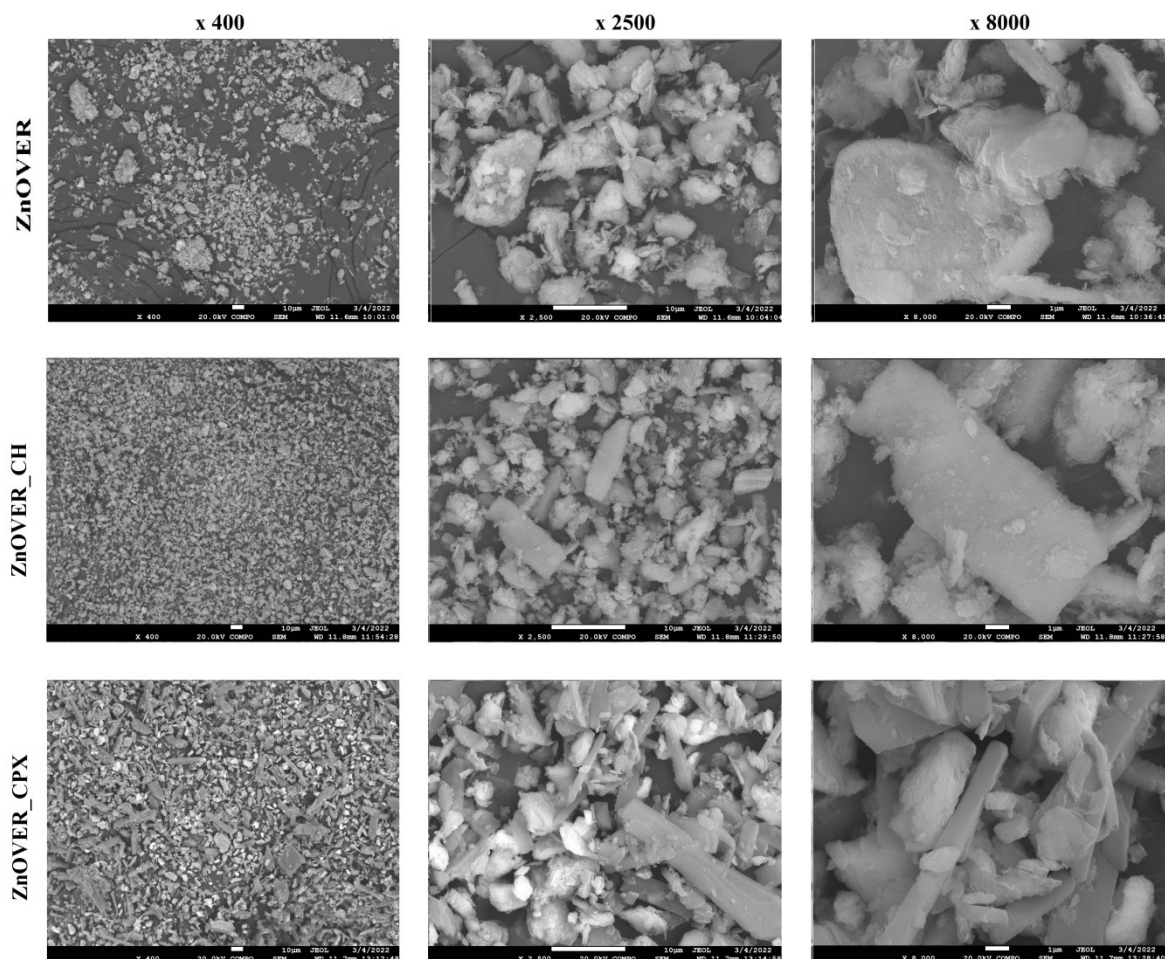
Obr. 12 a 13 znázorňují SEM snímky práškových vzorků VER, VER\_CH a VER\_CPX (Obr. 12) a ZnOVER, ZnOVER\_CH, ZnOVER\_CPX (Obr. 13), kdy každý vzorek je vyobrazen ve zvětšení x 400, x 2500 a x 8000. Ze snímků vzorku samotného VER (Obr. 12) je patrná jeho vrstevnatá struktura, kdy můžeme pozorovat jeho jednotlivé destičky. U snímků s navázanými organickými složkami CH a CPX, v porovnání s původním VER, lze pozorovat více narušenou a delaminovanou strukturu. U vzorku VER\_CH můžeme pozorovat částice s hladším povrchem jednotlivých desek, kdy hrany zůstávají zaoblené. Naopak v případě vzorku s vázaným CPX vidíme ostřejší hrany jednotlivých částic, kdy na povrchu je možno pozorovat více menších částic/destiček oproti vzorkům VER a VER\_CH.



**Obr. 12.** SEM snímky VER, VER\_CH, VER\_CPX ve zvětšení 400x, 2500x a 8000x.

Navázání ZnO je vidět ve formě světlých menších aglomerujících částic a to především na hranách VER (Obr. 13). Obdobně jako u vzorků VER\_CPX a VER\_CH způsobil přídavek

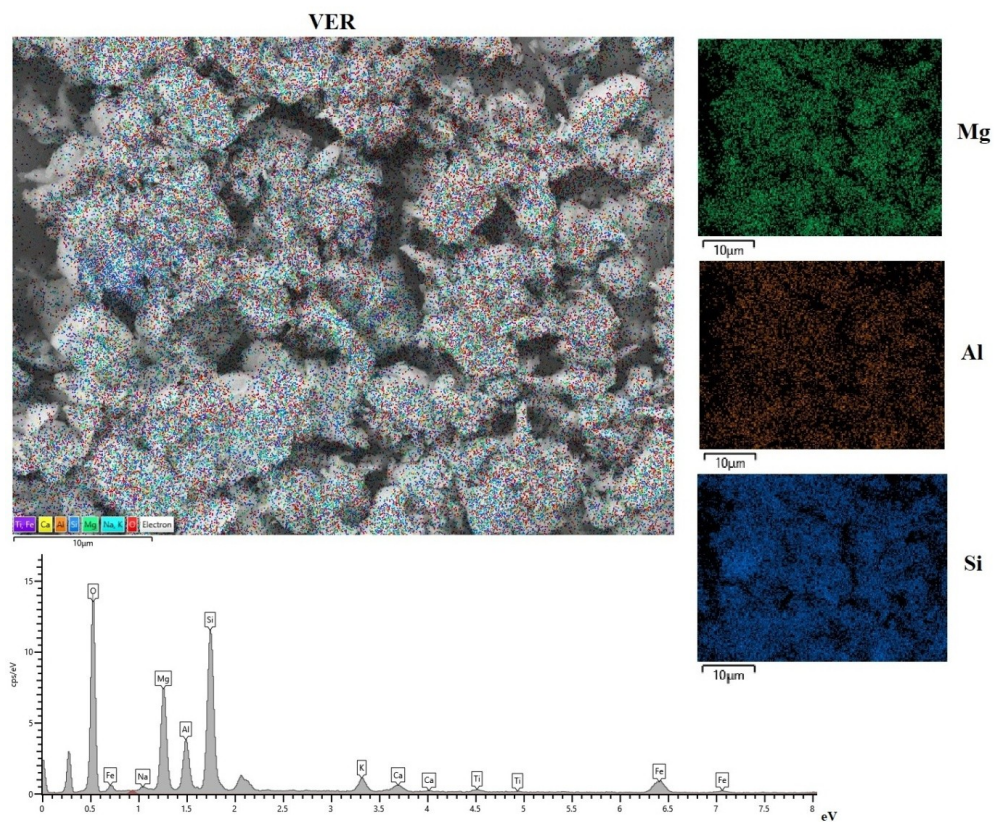
organické fáze vyhlazení povrchu jednotlivých destiček VER a došlo k vytvoření ostré kontury jednotlivých částic, přičemž pozorujeme, jak jsou větší částice obklopeny menšími a vrstevnatá struktura VER je v tomto případě lépe pozorovatelná než u výchozího ZnOVER.



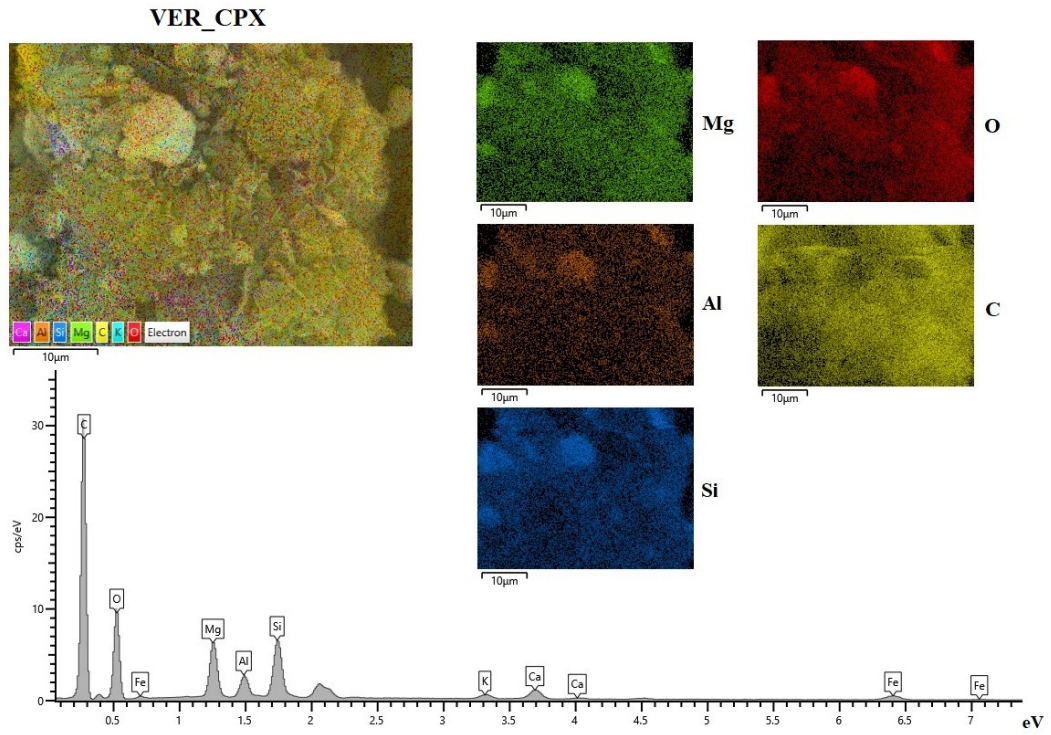
**Obr. 13.** SEM snímky ZnOVER, ZnOVER\_CH, ZnOVER\_CPX ve zvětšení 400x, 2500x a 8000x.

