

# **Příprava a charakterizace aktivních obalových materiálů**

Bc. Táňa Křížová

---

Diplomová práce  
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Táňa KRÍŽOVÁ**  
Osobní číslo: **T080340**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Příprava a charakterizace aktivních obalových materiálů**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Zpracujte rešerši na zadané téma
2. Získané poznatky shrňte v kapitole "závěr"
3. Citujte použitou literaturu

### II. Praktická část

1. Provedte povrchovou úpravu obalových materiálů a následné navázání vybraných antibakteriálních látek
2. Porovnejte antibakteriální vlastnosti připravených obalových materiálů
3. V experimentální části popište použité metody charakterizace a metodické postupy

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] J. Štěpek a kol., **Polymery v obalové technice**, SNTL Praha, 1981.

[2] J. Mleziva, J. Šňupárek, **Polymery - výroba, struktura, vlastnosti a použití**, Sobotáles Praha, 2000.

[3] W. Zhang, P.K. Chu, J. Ji, Y. Zhang, X. Liu, R.K.Y. Fu, P.C.T. Ha, Q. Yan, **Biomaterials** 2006, 27, 44.

[4] A. Vesel, I. Junkar, U. Cvelbar, J. Kovac, M. Mozetic, **Surf. Interface Anal.** 2008, 40, 1444.

[5] W. Zhang, P.K. Chu, J. Ji, Y. Zhang, R.K.Y. Fu, Q. Yan, **Polymer** 2006, 47, 931.

[6] A. Asadinezhad, I. Novák, M. Lehocký, V. Sedlařík, A. Vesel, I. Junkar, P. Sába, I. Chodák, **Plasma Processes and Polymers**, in press doi:10.1002/ppap.200900132.

[7] Dle doporučení vedoucího diplomové práce.

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**

Ústav fyziky a mater. inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

**4. ledna 2010**

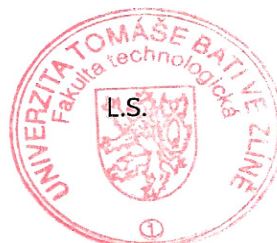
Termín odevzdání diplomové práce:

**19. května 2010**

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně ..... 17.5.2010

..... Táňa Křížová<sup>1</sup>

---

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce je zaměřena na přípravu a charakterizaci antibakteriálních obalových materiálů pro využití v potravinářském průmyslu. Jako substrát byl použit polyetylén v důsledku širokého spektra aplikací v obalovém průmyslu. Antibakteriální činidla byla na povrch nanášena po povrchové úpravě, která spočívala v několika krocích. Nejprve byl vzorek definovaným způsobem očištěn a následně byl předmětem plazmové depozice, po níž byl na povrch roubován makromolekulární řetězec charakteru polymerního hřebene s aminovými koncovými skupinami. Během postupných kroků byly vzorky charakterizovány pomocí několika analytických metod: infračervené spektroskopie, skenovací elektronové mikroskopie, antibakteriálních testů, měření povrchové energie a také rentgenové fotoelektronové spektroskopie.

Klíčová slova: povrchová modifikace, obalové materiály, plazma, antibakteriální činidlo

## **ABSTRACT**

This diploma thesis is focused on preparation and Characterization of antibacterial packaging materials for application in the food industry. Polyethylene was used as a substrate due to the wide range of the application spectra in packaging industry. Antibacterial agents were spread on the surface after surface modification which was based on the multi-step process. Firstly, the sample was cleaned by defined way and consequently subjected to the plasma deposition. After that, macromolecular chain was grafted on it creating so called amine group polymer brush. During processing steps were samples characterized by several analytical methods: infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, antibacterial tests, surface energy evaluation and also roentgen photoelectron spectroscopy.

Keywords: surface modification, packaging materials, plasma, antibacterial agent

Ráda bych poděkovala zejména vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Mariánu Lehockému, PhD. za poskytnutí informací k tématu, jeho čas, cenné rady a také hodně času a především trpělivosti. Dále bych chtěla poděkovat rodičům za podporu během celé délky studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

ÚVOD.....	10
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>12</b>
<b>1 FUNKCE OBALŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ.....</b>	<b>13</b>
1.1 AKTIVNÍ OBALOVÉ MATERIÁLY .....	14
1.1.1 Absorpce kyslíku.....	14
1.1.2 Regulace vlhkosti .....	14
1.1.3 Absorpce nežádoucích chutí a vůní.....	15
1.1.4 Uvolňování antimikrobiálních látek.....	15
1.1.5 Ostatní systémy aktivního balení .....	15
1.2 INTELIGENTNÍ OBALOVÉ MATERIÁLY .....	16
1.2.1 Indikátory teploty .....	16
1.2.2 Indikátory složení atmosféry .....	17
1.2.3 Indikátory čerstvosti .....	17
1.2.4 RFID (Radio Frequency Identification) systémy.....	18
<b>2 PATOGENNÍ MIKROORGANISMY .....</b>	<b>19</b>
2.1 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (ČELEĎ <i>MICROCOCCACEAE</i> ) .....	19
2.1.1 Vlastnosti.....	19
2.1.2 Růst .....	19
2.1.3 Výskyt a význam .....	19
2.2 <i>ESCHERCHIA COLI</i> (ČELEĎ <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> ) .....	20
2.2.1 Vlastnosti.....	20
2.2.2 Růst .....	21
2.2.3 Výskyt a význam .....	21
2.3 <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> (ČELEĎ <i>PSEUDOMONADACEAE</i> ) .....	22
2.3.1 Vlastnosti.....	22
2.3.2 Růst .....	22
2.3.3 Výskyt a význam .....	22
<b>3 POLYETYLÉN .....</b>	<b>24</b>
3.1 ROZVĚTVENÝ NÍZKOHUSTOTNÍ PE (LDPE).....	24
3.2 LINEÁRNÍ VYSOKOHUSTOTNÍ PE (HDPE).....	25
3.3 LINEÁRNÍ NÍZKOHUSTOTNÍ PE (LLDPE) .....	26
<b>4 ANTIBAKTERIÁLNÍ ČINIDLA .....</b>	<b>27</b>
4.1 TRICLOSAN (IRGASAN) .....	27
4.1.1 Použití .....	27
4.1.2 Mechanismus účinku.....	27
4.1.3 Vliv na zdraví.....	28
4.2 BENZALKONIUM CHLORID .....	28
4.2.1 Použití .....	28
4.2.2 Mechanismus účinku.....	29
4.2.3 Vliv na zdraví.....	29



4.3	BRONOPOL .....	29
4.4	CHLORHEXIDIN.....	30
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>32</b>
<b>6</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>33</b>
6.1	ZAŘÍZENÍ PRO MĚŘENÍ, CHEMIKÁLIE.....	33
6.2	POUŽITÉ METODY .....	33
6.2.1	Měření povrchové energie a kontaktního úhlu.....	33
6.2.2	FTIR .....	35
6.2.3	XPS .....	38
6.2.4	SEM.....	39
6.3	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	41
6.3.1	Příprava vzorků .....	41
6.3.2	Úprava pomocí plazmatu .....	42
6.3.3	Měření povrchové energie.....	43
6.3.4	Infračervená spektroskopie (IČ) .....	46
6.3.5	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) .....	53
6.3.6	Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) .....	55
6.3.7	Antibakteriální testy .....	58
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>62</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>69</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>71</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>73</b>

## ÚVOD

Urgentní potřeba snížení množství bakterií spojených s uchováváním potravin získala v poslední době zvláštní pozornost a výzkum vedený na rozhraní fyziky, chemie a biologie. Dosud bylo postupováno mnoha směry pro přípravu antibakteriálních polymerů, z nichž modifikace povrchové vrstvy získala značnou pozornost.

Antibakteriální materiály jsou připravovány několika možnými cestami. Jako nejlepší z nich se jeví nanášení antibakteriálních činidel na povrch modifikovaných syntetických polymerních materiálů. Modifikace polymerních syntetických materiálů spočívá ve změně chemického složení povrchové vrstvy, přičemž celkové vlastnosti substrátu, zejména mechanické, zůstávají nedotčeny a celkový výrobek dosahuje odpovídající pevnosti a pružnosti.

Povrchová modifikace je možná několika způsoby. Mezi ně patří: úprava v plameni, úprava pomocí korónového výboje, oxidace silnými kyselinami, radioaktivním ozařováním nebo úprava plazmatu. Posledně jmenovaný postup se jeví jako strategicky nejvýhodnější hned z několika důvodů. Především při tomto procesu nedochází k chemické a fyzikální degradaci syntetického polymerního materiálu. Další velkou výhodou je nízká energetická náročnost, což se v praxi projevuje finanční úsporou procesu. Za zmínku stojí taktéž ekologická šetrnost tohoto procesu.

Na takto upravených vzorcích jsou zpravidla vygenerovány volné radikály, případně jiné metastabilní excitanty, které jsou schopné díky své vysoké reaktivitě interagovat s molekulami v jejich okolí. Tohoto jevu se využívá při roubování definovaných molekul na povrch oplazmovaných polymerů. Tyto polymery mají na povrchu rozdílné chemické složení než v jejich objemu.

Polymerní materiály obecně vykazují hydrofobní vlastnosti, tím pádem na sobě nemohou nést antibakteriální činidla. Po roubování chemických řetězců na polymerní povrch však toto již možné je. Hlavním požadavkem při vázání těchto antibakteriálních činidel je fakt, že musejí být navázány pomocí mezimolekulových sil. Pokud by byly navázány přes chemickou vazbu, nebyly by schopné uvolňovat se do okolí. Jinými slovy nesplňovaly by požadavky kladené na antibakteriální systémy. V případě navázání pomocí mezimolekulových sil však difúze do okolí za příhodných vnějších podmínek možná je. Tyto příhodné podmínky jsou zejména okolní pH a iontová síla.

Hlavním cílem posledního výzkumu v této oblasti je snaha o přípravu antibakteriálních materiálů, které budou mít schopnost řízeného uvolňování antibakteriální složky do okolí v závislosti na vnějších podnětech. Například přítomnosti patogenních mikroorganismů, nebo přítomnosti nežádoucích plynů.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 FUNKCE OBALŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ

Balení potravin představuje nezbytnou technickou operaci pro ochranu a zachování kvality potravin, minimalizaci jejich poškození a snížení množství aditivních látek [1].

Od obalů očekáváme splnění tří funkcí:

- chránit výrobek před znehodnocením ve sféře oběhu před škodlivými mechanickými, klimatickými, biologickými a společenskými vlivy prostředí;
- vytvořit racionální manipulační jednotku přizpůsobenou hmotností, tvarem i konstrukcí požadavkům přepravy, obchodu a spotřebitele;
- být prostředkem vizuální komunikace mezi jednotlivými partnery ve sféře oběhu zboží a informovat zákazníka [2, 3].

Obal je v plném slova smyslu obalem tehdy, plní-li všechny tyto funkce. Všechny funkce nemusí být ovšem v obalu zastoupeny stejnou měrou [3].

Klíčovým úkolem v této oblasti je ochrana potravin před znehodnocením. Dokumentuje to i skutečnost, že zatímco v rozvojových oblastech dochází až k 50 % ztrátám na potravinách, jsou srovnatelné ztráty v průmyslově vyspělých zemích s rozvinutou obalovou technikou řádově menší, zpravidla pod 5 % [2].

Z hlediska funkce obalu jako ochrany zboží je rozhodující zejména pevnost obalu, diferencovaná nepropustnost pro vodu a vodní páry, plyny, tuky a prach, odolnost proti chemikáliím a mikroorganismům. Dále odolnost před světelnými paprsky a UV zářením, mít přiměřené tlumící účinky, dobrou uzavíratelnost, snadné čištění a být zdravotně nezávadné [4, 5].

Obalová technika v současné době disponuje širokou škálou obalových materiálů, které pokrývají požadavky na různý stupeň propustnosti výše uvedených faktorů až k úplné nepropustnosti. Do jaké míry může zvýšit obal údržnost příslušné potraviny, tedy účinnost ochranné funkce obalu, je možno vyjádřit poměrem údržnosti balené potraviny k potravině nebalené. Nejvýrazněji se tento fakt projevuje u sterilovaných potravin, u nichž je údržnost až tisíckrát vyšší než u nesterilovaných. Relativně vysokou údržnost mají sušené hygroskopické výrobky. U čerstvých vodnatých výrobků nelze očekávat podstatné prodloužení údržnosti balením. U potravin, u nichž probíhá výměna plynů s okolím a vylučování vodní páry (ovoce, zelenina), se při použití nevhodného obalu jejich údržnost zkrátí v porovnání s potravinou nebalenou [2, 5].

## 1.1 Aktivní obalové materiály

Aktivní obaly mění podmínky balené potraviny, za kterých je potravina uchovávána. Mohou tím prodlužovat jejich údržnost, bezpečnost, ale také sensorické (chuť, vůni, vzhled, strukturu) nebo nutriční vlastnosti. Obaly lze rozdělit do několika skupin podle způsobu, kterým ovlivňují vlastnosti uchovávané potraviny [6].

### 1.1.1 Absorpce kyslíku

Dnes je odstranění kyslíku nejrozšířenějším a nejpoužívanějším typem aktivního balení. Od roku 1989 bylo patentováno více než 50 typů absorbérů. Jejich aplikací lze snížit v obalu koncentraci zbytkového kyslíku na méně než 0,01 % (vztaženo na prosté balení bez úpravy atmosféry). Zdrojem kyslíku v obalu je propustnost obalového materiálu pro kyslík, vzduch uzavřený v potravine, malé pronikání v důsledku netěsnosti nebo nedostatečná evakuace a/nebo vyrovnávání plynů. Přítomný kyslík způsobuje změnu barvy, nutriční ztráty, urychluje mikrobiální růst a také se podílí na tvorbě nežádoucích pachutí.

Absorbéry kyslíku se tak používají pro zvýšení účinnosti vakuového balení nebo balení v inertní atmosféře, maximálně omezují možné oxidační změny a v obalu navozují striktně anaerobní podmínky účinně bránící růstu aerobních mikroorganismů, zejména plísní.

K vychytávání kyslíku se používá jeden nebo několik mechanismů. Může to být oxidace kovů a jejich oxidů, kyslíkové absorbenty na bázi polymeru nebo enzymatická oxidace. Aplikují se ve formě sáčků, které se vkládají do obalů nebo jsou přilepeny na vnitřní stěnu obalu, do uzávěru nebo do obalového materiálu rozpuštěním do plastu [7, 8].

### 1.1.2 Regulace vlhkosti

Výrobky s vysokou relativní vlhkostí, jako jsou maso nebo ryby, jsou citlivé na změny teploty během transportu, což vede ke vzniku kondenzátu. Stabilita potraviny je spojena s aktivitou vody výrobku, která je ovlivňována relativní vlhkostí v prostoru nad balenou potravinou [8].

Systémy ovlivňující vlhkost lze rozdělit na systémy absorbující baleným produktem uvolňovanou vodu a používané např. ve formě podložek v baleních porcovaného masa, drůbeže nebo zmrazovaných ryb a mořských produktů nebo na systémy regulující vlhkost na povrchu baleného výrobku. Mezi aktivní obaly ovlivňující vlhkost v obalu patří i obalové

materiály s antikondenzační úpravou. Jejich funkce spočívá v tom, že vlhkost kondenzující na vnitřním povrchu fólie nevytváří jednotlivé, oddělené kapky, ale souvislý film, který není z vnější strany vidět. Principem je úprava polarity, povrchového napětí, vnitřní strany obalové fólie. Obaly s touto funkcí se v současné době používají pro velkou část chlazených potravin s kratší dobou skladovatelnosti [7, 9].

### 1.1.3 Absorpce nežádoucích chutí a vůní

Zatím se používá jen málo obalových materiálů k odstraňování složek potravin, které mají nežádoucí vliv na vůni a chuť výrobku. Například jako metoda zlepšení aroma pomerančové šťávy byla navržena absorpce limonenu (hořké složky citrusového oleje) polyetylénem. Je možno použít i enzymovou hydrolýzu limonenu enzymem kovalentně vázaným na vnitřní povrch obalů pro pomerančovou šťávu během skladování. Použití enzymů vytvářejících nebo odstraňujících smyslově aktivní látky imobilizovaných na obalový materiál je však mnohem širší. Praktické aplikaci takovýchto obalů doposud brání vysoká cena [8, 9].

### 1.1.4 Uvolňování antimikrobiálních látek

U všech potravin, které mohou podléhat mikrobiální zkáze, musí obal představovat dokonalou bariéru vůči mikroorganismům pronikajícím do potraviny z vnějšího okolí. Obal musí být hermetický a může být aktivním nositelem dalších antimikrobiálních funkcí [9]. Bakteriální růst lze ovlivňovat odstraňováním kyslíku a řadou látek, které budou součástí obalového materiálu. Mohou to být např. bakteriociny (nisin, pediocin), sorban draselný, anhydrid kyseliny benzoové. Mezi hlavní aplikace antimikrobiálního obalu patří systémy uvolňující etanol a oxid uhličitý [8].

### 1.1.5 Ostatní systémy aktivního balení

Patří zde například fólie uvolňující antioxidanty, obalové systémy ochlazující výrobek nebo vytvářející teplo, fólie vyrovnávající teplotu nebo fólie zamezující přilepování a zamlžování. Dále také obaly založené na absorpci záření nebo odrážení jeho určitých vlnových délek [8].

## 1.2 Inteligentní obalové materiály

Jejich uplatnění souvisí především s funkcí obalu jako prostředku vizuální komunikace mezi výrobcem a zákazníkem. Jde o obaly, jejichž funkční prvky slouží jako indikátory teploty, celkového tepelného účinku, složení atmosféry v obalu nebo čerstvosti. Někdy je možné se setkat s označením indikátory neporušenosti obalu, indikátory mikrobiálního růstu, indikátory autenticity výrobku atd., většina z nich jsou svou podstatou indikátory složení atmosféry.

Nové kategorie inteligentních systémů balení využívají moderní informační technologie, jako např. radiofrekvenční identifikace (RFID). Aplikace indikátorů obecně představuje jednu z možností zajištění systému kritických bodů (HCCP) při realizaci systémů výroby bezpečných potravin. Jejich aplikace v praxi je však doposud málo významná, i přestože jsou tyto indikátory na trhu dostupné již zhruba dvě desetiletí. Jedním z důvodů může být i malá informovanost výrobců potravin o vlastnostech indikátorů [2, 9].

### 1.2.1 Indikátory teploty

Jsou to štítky nebo značky na povrchu obalu, které reagují chemickou, mechanickou nebo enzymaticky katalyzovanou barevnou změnou. Tato změna je obvykle nevratná, indikátor poskytuje informaci o teplotách výrobku v minulosti, ale jsou také používány indikátory teploty s vratnou změnou barvy, které charakterizují současnou teplotu výrobku. Významnější pro kontrolu kvality potravinářských výrobků jsou indikátory s nevratnou změnou. Zjištěná výše teploty se obvykle převede do viditelné formy mechanickou deformací, změnou barvy nebo pohybem barevného pole. Rozsah změn je dán typem indikátoru a fyzikálně-chemickým principem v závislosti na délce působení teploty. Dělí se na ty, které indikují dosažení kritické teploty a na indikátory celkového tepelného účinku. Mezi oběma skupinami je možný plynulý přechod [5, 8, 9].

#### Indikátory teploty (TI)

Teplotní ukazatele ukážou, zda byly výrobky zahřáté nad nebo pod referenční (kritickou) teplotu, upozorňují konzumenty o potenciálním pozůstatku patogenních mikroorganismů a denaturaci proteinů například během zmrazovacích a odmrazovacích procesů [10]. Funkce těchto indikátorů obsahuje také časový prvek, tj. dobu, po které dojde při překročení teploty k viditelné změně. Může se pohybovat od několika minut do několika hodin. Tento



typ indikátoru si však neklade za cíl zaznamenat historii působení teploty nad nebo pod referenční úrovní. Pouze upozorní, že byl výrobek vystaven působení nežádoucí teploty po dobu dostatečnou k tomu, aby v něm mohlo dojít ke změnám kritickým z hlediska kvality nebo bezpečnosti potravinářského výrobku v důsledku biologických nebo fyzikálně-chemických reakcí [9].