Navázání jak organických složek CH a CPX, tak anorganického ZnO lze také potvrdit na základě EDS analýzy jež je uvedena na Obr. 14-16 pro vzorky na VER a na Obr. 17-19 pro vzorky na ZnOVER. Navázání organických složek lze pozorovat jednak výrazným výskytem C, kdy pro CPX se tento prvek hojně vyskytuje po celém povrchu jílových částic (Obr. 15 a 18), nebo také v případě CH lze jeho přítomnost potvrdit výskytem Cl především na hranách a částečně na povrchu (Obr. 16 a 19), kdy toto navázání odpovídá výsledkům FTIR analýzy. U vzorků VER modifikovaného ZnO je také vidět hojně zastoupení Zn, kdy u vzorku ZnOVER (Obr. 17) pozorujeme výskyt Zn po relativně velké části povrchu. U vzorku ZnOVER\_CPX

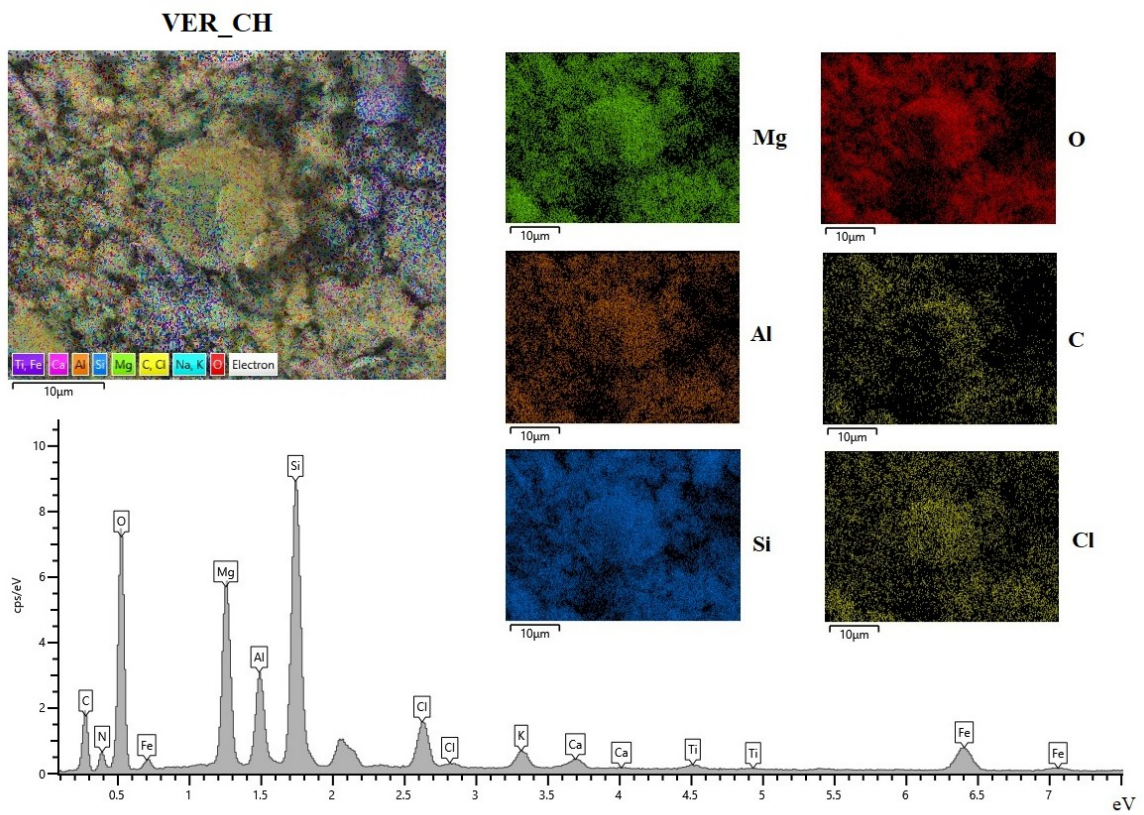
(Obr. 18) je naopak možné pozorovat výskyt Zn spíše na hranách částic, kdy větší část povrchu pokrývá CPX, což lze pozorovat prostřednictvím výskytu C. Obdobně je tomu také u vzorku ZnOVER\_CH (Obr. 19).



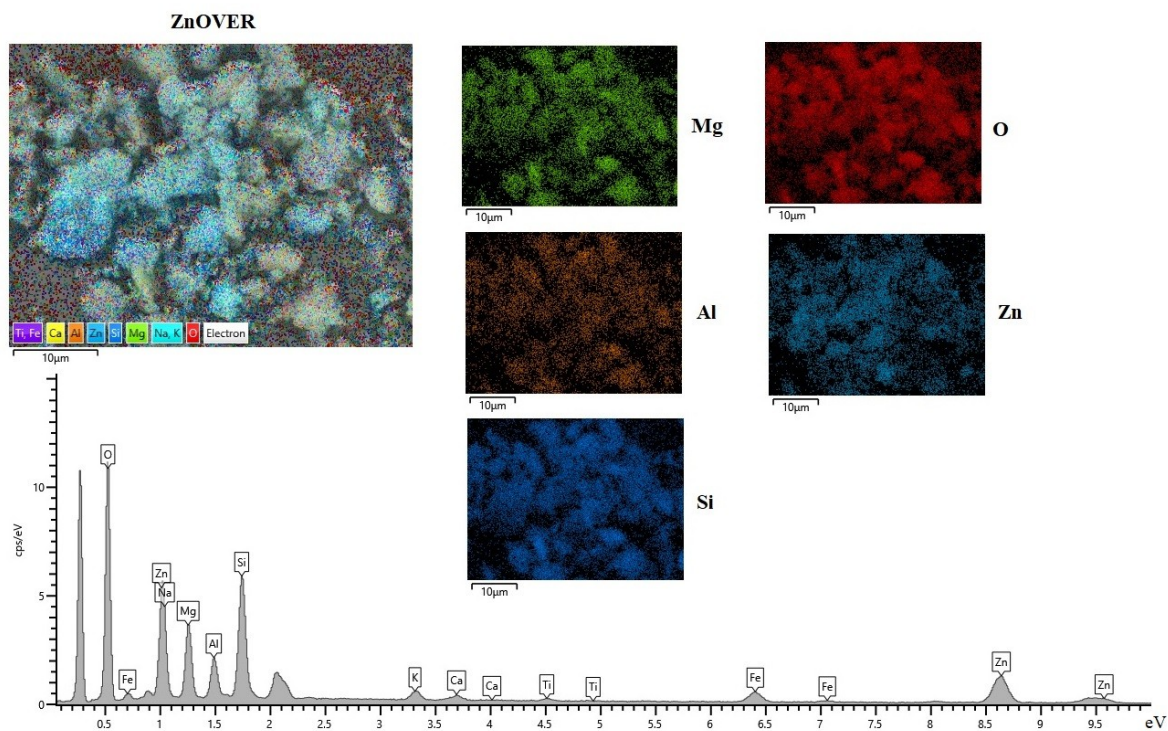
**Obr. 14.** SEM snímky s EDS analýzou vzorku VER, 2500x.



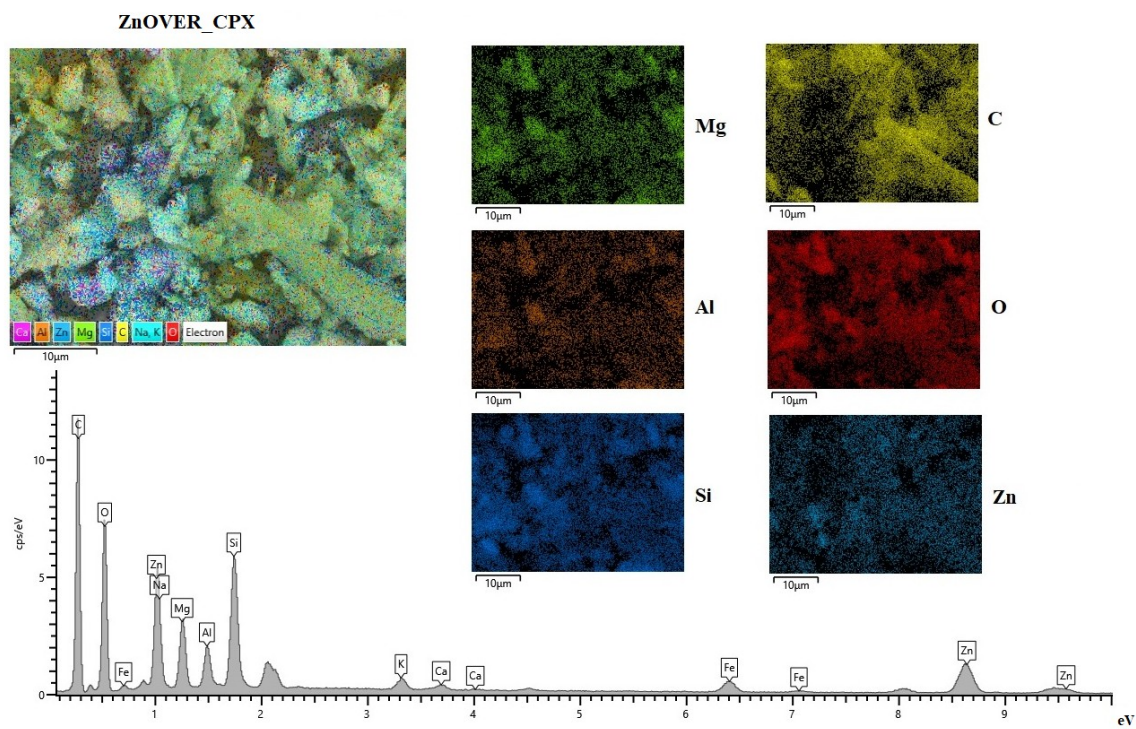
**Obr. 15.** SEM snímky s EDS analýzou vzorku VER\_CPX, 2500x.



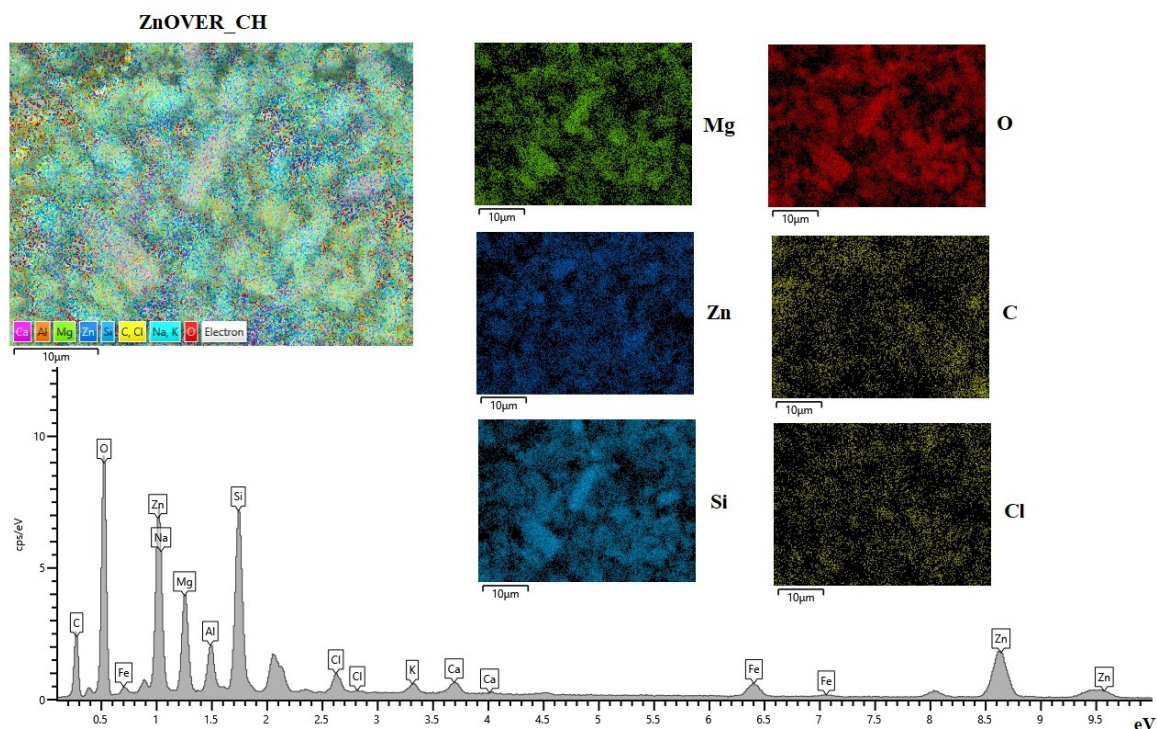
**Obr. 16.** SEM snímky s EDS analýzou vzorku VER\_CH, 2500x.



**Obr. 17.** SEM snímky s EDS analýzou vzorku ZnOVER, 2500x.



**Obr. 18.** SEM snímky s EDS analýzou vzorku ZnOVER\_CPX, zvětšení 2500x.



**Obr. 19.** SEM snímky s EDS analýzou vzorku ZnOVER\_CH, 2500x.

#### 4.1.4 Velikost částic, $\zeta$ -potenciál a měrný specifický povrch

Pro vyhodnocení velikosti částic byly využity parametry průměru  $d_m$  (mode) a  $d_{43}$  (mean). Průměrná hodnota  $d_m$  vyjadřuje nejčastěji se vyskytující velikost částic ve vzorku. Jde o nejvyšší bod frekvenční křivky. Pakliže má tato křivka jedno maximum jde o monomodální distribuci, pakliže má dvě maxima jedná se o binodální distribuci a pokud má více maxim, mluvíme o multimodální distribuci, přičemž maximum bereme nejvyšší bod nejširšího píku [61].

Dále  $d_{43}$  nebo-li aritmetický průměr vyjadřuje nejčastěji se vyskytující průměrnou velikost částic v objemu vzorku [62]. Jednotlivé průměrné hodnoty velikosti částic jsou uvedeny v tabulce 5.

Velikost částic vstupní vzorku – vermikulitu VER – vykazovala monomodální charakter s průměrnými hodnotami 3,385  $\mu\text{m}$  (resp. 3,205  $\mu\text{m}$ ). Vypěstování nanočástic ZnO na VER (ZnOVER) částicích vedlo k mírnému nárůstu průměrných hodnot na 4,635  $\mu\text{m}$  (resp. 4,750  $\mu\text{m}$ ) a zachování monomodálního charakteru distribuce velikosti částic. Obdobný charakter byl pozorován při ukotvení CH do VER struktury (VER\_CH). Naopak složka CPX ve VER

strukturu způsobila vznik multimodálního charakteru distribuce velikosti částic s průměrnou hodnotou 17.089  $\mu\text{m}$  ( $d_{43}$ ).

CH ukotvený na ZnOVER částice způsobuje pokles průměrných hodnot velikosti částic a zároveň vznik velmi jemných frakcí v objemu vzorku o průměrné velikosti 0,197  $\mu\text{m}$  ( $d_m$ ). Naopak složka CPX způsobuje nárůst průměrné velikosti částic na 8,816  $\mu\text{m}$  a vznik 200  $\mu\text{m}$  frakce, která je způsobena intenzivní aglomerací částic. Tomuto chování odpovídají rovněž hodnoty  $\zeta$ -potenciálu, které v případě vzorku ZnOVER\_CPX dosahují nejnižších hodnot.

Připravené práškové vzorky z hlediska hodnot  $\zeta$ -potenciálu vykazují dobrou stabilitu, kdy jako nestabilnější vzorek byl vyhodnocen vzorek VER s (-46.0 mV), resp. ZnOVER (-33.1 mV). Ukotvení organických složek na tyto částice vede vždy k poklesu hodnot  $\zeta$ -potenciálu a navíc v případě CH složky rovněž ke změně polarity.

**Tabulka 5.** Velikosti částic  $d_{50}$ ,  $d_{43}$  a  $d_m$ ,  $\zeta$ -potenciál a měrný specifický povrch práškových vzorků.

Vzorek	$d_{43}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_m$ [ $\mu\text{m}$ ]	$\zeta$ -potenciál [mV]	Měrný specifický povrch [ $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ]
VER	3.385	3.205	-46.0	32,43
ZnOVER	4.635	4.750	-33.1	31,04
VER_CH	4.984	4.796	+24.1	10,09
ZnOVER_CH	3.596	0.197, 3.905	+15.5	7,59
VER_CPX	17.089	0.172, 6.720, 152.453	-28.1	11,82
ZnOVER_CPX	26.892	8.816, 200.000	-6.8	23,87

Měrný specifický povrch VER byl stanoven z lineární regrese BET izotermy, kdy velikost povrchu byla naměřena jako 32,43  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Velikost měrného specifického povrchu vzorku VER\_CH byla zjištěna jako 10,09  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , při porovnání se vzorkem VER tedy došlo ke zmenšení velikosti povrchu, což by mohlo být v důsledku zaplnění pórů (vyhlazení struktury povrchu) při navázání CH. Ke zmenšení měrného specifického povrchu, vůči původnímu VER, došlo také v případě VER\_CPX. Obdobně se změna velikosti povrchu projevuje také u vzorků s výchozím ZnOVER.

Zjištěné zvětšení velikosti částic u vzorku VER\_CH koresponduje se snížením měrného specifického povrchu. U vzorku ZnOVER\_CH však zaznamenává menší velikost částic i povrchu. V případě vzorků s vázaným CPX je tomu u VER\_CPX obdobně jako v případě VER\_CH, kdy pozorujeme výskyt větších částic s menším měrným specifickým povrchem. Naopak u vzorku ZnOVER\_CPX jsou zjištěny větší částice a odpovídající menší měrný specifický povrch. Zjištěné velikosti také odpovídají SEM snímkům (Obr. 12 a 13).