#### Indikátory celkového tepelného účinku (TTI)

Tyto ukazatele poskytují kontinuální odezvu z potravinářského výrobku v závislosti na teplotě [10]. Odezva je založena na mechanických, chemických, elektrochemických, enzymatických nebo mikrobiálních změnách, které by měly být viditelné a nevratné [10, 11]. TTI poskytují celkový teplotní průběh produktu během distribuce [11]. Umožňují odhadnout efektivní průměrnou teplotu během skladování nebo distribuce výrobku. Na základě této informace pak může být průběžně posouzen okamžitý rozsah reakcí ovlivňujících kvalitu baleného produktu nepříznivě. S okamžitou kvalitou výrobku je pak často dáována do souvislosti odezva indikátorů TTI, což není jednoduché s ohledem na množství dějů, které kvalitu potravin během skladování ovlivňují a rozdíly v závislosti jejich průběhu na změnách teploty (tj. rozdíly v aktivačních energiích nepříznivých reakcí v potravinách, ale i vlastní změny indikátoru).

V praxi musí být indikátory TTI vždy navrženy na míru pro daný výrobek. V současné době jsou nabízeny jednoduché indikátory vhodné pro spotřebitelské balení a signalizující přijatelnost nebo nepřijatelnost výrobku, ale také indikátory pro přepravní balení indikující různé stupně stárnutí [9].

#### **1.2.2 Indikátory složení atmosféry**

Upozorňují na porušení těsnosti obalu nebo na mikrobiální změny založené na principu reakce na obsah kyslíku, oxidu uhličitého a změnu vlhkosti nebo pH. Princip jejich činnosti je založen na oxidačně redukčních změnách citlivých barviv v důsledku chemické či enzymové reakce nebo změnách barvy pigmentů v důsledku posunu hodnoty pH [5, 12].

#### **1.2.3 Indikátory čerstvosti**

Většina je založena na detekci těkavých metabolitů (CO<sub>2</sub>, diacetyl aminy, amoniak, sulfan atd.) uvolňovaných během uložení a stárnutí balených potravin [12].

#### 1.2.4 RFID (Radio Frequency Identification) systémy

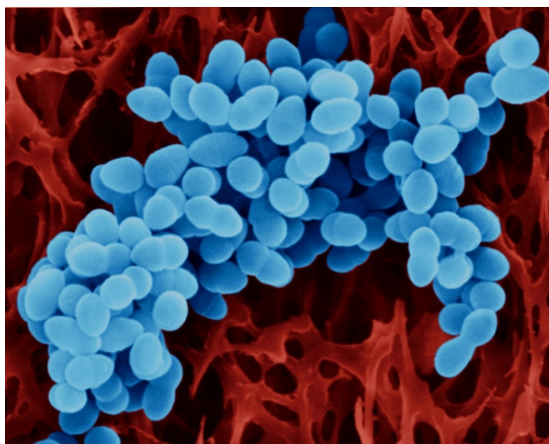
Většina doposud dostupných systémů slouží spíše k označování a identifikaci baleného, resp. přepravovaného zboží. Zjednodušeně se skládají z aktivního nebo pasivního transponderu (např. čipu) a čtecího zařízení s anténou, která vysílá elektromagnetické záření a současně přijímá a vyhodnocuje indukovanou odpověď transponderu. Výhodou je spolehlivost, bezkontaktní čtení a také rychlost odezvy. Tyto systémy umožňují vysledovatelnost výrobků a ochranu zboží před krádeží nebo falšováním. Systémy mohou zaznamenávat i podmínky v okolí baleného produktu během jeho manipulace a tak sloužit jako TTI indikátory [9].

## 2 PATOGENNÍ MIKROORGANISMY

### 2.1 *Staphylococcus aureus* (čeleď *Micrococcaceae*)

#### 2.1.1 Vlastnosti

*Staphylococcus aureus* tvoří grampozitivní ( $G^+$ ) fakultativně anaerobní nepohyblivé koky o velikosti 0,5 – 1  $\mu\text{m}$  [13, 14]. Vytvářejí typické polokulovité, citrónově žluté kolonie [13]. Koky jsou často uspořádané do menších či větších shluků, jež se podobají hroznům. V organismu však zejména pod vlivem antibiotik svou charakteristickou morfologii ztrácejí [15]. Z enzymového vybavení se pro jeho identifikaci také využívá přítomnost katalasy, fosfatasy, koagulasy krevní plazmy a nukleasy [13].



Obr. 1. *Staphylococcus aureus* [16].

#### 2.1.2 Růst

Jedná se o růstově málo náročný kok. Roste v širokém rozmezí teplot od 10 – 42 °C a dobře snáší i přídavek 10 % NaCl v kulturační půdě, čehož se také využívá při jeho zjišťování [13, 15]. Při nižší teplotě než 10 °C netvoří toxin. Nesnášejí kyselé prostředí [17].

#### 2.1.3 Výskyt a význam

Způsobuje angínu, hnisavé onemocnění kůže, hnisání ran a hnisavé onemocnění poraněných kostí. V potravinách produkuje enterotoxiny bílkovinné povahy způsobující vážné až smrtelné otravy. Některé z enterotoxinů se inaktivují delším varem, a proto je nebezpečí

otrav hlavně u potravin, které se už tepelně nepracovávají (majonézy, saláty, krémy v cukrářských výrobcích, zmrzlina apod.).

Může se zde dostat z hnisajících ložisek na ruku lidí připravujících příslušné potraviny nebo kýchním a kašláním [18]. Někteří lidé jsou bacilonosiči této bakterie. Neobjevují se však u nich typická zánětlivá onemocnění, které tato bakterie vyvolává. Kromě toho se *Staphylococcus aureus* vyskytuje často také ve vzduchu provozoven, na zařízení, syrovém mase apod. [13].

Příznaky otravy se projevují 1 - 6 hodin po požití potraviny a doprovází je žaludeční nevolnosti až křeče, zvracení, průjemy, bolesti hlavy a někdy i pocení a pokles teploty. Tyto příznaky trvají 1 - 2 dny. K otravám dochází tehdy, je-li v potravine koncentrace buněk *Staphylococcus aureus* v řádu  $10^5$  -  $10^7$  na gram. Původcem otravy nejsou živé buňky, ale jimi vytvořené enterotoxiny [18]. Zjišťování *Staphylococcus aureus* je vhodným ukazatelem hygienických podmínek při výrobě příslušné potraviny i podmínek jejího skladování a distribuce [13].

## 2.2 *Escherchia coli* (čeled' *Enterobacteriaceae*)

### 2.2.1 Vlastnosti

*Escherchia coli* jsou fakultativně anaerobní, nesporotvorné gramnegativní (G<sup>-</sup>) tyčinky o velikosti 1,1 - 1,5 × 2,0 - 6,0 μm [14, 19]. Typické kmeny mají peritrichní bičíky, nepohyblivé kmeny nejsou výjimečné. Některé kmeny jsou opouzdřené, zvláště kmeny pocházející z patologického materiálu [15].



Obr. 2. *Escherchia coli* [20].

### 2.2.2 Růst

Teplotní rozmezí pro růst je mezi 10 - 46 °C, dobrý růst mezi 20 - 40 °C a teplotní optimum je 37 °C. Na pevných půdách roste v podobě kulatých, neprůhledných kolonií. V bujónu tvoří zákal. Z kvasných vlastností je typické zkvašování laktosy, glukosy, maltosy a manitolu. *Escherchia coli* tvoří indol, netvoří H<sub>2</sub>S a nehydrolyzuje močovinu [15].

### 2.2.3 Výskyt a význam

Nachází se ve spodní části střevního traktu člověka a teplokrevných zvířat. Vyskytuje se tedy i ve výkalech. Přítomnost *Escherchia coli* ve vodách nebo v potravinách je ukazatelem, že zde došlo k znečištění fekáliemi. Stejným způsobem se do tohoto prostředí mohou dostat i patogenní střevní bakterie (tj. příslušníci rodu *Salmonella* nebo *Shigella*). Vyskytuje se v potravinářských surovinách, které byly v kontaktu s hnojenou půdou. *Escherchia coli* je nejprozkoumanějším mikrobiálním druhem, protože slouží jako modelový organismus pro biochemické, genetické a fyziologické studie [18].

Kmeny *Escherchia coli* se dle projevů virulence označují:

**ETEC** (enterotoxická *Escherchia coli*) – je původcem průjmových onemocnění cestovatelů, vyplývajících ze spotřeby kontaminované vody nebo jídla. Produkuje dva toxiny, termolabilní LT a termostabilní ST. Infekce probíhá po adhezi fimbriemi s vodovými průjmy, bez horečky.

**EPEC** (enteropatogenní *Escherchia coli*) – byla rozpoznána skupina *Escherchia coli* jako původce průjmových onemocnění u lidí. Symptomy se obecně objevují za 12 - 36 hod po příjmu potravy. Způsobuje průjem a zvracení, bez horečky. Neprodukuje toxiny, ale je mírně invazivní.

**EIEC** (enteroinvazivní *Escherchia coli*) – na sliznici přilne pravděpodobně bílkovinou vnější membrány, proniká do sliznice a zde se pomnožuje. Vyvolává onemocnění typu úplavice. Biologicky i antigenně jsou příbuzné shigelám.

**EAEC** (enteroadherentní *Escherchia coli*) – adhuje k sliznici, infekce je celkem mírná, bakterie neinvadují.

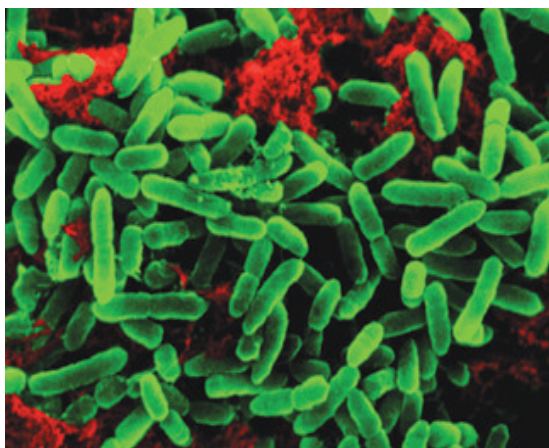
**EHEC** (enterohemoragická *Escherchia coli*) – nejčastější a nejnebezpečnější je sérotyp O157 : H7. Vyvolává hemoragickou kolitidu, z níž se může vyvinout smrtelný hemoragický

ko-uremický syndrom. Hlavním faktorem je shigatoxin neboli verotoxin. Zdrojem infekce je nepropečené maso (hamburgery), saláty, mošty a voda. Postiženy bývají děti. Více se vyskytuje na severoamerickém kontinentu. Jako původci alimentárních infekcí se začaly objevovat v posledních cca 25 letech [19, 21, 22].

## 2.3 *Pseudomonas aeruginosa* (čeleď *Pseudomonadaceae*)

### 2.3.1 Vlastnosti

*Pseudomonas aeruginosa* je gramnegativní pohyblivá tyčinka o velikosti  $0,5 - 0,8 \times 1,5 - 8$   $\mu\text{m}$ . Po morfologické stránce to jsou monotrichní nebo lofotrichní tyčinky [18, 23].



Obr. 3. *Pseudomonas aeruginosa* [24].

### 2.3.2 Růst

Je růstově nenáročná, roste i v kulturační půdě obsahující acetát a amonné ionty jako zdroj uhlíku a dusíku. Roste v širokém rozmezí teplot od 5 - 40 °C, s optimem kolem 37 °C za aerobních podmínek. Zřetelně fermentuje glukosu, oxidasa a katalasa jsou pozitivní. Nejtypičtější růstovou známkou pseudomonád je tvorba nejméně dvou typických pigmentů. Modrozelený pyocyanin a druhé barvivo fluorescein, které fluoreskuje do žluta [15].

### 2.3.3 Výskyt a význam

*Pseudomonas aeruginosa* je patogenem způsobujícím hnisavá onemocnění, obávaná zvláště při léčení rozsáhlých popálenin a u pacientů se sníženou odolností vůči infekčním chorobám. Je nejčastější pseudomonádou u člověka a v jeho okolí. V prostředí se vyskytuje

v přírodních i odpadových vodách, v půdě, na rostlinách i živočiších. V potravinách zejména v mase, zelenině a zmražených potravinách. Také lidské mléko bývá zdrojem této infekce u novorozenců. Často je proto přítomna v tlustém střevě jako normální flóra. *Pseudomonas aeruginosa* produkuje řadu toxických látek a mezi nimi také termolabilní enterotoxický protein. Je nebezpečný také v kosmetických přípravcích (krémy, pleťová mléka, pudry, oční léčidla). Používáním závadných výrobků může dojít k hnisavým onemocněním kůže a v případě očních léčidel i k oslepnutí [13, 21, 23].

### 3 POLYETYLÉN

Polyetylén (PE) je dnes nejpoužívanější komoditní syntetický polymerní materiál ve světovém měřítku. Základní strukturou je uhlovodíkový řetězec, který nenesé žádné substituenty. Jeho chemická struktura je  $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)_n$  [25, 26].

PE je tuhá látka, v tenkých vrstvách nebo filmech ohebná a elastická, téměř průhledná, popř. s mléčným zákalem. Na omak má voskovitý charakter. Teplota tání se pohybuje v rozmezí 105 - 136 °C [26]. Má relativně dobrou odolnost k nízkým teplotám a křehne až při -120 °C [4]. PE má vysokou houževnatost a tažnost, při normálních teplotách odolává vodě, neoxidujícím kyselinám, zásadám a solím i jejich roztokům. Omezená je jejich stálost proti oxidačním činidlům. K polárním rozpouštědlům, zvláště při normální teplotě je PE velmi odolný. Nепropouští vodní páru a je mrazuvzdorný. Absorbuje tuky, uhlovodíky, aminy, ethery, ketony i jiné kapalné organické sloučeniny, které jím zvolna difundují [4, 26].

Dnes je polyetylén klasický obalový materiál. Fyzikálně mechanické vlastnosti těchto látek jsou do značné míry závislé na jejich relativní molekulové hmotnosti, na prostorovém uspořádání monomerních jednotek v řetězci makromolekuly a také na stupni krystalinity. Tyto vlastnosti závisejí především na způsobu jeho výroby [4]. Produkty s různým stupněm krystalinity se liší hustotou a právě hustota polymeru, která se stala spolu s charakterizací tvaru řetězce základem pro třídění polyetylenů. Základními typy jsou LDPE, HDPE a LLDPE [26]. Z hlediska struktury makromolekul může být rozvětvený nebo lineární, z hlediska chemického složení se může jednat o homopolymery nebo kopolymery. V případě kopolymerů může být druhým kopolymerem alken (olefin), jako propen, buten, hexen či okten, nebo sloučenina mající ve svých molekulách funkční skupinu, např. kyselina akrylová, vinylacetát, etylakrylát a řada dalších [27].

#### 3.1 Rozvětvený nízkohustotní PE (LDPE)

Podle mezinárodní dohody by se pro něj měla používat zkratka PE - LD, ale setrvačností se stále používá starší LDPE [27]. Připravuje se radikálovou polymerací při vysokých teplotách a extrémně vysokých tlacích. Má krátké i delší vedlejší větve. Postup byl objeven chemiky firmy ICI v roce 1933. Přibližně každý čtyřicátý uhlík nese větvení, které je dáno přenosovými reakcemi při polymeraci [26, 28].



Vyniká řadou žádaných vlastností, jako je průzračnost (lepší než HDPE), ohebnost, odolnost vůči rázu, olejům a chemikáliím. Pro vodní páru je to značná nepropustnost (horší než u HDPE), svařitelnost teplem a také nízká cena [27]. Polymer se dobře zpracovává, má dobré tokové vlastnosti, je vhodný zejména na obalové i zemědělské fólie, potrubí, lahve a sudy. Má však značnou korozi za napětí při styku s látkami podobné polarity, např. s olejem [26, 28].



Obr. 4. LDPE [27].

### 3.2 Lineární vysokohustotní PE (HDPE)

Vyrábí se homopolymerací etylénu v přítomnosti tzv. stereospecifických katalyzátorů, zvaných podle svých objevitelů také Zieglerovy-Nattovy. Je vysoce krystalický a vykazuje větší bílý zákal. Vyšší krystalinita se projevuje i jako ztužující faktor, zvyšuje modul pružnosti a tvrdost, snižuje propustnost pro plyny a páry. Vyniká odolností k vodnému prostředí, alifatickým uhlovodíkům, alkoholům, ketonům, zředěným roztokům kyselin i zásad. Jeho nevýhodou je snížená odolnost proti korozi za napětí. Ve výrobcích z HDPE vznikají při mechanickém napětí v přítomnosti řady látek trhliny. K takovýmto látkám patří zejména prací prostředky, z potravinářských produktů např. mastné kyseliny. K balení takového zboží se proto používají kopolymery, které omezují krystalinitu a tím i korozi za napětí. Typickými aplikacemi HDPE jsou kontejnery na vodu, mléko, ovocné šťávy. Dále kosmetické a farmaceutické zboží nebo fólie a sáčky k balení cereálií, zákusků, lahůdek [26, 27].



Obr. 5. HDPE [27].

### 3.3 Lineární nízkohustotní PE (LLDPE)

Od rozvětveného se liší způsobem větvení – nemá dlouhé větve. Předností před LDPE jsou všeobecně lepší mechanické vlastnosti, vyšší tuhost a lepší povrch výrobků [28]. K typickým aplikacím patří průtažné a přilnavé fólie, sáčky používané k zabalení volně prodávajícího zboží v maloobchodech i přepravní pytle pro těžší zboží [27].

Tab. 1. Srovnání některých typických vlastností základních druhů polyetylénů [26].

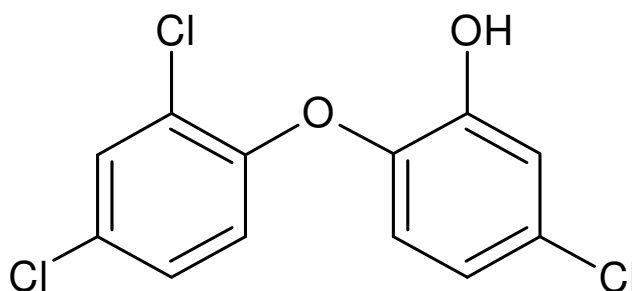
Vlastnost	LDPE	LLDPE	HDPE
Hustota [ $\text{g/cm}^3$ ]	0,915-0,935	0,910-0,925	0,941-0,967
Teplota tání [ $^{\circ}\text{C}$ ]	106-112	125	130-133
Pevnost v tahu [MPa]	7-17	14-21	18-30
Prodloužení při přetížení [%]	100-700	200-1200	100-1000
Modul pružnosti [MPa]	415-795	248-365	689-1654
Tvrdość [Shore D]	45-60	41-53	60-70

## 4 ANTIBAKTERIÁLNÍ ČINIDLA

### 4.1 Triclosan (Irgasan)

Triclosan (2,4,4'-trichlor-2'-hydroxydifenylether) je sloučenina s antibakteriálními vlastnostmi [29].

Je to chlorovaná aromatická sloučenina ve formě bílého prášku, obsahující jak etherové, tak fenolové funkční skupiny. Fenoly mají často antibakteriální vlastnosti. Triclosan je mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v etanolu, diethyletheru, a silných zásadách [30].



Obr. 6. Triclosan.