#### 4.1.5 Stanovení obsahu organického uhlíku

V tabulce 6 je uvedeno teoretické množství uhlíku, které by bylo do daného vzorku dodáno formou sloučenin CPX a CH, jelikož přírodní jílové minerály neobsahují žádný typ uhlíku, čili se jedná výlučně o organický uhlík. Z tabulky je patrné, že větší množství CH se nainterkalovalo/navázalo na výchozí materiál VER, kdežto v případě CPX bylo více navázáno/interkalováno ve výchozím materiálu ZnOVER.

**Tabulka 6.** Hodnoty stanovení obsahu organického uhlíku práškových vzorků.

Vzorek	Teoretické hodnoty	Skutečné hodnoty
	[%]	[%]
VER_CH	21,10	11,46
ZnOVER_CH	21,10	7,03
VER_CPX	31,30	26,60
ZnOVER_CPX	31,30	31,13

## 4.2 Vyhodnocení struktury polymerních nanovláken

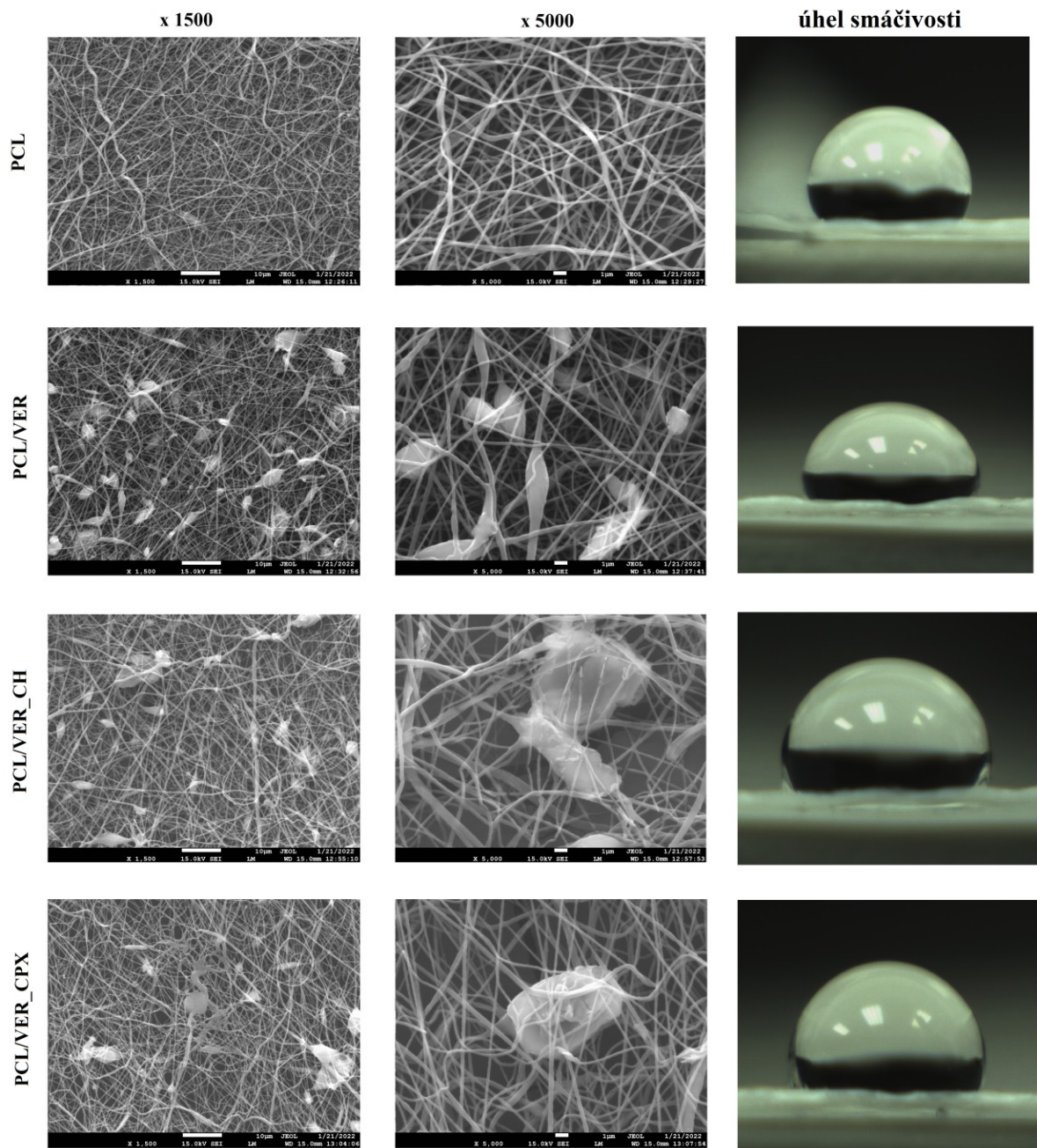
### 4.2.1 Skenovací elektronová mikroskopie

Na Obr. 20 jsou vyobrazené snímky vzorků připravených nanovláken čistého PCL a PCL s plnivem VER, VER\_CH, VER\_CPX a snímky vyhodnocení úhlu smáčivosti. Každý vzorek je vyobrazen vždy ve zvětšení 2500x a 8000x. U vláken čistého PCL lze pozorovat hladká vlákna bez viditelných defektů. U dalších vzorků přítomnost částic plniva způsobuje ztenčení a narovnání vláken, přítomnost kapiček a také defekty ve formě přetržení některých vláken. Kapičky jsou pravděpodobně tvořeny z důvodu přítomnosti plniva, jež by mohlo mít vliv na viskozitu zvláknovaného roztoku. V případě vzorku PCL/VER pozorujeme, že PCL obalí částici VER a poté je vlákno převážně taženo z konců těchto částic, kdežto u vzorků, kde je

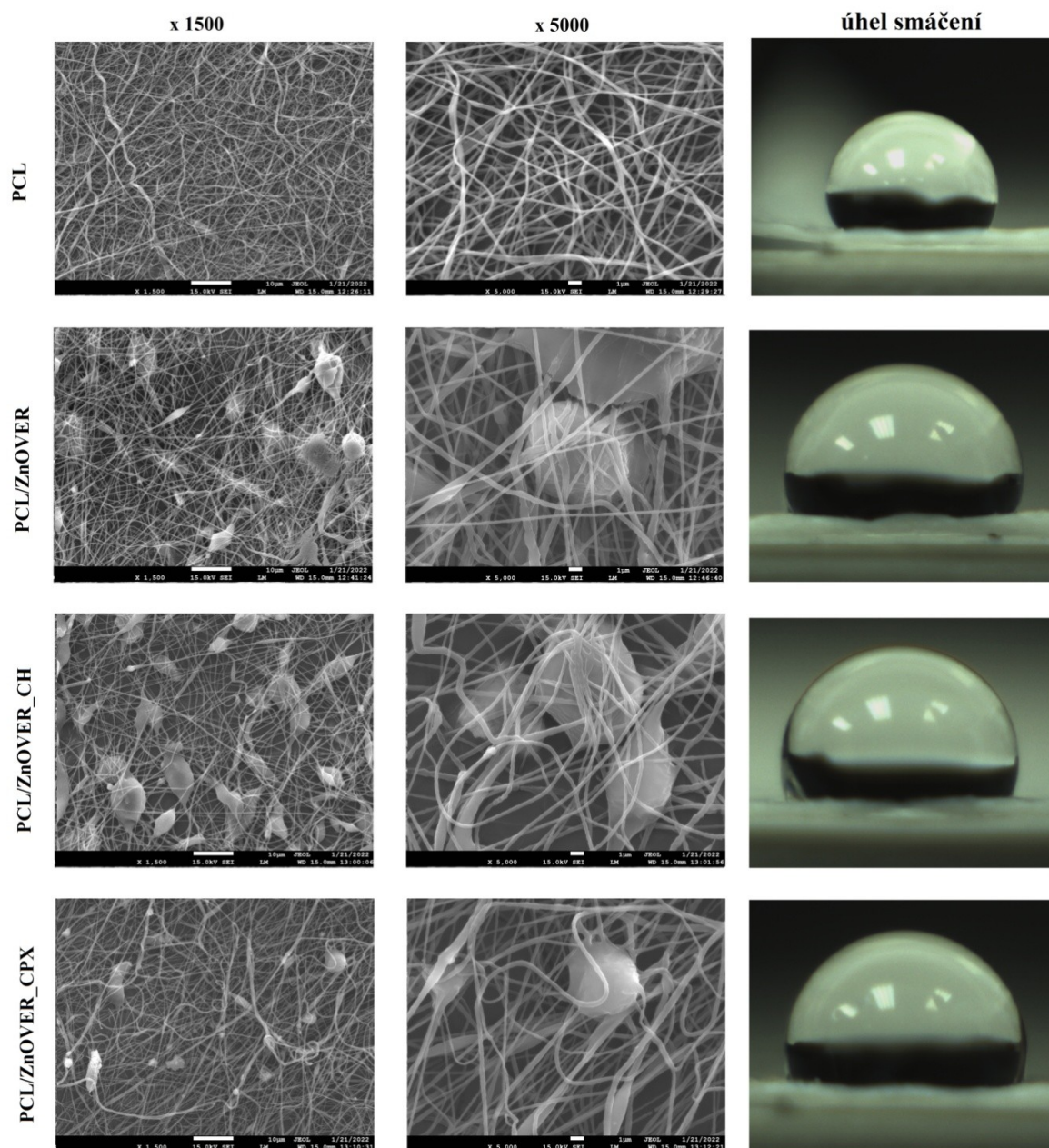


přítomna organická sloučenina, vychází vlákna PCL jednak z hran částic VER\_CH či VER\_CPX, ale také jsou tažena na povrchu těchto částic.

U vzorků s plnivý ZnOVER, ZnOVER\_CH, ZnOVER\_CPX na Obr. 21 ve zvětšeních 2500x a 8000x pozorujeme obdobný jev jako u předchozích vzorků (Obr. 20), kdy lze pozorovat i v tomto případě, že vlákna obsahující plniva jsou tenčí a obsahují defekty ve formě přetržených vláken a obsahu kapiček. Vlákna s plnivý obsahující organickou fází jsou pak oproti vláknům obsahujícím pouze ZnOVER hladší. U vzorků s CPX lze pak vidět menší výskyt kapiček.



**Obr. 20.** SEM snímky nanovláken PCL s plnivou VER, VER\_CH a VER\_CPX a vyhodnocení úhlu smáčení.



**Obr. 21.** SEM snímky nanovláken PCL s plnivou ZnOVER, ZnOVER\_CH a ZnOVER\_CPX a vyhodnocení úhlu smáčení.

#### 4.2.2 Vyhodnocení úhlu smáčivosti

Pro vyhodnocení úhlu smáčivosti jednotlivých vzorků nanovláken byla jako smáčecí kapalina zvolena destilovaná voda. Na Obr. 20 a 21 v předchozí kapitole jsou SEM snímky jednotlivých vzorků vláken při dvou zvětšeních, kdy ve třetím sloupci daného vzorku je snímek kapky na vzorku připravených vláken. Ze tří zjištěných hodnot úhlu smáčení byl pro

každý vzorek vypočten průměrný kontaktní úhel, jehož hodnota pro každý vzorek je uvedena v tabulce 7.

Vzhledem k tomu, že u všech vzorků překračují hodnoty úhlu smáčení 90°, považujeme připravená vlákna jako hydrofóbní.

**Tabulka 7.** Průměrné hodnoty úhlů smáčivosti vzorků nanovláken.

Vzorek	Úhel smáčivosti [°]
PCL	98,7262
PCL/VER	97,1197
PCL/VER_CH	97,5623
PCL/VER_CPX	93,5692
PCL/ZnOVER	93,0308
PCL/ZnOVER_CH	97,4610
PCL/ZnOVER_CPX	96,5354

#### 4.2.3 Diferenční skenovací kalorimetrie

Krystalinita připravených nanovláken, tedy samotného PCL a vzorků s jednotlivými plnivy, byla vyhodnocována metodou diferenční skenovací kalorimetrie, kdy pro výpočet krystalinity byly porovnány zjištěné hodnoty změny entalpie v bodě tání vůči entalpii 100% PCL podle vzorce (4). Jednotlivé hodnoty jsou uvedeny v tabulce 8.

$$\chi_c = \frac{\Delta H}{\Delta H^0} \cdot 100 \quad (4)$$

$$\Delta H^0 = 136,1 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} \text{ pro PCL (100\% krystalický) [63]}$$

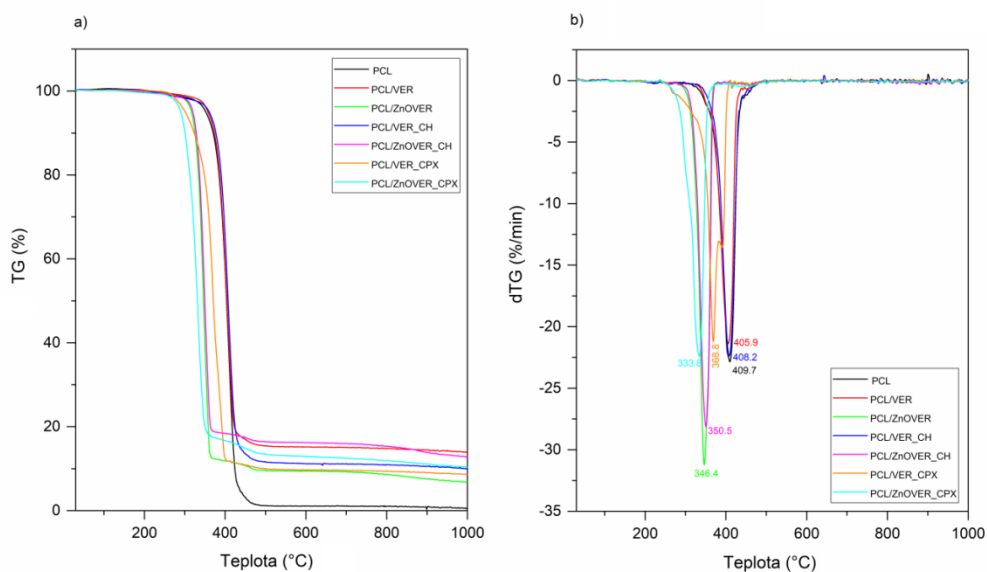
Z hodnot krystalinity vzorků PCL/VER a PCL/ZnOVER\_CPX je vidět mírné zvýšení oproti samotnému PCL. Naopak nejnižší krystalinitu vykazuje vzorek PCL/VER\_CPX. Z přiložené tabulky je patrné, že každé plnivo se chová v PCL polymerní matici jiným způsobem, má odlišné nukleační vlastnosti, které ovlivňují výslednou hodnotu krystalinity.

**Tabulka 8.** Hodnoty diferenční skenovací kalorimetrie daných vzorků.

Vzorek	$\Delta H$ [J · g <sup>-1</sup> ]	T <sub>m</sub> [°C]	Krystalinita $\chi_c$ [%]
PCL	62,417	60,843	45,86
PCL/VER	66,840	60,754	49,11
PCL/ZnOVER	60,685	60,905	44,59
PCL/VER_CH	61,336	60,766	45,07
PCL/ZnOVER_CH	59,422	60,489	43,66
PCL/VER_CPX	56,350	60,479	41,40
PCL/ZnOVER_CPX	65,965	60,517	48,47

#### 4.2.4 Termogravimetrická analýza

Ovlivnění degradace připravených nanovláken vlivem přidání jednotlivých plniv bylo sledováno prostřednictvím termogravimetrické analýzy, kdy byly sledovány změny hmotnosti vzorku v závislosti na rostoucí teplotě. Na Obr. 22 jsou vyobrazeny TG a dTG křivky vzorků polymerních nanovláken s jednotlivými plnivy. Zjištěné hodnoty změny hmotnosti s odpovídajícími teplotami degradace PCL T<sub>max</sub>, jsou pak uvedeny v tabulce 9. Při porovnání hodnot pro čisté PCL všeobecně všechny vzorky vykazovaly horší stabilitu. Vzorky obsahující ZnO vykazovaly degradaci nanovláken při podstatně nižších teplotách a obdobně je tomu u vzorku obsahujícího také CPX. U vzorku PCL/ZnOVER\_CPX se dostáváme na nejnižší teplotu 333,8 °C, což znamená pokles o více než 75 °C oproti čistému PCL. Přítomnost ZnO tedy zhoršuje odolnost odpovídajících připravených kompozitních nanovláken vůči vyšším teplotám.



**Obr. 22.** TGA záznamy vzorků polymerních nanovláken s danými plnivými.

**Tabulka 9.** Hodnoty termogravimetrické analýzy jednotlivých vzorků polymerních nanovláken.

Vzorek	$\Delta m$	$T_{\max}$
	[%]	[°C]
PCL	-97,7	409,7
PCL/VER	-84,1	405,9
PCL/ZnOVER	-88,3	346,4
PCL/VER_CH	-87,7	408,2
PCL/ZnOVER_CH	-81,6	350,5
PCL/VER_CPX	-89,6	368,8
PCL/ZnOVER_CPX	-83,3	333,8

#### 4.2.5 Zhodnocení antimikrobiálních testů

Antimikrobiální aktivita připravených nanovláken byla testována metodikou dle normy ISO 20743 – Textilie – zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků, a to proti gram-pozitivnímu bakteriálnímu kmeni *Staphylococcus aureus* a kvasince *Candida albicans*. Výsledky antimikrobiálních testů jsou zaznamenány v tabulkách 10 a 11 a vyjádřeny jako průměr vypočítaných logaritmů bakterií ze dvou stanovení každého vzorku. Hodnota antibakteriální účinnosti (A) je uváděna v logaritmech, jako rozdíl lg počtu bakterií ve

zkušební vzorku a lg počtu bakterií v kontrolním vzorku, kterým v tomto testu byla bavlna. Pokud se hodnota antibakteriálního účinku (A) pohybuje v rozmezí  $2 \leq A < 3$ , hodnotí se účinnost jako významná. Pokud je hodnota  $A \geq 3$ , hodnotí se účinnost jako silná.

Pro kmen *Staphylococcus aureus* (Tabulka 10) byla hodnota antibakteriálního účinku u všech 5 testovaných vzorků  $<1$ . Nedošlo k významnému poklesu růstu bakterií, což lze pozorovat také na Obr. 23 (a). Nicméně u vzorku PCL/ZnOVER\_CPX byl patrný pokles počtu kolonií bakteriálního kmene, zřejmě v souvislosti s nejvyšším obsahem účinné antimikrobiální složky zjištěné pomocí analýzy fázového uhlíku, přesto hodnota A byla 1,39 lg. Tento vzorek má zřetelnou tendenci snižování počtu kolonií v časových intervalech přesahujících 96 hodin. Naskýtá se tedy návrh dalšího testování v delších časových intervalech.