#### 4.1.1 Použití

Díky jeho výborným vlastnostem byl začleněn do více než 200 průmyslových produktů, včetně ústních hygienických výrobků, kosmetiky (mýdel, sprchových gelů, tělových mlék), tekutých detergentů, dezinfekčních prostředků, antibakteriálních polymerních látek a kuchyňských nástrojů [29, 31, 32]. Je také napouštěn do čím dál většího počtu spotřebitelských výrobků, například hraček, ložního prádla, ponožek a odpadkových pytlů [30]. Jako přísada v antibakteriálních výrobcích se dostává do kanalizace a čistírny odpadních vod. Byl proto nalezen v řekách, jezerech a mořích [29]. Může zde potenciálně tvořit dioxiny, které vznikají rozkladem triclosanu slunečním zářením [30].

#### 4.1.2 Mechanismus účinku

Při používaných koncentracích funguje jako biocid. V nižších koncentracích je však jen bakteriostatický a na bakterie působí hlavně inhibicí syntézy mastných kyselin. Triclosan se váže na bakteriální reduktázu nosiče enoyl-acyl bílkoviny (ENR), která je kódována v genu *FabI*. Vazba zvyšuje afinitu enzymu k nikotinamid adenin dinukleotidu (NAD<sup>+</sup>), což vede

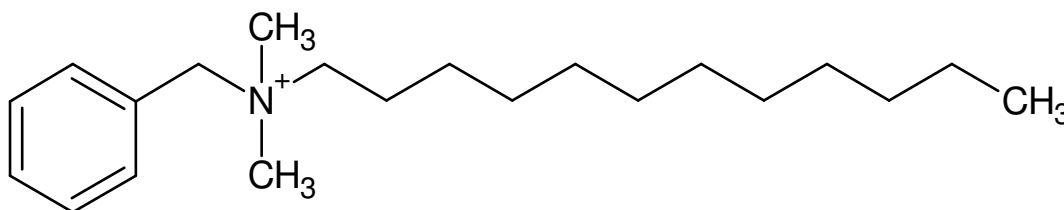
k tvorbě stabilního ternárního komplexu ENR-NAD<sup>+</sup>-triclosan, který se může účastnit v syntéze mastných kyselin. Některé druhy bakterií si mohou vyvinout nízkouúrovňovou rezistenci na triclosan mutací genu *FabI*, jak se ukázalo u bakterií *Escherchia coli* a *Staphylococcus aureus* [30].

#### 4.1.3 Vliv na zdraví

Ve vodě může triclosan reagovat s chlorem za vzniku chloroformu, který je klasifikován EPA (agentura pro ochranu životního prostředí) jako pravděpodobný karcinogen. Také může reagovat za vzniku menších množství dalších sloučenin, například 2,4-dichlorfenolu. Při expozici UV záření většina z těchto látek přechází v dioxiny. Takto vzniklé dioxiny však nejsou zdraví nebezpečné [30].

### 4.2 Benzalkonium chlorid

Také je známý jako alkyldimethylbenzylamoniumchlorid (ADBAC). Je to dusíkatá kationová povrchově aktivní látka patřící do kvarterní amoniové skupiny. Je dobře rozpustný v etanolu a acetonu. Snadněji se však zachází s vodnými roztoky, i když je rozpouštění ve vodě pomalé. Roztoky se pohybují od neutrální do mírně zásadité oblasti [33]. Jedná se o bílý nebo žlutavě-bílý prášek, aromatického zápachu s velmi hořkou chutí. Při protřepání silně pění [33, 34].



Obr. 7. Benzalkonium chlorid.

#### 4.2.1 Použití

Jako kationaktivní činidlo, baktericidní prostředek a fungicid. Používán při zpracování kůže a textilu v barvicím průmyslu. A jako hlavní antibakteriální prostředek [35]. Je široce používán v očních lázních, nosních sprejích, čističích rukou a obličejů, ústních vodách, spermicidních krémech a dalších desinfekčních přípravcích [33].

#### 4.2.2 Mechanismus účinku

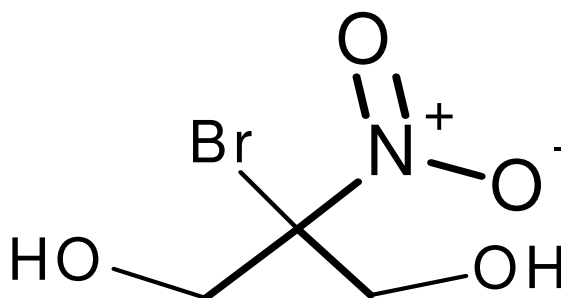
Jeho baktericidní aktivita je přisuzována povrchově aktivním vlastnostem z jeho hydrofobních a kationaktivních skupin, které jsou baktericidní proti široké škále grampozitivních a gramnegativních bakterií v malých koncentracích [36].

#### 4.2.3 Vliv na zdraví

ADBAC je ve vysokých koncentracích alergenní. Také jeho roztoky o koncentraci větší než 10 % jsou pro člověka toxické [33]. Brzdí pohyblivost spermií což je důkaz, že ADBAC narušuje elektrolytickou rovnováhu ve vodné fázi poševní sliznice. U pracujících žen vystavených desinfekčnímu prostředku obsahujícím tuto sloučeninu se vyvinuly astmatické symptomy [35].

### 4.3 Bronopol

Bronopol (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol) je antibakteriální v širokém spektru s vysokou účinností [37]. Byl vynalezen v roce 1960 a při první aplikaci byl použit jako konzervační prostředek pro léky. Je v porovnání s podobnými prostředky jen málo toxický pro savce, ale mimořádně působí proti bakteriím (zvláště pro gramnegativní druhy). To zajistilo, že se stal populární jako konzervant v mnoha spotřebních produktech jako jsou šampony a kosmetika. Následně byl brán jako účinné bakteriostatikum v mnoha průmyslových odvětvích a výrobních procesech. Jeho účinná koncentrace je nízká, a to již od 0,0025 %.



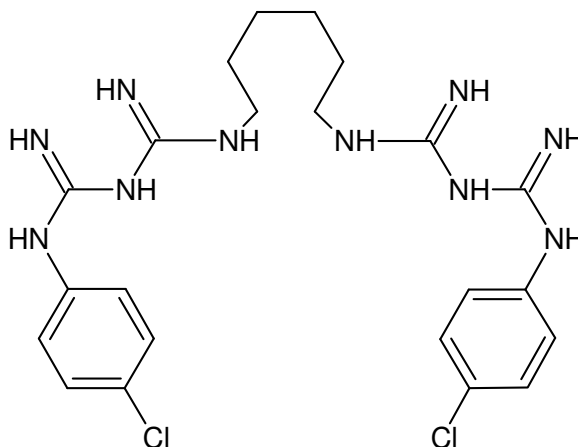
Obr. 8. Bronopol.

Bronopol je dodáván jako krystalický prášek, který se může měnit od bílé po světle žlutou. Za žluté zbarvení vděčí chelatizaci železa během výrobních procesů. Jako čistý materiál má bod tání 130 °C, avšak v literatuře je taktéž zmínka o jeho polymorfním chování. Bronopol

je relativně snadno rozpustný ve vodě. Špatně rozpustný je v nepolárních rozpouštědlech, ale vykazuje poměrně vysokou afinitu k polárním organickým rozpouštědlům [38].

#### 4.4 Chlorhexidin

Chlorhexidin je lokální antibakteriální a desinfekční prostředek [35]. Ničí s poměrně vysokou účinností grampozitivní i gramnegativní bakterie [39].



Obr. 9. Chlorhexidin.

Skladovatelnost tohoto činidla dle dostupné literatury dosahuje přibližně 20 - 24 měsíců. Je poměrně stálý, a to za pokojové teploty při uskladnění v tmavé nádobě.

Chlorhexidin je široce používaný v nemocničním prostředí jako lokální kožní desinfekce. Obecně je bezpečný k použití. Přes velké použití v lékařském prostředí od roku 1950 bylo ohlášeno jen málo nepříznivých případů, jako je kontaktní citlivost, dermatitida, kopřivka a citlivost na světlo. Existují i ojedinělé zprávy o anafylaktických reakcích [40]. Chlorhexidin má prokazatelný vliv na metabolickou aktivitu bakterií. Tento jev je zapříčiněn poměrně silným bakteriostatickým účinkem tohoto činidla již při nízkých koncentracích [41]. Chlorhexidin se nachází ve formě spotřebitelských prostředků na čištění zubů (0,4%), roztoků (0,12% a 0,2%), gelů (1%) a laků (1%, 10%, 20% a 35%) [41].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce je příprava a charakterizace antibakteriálních obalových materiálů na bázi polyetylénu a zevrubné studium meziproductů a jejich charakterizace. Pro analytickou charakterizaci vzorků jsou použity především moderní analytické metody jako kupříkladu rentgenová fotoelektronová spektroskopie, infračervená spektroskopie, skenovací elektronová mikroskopie, stanovení povrchové energie a antibakteriální testy. Zvolené antibakteriální činidla jsou Chlorhexidin, Benzalkonium chlorid, Irgasan a Bronopol, které jsou obecně považovány za účinné a zároveň šetrné k lidskému organismu.



## 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6.1 Zařízení pro měření, chemikálie

Co se týče popisu a charakteristikám zařízení pro měření a použitých chemikálií je třeba podotknout, že zevrubný popis spojený i s metodami interpretace výsledků je pro použité metody uveden níže v souvislosti s jednotlivými podkapitolami v sekci 6.2 a 6.3.

### 6.2 Použité metody

- Měření povrchové energie a kontaktního úhlu
- FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
- XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy)
- SEM (Scanning Electron Microscope)
- Antimikrobiální testy

#### 6.2.1 Měření povrchové energie a kontaktního úhlu

Určení volné povrchové energie pevné látky má velký význam v širokém okruhu užitých věd. V důsledku složitosti měření povrchové energie pomocí přímých metod, bývají často použity metody nepřímé. Jednou z nich je měření kontaktních úhlů smáčení několika kapalinami a následný výpočet povrchové energie, kdy je tato metoda nejjednodušší. Úhel smáčení je jednou z mála přímo měřitelných vlastností fázového rozhraní pevná látka/kapalina/plyn. V roce 1805 byl Youngem navržen vztah pro stanovení volné povrchové energie, který je znám jako Youngova rovnice.

Existuje několik metod stanovení volné povrchové energie, a to teorie Zismanova, Fowkesova, Lifshitz/van der Waals-Lewis Acid/Base, Owens-Wendt-Raeble-Kaeble (OWRK) a další. Jednou z nejčastěji používaných metod je metoda OWRK [42].



Obr. 10. Určování kontaktních úhlů [43].

Kontaktní úhel – Úhel, který svírá tečna k povrchu kapky, vedená v bodě styku kapky s rozhraním.

Povrchová energie tuhé látky – Práce potřebná k vytvoření jednotkové plochy nového povrchu pevné látky. Proces vzniku nového povrchu probíhá ve 2 krocích. Vznikne nový povrch rozdělením materiálu (např. rozstřípnutím), přičemž atomy nového povrchu zachovávají stejné polohy, jaké měly v objemové fázi. Poté dojde k přeskupení atomů v povrchové oblasti do jejich konečných rovnovážných poloh. Hodnota povrchové energie je v různých místech povrchu odlišná, protože povrch pevných látek není homogenní [44].

Úhel smáčení může být stanoven přímým goniometrickým měřením, nepřímými tenziometrickými metodami nebo metodami, které jsou založeny na geometrické analýze tvaru menisku.

Youngova rovnice vyjadřuje vztah mezi úhlem smáčení  $\theta$  a jednotlivými mezifázovými energiemi [42].

$$\gamma_l \cdot \cos \theta = \gamma_s - \gamma_{sl} \quad (1)$$

kde

$\gamma_l, \gamma_s$  ..... povrchové energie kapaliny, popřípadě tuhé látky

$\gamma_{sl}$  ..... mezifázová energie tuhá látka – kapalina

Dle OWRK teorie je možné celkovou povrchovou energii  $\gamma^{tot}$  rozdělit na disperzní  $\gamma^{LW}$  a polární  $\gamma^{AB}$  složku, kde platí:

$$\gamma^{tot} = \gamma^{LW} + \gamma^{AB} \quad (2)$$

Dle Acid base teorie je možno disperzní složku rozdělit na donorovou  $\gamma^-$  a akceptorovou  $\gamma^+$  část dle rovnice [42]

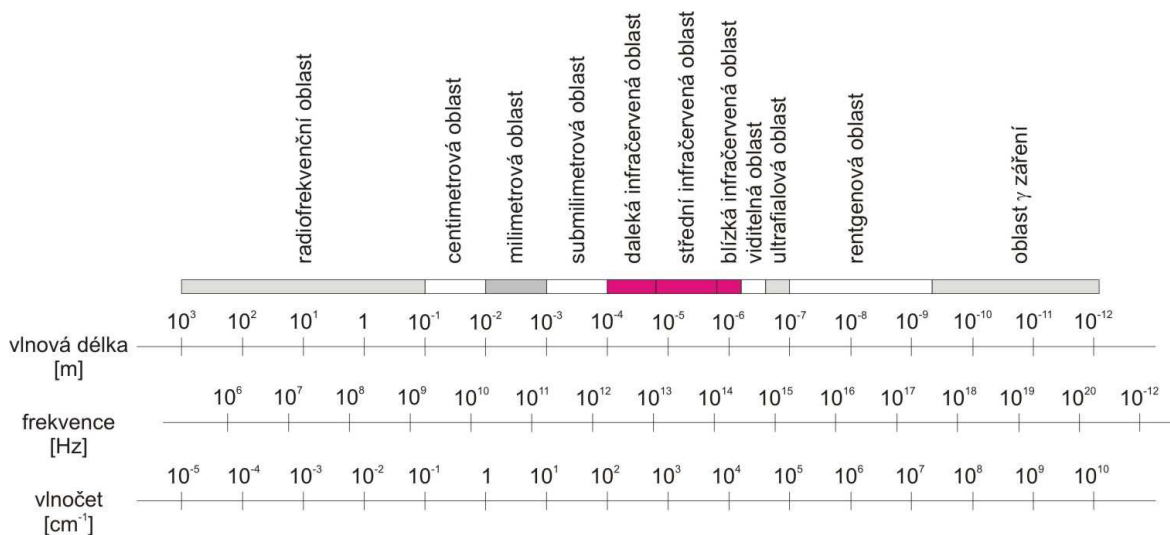
$$\gamma^{AB} = 2\sqrt{\gamma^+ \gamma^-} \quad (3)$$

## 6.2.2 FTIR

Infračervená (IČ) spektroskopie je analytická nedestruktivní metoda sloužící pro identifikaci a strukturní charakterizaci organických sloučenin, ale i pro stanovení organických látek. Zkoumaný vzorek není analýzou poškozen, a přesto poskytuje informaci o svém složení. Získané hodnoty vibračních energií souvisí s pevností chemických vazeb, molekulovou geometrií a hmotnostmi jader, tedy s molekulovou strukturou [45, 46]. Měří pohlcení IČ záření o různé vlnové délce analyzovaným materiálem. Energeticky je IČ oblast velmi široká [45]. Nejpoužívanější jednotkou v IČ spektroskopii je vlnčet, který je s vlnovou délkou svázán vztahem  $\tilde{\nu} = 1 / \lambda$  [46]. Rozmezí vlnočtů je  $12500 - 5 \text{ cm}^{-1}$ . Horní hranice je určena spektrální citlivostí našeho zrakového ústrojí, dolní hranice možnostmi produkce a detekce nejdélnějšího IČ záření.

Celá IČ oblast je rozdělena na tři části:

- blízkou IČ oblast (NIR)  $12500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$
- střední IČ oblast (MIR)  $4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$
- vzdálenou IČ oblast (FIR)  $250 - 5 \text{ cm}^{-1}$  [45].



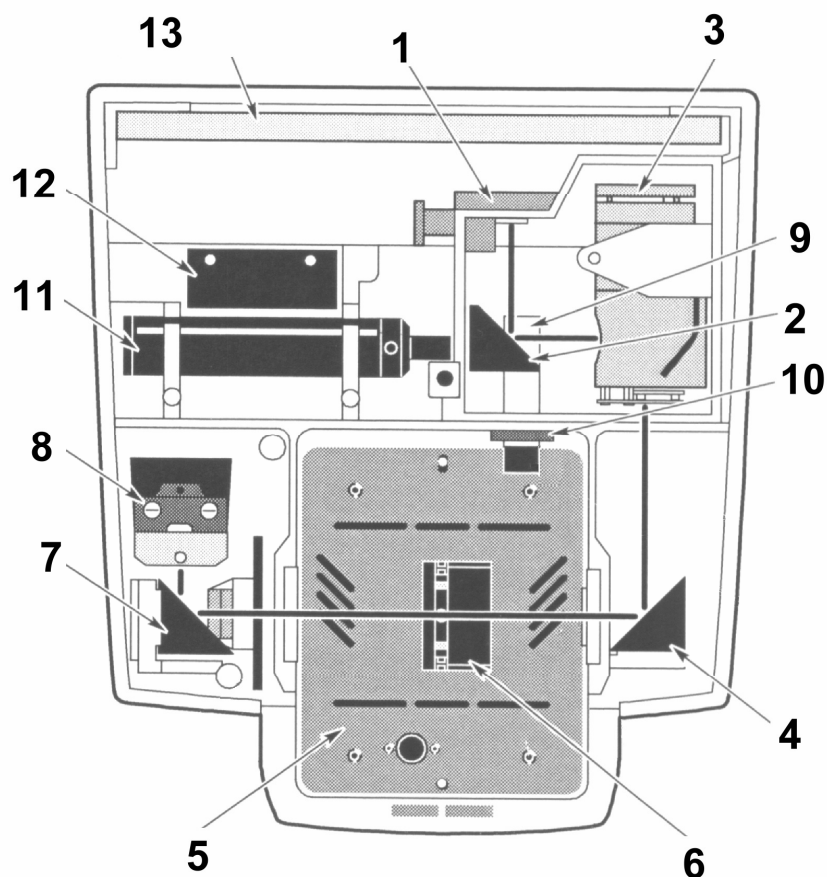
Obr. 11. Elektromagnetické spektrum [46].

V 80. letech 20. století dochází s rozvojem výpočetní techniky k rozšíření infračervených spektrometrů s Fourierovou transformací. Přístroje pracují na principu interference spektra,

kteří měří interferogram modulovaného svazku záření po průchodu vzorkem. Abychom získali klasický spektrální záznam tak přístroje vyžadují matematickou metodu Fourierovy transformace. Spektrometry mají řadu výhod. Při měření dopadá na detektor vždy celý svazek záření. Takové uspořádání umožňuje i experimenty, při kterých dochází k velkým energetickým ztrátám, tj. měření silně absorbujících vzorků nebo měření s nástavci pro analýzu pevných či kapalných vzorků v odraženém světle (reflektanční IČ spektroskopie) [47].

IČ spektrometrie se používá v kvalitativní i kvantitativní analýze. V paměti počítače je knihovna spekter, s níž program počítače porovnává spektrum vzorku. Jednotlivé pásy se přiřazují vibračním funkčním skupinám podle svých vlnočtů, zkoumají se různé vlivy struktury molekuly a charakteru vzorku na polohu a tvar pásů. U techniky FTIR s využitím počítačového zpracování dat lze kvantitativně analyzovat i vícesložkovou směs změřením jednoho spektra [48].

Prakticky lze pracovat se vzorky všech skupenství. Pro tuhé látky je výhodná pastilková metoda kdy se látka rozetře se stonásobným množstvím KBr a vylisuje se tableta o tloušťce 1 - 2 mm. Odpadá tak použití kyvety, protože tabletu můžeme umístit přímo do dráhy paprsku. Lze použít i suspenze tuhé látky v parafínovém oleji zvané nujol. Nevýhodou jsou absorpční pásy C–H tohoto oleje přítomného ve spektru. Pro přípravu roztoků je třeba používat nepolárních nebo málo polárních rozpouštědel jako je CS<sub>2</sub>, CCl<sub>4</sub>, hexachlorbutadien apod. Z tuhých látek je také možné udělat fólii nebo vybrousit tenkou destičku. Plynné vzorky se měří v kyvetách opatřených dvěma bočními kohouty pro napojení na plyn [48].