**Tabulka 10.** Hodnoty pro posouzení antibakteriálního účinku připravených nanovláken pro kmen *Staphylococcus aureus*.

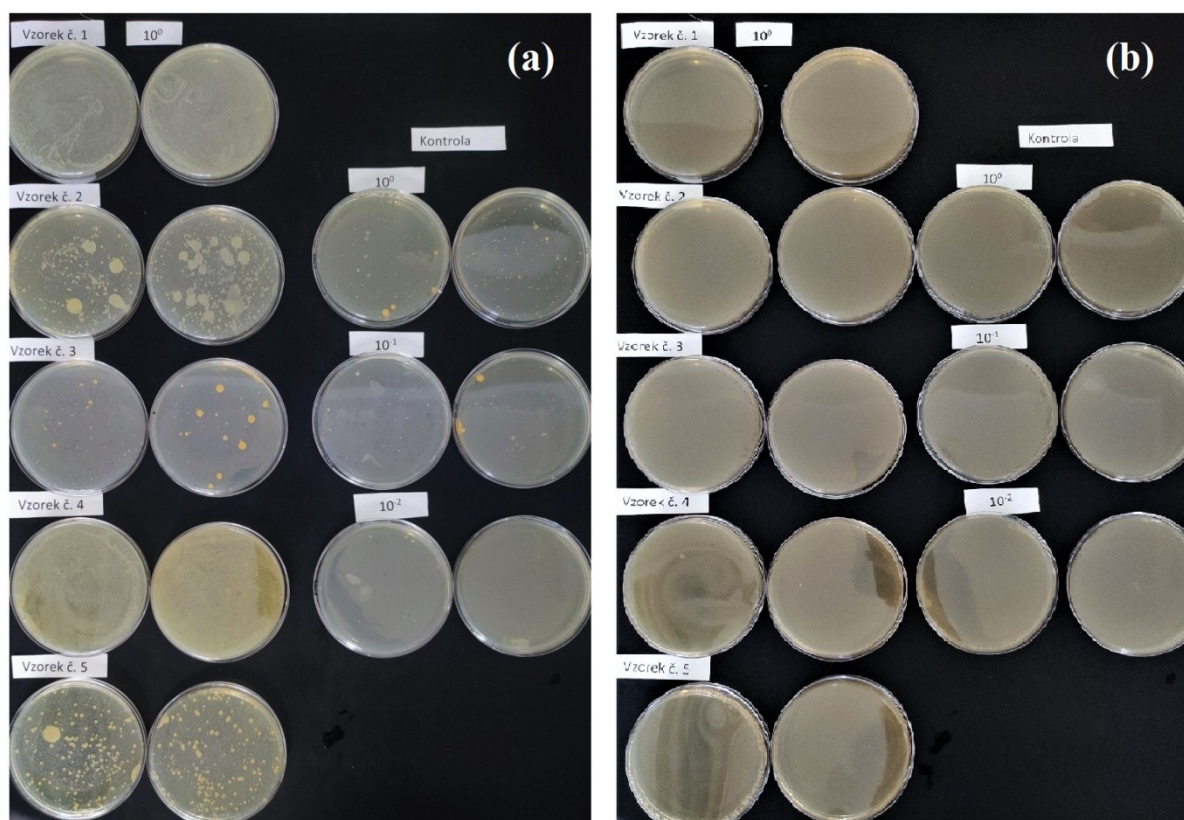
Číslo	Vzorek	Hodnota A (lg)	Účinnost (Ano/Ne)	Čas [h]
1	PCL/ZnOVER	$<1$	Ne	Po 96
2	PCL/VER_CH	$<1$	Ne	Po 96
3	PCL/ZnOVER_CH	$<1$	Ne	Po 96
4	PCL/VER_CPX	$<1$	Ne	Po 96
5	PCL/ZnOVER_CPX *	1,39	Ne	Po 96

\*U vzorku byl patrný pokles počtu kolonií bakteriálního kmene po uplynutí 96h.

Pro kmen *Candida albicans* (Tabulka 11) nebylo možné antibakteriální účinek u všech 5 testovaných vzorků posoudit vzhledem k velmi špatné viabilitě kmene v závislosti na specifických podmínkách a tedy nízkému počtu kolonií jak na samotných vzorcích, tak v kontrolním vzorku, což lze pozorovat na Obr. 23 (b), kdy neregistrujeme přítomnost kolonií na rozdíl od sady vzorků pro kmen *S. aureus* (Obr. 23 (a)). Součástí návrhu pro další testování jsou tedy podmínky s lepší výživou pro kultivovaný kmen popřípadě užití kmene odebraného z postiženého subjektu (pacienta), kdy by životaschopnost a odolnost kmene měla být vyšší než u sbírkového kmene a testování by tak bylo směřovatější. Vzhledem k účinku vzorku PCL/ZnOVER\_CPX u kmene *S. aureus* a jeho antifungální povaze bychom očekávali dobrý účinek opět pro delší časové intervaly.

**Tabulka 11.** Hodnoty pro posouzení antibakteriálního účinku připravených nanovláken pro kmen *Candida albicans*.

Číslo	Vzorek	Hodnota A (lg)	Účinnost (Ano/Ne)	Čas [h]
1	PCL/ZnOVER	<1	Ne	Po 96
2	PCL/VER_CH	<1	Ne	Po 96
3	PCL/ZnOVER_CH	<1	Ne	Po 96
4	PCL/VER_CPX	<1	Ne	Po 96
5	PCL/ZnOVER_CPX	<1	Ne	Po 96



**Obr. 23.** Kolonie kmene (a) *S. aureus* (b) *C. albicans* vzorků nanovláken v čase po 96 h, při daných zředěních.

Při porovnání výsledků dosažených v bakalářské práci na obdobných materiálech, ovšem ve formě PCL filmů, kdy tyto byly velmi účinné, můžeme konstatovat, že nezáleží pouze na chemickém složení materiálu, ale také na jeho struktuře a dalších vlastnostech.



## 5 Závěr

V rámci diplomové práce se podařilo připravit polymerní nanovlákná s nanoplňivem antimikrobiální povahy. Polymerní nanovláknennou maticí tvořil biodegradabilní polykaprolakton, nosičem antimikrobiálních sloučenin byl jílový minerál vermikulit, který byl modifikován buďto anorganickou účinnou složkou oxidem zinečnatým nebo organickou antiseptickou složkou chlorhexidinem či antifugální sloučeninou ciklopiroxolaminem, anebo se jednalo o kombinaci anorganické a dané organické složky. Vzorky prástových plniv byly charakterizovány prostřednictvím metod rentgenové difrakční analýzy (RTG), infračervené spektroskopie (IČ), skenovací elektronové mikroskopie (SEM) s EDS analýzou, dále byla posuzována velikost a stabilita částic metodami distribuce velikosti částic a  $\zeta$ -potenciálu, stanoven měrný specifický povrch a obsah organického uhlíku. Nanovláknenné vzorky byly charakterizovány metodami skenovací elektronové mikroskopie (SEM), úhlu smáčivosti, diferenční skenovací kalorimetrie (DSC), termogravimetrické analýzy (TGA) a byly provedeny antimikrobiální testy.

Z výsledků výše uvedených metod strukturních analýz bylo u práškových vzorků potvrzeno navázání účinných složek do mezivrsteví VER a ZnOVER, především u CH, ale částečně také na jeho povrch u CPX. Navázání organických sloučenin na strukturu jílového minerálu VER či ZnOVER výrazně ovlivnilo jeho povrchové vlastnosti, kdy dochází ke snížení hodnot měrného specifického povrchu, dále ke snížení hodnot  $\zeta$ -potenciálu, které navíc v případě sloučeniny CH nabývají opačných, kladných hodnot, než je tomu v ostatních případech. Co se týče sloučeniny CPX, zde navíc dochází k intenzivní aglomeraci částic, kterou můžeme pozorovat na SEM snímcích.

Metodou elektrostatického zvlákňování byla připravena série nanovláken PCL s příslušnými nanoplňivy, u nichž byla v prvním kroku hodnocena struktura a tepelná stabilita. Ze snímků SEM byl pozorován vliv přítomnosti jednotlivých plniv v nanovláknenné maticí, kdy vzorky s obsahem anorganické účinné složky obsahovaly více defektů, což se podepsalo také na jejich teplotní degradaci, kdy vzorky nanovláken s obsahem ZnO vykazovaly podstatně horší odolnost vůči vyšším teplotám, kdy vzorek PCL/ZnOVER\_CPX vykazoval degradaci při nejnižší teplotě.

V druhém kroku byla nanovlákná testována na antimikrobiální aktivitu, jež byla posuzována vůči kmenům *Staphylococcus aureus* a kvasince *Candida albicans*. V dlouhodobém časovém úseku byla po 96 hodinách zjištěna aktivita vůči *S. aureus* blížící se významné hodnotě jen u vzorku PCL/ZnOVER\_CPX. Příčinou může být právě narušenější

struktura vláken, což potvrzuje SEM analýza, a tedy by mohlo docházet ke snadnějšímu uvolňování účinných složek. U tohoto vzorky bychom dále očekávali významnější účinek při delších časových intervalech, popřípadě při vyšším obsahu antimikrobiálních účinných složek. Z důvodu špatné životaschopnosti kolonií kvasinky *C. albicans*, jak na kontrolním materiálu, kterým byla v metodice bavlna, tak na samotných polymerních nanovlákních, pak nelze posoudit účinek připravených nanovláken. Oba materiály mají velmi savou povahu a jsou pro tento kmen kvasinky nevhodným prostředím pro růst. Přesto metodika testování byla zvolena správně, jelikož se jedná o metodu pro materiály sterilní povahy, jejichž příprava je cílem této diplomové práce.

Pro budoucí testování, by bylo vhodné navrhnout vhodnější prostředí a podmínky pro kultivaci, případně odebrání kmene z postiženého subjektu a tím zajistit možnou větší odolnost, a tedy lépe vypovídající účinek navržených nanovláken.

## 6 Literatura

- [1] WANG, Shige, Fuyin ZHENG, Yunpeng HUANG, Yuting FANG, Mingwu SHEN, Meifang ZHU a Xiangyang SHI. Encapsulation of Amoxicillin within Laponite-Doped Poly(lactic- co -glycolic acid) Nanofibers: Preparation, Characterization, and Antibacterial Activity. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2012, **4**(11), 6393-6401 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/am302130b
- [2] MOCHANE, Mokgaotsa Jonas, Teboho Simon MOTSOENENG, Emmanuel Rotimi SADIKU, Teboho Clement MOKHENA a Jeremia Shale SEFADI. Morphology and Properties of Electrospun PCL and Its Composites for Medical Applications: A Mini Review. *Applied Sciences* [online]. 2019, **9**(11) [cit. 2022-04-28]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app9112205
- [3] PATHAK, Chandramani, Foram U. VAIDYA a Shashibhal M. PANDEY. Mechanism for Development of Nanobased Drug Delivery System. *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems* [online]. Elsevier, 2019, 2019, s. 35-67 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780128140291. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814029-1.00003-X
- [4] IBRAHIM, Hassan M. a Anke KLINGNER. A review on electrospun polymeric nanofibers: Production parameters and potential applications. *Polymer Testing* [online]. 2020, **90** [cit. 2022-04-28]. ISSN 01429418. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymertesting.2020.106647
- [5] TUCKER, Nick, Jonathan J. STANGER, Mark P. STAIGER, Hussam RAZZAQ a Kathleen HOFMAN. The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* [online]. 2012, **7**(2\_suppl) [cit. 2022-04-28]. ISSN 1558-9250. Dostupné z: doi:10.1177/155892501200702S10
- [6] Ultimate Guide to Electrospinning: Advantages of electrospinning technology. In: *Poly lactide* [online]. Shenzhen: Polylactide, c2022 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://polylactide.com/what-is-electrospinning/>
- [7] LUKESLE, V. *Modul ohřevu elektrozvlákňovací elektrody*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2014. 47 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Marek Pokorný, Ph.D., Contipro Biotech s.r.o..

- [8] OKUTAN, Nagihan, Pınar TERZI a Filiz ALTAY. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids* [online]. 2014, **39**, 19-26 [cit. 2022-04-28]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2013.12.022
- [9] BARDOŇOVÁ, Lenka. *Příprava nanovlákných vrstev s obsahem jílových minerálů pomocí elektrostatického zvláknování*. [online]. Ostrava, 2019. Dostupné z: <https://theses.cz/id/j74xa5/>. Diplomová práce. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, Univerzitní studijní programy. Vedoucí práce Kateřina Mamulová Kutláková.
- [10] FONG, H, I CHUN a D.H RENEKER. Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer* [online]. 1999, **40**(16), 4585-4592 [cit. 2022-04-28]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/S0032-3861(99)00068-3
- [11] SONG, K., Q. WU, Y. QI a T. KÄRKI. Electrospun nanofibers with antimicrobial properties. *Electrospun Nanofibers* [online]. Elsevier, 2017, 551-569 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780081009079. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100907-9.00020-9
- [12] GARCÍA-SALINAS, Sara, Enrique GÁMEZ, Javier ASÍN, et al. Efficiency of Antimicrobial Electrospun Thymol-Loaded Polycaprolactone Mats In Vivo. *ACS Applied Bio Materials* [online]. 2020, **3**(5), 3430-3439 [cit. 2022-04-28]. ISSN 2576-6422. Dostupné z: doi:10.1021/acsabm.0c00419
- [13] QIAN, Yunzhu, Xuefeng ZHOU, Feimin ZHANG, Thomas G. H. DIEKWISCH, Xianghong LUAN a Jianxin YANG. Triple PLGA/PCL Scaffold Modification Including Silver Impregnation, Collagen Coating, and Electrospinning Significantly Improve Biocompatibility, Antimicrobial, and Osteogenic Properties for Orofacial Tissue Regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2019, **11**(41), 37381-37396 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.9b07053
- [14] HAMPEJSOVÁ, Zuzana. *Polymerní nanovláknenné nosiče pro lokální aplikaci hydrofobních léčiv - studium profilu uvolňování léčiv pomocí HPLC*. Praha, 2018. Dizertační práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie. Vedoucí práce Bosáková, Zuzana.
- [15] GAO, Yuan, Yen BACH TRUONG, Yonggang ZHU a Ilias LOUIS KYRATZIS. Electrospun antibacterial nanofibers: Production, activity, and in vivo

- applications. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2014, **131**(18) [cit. 2022-04-28]. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.40797
- [16] 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, **178**, 87-93 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.045>
- [17] JOSHI, Mangala, Anasuya ROY, B.S. BUTOLA. Preparation and antimicrobial assessment of zinc-montmorillonite intercalates based HDPE nanocomposites: A costeffective and safe bioactive plastic. *Journal of Cleaner Production*. 2019, **212**, 1518-1525 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z doi: 10.1016/j.jclepro.2018.11.235
- [18] 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, **27**(4), 986-995 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1574-1443. Dostupné z doi: 10.1007/s10904-017-0546-4
- [19] HOLEŠOVÁ, Sylva, Magda RELI, Marianna 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* [online]. 2019, **19**(5), 2925-2933 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1533-4880. Dostupné z: doi:10.1166/jnn.2019.15850
- [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* [online]. 2012, **58**, 79-87 [cit. 2022-04-28]. ISSN 01691317. Dostupné z: doi:10.1016/j.clay.2012.01.016
- [21] HOLEŠOVÁ, Sylva, Magda SAMLÍKOVÁ, Michal RITZ a Erich PAZDZIORA. Antibacterial polyethylene/clay nanocomposites using chlorhexidine as organic modifier. *Materials Today: Proceedings*. 2015, **2**(1), 246-252 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z doi: 10.1016/j.matpr.2015.04.031
- [22] 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, 15 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z doi: 10.1155/2015/580146
- [23] PIERCHALA, Malgorzata Karolina, Maziyar MAKAREMI, Hui Li TAN, Janarthanan PUSHPAMALAR, Saravanan MUNIYANDY, Atefeh SOLOUK, Sui Mae LEE a Pooria PASBAKHS. Nanotubes in nanofibers: Antibacterial multilayered polylactic acid/halloysite/gentamicin membranes for bone regeneration application. *Applied Clay Science* [online]. 2018, **160**, 95-105 [cit. 2022-04-28]. ISSN 01691317. Dostupné z: doi:10.1016/j.clay.2017.12.016
- [24] WANG, Qingqing, Wangbingfei CHEN, Quan ZHANG, et al. Preparation of photodynamic P(MMA-co-MAA) composite nanofibers doped with MMT: A facile method for increasing antimicrobial efficiency. *Applied Surface Science* [online]. 2018, **457(5)**, 247-255 [cit. 2022-04-28]. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2018.06.041
- [25] QI, Ruiling, Rui GUO, Fuyin ZHENG, Hui LIU, Jianyong YU a Xiangyang SHI. Controlled release and antibacterial activity of antibiotic-loaded electrospun halloysite/poly(lactic-co-glycolic acid) composite nanofibers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2013, **110**, 148-155 [cit. 2022-04-28]. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2013.04.036
- [26] PURWAR, Roli, K. SAI GOUTHAM a Chandra Mohan SRIVASTAVA. Electrospun Sericin/PVA/Clay nanofibrous mats for antimicrobial air filtration mask. *Fibers and Polymers* [online]. 2016, **17(8)**, 1206-1216 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1229-9197. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-016-6345-7
- [27] LEONÉS, Adrián, Alicia MUJICA-GARCIA, Marina Patricia ARRIETA, Valentina SALARIS, Daniel LOPEZ, José Maria KENNY a Laura PEONI. *Organic and Inorganic PCL-Based Electrospun Fibers*. *Polymers* 2020, **12**, 1325 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z doi: 10.3390/polym12061325
- [28] NOURI, Mahdi, Javad MOKHTARI, Mahsa ROSTAMLOO a Ilias LOUIS KYRATZIS. Electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone)/nanoclay nanofibrous mats for tissue engineering: Production, activity, and in vivo applications. *Fibers and Polymers* [online]. 2013, **14(6)**, 957-964 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1229-9197. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-013-0957-y