Obr. 12. Schéma infračerveného spektrometru s Fourierovou transformací AVATAR 320 [46].

IČ paprsek je naznačen plnou čarou.

1 - zdroj IČ záření; 2 - pevné zrcadlo fokusující záření do interferometru; 3 - interferometr s pevným KBr děličem paprsků; 4 - zrcadlo fokusující záření do kyvetového prostoru; 5 - kyvetový prostor; 6 - držák vzorku; 7 - zrcadlo fokusující záření na detektor; 8 - detektor; 9 - sušidlo; 10 - indikátor vlhkosti; 11 - laser; 12 - napájení laseru; 13 - elektronické moduly.

### 6.2.3 XPS

XPS je také známa pod zkratkou ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis). Patří k nejrozšířenějším nedestruktivním metodám analýzy povrchů, mezifází a tenkých vrstev. Potřebné komerční spektrometry se staly dostupnými v r. 1970 a do dnešní doby prošly velmi intenzivním vývojem. Principem metody je fotoelektrický jev, pozorovaný již v r. 1887 Hertzem. Teoretické základy metody byly položeny v r. 1905 Einsteinem, který vysvětlil fotoelektrický jev kvantovou teorií záření, navrženou Planckem. V r. 1922 byl za tuto teorii Einstein odměněn Nobelovou cenou [49, 50, 51].

Princip metody spočívá ve fotoemisi elektronu iniciované rentgenovým zářením. Kvantum energie záření se celé předá elektronu a předaná energie se rozdělí na energii spotřebovanou na oddělení elektronu z elektronového obalu atomu. Lze to přiřadit vazebné energii elektronu, na výstupní práci elektronu spotřebovanou při opuštění povrchu materiálu a kinetickou energii elektronu, se kterou se elektron pohybuje už mimo studovaný materiál. Pokud známe iniciační energii RTG záření a kinetickou energii elektronu, pak můžeme dopočítat vazebnou energii fotoelektronu, což je základní informace, kterou měření poskytuje. Při pohybu v materiálu mají vytvořené fotoelektrony velkou pravděpodobnost interakce a tedy předání části své energie (mají velký útlum). Proto největší pravděpodobnost, že povrch materiálu elektron opustí bez další interakce, má elektron, který je emitován v několika posledních atomových vrstvách [52].

Studovaný vzorek je ozařován měkkým rentgenovým zářením. Obvykle je používána linie Al  $K_{\alpha}$  s energií fotonů 1486,6 eV, případně Mg  $K_{\alpha}$  s energií 1253,6 eV, jejichž průniková hloubka do pevných látek činí několik  $\mu\text{m}$  [50].

Princip metody a vysoký útlum v materiálu generovaných elektronů vedou k tomu, že je analyzováno pouze několik posledních vrstev atomů na povrchu. Metoda poskytuje několik informací. Jednou z možností je elementární analýza povrchu. Každý prvek je charakterizován spektrálními liniemi o určitých vazebných energiích. Další informací je zjištění chemických vazeb přítomného prvku. Různý chemický stav nebo vazba způsobuje určitý posun spektrální linie daného prvku. Jako poslední možnost se zjišťují koncentrační hloubkové profily. Tj. změření závislosti koncentrace jednotlivých prvků nebo jejich vazeb na hloubce pod povrchem. Tato možnost je však destruktivní metodou, protože k odprášení povrchu se používá iontové čištění argonovými ionty [52].

XPS nachází stále větší uplatnění při studiu povrchu polymerů oproti svému hlavnímu využití v metalurgii, při studiu katalýzy a převážně pevných látek anorganického původu. Kvantitativně i kvalitativně (mimo H a He) umožňuje stanovit složení povrchové vrstvy polymerů. Z energetických důvodů při tvorbě povrchu bývá složení velmi často značně odlišné od složení v objemu. V polymerech je počet prvků většinou malý, takže jejich XPS spektra jsou poměrně jednoduchá – převážně  $C_{1s}$ ,  $O_{1s}$ ,  $F_{1s}$  a  $Cl_{2s, 2p}$ . Různá aditiva nebo látky kontaminující povrch však obsahují další prvky, jako např. Si, S, P, Na, Ti, Zn, K, Br, Sn, Ge, Cr a jiné, u nichž lze přítomnost detekovat velmi snadno i ve stopových koncentracích. Toho se využívá při vysvětlení mnoha problémů, které jsou spojené s povrchovými vlastnostmi nebo pro identifikaci čistoty povrchu polymerů před jejich aplikací. XPS je vhodná pro studium probíhajících změn na povrchu polymerů vlivem chemických modifikačních reakcí, termických a fotochemických procesů (stárnutí polymerů), plazmatického výboje, adsorpce látek, přenosu hmoty aj., které se projevují nově zavedeným specifickým prvkem [53].

#### 6.2.4 SEM

Počátek výzkumů a vývoje SEM je kladen do 50. let 20. století, kdy byl zahájen výzkum v laboratořích univerzity v Cambridgi v Anglii. První SEM vznikl v roce 1965. V české republice začíná výroba těchto přístrojů v roce 1976 [54].

SEM je přístroj k pozorování povrchů nejrůznějších objektů. Do jisté míry ho lze považovat za analogii světelného mikroskopu v dopadajícím světle. Zobrazení v SEM je považováno za nepřímou metodu, neboť výsledný obraz je tvořen pomocí sekundárního signálu – odražených nebo sekundárních elektronů. Předností je jeho velká hloubka ostrosti. V komoře preparátů vzniká při interakci urychlených elektronů s hmotou vzorku ještě řada dalších signálů, např. RTG záření, Augerovy elektrony, katodoluminiscence. Při jejich detekci můžeme určit např. prvkové složení preparátu v dané oblasti a určit kvantitativní zastoupení jednotlivých prvků při porovnání se standardy [55].

Činnost SEM je založena na použití úzkého svazku elektronů emitovaných ze žhavené katody a urychlovaných v elektronové trysce tvořené systémem katoda - Wehneltův válec - anoda. Elektromagnetickými čočkami je paprsek dále zpracováván a je rozmítán po povrchu pozorovaného objektu. S tímto svazkem elektronů je synchronně rozmítán elektronový svazek paprsku v pozorovací obrazovce. Interakcí elektronového svazku s povrchem

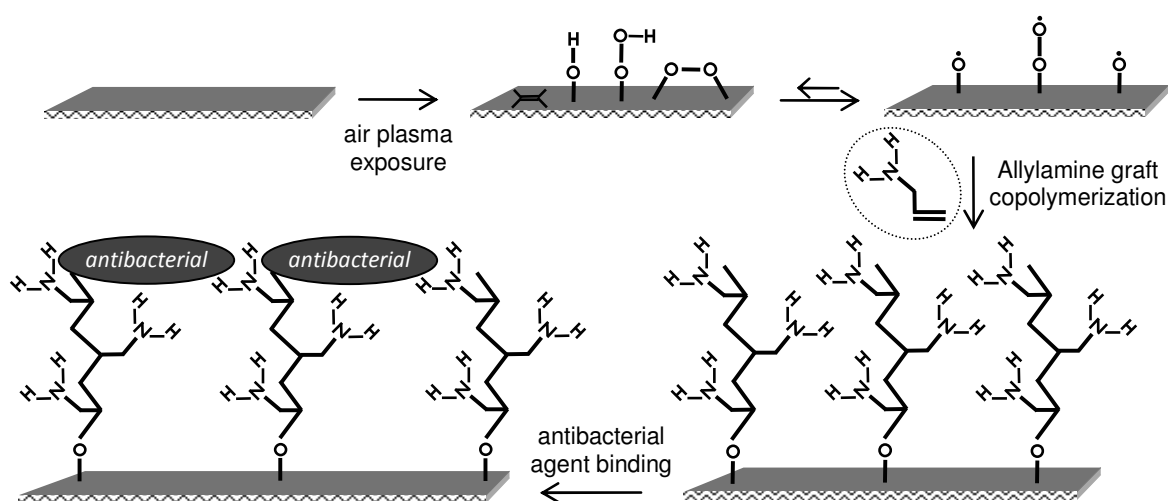
pozorovaného objektu vznikají sekundární elektrony. Ty po detekci a zesílení modulují jas elektronového paprsku v pozorovací obrazovce. Na obrazovce vznikne obraz odpovídající povrchu pozorovaného vzorku [54].



## 6.3 Výsledky a diskuze

### 6.3.1 Příprava vzorků

Vzorky LDPE (5 × 5 cm) byly omyty v roztoku kationaktivního tenzoru a následně opláchnuty v dostatečném množství vody a nakonec neionizované vody. Po této operaci byly vzorky vystaveny okolním laboratorním podmínkám a byly osušeny po dobu 2 hodin. Takto připravené vzorky byly oboustranně opracovány v nízkoteplotním plazmatu po dobu 5 minut při výkonu reaktoru 50 W. Jako plazmový plyn byl použit vzduch. Ihned po vyjmutí vzorku z reaktoru byl substrát vystaven účinkům par alylaminu po dobu 15 s, který byl použit pro funkcionizaci povrchu. Na povrchu se po této polymeraci vytvořil tzv. „polymerní hřeben“ s aminy jako funkčními skupinami. Takto připravené povrchy byly ponořeny do příslušných roztoků antibakteriálních činidel, kde došlo k jejich navázání mezimolekulovými silami během 24 hodin. Po uplynutí tohoto času byly vzorky z roztoku antibakteriálního činidla vyjmuty, opláchnuty v dostatečném množství neionizované vody pro odstranění nenavázaných molekul antibakteriálních činidel a následně sušeny za laboratorních podmínek. Pro kontrolu procesu přípravy a srovnání postupů byly provedeny taktéž experimenty s vázáním antibakteriálních složek za stejných podmínek na identicky připravených vzorcích, ovšem bez polymerního hřebene. Schéma celého procesu je uvedeno na obrázku 13.



Obr. 13. Schéma postupu přípravy vzorků nanesením antibakteriálního činidla na povrch LDPE.

### 6.3.2 Úprava pomocí plazmatu

Plazma je soubor nabitých a neutrálních částic v různých kvantových stavech (elektrony, ionty, excitované stavy, neutrální atomy, molekuly), o kterém platí, že jeho prostorový náboj je přibližně roven nule (tzv. kvazineutralita). Plazma bývá někdy nazýváno čtvrtým skupenstvím hmoty. Jeho chování se navenek nejvíc podobá plynu, od něhož se ale liší hlavně přítomností volných nosičů náboje. Je schopné jako celek svými projevy generovat globální elektrická a elektromagnetická nebo magnetická pole a na takováto globální pole reagovat.

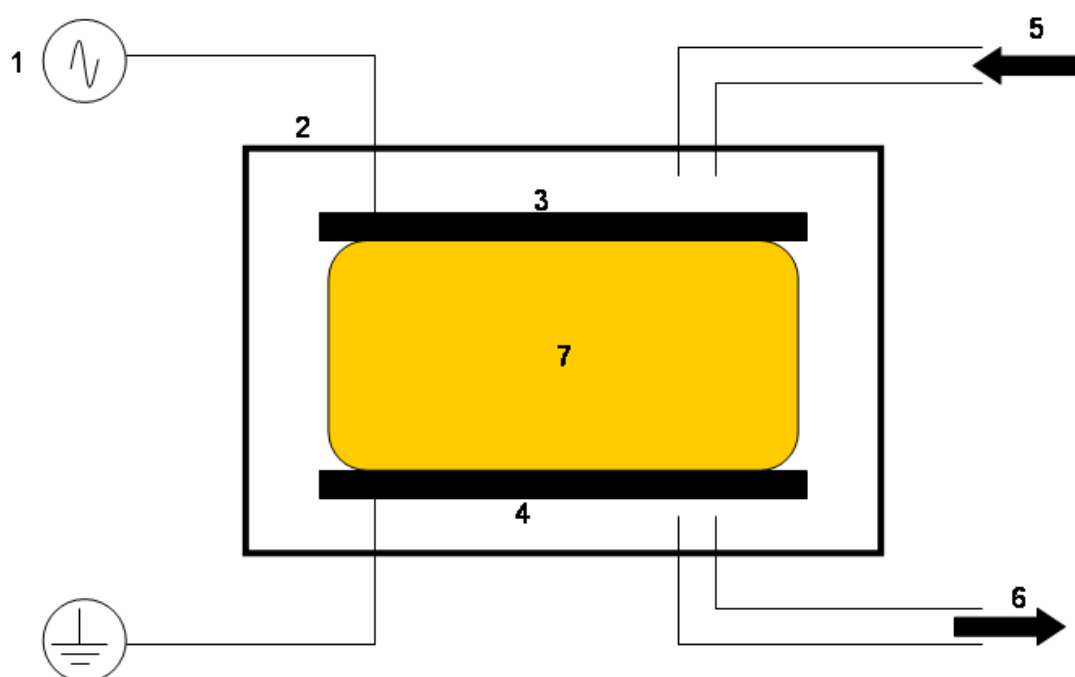
Plazma není v přírodě žádný ojedinělý jev, odhaduje se, že až 99 % celkové vesmírné hmoty se nachází právě v tomto skupenství. Jedná se hlavně o hvězdy, ale i různé mlhoviny a galaxie. Na zemi se pak s plazmatem setkáme méně často, jelikož má jeho životnost velké energetické nároky (vysoká teplota, tlak, záření apod.), nevydrží v přirozeném prostředí dlouhou dobu, jsou to např. blesky a jiné výboje.

Plazma je velmi chemicky reaktivní prostředí, ve kterém dochází k neobvyklým reakcím. Velká hustota ionizovaných a excitovaných částic může změnit vlastnosti i jinak inertního materiálu jako je např. keramika. Především plazma modifikuje hodnotu povrchové energie materiálu, což má následný dopad na adhezní sílu, vlastnosti povrchových nátěrů a biokompatibilitu.

V plazmatu vzduchu při úpravě syntetických polymerních materiálů dochází zejména k jejich hydrofilizaci. To je způsobeno tím, že na povrch obecně hydrofobních polymerů jsou roubovány postranní řetězce závislé na složení a povaze plazmových pracovních plynů. V případě vzduchu poměrně výrazně vzrůstá množství funkčních skupin s obsahem kyslíku, nejčastěji hydroxylů, karbonylů a karboxylů. Mimo ně se v povrchové struktuře nachází také funkční skupiny obsahující dusík. Konkrétně především aminy. Nelze však vyloučit ani přítomnost nitro a nitroso funkčních skupin. Tyto se však vyskytují poměrně zřídka a jejich přítomnost je do velké míry závislá na kinetice a podmínkách plazmové úpravy.

Reaktor s radiofrekvenčním výbojem je buzen elektromagnetickým vlněním o frekvenci 13.56 MHz. Aparatura se vyznačuje především tím, že pracuje za sníženého tlaku oproti okolí. Tento tlak dosahuje řádově zpravidla hodnot v rozmezí jednotek až desítek Pa.

V této práci byl použit komerční radiofrekvenční reaktor FEMTO firmy Diener Electronic (Německo). Plazma bylo buzeno kapacitním způsobem, tedy postupem, kdy jedna desková elektroda je radiofrekvenční a druhá paralelně uložená desková elektroda je zemní. Čas plazmové úpravy byl zvolen 5 minut při průtoku vzduchu  $50 \text{ cm}^3/\text{min}$  jakožto plazmového plynu. Výkon plazmového reaktoru byl nastaven na hodnotu 50 W. Schéma použitého přístroje je na obrázku č. 14.



Obr. 14. Schéma reaktoru s radiofrekvenčním (kapacitně buzeným) výbojem.

1 - budící zdroj; 2 - plášť reaktoru; 3 - radiofrekvenční elektroda; 4 - uzemněná elektroda; 5 - přívod plazmového plynu; 6 - přívod k vývěvě; 7 - výboj.

### 6.3.3 Měření povrchové energie

Měření povrchové energie probíhalo na přístroji SEE system. Jako kapaliny byly použity neionizovaná voda, etylén glykol a diiodometan. Neionizovaná voda byla vlastní produkce, ostatní chemikálie byly dodány společností Sigma-Aldrich. Chemikálie byly použity vzhle-

dem k vysoké původní čistotě již bez dalšího přečištění. Objem nanesených kapek na povrch byl stanoven na 5  $\mu\text{l}$ . U menších kapek dochází k poměrně vysoké chybě při odečtu v důsledku jejich malé velikosti. U kapek nad 10  $\mu\text{l}$  dochází k její deformaci vlivem gravitace, která se taktéž projevuje ve výsledku zkreslením. Pro experimenty v této diplomové práci bylo na každý substrát nanášeno postupně 10 kapek každé kapaliny a výsledná hodnota kontaktního úhlu byla pak jejich průměrem. Z těchto hodnot kontaktních úhlů smáčení byla následně vypočítána povrchová energie substrátů a její složky, jejichž hodnoty jsou přehledně uvedeny v tabulce č. 2.

Z výsledných hodnot je zřejmé, že neopracovaný PE vzorek vykazuje nejnižší hodnotu celkové povrchové energie, což je způsobeno jeho přirozenou hydrofobitou. Disperzní složka povrchové energie dosahuje přibližně stejné hodnoty jako složka celková. Z těchto důvodů polární složka dosahuje velmi nízkých hodnot, což odpovídá teorii i dříve provedeným měřením, jehož výsledky jsou uvedeny v dostupné literatuře. Vzorek opracovaný v nízkoteplotním plazmatu vykazuje značný nárůst celkové složky povrchové energie. Především zde došlo ke zvýšení polární složky povrchové energie, což je způsobeno inkorporací polárních funkčních skupin na povrch PE v průběhu plazmatické úpravy. V případě oplazmovaného vzorku po roubování alylaminem dochází k mírnému poklesu celkové složky povrchové energie. Je to způsobeno částečně i tím, že molekula alylaminu kromě aminové skupiny obsahuje i uhlovodíkový řetězec o délce tří uhlíků. Toto má taktéž za následek snížení velikosti polární složky, přičemž disperzní složka povrchové energie zůstává v podstatě bez výrazných změn. Další měřené substráty byly vzorky PE po plazmatické úpravě s naneseným benzalkonium chloridem s a bez předchozího roubování alylaminu. Z naměřených výsledků je zřejmé, že vyšší celkovou povrchovou energii, potažmo její polární složku, má vzorek, u něhož proběhlo roubování alylaminu. Tento výsledek taktéž potvrzuje, že množství benzalkonium chloridu přímo závisí na roubování alylaminem. V případě dalších antibakteriálních činidel již k tak značným rozdílům nedochází. Závěr, že to či ono bakteriální činidlo je navázáno lze učinit pro každé činidlo zvlášť v závislosti na jeho chemické struktuře a tyto výsledky musí být nutně následně konfrontovány s výsledky ostatních měření, zejména XPS.

Tab. 2. Povrchové napětí a jeho složky měřených vzorků.