- [29] BABU, Snigdha Sajeendra, Shiji MATHEW, Nandakumar KALARIKKAL, Sabu THOMAS a Radhakrishnan E. K. Antimicrobial, antibiofilm, and microbial barrier properties of poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/cloisite 30B thin films. *3 Biotech* [online]. 2016, **6**(2) [cit. 2022-04-28]. ISSN 2190-572X. Dostupné z: doi:10.1007/s13205-016-0559-7
- [30] LUDUEÑA, L. N., A. VÁZQUEZ, V. A. ALVAREZ, et al. Effect of the type of clay organo-modifier on the morphology, thermal/mechanical/impact/barrier properties and biodegradation in soil of polycaprolactone/clay nanocomposites: A facile method for increasing antimicrobial efficiency. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2013, **128**(5), 2648-2657 [cit. 2022-04-28]. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.38425
- [31] Polycaprolactone, MW 50000, powder. In: *Polysciences* [online]. 2020 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://www.polysciences.com/default/catalog-products/polycaprolactone-powdered-40869/>
- [32] LÓPEZ-ESPARZA, Juan, León Francisco ESPINOSA-CRISTÓBAL, Alejandro DONOHUE-CORNEJO a Simón Yobanny REYES-LÓPEZ. Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles in Polycaprolactone Nanofibers against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: Production, activity, and in vivo applications. *Fibers and Polymers* [online]. 2016, **55**(49), 12532-12538 [cit. 2022-04-28]. ISSN 0888-5885. Dostupné z: doi:10.1021/acs.iecr.6b02300
- [33] LIU, Xin, Tong LIN, Jian FANG, et al. In vivo wound healing and antibacterial performances of electrospun nanofibre membranes: A Mini Review. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2010, **9999A**(11) [cit. 2022-04-28]. ISSN 15493296. Dostupné z: doi: 10.1002/jbm.a.32718
- [34] YOSHIMOTO, H., Y.M. SHIN, H. TERAJ, et al. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering: A Mini Review. *Biomaterials* [online]. 2003, **24**(12), 2077-2082 [cit. 2022-04-28]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(02)00635-X
- [35] GARCÍA-SALINAS, Sara, Enrique GÁMEZ, Javier ASÍN, et al. Efficiency of Antimicrobial Electrospun Thymol-Loaded Polycaprolactone Mats In Vivo: Production, activity, and in vivo applications. *ACS Applied Bio Materials* [online].

- 2020, **3**(5), 3430-3439 [cit. 2022-04-28]. ISSN 2576-6422. Dostupné z: doi:10.1021/acsabm.0c00419
- [36] ZHANG, Mei, Han LIN, Yilong WANG, et al. Fabrication and durable antibacterial properties of 3D porous wet electrospun RCSC/PCL nanofibrous scaffold with silver nanoparticles: A Mini Review. *Applied Surface Science* [online]. 2017, vol. 414, issue. 11, s. 52-62. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2017.04.052
- [37] EL-NAGGAR, Mehrez E., E.S. SHALABY, A.H. ABD-AL-ALEEM, et al. Synthesis of environmentally benign antimicrobial dressing nanofibers based on polycaprolactone blended with gold nanoparticles and spearmint oil nanoemulsion: A facile method for increasing antimicrobial efficiency. *Journal of Materials Research and Technology* [online]. 2021, vol. 15, issue. 5, s. 3447-3460. ISSN 22387854. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmrt.2021.09.136
- [38] AUGUSTINE, Robin, Hruda Nanda MALIK, Dinesh Kumar SINGHAL, et al. Electrospun polycaprolactone/ZnO nanocomposite membranes as biomaterials with antibacterial and cell adhesion properties: A facile method for increasing antimicrobial efficiency. *Journal of Polymer Research* [online]. 2014, **21**(3), 3447-3460 [cit. 2022-04-18]. ISSN 1022-9760. Dostupné z: doi:10.1007/s10965-013-0347-6
- [39] KHUNOVÁ, Viera, Mária KOVÁČOVÁ, Petra OLEJNIKOVÁ, et al. Antibacterial Electrospun Polycaprolactone Nanofibers Reinforced by Halloysite Nanotubes for Tissue Engineering: A facile method for increasing antimicrobial efficiency. *Polymers* [online]. 2022, **14**(4), 3447-3460 [cit. 2022-04-28]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym14040746
- [40] BUI, Hieu Trung, Ok Hee CHUNG, Joseph DELA CRUZ, et al. Fabrication and characterization of electrospun curcumin-loaded polycaprolactone-polyethylene glycol nanofibers for enhanced wound healing: A facile method for increasing antimicrobial efficiency. *Macromolecular Research* [online]. 2014, **22**(12), 1288-1296 [cit. 2022-04-28]. ISSN 1598-5032. Dostupné z: doi:10.1007/s13233-014-2179-6
- [41] MONTEIRO, Ana P.F., Cíntia M.S.L. ROCHA, Michele F. OLIVEIRA, Sávio M.L. GONTIJO, Ricardo R. AGUDELO, Rubén D. SINISTERRA a Maria E. CORTÉS. Nanofibers containing tetracycline/ $\beta$ -cyclodextrin: Physico-chemical characterization and antimicrobial evaluation. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2017, **156**, 417-426 [cit. 2022-04-28]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2016.09.059



- [42] MANIKANDAN, S., M. DIVYABHARATHI, K. TOMAS, et al. Production of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) Antimicrobial Nanofibers by Needleless Alternating Current Electrospinning: A Mini Review. *Materials Today: Proceedings* [online]. 2019, **17**(12), 1100-1104 [cit. 2022-04-28]. ISSN 22147853. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2019.06.526
- [43] WEISS, Zdeněk; KUŽVART, Miloš. *Jilové minerály: Jejich nanostruktura a využití*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2005. 278 s. ISBN 80-246-0868-5.
- [44] VERMIKULIT - univerzální nerost. In: *Grena* [online]. Veselí nad Lužnicí II: Grena, 2022. Dostupné z: <https://www.grenamat.cz/cz/vermikulit/>
- [45] TRPSKÁ, Eva. *Vlastnosti kompozitů s plnivem Vermikulit*. Zlín, 2010. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Petr Zádrapa.
- [46] GOOCH, Jan W., ed. *Encyclopedic Dictionary of Polymers* [online]. New York, NY: Springer New York, 2007 [cit. 2022-04-28]. ISBN 978-0-387-31021-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-30160-0
- [47] MAROSZ, Monika, Andrzej KOWALCZYK a Lucjan CHMIELARZ. Modified vermiculites as effective catalysts for dehydration of methanol and ethanol. *Catalysis Today*. 2019 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: doi: 10.1016/j.cattod.2019.07.003
- [48] Zinc oxide (Compound). PubChem [online]. [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/zinc\\_oxide](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/zinc_oxide)
- [49] 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, **19**, 3041-3048 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: doi: 10.1166/jnn.2019.15844
- [50] Chlorhexidine. In: *PubChem* [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2022 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/chlorhexidine>
- [51] Chlorhexidine. *Meyler's Side Effects of Drugs* [online]. Elsevier, 2016, 239-248 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780444537164. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-444-53717-1.00474-1

- [52] MUELLER, Ralf S. Topical dermatological therapy. *Small Animal Clinical Pharmacology* [online]. Elsevier, 2008, 546-556 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780702028588. Dostupné z: doi:10.1016/B978-070202858-8.50026-9
- [53] 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, **20**(5), 375- 379 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: doi: 10.1016/S0924-8579(02)00206-6
- [54] Ciclopirox olamine: Compound with free spectra: 1 FTIR and 1 Raman. In: SpectraBase [online]. [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://spectrabase.com/compound/5DatAbVarfs>
- [55] WAUGH, Christine D. Agents Acting on Fungal Cell Membranes. *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* [online]. Elsevier, 2007, 1-3 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780080552323. Dostupné z: doi:10.1016/B978-008055232-3.61021-9
- [56] EMERSON, Ashley N. a Robert T. BRODELL. Therapeutic Shampoos. *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy* [online]. Elsevier, 2021, 576-584 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780323612111. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-61211-1.00051-6
- [57] BAJER, Jiří. *Mechanika*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2006. ISBN 80-244-1293-4
- [58] ŠČUKOVÁ, Michaela. *Tenké polymerní filmy s antimikrobiálním nanoplínivem*. Ostrava, 2020. 60 s. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Ing. Sylva Holešová, Ph.D.
- [59] 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, **151**, 164-174 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: doi: 10.1016/j.clay.2017.10.006
- [60] HOLEŠOVÁ, Sylva, Magda RELI, Marianna 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* [online]. Elsevier,

- 2019, 2008, **19**(5), 2925-2933 [cit. 2022-04-28]. ISBN 9780702028588. ISSN 1533-4880. Dostupné z: doi:10.1166/jnn.2019.15850
- [61] Analýza částic Velikost částic [online]. s. 2-35 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: [http://fchi-oppa.vscht.cz/uploads/AK07-Spec%20metody/10\\_Analyza\\_castic.pdf](http://fchi-oppa.vscht.cz/uploads/AK07-Spec%20metody/10_Analyza_castic.pdf)
- [62] RAWLE, Alan. BASIC PRINCIPLES OF PARTICLE SIZE ANALYSIS. *TECHNICAL PAPER* [online]. Malvern Instruments Limited, s. 1-8 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <http://chemikalie.upol.cz/skripta/msk/MRK034.pdf>
- [63] YAM, W.Y., J. ISMAIL, H.W. KAMMER, H. SCHMIDT a C. KUMMERLÖWE. Polymer blends of poly( $\epsilon$ -caprolactone) and poly(vinyl methyl ether) – thermal properties and morphology. *Polymer* [online]. 1999, **40**(20), 5545-5552 [cit. 2022-04-28]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/S0032-3861(98)00807-6