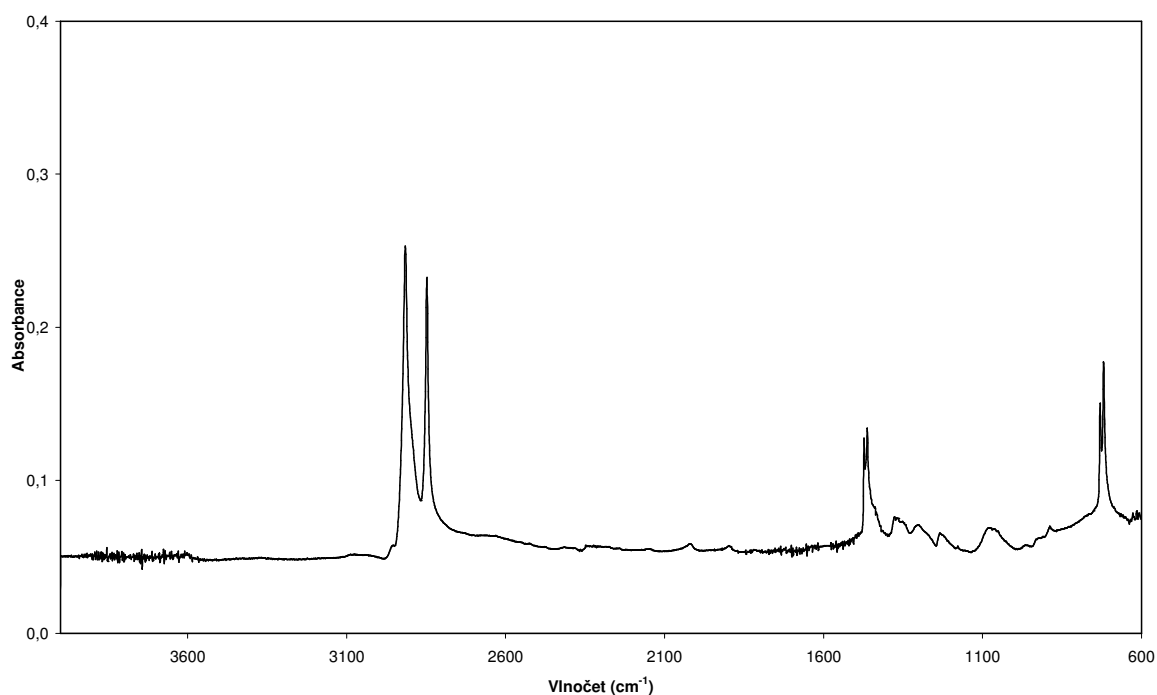
vzorek	povrchové napětí a jeho složky (mN/m)				
	$\gamma^{\text{total}}$	$\gamma^{\text{LW}}$	$\gamma^{\text{AB}}$	$\gamma^+$	$\gamma^-$
PE neopracovaný	33,94	33,73	0,21	0,12	0,09
PE plazmovaný	44,95	39,70	5,25	0,35	19,78
PE plazmovaný (AA)	42,40	39,84	2,56	0,05	34,67
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	39,65	37,44	2,21	0,17	7,07
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid (AA)	44,40	38,17	6,23	0,38	25,40
PE plazmovaný + chlorhexidin	41,52	41,20	0,32	0,00	10,80
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	41,22	40,48	0,74	0,01	12,38
PE plazmovaný + triclosan	44,25	41,06	3,18	0,21	12,29
PE plazmovaný + triclosan (AA)	42,96	41,50	1,46	0,03	16,23
PE plazmovaný + bronopol	42,03	40,03	2,01	0,08	13,09
PE plazmovaný + bronopol (AA)	41,17	38,93	2,25	0,12	10,94

### 6.3.4 Infračervená spektroskopie (IČ)

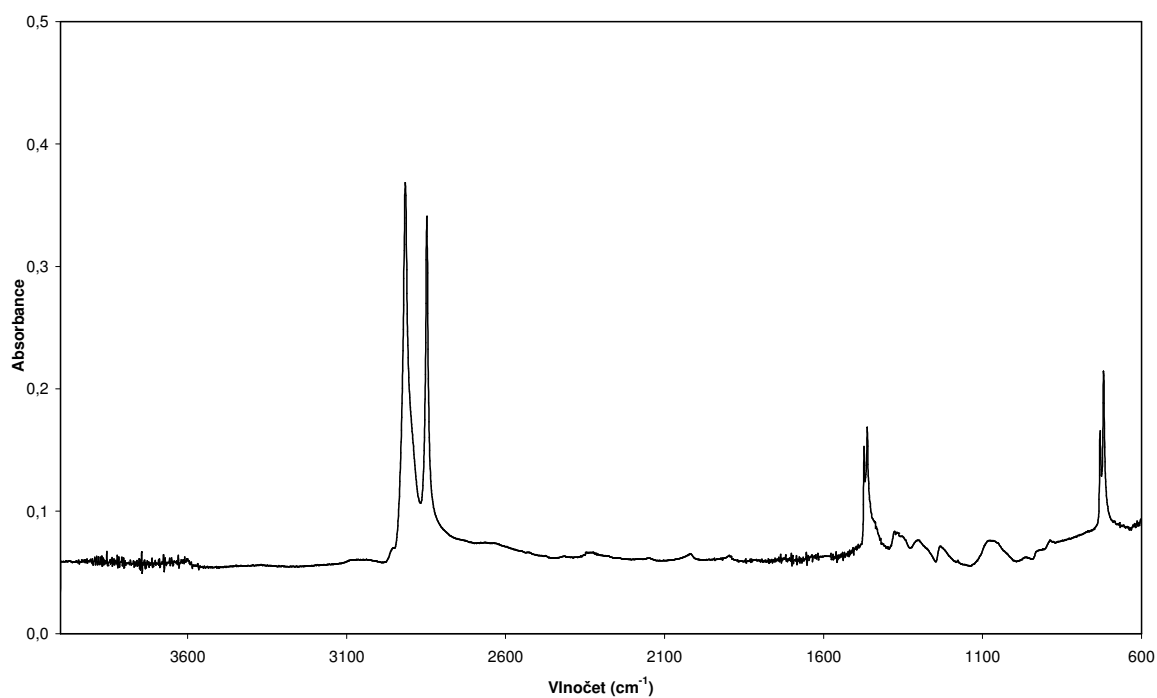
Pro měření infračervených spekter byla zvolena metoda jednodrazové ATR. Jako přístroj pro měření byl použit AVATAR 320 FT-IR od firmy Nicolet (USA). Tato metoda se vyznačuje především tím, že dochází k analýze povrchové vrstvy měřeného substrátu. Tato povrchová měřená vrstva v případě FTIR měření dosahuje okolo 5  $\mu\text{m}$ . Pokud je tedy modifikovaná povrchová vrstva menší, dochází ke značnému zkreslení výsledků. Tak je tomu i zde. Po důkladné interpretaci daných úseků spektra po patřičném zvětšení zobrazované oblasti však lze rozdíly rozpoznat a dle tabulkových hodnot vlnočtů příslušných vibračních skupin i usoudit, která funkční skupina má za následek ten či onen signál ve spektru. Na tomto místě je třeba ovšem zdůraznit, že FTIR je poměrně významná kvalitativní metoda, ovšem kvantitativní výsledky nelze očekávat s náležitou přesností a proto konfrontace těchto spekter s metodami jinými je nutná. Kvalita spekter taktéž významně závisí na zvolené metodě pro infračervenou spektroskopii a především na obsluze, která musí dbát určitých standardů při přípravě vzorku a manipulaci s ním. Výsledná spektra jsou uvedena na následujících níže v textu umístěných obrázcích. Po náležitém zvětšení a srovnání spekter z nich plyne následující.

V případě původního vzorku PE nalzáme vibraci o vlnočtu okolo 1400 - 1500  $\text{cm}^{-1}$ , která bývá připisována  $\text{CH}_2$  vibraci a  $\text{CH}_3$  deformaci. Taktéž lze nalézt píky v oblasti 2800 - 3000  $\text{cm}^{-1}$ , které odpovídají C-H vibraci. V případě plazmou upravených polymerních vzorků lze nalézt velmi slabý široký signál v oblasti 3200 - 3500  $\text{cm}^{-1}$ , který odpovídá -OH vibraci. Další drobnou změnu lze nalézt v okolí vlnočtu 1720  $\text{cm}^{-1}$ , kde se vyskytuje signál C=O skupiny. Po důkladné analýze a následném zvětšení lze rozpoznat taktéž velmi slabý píky v oblasti od 1580 - 1600  $\text{cm}^{-1}$ , který odpovídá karboxylu. Tyto píky obsahující kyslík se ve spektru vytrácejí po navázání alylamínu. Je to způsobeno tím, že alylamín se na povrch váže zejména přes skupiny obsahující kyslík a proto tyto nedávají již spektrální signál. Tyto skupiny se však dále objevují ve spektru velmi slabě a to díky jejich přítomnosti v příslušných antibakteriálních substrátech, zejména OH v bronopolu a irgasanu. Taktéž se ve spektrech objevuje slabý signál aromatického benzenového jádra a to například v píkách s vlnočty okolo 1630  $\text{cm}^{-1}$ , které odpovídají C=C aromatickým vibracím. Přítomnost chlóru není jednoznačně patrná. Mohly by jí však odpovídat signály v rozmezí vlnočtů 600 - 700  $\text{cm}^{-1}$  ve vzorcích kde je chlór obsažen. Tedy zejména v irgasanu a chlorhexidinu. Přítomnost dusíku, který je do substrátu vnesen jednak přítomností naroubovaného alylamínu

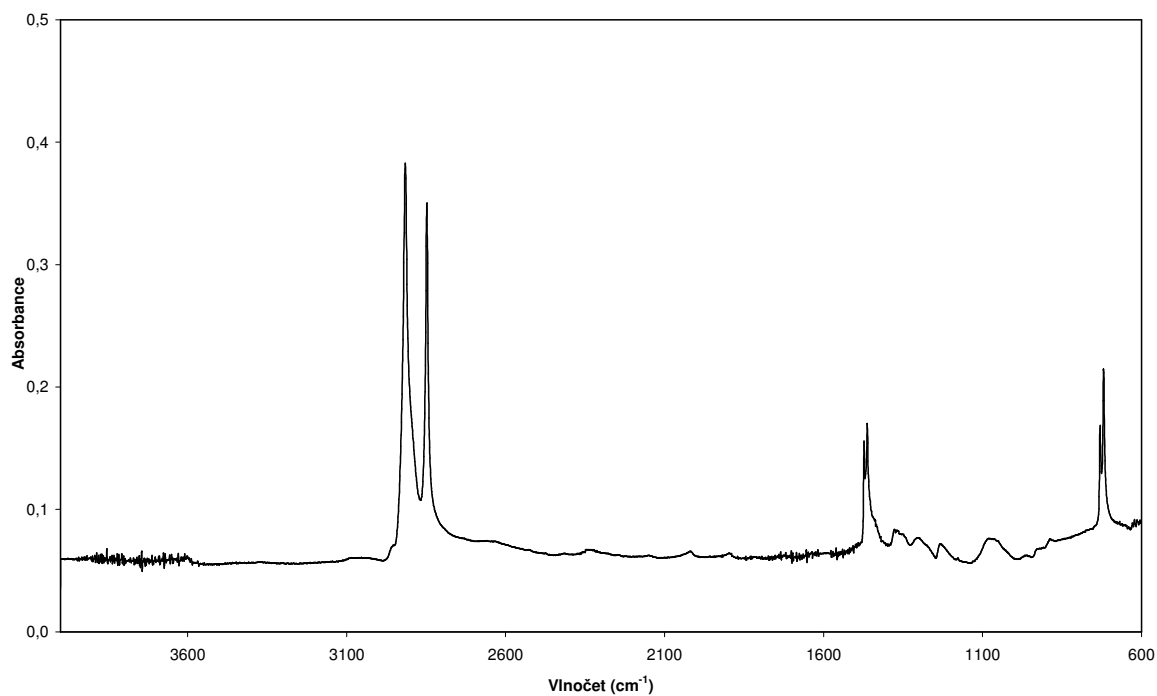
a taktéž ve struktuře antibakteriálních sloučenin, zejména chlorhexidinu bývá nalezen jako velmi široký pík při vlnočtech  $3330\text{ cm}^{-1}$ . Ze spektra však lze odečíst i  $\text{C}=\text{N}$  vibrace při vlnočtu  $1640\text{ cm}^{-1}$ . Ve spektru vzorku po nanesení bronopolu byl nalezen velmi slabý pík v okolí  $1520\text{ cm}^{-1}$ , který je spojován s  $\text{NO}_2$  vibracemi. Co se týče vibrace  $\text{C}-\text{Br}$ , která je v literatuře taktéž popsána, se přítomnost v našem případě u vzorku bronopolu nepodařila touto metodou ověřit v důsledku velmi nízké intenzity signálu v předmětné oblasti.



*Obr. 15. FTIR (ATR) spektrum neoplazmovaného LDPE.*

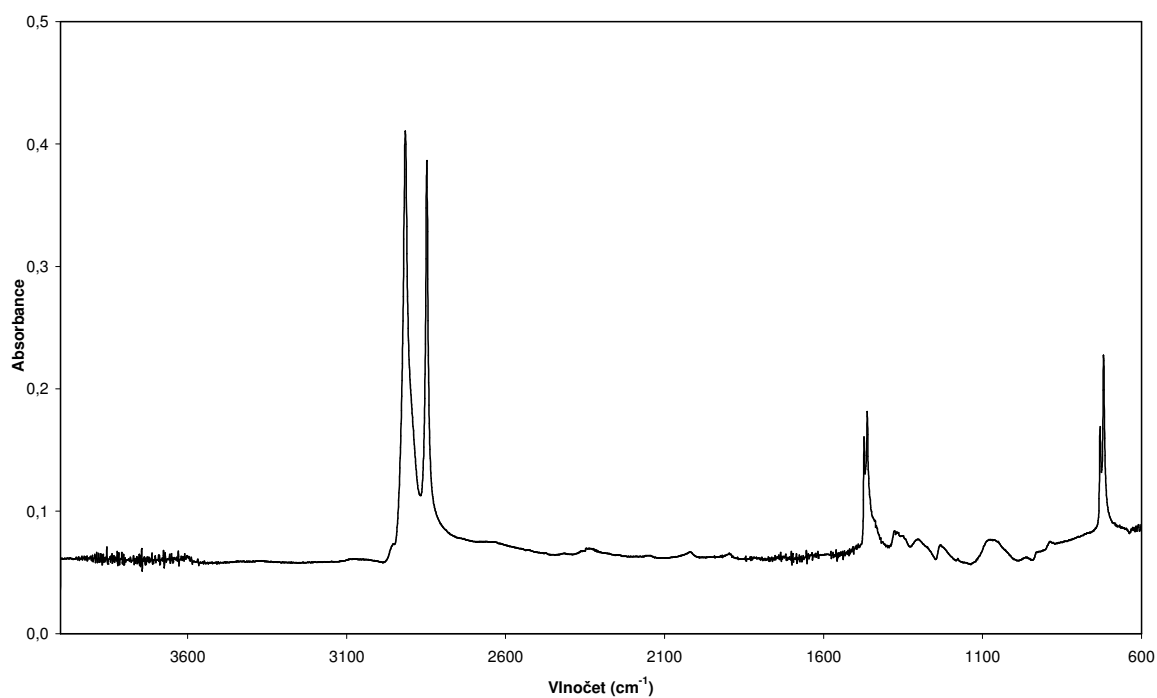


*Obr. 16. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE.*

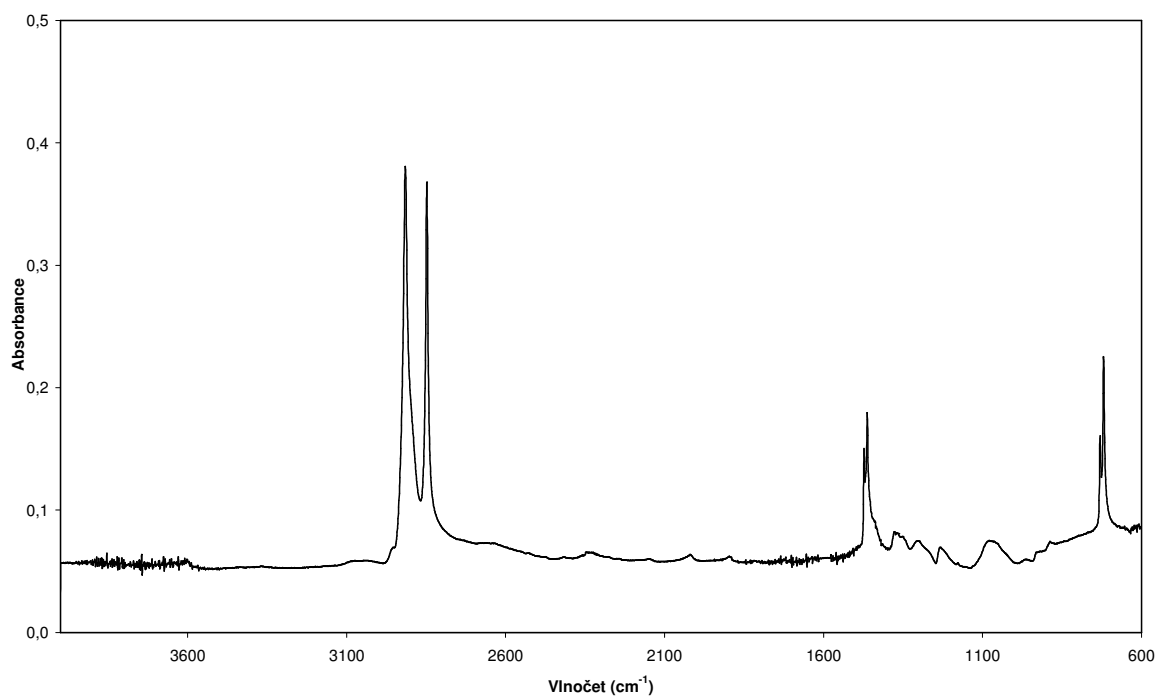


*Obr. 17. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylamínu.*

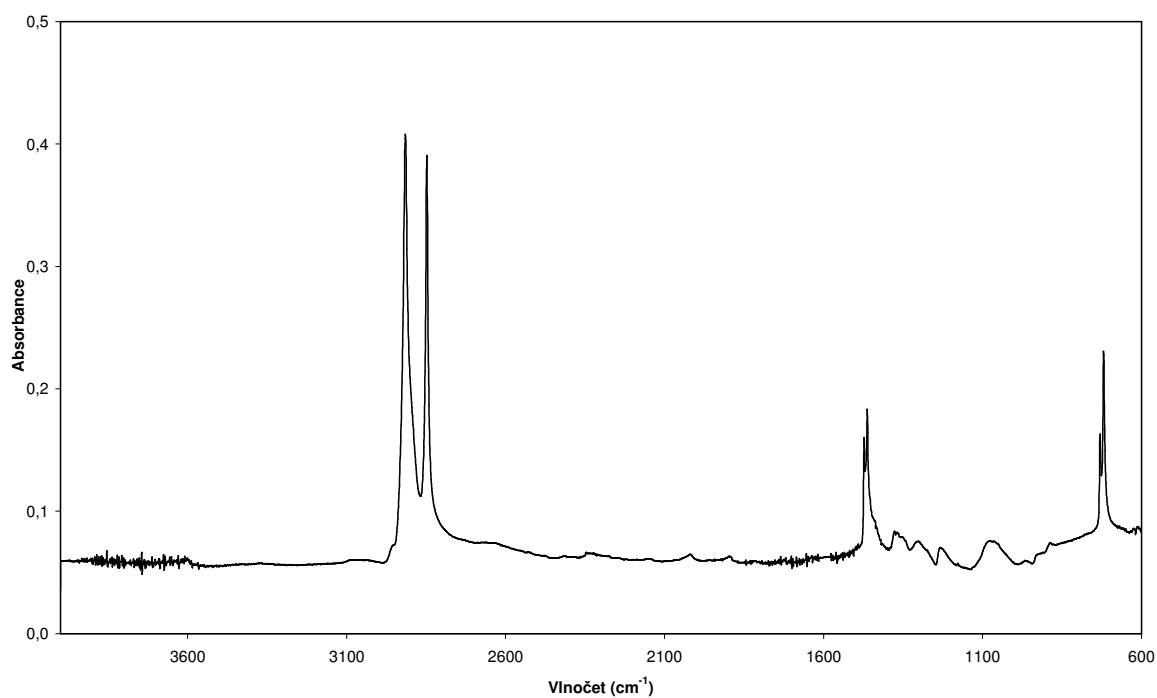




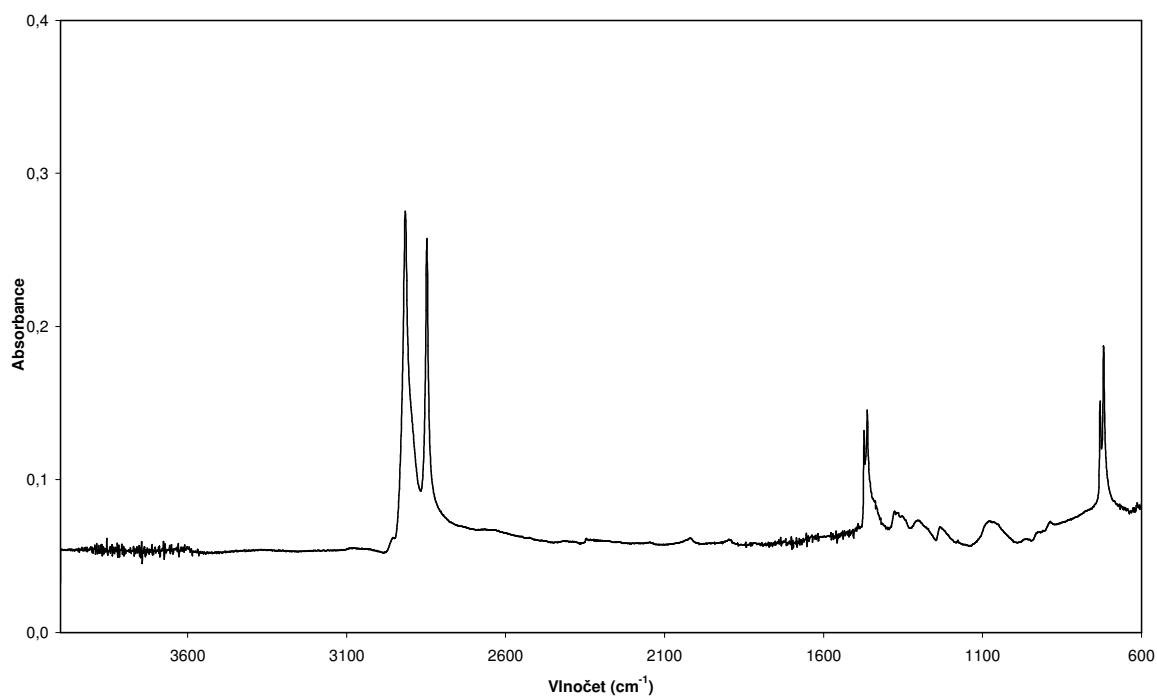
*Obr. 18. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení benzalkonium chloridu.*



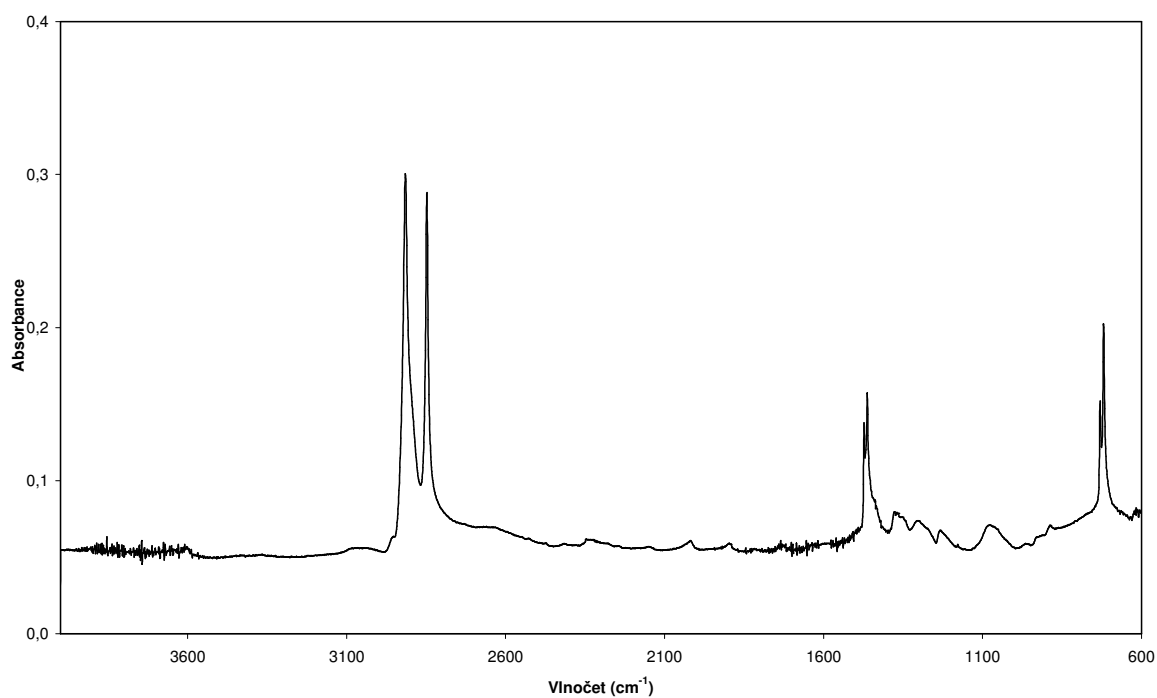
*Obr. 19. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení benzalkonium chloridu.*



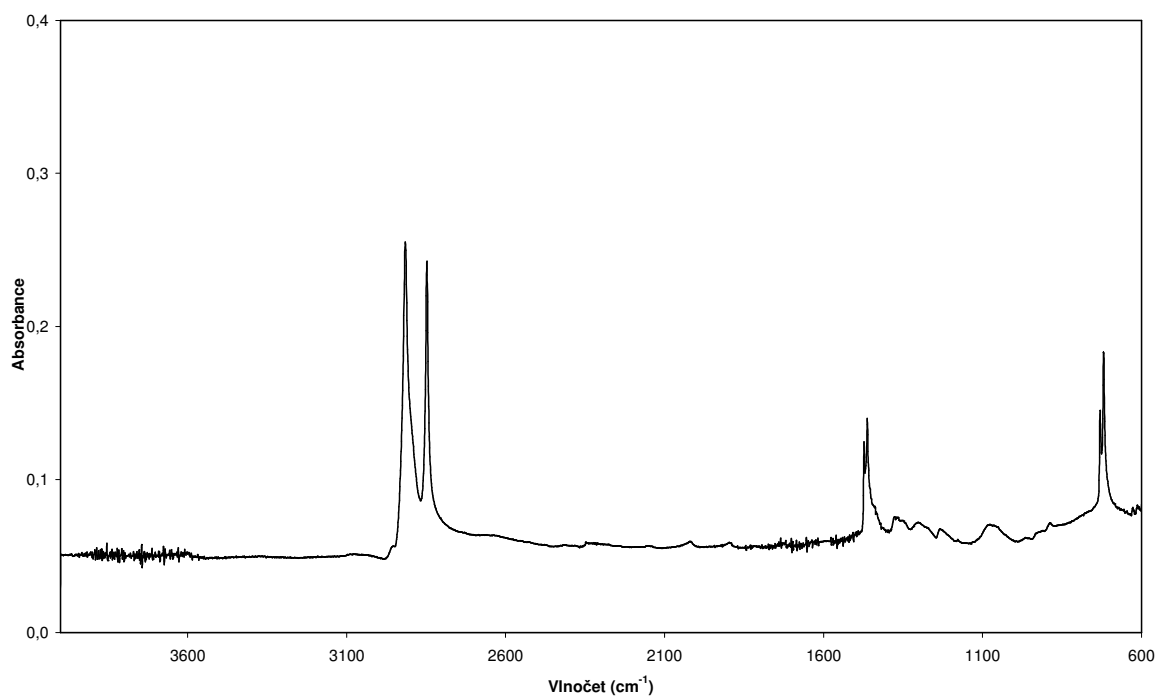
*Obr. 20. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení chlorhexidinu.*



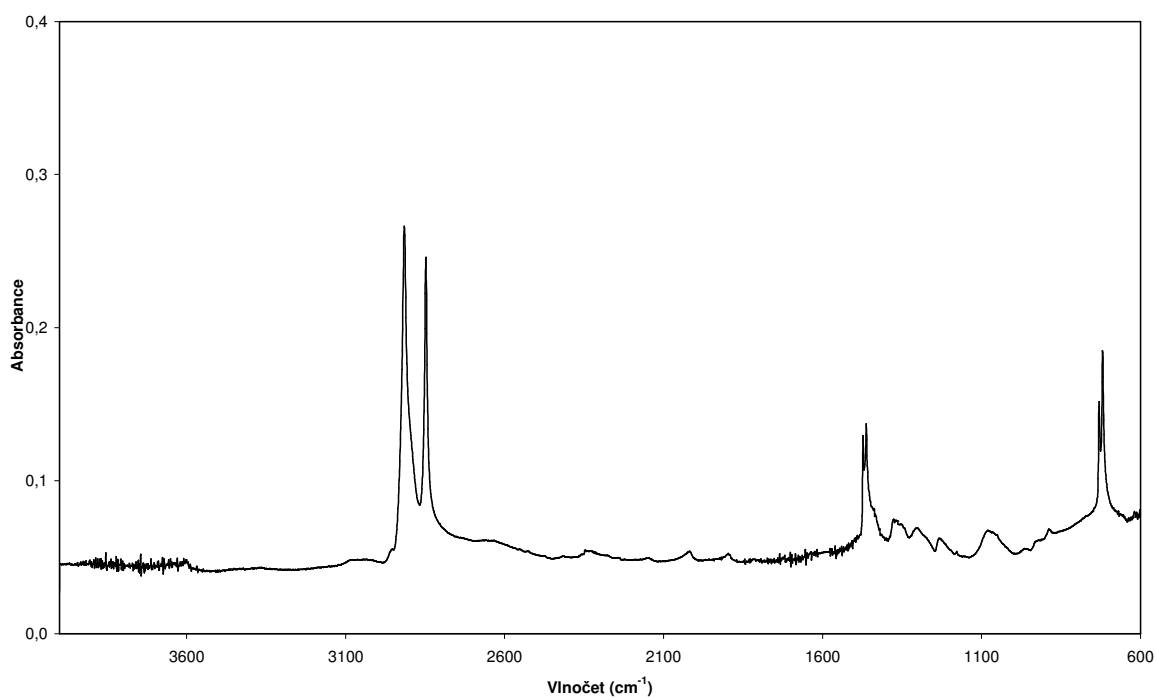
*Obr. 21. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení chlorhexidinu.*



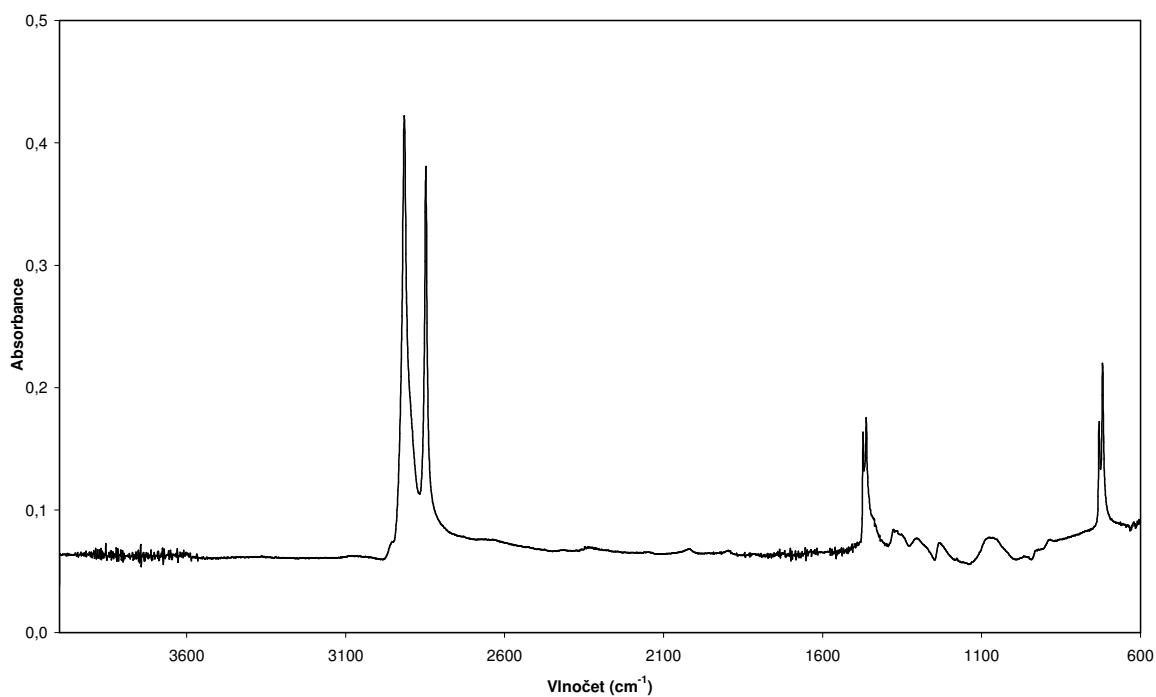
*Obr. 22. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylamínu po nanesení triclosanu.*



*Obr. 23. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylamínu po nanesení triclosanu.*



*Obr. 24. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení bronopolu.*



*Obr. 25. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení bronopolu.*

### 6.3.5 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS)

Měření rentgenové fotoelektronové spektroskopie probíhalo v laboratořích spolupracujícího pracoviště (Jožef Stefan Institut) ve Slovinsku, přičemž následná analýza a vyhodnocení spektra již bylo provedeno na UTB. Přístroj pro měření spekter byl použit TFA XPS od firmy Physical Electronic. Toto měření probíhá v ultravakuu o velikosti přibližně okolo  $10^{-8}$  Pa. Vzorky byly excitovány pomocí monochromatického rentgenového záření  $Al K_{\alpha 1,2}$  o energii 1486,6 eV. Detektor byl umístěn pod úhlem  $45^\circ$ .

V případě těchto měření lze s určitostí tvrdit, že získané výsledky jsou nejen kvalitativní, ale vzhledem k předemné metodě i plně kvantitativní a proto dávají reálný a nezkreslený výsledek v oblasti povrchové analýzy. Oproti FTIR je taktéž analyzovaná vrstva podstatně menší. V případě XPS se pohybuje v řádu jednotek až desítek nanometrů a proto je popis povrchových charakteristik nezkreslen vlivem signálu nemodifikované pod-povrchové vrstvy. Výsledky jsou po analýze spektra a z ní vypočítané plochy signálů přehledně zaneseny do tabulky, která je níže. V tabulkách není uvedeno množství vodíku, který sice ve vzorcích přítomen je, ale není detekovatelný. Proto se jeho množství neudává. Dá se však poměrně jednoduše dopočítat ze stechiometrických vzorků zkoumaných substrátů. V předemné věci to však není podstatné a navíc by to způsobovalo poměrně vysoké zatížení chybou měření. V tabulkách je uvedeno množství přítomných elementů v procentech a následně taktéž v poměrech vztažených na uhlík, což je obvyklé v literatuře a takto zpracované hodnoty mají vyšší vypovídající hodnotu.

Z výsledných hodnot vyplývá, že neopracovaný vzorek má podle předpokladů velmi výrazný podíl uhlíku v povrchové struktuře. Ve spektru však byl nalezen i signál odpovídající kyslíku, což zpravidla u syntetických polymerů znamená, že jsou do určitého stupně degradovány a taktéž jsou za jeho přítomnost odpovědné nečistoty. V případě plazmovaného PE dochází k výraznému nárůstu koncentrace kyslíku v povrchové struktuře, a to až na hodnotu téměř 12 %. To je způsobeno tím, že úpravou v nízkoteplotním radiofrekvenčním plazmatu dochází k inkorporaci skupin obsahujících kyslík. Mezi ně patří zejména karbonyly, karboxyly, hydroxyly, ethery apod. Ve spektru se taktéž objevil signál odpovídající přítomnosti funkčních skupin obsahujících dusík. Po dekonvoluci tohoto píku došlo ke zjištění, že dusík je v povrchové struktuře přítomen ve formě aminu. Úměrně tomu klesla povrchová koncentrace uhlíku. Po roubování alylamínu na povrch dochází k výraznému zvýšení hodnoty dusíku v povrchové struktuře. Zároveň při stejném obsahu uhlíku výrazně

pokleslo množství kyslíku. Toto je přímý důsledek toho, že se alylamin váže přes kyslíkové skupiny na povrchu, které v konečné fázi ve spektru zastíní. V případě vzorku s benzalkonium chloridem vidíme u vzorku, který byl před depozicí antibakteriální sloučeniny roubován alylaminem, mnohonásobně větší obsah dusíku a především chlóru. Tento výsledek jednoznačně potvrzuje důležitost přípravy alylaminového hřebene, který je zodpovědný za vytvoření mezimolekulových sil s molekulami antibakteriálního činidla. V podstatě totožného výsledku lze v případě přítomnosti chlóru vydedukovat podobný princip i u chlorhexidinu a triclosanu. V případě bronopolu lze tvrdit v podstatě totéž, kdy ve vzorku s naroubovaným alylaminem je koncentrace bromu přibližně 3 × vyšší.

Tab. 3. Procentuální zastoupení chemických prvků na testovaných površích.

vzorek	C1s %	O1s %	N1s %	Cl2p %	Br3d %
PE neopracovaný	98,6	1,4	-	-	-
PE plazmovaný	87,0	11,8	1,2	-	-
PE plazmovaný (AA)	87,9	8,1	3,8	-	-
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	86,6	11,8	1,3	0,3	-
PE plazmovaný + benzalkonium chl. (AA)	84,6	9,4	3,6	2,4	-
PE plazmovaný + chlorhexidin	86,8	11,9	1,1	0,2	-
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	84,4	7,2	6,3	2,1	-
PE plazmovaný + triclosan	86,8	11,3	1,4	0,5	-
PE plazmovaný + triclosan (AA)	84,5	12,1	0,8	2,6	-
PE plazmovaný + bronopol	87,1	11,6	1,1	-	0,2
PE plazmovaný + bronopol (AA)	86,9	9,7	2,8	-	0,6

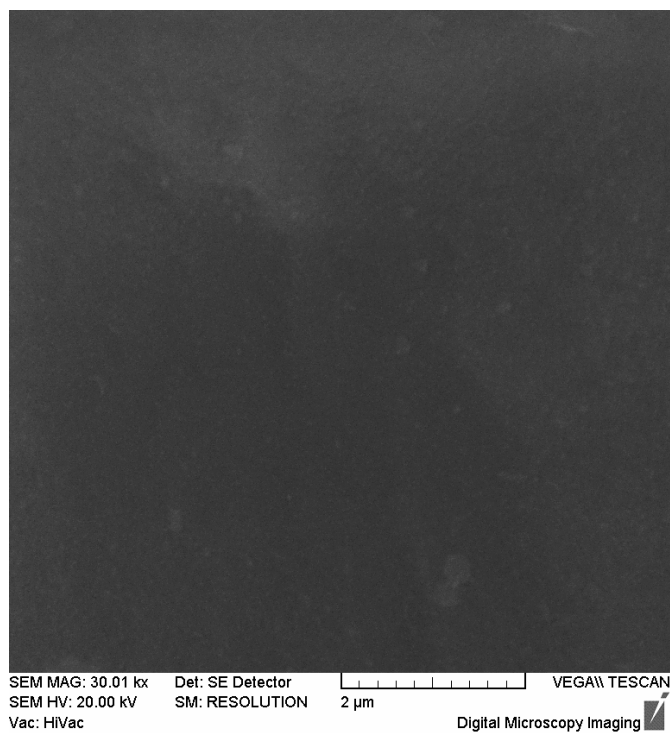
Tab. 4. Charakteristické poměry chemických prvků na povrchu měřených substrátů vztažené k množství uhlíku.

vzorek	O/C	N/C	Cl/C	Br/C
PE neopracovaný	0,0142	-	-	-
PE plazmovaný	0,1356	0,0138	-	-
PE plazmovaný (AA)	0,0922	0,0432	-	-
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	0,1363	0,0150	0,0035	-
PE plazmovaný + benzalkonium chl. (AA)	0,1111	0,0426	0,0284	-
PE plazmovaný + chlorhexidin	0,1371	0,0127	0,0023	-
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	0,0853	0,0746	0,0249	-
PE plazmovaný + triclosan	0,1302	0,0161	0,0058	-
PE plazmovaný + triclosan (AA)	0,1432	0,0095	0,0308	-
PE plazmovaný + bronopol	0,1332	0,0126	-	0,0023
PE plazmovaný + bronopol (AA)	0,1116	0,0322	-	0,0069

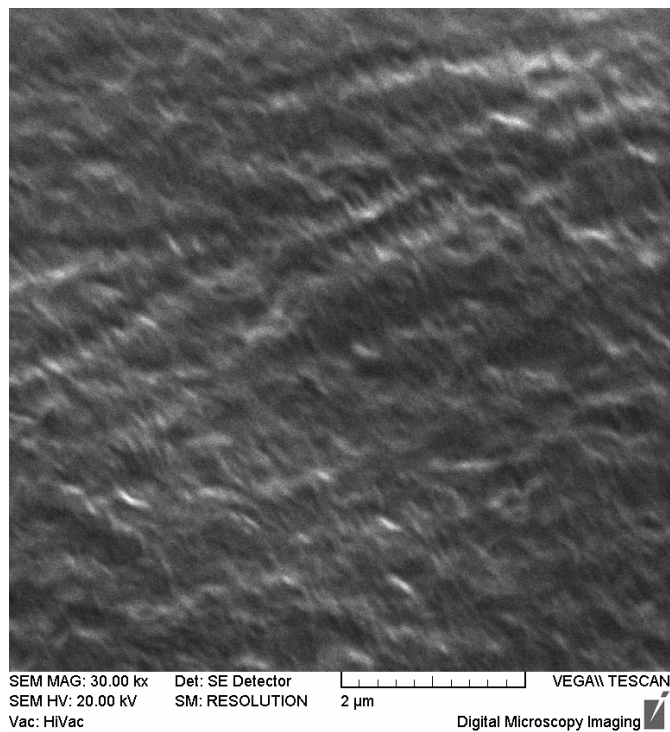
### 6.3.6 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Skenovací elektronová mikroskopie je jednou z nejzákladnějších metod pro popis povrchové morfologie pevných vzorků. Pro hodnocení povrchového reliéfu námi zkoumaných vzorků byl použit přístroj VEGA II LMU Tescan (Česká Republika). V případě našich měření bylo použito 30000 násobné zvětšení a vzorky byly nakloněny pro lepší pozorování pod úhlem 45°. Byly pořízeny snímky pro všechny vzorky, přičemž v této části práce jsou uvedeny výsledky pro chlorhexidin. Pořízené snímky jsou uvedeny níže.

Ze snímku neopracovaného LDPE je zřejmé, že jeho povrch vykazuje nízký stupeň povrchové morfologie. Jinými slovy jde o poměrně hladký povrch i při vysokém zvětšení. V případě vzorku, který byl modifikován nízkoteplotním plazmatem je možné změnu morfologie na pořízeném snímku nalézt. Tento vzorek vykazuje podstatně větší drsnost, která je dána především jakožto důsledek interakce s plazmatem. Tato interakce spočívá v tom, že povrch je bombardován nejrůznějšími částicemi, což má za následek i teplotní efekt na povrchové vrstvě, která přechází do kapalného skupenství a dochází k následné rekrystalizaci. Z dalšího snímku, jenž odpovídá vzorku, který byl opracován v plazmatu a následné reakci s alylaminem nelze jednoznačně tvrdit, že toto roubování má velký vliv na povrchovou morfologii. Z posledního snímku, který odpovídá vzorku, na který byla nanášena vrstva chlorhexidinu je patrné, že tato vrstva překrývá povrchový reliéf a drsnost povrchu se tím pádem vytrácí. Tyto provedené experimenty a z nich vyvozené závěry odpovídají popisu podobných substrátů, které byly dříve publikovány v dostupných zdrojích.

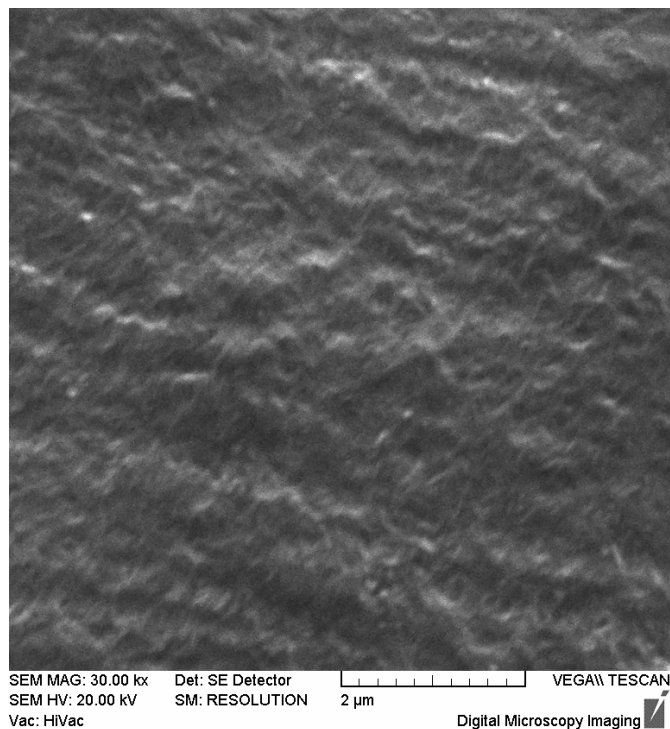


*Obr. 26. SEM snímek neopracovaného LDPE.*

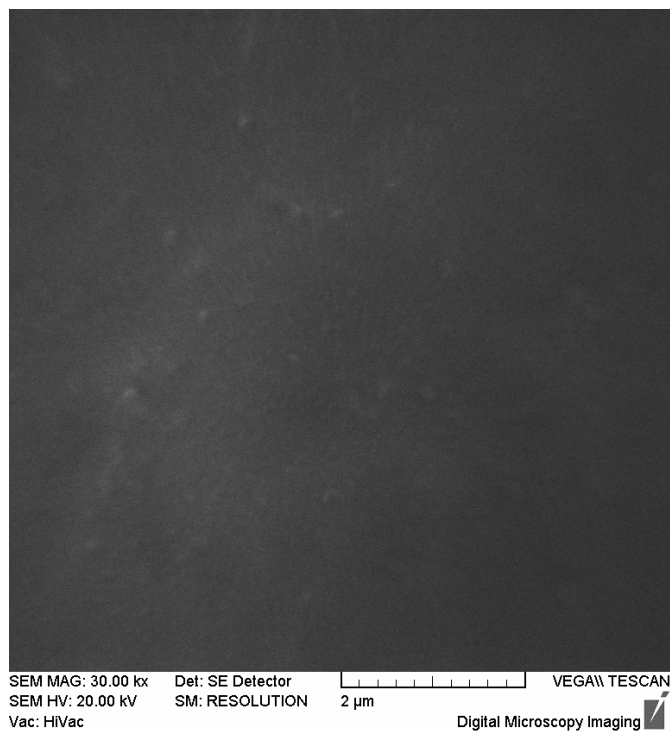


*Obr. 27. SEM snímek opracovaného LDPE  
v nízkoteplotním plazmatu.*





*Obr. 28. SEM snímek opracovaného LDPE v nízkoteplotním plazmatu po reakci s AA.*



*Obr. 29. SEM snímek opracovaného LDPE po reakci s AA a nanesení chlorhexidinu.*

### 6.3.7 Antibakteriální testy

Antibakteriální účinnost vzorků vůči bakteriím *Staphylococcus aureus*, *Escherchia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* byla určena testem měření inhibičních (difúzních) zón na agaru. Vzorky, které měly průměr 8 mm byly dány do živného agaru (Nutrient agar No.2 M1269 – 500 g od HiMedia Laboratories PII. Ltc.) a naočkovány danými bakteriemi.

Fyziologický roztok (8,5 g NaCl/1l) se připravil do baněk s víčkem a nechal se sterilovat 3 h v autoklávu. Kolonie bakterií, které již byly připraveny (kmeny *Escherchia coli* CCM 4517, *Staphylococcus aureus* CCM 4516 a *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961) se za použití očkovací kličky naočkovaly do zkumavky s 10 ml fyziologického roztoku. Dvě kličky  $\approx 1 \cdot 10^8$  bakterií. A následně se roztok rozmíchal na třepačce. Nutrient agar byl připraven dle návodu na obalu, tj. 6 g agaru/150ml bylo rozpuštěno v destilované vodě a dal se na 3 h do autoklávu sterilovat. Po této době se nalil na dno Petriho misek. Po zaschnutí agaru se začaly očkovat bakterie. Mikropipetou bylo na půdu naneseno množství 100  $\mu$ l bakteriálního roztoku, které se rozetřelo pomocí tyčinky. Po zaschnutí byly pokládány vzorky s antibakteriálními činidly. Po 24 hod inkubaci při 37 °C byl měřen průměr inhibiční zóny v 5 směrech a následně udělána průměrná hodnota. Pro jednotlivé vzorky a pro každou bakterii byly zvoleny 3 opakování.

Výsledky měření inhibičních zón jsou přehledně uvedeny v následujících tabulkách. V tabulce č. 5 je uveden u příslušných vzorků průměr inhibiční zóny. Vzorek měl průměr 8 mm a proto u vzorků, které nevykazovaly inhibiční zónu, byla ponechána tato hodnota, poněvadž nelze s určitostí tvrdit jak velká zóna ve skutečnosti je. V tabulce č. 6 je již uvedena plocha inhibiční zóny, která je vypočtena jako plocha celkové inhibiční zóny, od níž je odečtena plocha vzorku. Toto vyjádření odpovídá zápisu v odborné literatuře, které v této oblasti mnohdy není příliš jednotné.

Z uvedených výsledků vyplývá, že neopracovaný PE vzorek, stejně tak jako plazmovaný a to i po roubování alylaminem, nevykazuje podle předpokladu žádné antibakteriální schopnosti. V případě bakterie *Escherchia coli* taktéž nelze pozorovat antibakteriální efekt pro vzorky s vrstvou benzalkonium chloridu a bronopolu. V případě vzorku chlorhexidinu dochází k antibakteriálnímu efektu pouze u vzorku, který obsahoval hřeben alylaminu. Toto je přímým důkazem toho, že roubování alylaminu má pro přípravu antibakteriálních vrstev vysokou důležitost, a že v substrátu kde alylamin nebyl použit nemá chlorhexidin anti-

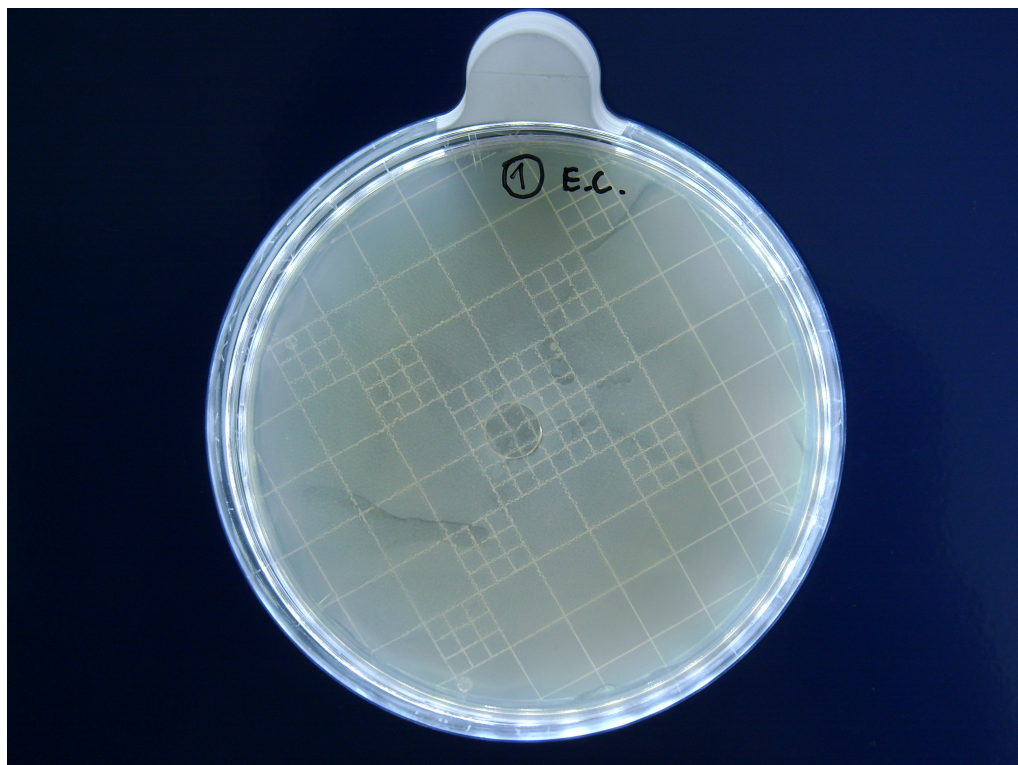
bakteriální účinnost. Na povrch totiž v podstatě není nanesen, a pokud nanesen je, pak není vázán mezimolekulovými silami. Proto není schopen volně difundovat do okolí, čímž může splňovat antibakteriální požadavky na něj kladené. V případě triclosanu dochází k účinnosti i ve vzorku bez roubovaného alylaminu. Ve srovnání se vzorkem obsahujícím alylaminový hřeben je však jeho účinnost podstatně nižší. V případě kmene *Staphylococcus aureus* je situace obdobná. Pro benzalkonium chlorid, chlorhexidin, a taktéž triclosan. Povrchy s naneseným bronopolem nebyly ani zde účinné. V případě kmene *Pseudomonas aeruginosa* nebyla shledána antibakteriální účinnost ani na jednom substrátu. Názorné fotografie vzorků po provedeném testování s a bez inhibiční zóny jsou uvedeny níže.

Tab. 5. Průměry inhibičních zón u sledovaných mikroorganismů.

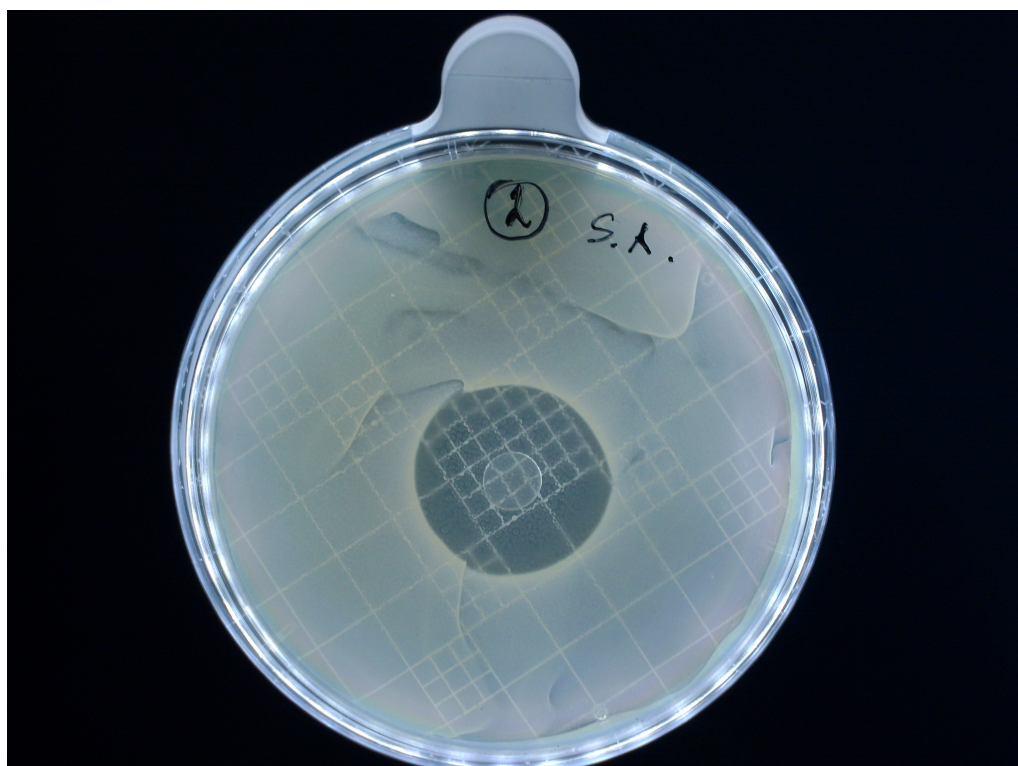
	průměr inhibiční zóny (mm)		
	1.	2.	3.
<b>ESCHERCHIA COLI</b>			
PE neopracovaný	8	8	8
PE plazmovaný	8	8	8
PE plazmovaný (AA)	8	8	8
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	8	8	8
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid (AA)	8	8	8
PE plazmovaný + chlorhexidin	8	8	8
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	11	12	11
PE plazmovaný + triclosan	11	12	12
PE plazmovaný + triclosan (AA)	14	16	15
PE plazmovaný + bronopol	8	8	8
PE plazmovaný + bronopol (AA)	8	8	8
<b>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</b>			
PE neopracovaný	8	8	8
PE plazmovaný	8	8	8
PE plazmovaný (AA)	8	8	8
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	13	11	11
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid (AA)	16	15	16
PE plazmovaný + chlorhexidin	17	14	16
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	22	23	24
PE plazmovaný + triclosan	12	13	13
PE plazmovaný + triclosan (AA)	27	26	26
PE plazmovaný + bronopol	8	8	8
PE plazmovaný + bronopol (AA)	8	8	8

Tab. 6. Vypočtené hodnoty z inhibičních zón u sledovaných mikroorganismů.

	plocha inhibiční zóny (mm <sup>2</sup> )			aritm. průměr (mm <sup>2</sup> )	sm. odchylka
	1.	2.	3.		
<b>ESCHERCHIA COLI</b>					
PE neopracovaný	0	0	0	0	0
PE plazmovaný	0	0	0	0	0
PE plazmovaný (AA)	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid (AA)	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + chlorhexidin	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	44,7	62,8	44,7	50,8	10,4
PE plazmovaný + triclosan	44,7	62,8	62,8	56,8	10,4
PE plazmovaný + triclosan (AA)	103,6	150,7	126,4	126,9	23,6
PE plazmovaný + bronopol	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + bronopol (AA)	0	0	0	0	0
<b>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</b>					
PE neopracovaný	0	0	0	0	0
PE plazmovaný	0	0	0	0	0
PE plazmovaný (AA)	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid	82,4	44,7	44,7	57,3	21,8
PE plazmovaný + benzalkonium chlorid (AA)	150,7	126,4	150,7	142,6	14,0
PE plazmovaný + chlorhexidin	176,6	103,6	150,7	143,7	37,0
PE plazmovaný + chlorhexidin (AA)	329,7	365,0	401,9	365,5	36,1
PE plazmovaný + triclosan	62,8	82,4	82,4	75,9	11,3
PE plazmovaný + triclosan (AA)	522,0	480,4	480,4	494,3	24,0
PE plazmovaný + bronopol	0	0	0	0	0
PE plazmovaný + bronopol (AA)	0	0	0	0	0



Obr. 30. Vzorek *Escherichia coli* bez inhibiční zóny.



Obr. 31. Vzorek *Staphylococcus aureus* s inhibiční zónou.

## ZÁVĚR

V této diplomové práci byl připraven materiál s antibakteriálními schopnostmi pro aplikaci v potravinářském průmyslu na bázi LDPE. LDPE byl definovaným způsobem zbaven nečistot a podroben povrchové úpravě pomocí nízkoteplotního plazmatu, kde došlo k tvorbě reaktivních center pro následnou reakci s molekulami alylaminu za účelem roubování řetězce na povrch s koncovými aminovými skupinami. Takto připravený povrch vykazoval schopnosti vázat antibakteriální činidla pomocí mezimolekulových sil, což je základní požadavek pro postupné uvolňování antibakteriálního činidla do okolí a tím i jeho aktivity. V průběhu celého procesu byly charakteristiky vzorků průběžně monitorovány pomocí pokrokových analytických metod pro zevrubný popis kinetiky tohoto procesu.

Z výsledných hodnot povrchové energie vyplývá, že vzorek opracovaný v nízkoteplotním plazmatu vykazuje značný nárůst celkové složky povrchové energie. V případě oplazmovaného vzorku po roubování alylaminem dochází k mírnému poklesu celkové složky povrchové energie. Další měřené substráty byly vzorky PE po plazmatické úpravě s naneseným benzalkonium chloridem s a bez předchozího roubování alylaminu. Z naměřených výsledků je zřejmé, že vyšší celkovou povrchovou energii, potažmo její polární složku, má vzorek, u něhož proběhlo roubování alylaminu. V případě dalších antibakteriálních činidel již k tak značným rozdílům nedochází.

Infračervenou spektroskopií byly popsány předmětné vzorky a interpretovány příslušné signály. Tyto signály vykazovaly poměrně nízké intenzity, a proto výsledné hodnoty byly předmětem srovnání s rentgenovou fotoelektronovou spektroskopií.

Z výsledných hodnot rentgenové fotoelektronové spektroskopie vyplývá, že neopracovaný vzorek má podle předpokladů velmi výrazný podíl uhlíku v povrchové struktuře. V případě plazmovaného PE dochází k výraznému nárůstu koncentrace kyslíku v povrchové struktuře, a to až na hodnotu téměř 12 %. Po roubování alylaminu na povrch dochází k výraznému zvýšení hodnoty dusíku v povrchové struktuře. Zároveň při stejném obsahu uhlíku výrazně pokleslo množství kyslíku. V případě vzorku s benzalkonium chloridem vidíme u vzorku, který byl před depozicí antibakteriální sloučeniny roubován alylaminem, mnohonásobně větší obsah dusíku a především chlóru. V podstatě totožného výsledku lze v případě přítomnosti chlóru vydedukovat podobný princip i u chlorhexidinu a triclosanu. V případě

bronopolu lze tvrdit v podstatě totéž, kdy ve vzorku s naroubovaným alylaminem je koncentrace bromu přibližně  $3 \times$  vyšší.

Ze SEM snímku neopracovaného LDPE je zřejmé, že jeho povrch vykazuje nízký stupeň povrchové morfologie. V případě vzorku, který byl modifikován nízkoteplotním plazmatem je možné změnu morfologie na pořízeném snímku nalézt. Ze snímku, jenž odpovídá vzorku, který byl opracován v plazmatu a následné reakci s alylaminem, nelze jednoznačně tvrdit, že toto roubování má velký vliv na povrchovou morfologii. Ze snímku, který odpovídá vzorku, na který byla nanášena vrstva chlorhexidinu je patrné, že tato vrstva překrývá povrchový reliéf a drsnost povrchu se tím pádem vytrácí.

Z uvedených výsledků vyplývá, že neopracovaný PE vzorek, stejně tak jako plazmovaný, a to i po roubování alylaminem, nevykazuje podle předpokladu žádné antibakteriální schopnosti. V případě bakterie *Escherchia coli* taktéž nelze pozorovat antibakteriální efekt pro vzorky s vrstvou benzalkonium chloridu a bronopolu. V případě vzorku chlorhexidinu dochází k antibakteriálnímu efektu pouze u vzorku, který obsahoval hřeben alylaminu. V případě triclosanu dochází k účinnosti i ve vzorku bez roubovaného alylaminu. Ve srovnání se vzorkem obsahujícím alylaminový hřeben je však jeho účinnost podstatně nižší. V případě kmene *Staphylococcus aureus* je situace obdobná. Pro benzalkonium chlorid, chlorhexidin, a taktéž triclosan. Povrchy s nanášeným bronopolem nebyly ani zde účinné. V případě kmene *Pseudomonas aeruginosa* nebyla sledována antibakteriální účinnost ani na jednom substrátu.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] *Novinky v oblasti balení potravin* [online]. [cit. 2010-02-23]. Dostupné z: <<http://www.eufic.org/article/cs/artid/oblasti-baleni-potravin/>>
- [2] ČURDA, D. Co dovedou obaly. *Výživa a potraviny*. 2007. č. 2. ISSN: 1211-846X.
- [3] RYANT, B. a kolektiv. *Moderní obalová technika*. 1. vydání. Praha: SNTL, 1971. 284 s.
- [4] ŠTĚPEK, J. a kolektiv. *Polymery v obalové technice*. 1. vydání. Praha: SNTL, 1981. 532 s.
- [5] MATUŠKOVÁ, Z. Balení potravin, legislativa: Obaly potravin pod mikroskopem. *Svět balení*. 2009, č. 2. s. 28-29. ISSN: 1212-7809.
- [6] *Inteligentní a aktivní obaly* [online]. [cit. 2010-02-23]. Dostupné z: <<http://www.abcgastro.cz/ArticleDetail.asp?nBranchID=371&nArtID=341&nPage=1>>
- [7] DOBIÁŠ, J. Balení potravin, technologie: Aktivní obaly do praxe nespěchají. *Svět balení*. 2008, č. 1. ISSN: 1212-7809.
- [8] NÁPRAVNÍKOVÁ, E. Balení potravin – Nové technologie balení potravin. *Svět balení*. 2007, č. 2. s. 18-19. ISSN: 1212-7809.
- [9] DOBIÁŠ, J.; ČURDA, D. *Balení potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2004. 236 s.
- [10] HAN, J., H.; HO, C., H., L.; RODRIGUES, E., T. Intelligent packaging. *Innovations in Food Packaging*. London: Academic Press, 2005. Pages 138-155. ISBN: 0-12-311632-5.
- [11] KERRY, J., P.; O'GRADY, M., N.; HOGAN, S., A. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*. 2006, Volume 74, Issue 1. Pages 113-130.
- [12] Aktivní balení podruhé, aneb k čemu jsou dobré indikátory. *Packaging*. 2004, roč. 8, č. 1. s. 10-11. ISSN: 1211-9202.
- [13] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologické zkoumání potravin*. 1. vyd. Praha: VŠCHT v Čs. redakci VN MON, 1987. 104 s.



- [14] *Miniatlas mikroorganismů* [online]. [cit. 2010-04-19]. Dostupné z: <<http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm>>
- [15] PATOČKA, F. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1970. 900 s.
- [16] *Staphylococcus aureus*. Dostupné z: <<http://www.hemcon.com/Portals/1/MRSA%20web%20image.JPG>>
- [17] *Potravinářská mikrobiologie I – Mikroorganismy v potravinářství, distanční text*. Cepac Morava, 2007. 107 s.
- [18] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře*. 3. vyd. Praha: SNTL, 1983. 363 s.
- [19] MOTARJEMI, Y.; ADAMS, M. *Emerging Foodborne Pathogens*. Woodhead Publishing, 2006. No. Pages 634. ISBN: 978-1-85573-963-5.
- [20] *Escherchia coli*. [online]. [cit. 2010-03-17]. Dostupné z: <<http://knol.google.com/k/-/-/3474z7yug2xwi/y9u14o/ecoli1.jpg>>
- [21] SCHINDLER, J. *Mikrobiologie: Pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a. s., 2010. 224 s. ISBN: 978-80-247-3170-4.
- [22] JIČÍNSKÁ, E.; HAVLOVÁ, J. Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích. Praha, 1995. ISBN: 80-85120-47-X.
- [23] ROBINSON, RICHARD, K. *Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3*. Elsevier, 2000. No. Pages 2405. ISBN: 978-0-12-227070-3.
- [24] *Pseudomonas aeruginosa*. [online]. [cit. 2010-04-10]. Dostupné z: <[http://www.earth-cards.com/pseudomonas\\_bacteria.jpg](http://www.earth-cards.com/pseudomonas_bacteria.jpg)>
- [25] BRAUN, D., B. ROSEN, M., R. *Rheology modifiers Handbook – Practical Use and Application*. William Andrew Publishing, 2000. No. Pages 505. ISBN: 978-0-8155-1441-1.
- [26] MLEZIVA, J., ŠŇUPÁREK, J. *Polymery: Výroba, struktura, vlastnosti a použití*. 2. vyd. Praha: Sobotáles, 2000. 544 s. ISBN: 80-85920-72-7.
- [27] Polymery a kopolymery ethyleny v obalové technice. *Packaging*. 2006, roč. 10, č. 1. s. 10-12. ISSN 1211-9202.

- [28] ZÁMORSKÝ, Z. *Nauka o polymerech II*. 2. vyd. Praha: SNTL, 1985. 126 s.
- [29] LIU, Y.; SONG, Q.; WANG, L. Development and characterization of an amperometric sensor for triclosan detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. *Microchemical Journal*. 2009, Volume 91, Issue 2. Pages 222-226.
- [30] *Triclosan* [online]. [cit. 2010-04-13]. Dostupné z: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Triclosan>>
- [31] PAULSON, D., S. *Topical Antimicrobial Testing and Evaluation*. USA: 1999. No. Pages 213. ISBN: 0-8247-1957-3.
- [32] LORIAN, V. *Antibiotics in laboratory medicine*. 5. edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. No. Pages 889. ISBN: 0-7817-4983-2.
- [33] *Benzalkoniumchlorid* [online]. [cit. 2010-04-13]. Dostupné z: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Benzalkoniumchlorid>>
- [34] LEWIS, R. J. Sr. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials (11th Edition) Volumes 1-3*. John Wiley & Sons, 2004. No. Pages 4770. ISBN: 978-0-471-47662-7.
- [35] GANGOLLI, S. *Dictionary of Substances and Their Effects (DOSE, 3rd Electronic Edition)*. Royal Society of Chemistry, 2005. No. Pages 6386. ISBN: 978-1-59124-667-1.
- [36] BERNSTEIN, I., L. Is the use of benzalkonium chloride as a preservative for nasal formulations a safety concern? A cautionary note based on compromised mucociliary transport. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2000, Volume 105, Issue 1. Pages 39-44.
- [37] SANYAL, A., K.; BASU, M.; BENERJEE, A., B. Rapid ultraviolet spectrophotometric determination of bronopol: application to raw material analysis and kinetic studies of bronopol degradation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1996, Volume 14, Issue 11. Pages 1447-1453.
- [38] *Bronopol* [online]. [cit. 2010-04-13]. Dostupné z: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Bronopol>>

- [39] *Chlorhexidin* [online]. [cit. 2010-04-13]. Dostupné z: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Chlorhexidin>>
- [40] McCLURE, E., M., et al. and for the CHX Working Group. The use of chlorhexidine to reduce maternal and neonatal mortality and morbidity in low-resource settings. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2007, Volume 97, Issue 2. Pages 89-94.
- [41] RIBEIRO, L., G., M.; HASHIZUME, L., N.; MALTZ, M. The effect of different formulations of chlorhexidine in reducing levels of mutans streptococci in the oral cavity: A systematic review of the literature. *Journal of Dentistry*. 2007, Volume 35, Issue 5. Pages 359-370.
- [42] BURŠÍKOVÁ, V. et al. *Surface Energy Evaluation of Plasma Treated Materials by Contact Angle Measurement*. 1. edition. Brno: Masaryk University, 2004. 72 s. ISBN: 80-210-3563-3
- [43] BARTKOVÁ, H., KLUSOŇ, P. *Laboratoř oboru* [online]. [cit. 2010-04-30]. Dostupné z: <<http://www.vscht.cz/kot/resources/studijni-materialy/labchcht-001/n150013-b6.pdf>>
- [44] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. Ver. 1.0. Praha: VŠCHT, 2005 [cit. 2010-04-30]. Dostupné z: <[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/motor/main.obsah.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/motor/main.obsah.html)>
- [45] PROSR, P. aj. FT-IR spektroskopie rozkladových plynů izolačních kapalin. In MENTLÍK, V. *Diagnostika '07. Mezinárodní konference pořádaná oddělením elektrotechnologie, Katedry technologií a měření Fakulty elektrotechnické, Západočeské univerzity v Plzni. Nečtiny 11. – 13. 9. 2007*. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, 2007. ISBN: 978-80-7043-557-1.
- [46] KANIA, P. *Infračervená spektrometrie* [online]. [cit. 2010-05-01]. Dostupné z: <[http://www.vscht.cz/anl/lach1/7\\_IC.pdf](http://www.vscht.cz/anl/lach1/7_IC.pdf)>
- [47] *Laboratoř molekulové spektroskopie* [online]. Praha: VŠCHT [cit. 2010-05-01]. Dostupné z: <<http://lms.vscht.cz/>>
- [48] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 1. vyd. Ostrava: nakladatelství Pavel Klouda, 1996. 204 s. ISBN: 80-902155-0-5.

- [49] BASTL, Z. Charakterizace povrchů metodou elektronové spektroskopie pro chemickou analýzu (ESCA). In ECKERTO VÁ, L. *Metody analýzy povrchů: elektronová spektroskopie*. 1. vyd. Praha: Academia, 1990. s. 125-144. ISBN: 80-200-0261-8.
- [50] BASTL, Z. Photoelectron Spectroscopy in Third Millenium. *Chem. Listy*. 2009, Volume 103, Issue 5. Pages 373-380. ISSN: 1213-7103.
- [51] KAVAN, L. *Metody elektronové spektroskopie*. 1. vyd. Praha: Academia, 1986. 144 s.
- [52] KUDRNOVÁ, M. aj. Metoda XPS pro výzkum nanomateriálů. *NANOCON. Sborník přednášek z 1. ročníku konference s mezinárodní účastí 20. - 22. 10. 2009, Hotel RELAX, Rožnov pod Radhoštěm*. [online]. [cit. 2010-04-23]. Dostupné z: <<http://www.nanocon.cz/data/nanocon2009/sbornik/Lists/Papers/134.pdf>>
- [53] LUKÁŠ, J. Použití fotoelektronové spektroskopie XPS pro studium povrchu polymerů. In ECKERTO VÁ, L. *Metody analýzy povrchů: elektronová spektroskopie*. 1. vyd. Praha: Academia, 1990. s. 145-168. ISBN: 80-200-0261-8.
- [54] KOVAČIČ, V., MILITKÝ, J., RUBNEROVÁ, J. *Rastrovací elektronový mikroskop jako prostředek moderní výuky v oboru textilním* [online]. [cit. 2010-04-22]. Dostupné z: <<http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/?q=cs/rem>>
- [55] NEBESÁŘOVÁ, J. *Elektronová mikroskopie pro biology* [online]. 2001 [cit. 2010-04-30]. Dostupné z: <<http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/7.0.html>>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

UV záření	Ultrafialové záření.
RFID	Radiofrekvenční identifikace.
HCCP	Analýza rizik a tvorba kritických kontrolních bodů.
TI	Indikátory teploty.
TTI	Indikátory celkového tepelného účinku.
LT	Termolabilní.
ST	Termostabilní.
G <sup>+</sup>	Grampozitivní.
G <sup>-</sup>	Gramnegativní.
ETEC	Enterotoxická <i>Escherchia coli</i> .
EPEC	Enteropatogenní <i>Escherchia coli</i> .
EIEC	Enteroinvazivní <i>Escherchia coli</i> .
EAEC	Enteroadherentní <i>Escherchia coli</i> .
EHEC	Enterohemoragická <i>Escherchia coli</i> .
PE	Polyetylén.
LDPE	Rozvětvený nízkohustotní polyetylén.
HDPE	Lineární vysokohustotní polyetylén.
LLDPE	Lineární nízkohustotní polyetylén.
ENR	Bakteriální reduktázu nosiče enoyl-acyl bílkoviny.
NAD <sup>+</sup>	Nikotin amid adenin dinukleotid.
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí.
ADBAC	Alkyldimethylbenzylamoniumchlorid.
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací.
XPS	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie.

SEM	Skenovací elektronová mikroskopie.
OWRK	Owens-Wendt-Raeble-Kaeble teorie stanovení volné povrchové energie.
$\theta$	Úhel smáčení.
$\gamma_l$	Povrchová energie kapaliny.
$\gamma_s$	Povrchová energie tuhé látky.
$\gamma_{sl}$	Povrchová energie tuhá látka - kapalina.
$\gamma^{\text{tot}}$	Celková povrchová energie.
$\gamma^{\text{LW}}$	Disperzní složka povrchové energie.
$\gamma^{\text{AB}}$	Polární složka povrchové energie.
$\gamma^+$	Akceptorová část disperzní složky.
$\gamma^-$	Donorová část disperzní složky.
IČ	Infračervená (spektroskopie).
$\nu$	Vlnočet.
$\lambda$	Vlnová délka.
NIR	Blízká infračervená oblast.
MIR	Střední infračervená oblast.
FIR	Vzdálená infračervená oblast.
ESCA	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie.
RTG	Rentgenové (záření).
SEE system	Surface energy evaluation systém.
Al $K_\alpha$	Linie monochromatického rentgenového záření.
Mg $K_\alpha$	Linie monochromatického rentgenového záření.
AA	Alylamin.
ATR	Metoda zeslabení úplného odrazu.
CCM	Kontrolní kmeny mikroorganismů.

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. <i>Staphylococcus aureus</i> [16]. .....	19
Obr. 2. <i>Escherchia coli</i> [20]. .....	20
Obr. 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [24]. .....	22
Obr. 4. LDPE [27]. .....	25
Obr. 5. HDPE [27]. .....	25
Obr. 6. Triclosan. ....	27
Obr. 7. Benzalkonium chlorid. ....	28
Obr. 8. Bronopol. ....	29
Obr. 9. Chlorhexidin. ....	30
Obr. 10. Určování kontaktních úhlů [43]. ....	33
Obr. 11. Elektromagnetické spektrum [46]. ....	35
Obr. 12. Schéma infračerveného spektrometru s Fourierovou transformací AVATAR 320 [46]. ....	37
Obr. 13. Schéma postupu přípravy vzorků nanesením antibakteriálního činidla na povrch LDPE. ....	41
Obr. 14. Schéma reaktoru s radiofrekvenčním (kapacitně buzeným) výbojem. ....	43
Obr. 15. FTIR (ATR) spektrum neoplazmovaného LDPE. ....	47
Obr. 16. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE. ....	48
Obr. 17. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu. ....	48
Obr. 18. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení benzalkonium chloridu. ....	49
Obr. 19. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení benzalkonium chloridu. ....	49

Obr. 20. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení chlorhexidinu. ....	50
Obr. 21. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení chlorhexidinu. ....	50
Obr. 22. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení triclosanu. ....	51
Obr. 23. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení triclosanu. ....	51
Obr. 24. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE bez funkcionalizace pomocí alylaminu po nanesení bronopolu. ....	52
Obr. 25. FTIR (ATR) spektrum oplazmovaného LDPE po následné funkcionalizaci pomocí alylaminu po nanesení bronopolu. ....	52
Obr. 26. SEM snímek neopracovaného LDPE. ....	56
Obr. 27. SEM snímek opracovaného LDPE v nízkoteplotním plazmatu. ....	56
Obr. 28. SEM snímek opracovaného LDPE v nízkoteplotním plazmatu po reakci s AA. ...	57
Obr. 29. SEM snímek opracovaného LDPE po reakci s AA a nanesení chlorhexidinu. ....	57
Obr. 30. Vzorek <i>Escherchia coli</i> bez inhibiční zóny. ....	61
Obr. 31. Vzorek <i>Staphylococcus aureus</i> s inhibiční zónou. ....	61



**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Srovnání některých typických vlastností základních druhů polyetylénů [26]. .....	26
Tab. 2. Povrchové napětí a jeho složky měřených vzorků. ....	45
Tab. 3. Procentuální zastoupení chemických prvků na testovaných površích. ....	54
Tab. 4. Charakteristické poměry chemických prvků na povrchu měřených substrátů vztažené k množství uhlíku. ....	54
Tab. 5. Průměry inhibičních zón u sledovaných mikroorganismů. ....	59
Tab. 6. Vypočtené hodnoty z inhibičních zón u sledovaných mikroorganismů. ....	60