

Příprava a charakterizace antibakteriálních obalových materiálů

Ing. Ludmila Zálešáková

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Ing. Ludmila Zálešáková
Osobní číslo: T11704
Studijní program: N2808 Chemie a technologie materiálů
Studijní obor: Inženýrství polymerů
Forma studia: kombinovaná

Téma práce: Příprava a charakterizace antibakteriálních obalových materiálů

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část Zpracujte rešerši na zadané téma. Citujte použitou literaturu dle požadavků na vypracování diplomové práce.

II. Praktická část V experimentální části popište použité metody charakterizace a metodické postupy. Provedte povrchovou úpravu obalových materiálů a následné navázání antibakteriálních látek. Porovnejte antibakteriální vlastnosti připravených obalových materiálů. Výsledky vyhodnoďte a formulujte závěry.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] Bílek, F., Sulovská, K., Lehocký, M., Sába, P., Humpolíček, P., Mozetič, M., Junkar, I., Preparation of active antibacterial LDPE surface through multistep physicochemical approach II: Graf type effect on antibacterial properties, *Colloids and Surfaces B: Bionterfaces*
- [2] Bílek, F., Křížová, T., Lehocký, M., Preparation of active antibacterial LDPE surface through multistep physicochemical approach I: Allylamine grafting, attachment of antibacterial agent and antibacterial activity assessment, *Colloids and Surfaces B: Bionterfaces* 88, (2011), 440–447
- [3] Asadinezhad, A., Novák I., Lehocký, M., Sedlařík, V., Vesel, A., Junkar, I., Sába, P. and Chodák, I.: A Physicochemical Approach to Render Antibacterial Surfaces on Plasma-Treated Medical-Grade PVC: Irgasan Coating, *Plasma Processes and Polymers*, 7 (2010)
- [4] Asadinezhad A., Novák I., Lehocký M., Sedlařík V., Vesel A., Junkar I., Sába P. and Chodák I.: An in vitro Bacterial Adhesion Assessment of Surface-Modified Medical-Grade PVC, *Colloids and Surfaces B: Bionterfaces*, 77 (2010)

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
Institut zdravotnických studií

Datum zadání diplomové práce:

11. února 2013

Termín odevzdání diplomové práce:

17. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




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

Ve Zlíně . 17.5.2013

.....

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

(1) Vysoká škola 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.

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

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

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní 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 užití 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 byla zaměřena na přípravu a následnou charakterizaci aktivních povrchových materiálů s fyzikálně vázanými antibiotiky Norfloxacin a Ciprofloxacin, které mají podobnou molekulární strukturu. To bylo dosaženo pomocí víceúrovňového fyzikálně-chemického postupu. Nejprve byl vzorek polyethylenu očištěn a vystaven účinkům plazmové úpravy. Následně byl na reaktivní centra roubován allylamin za účelem přípravy polyallylaminového hřebene, který je způsobilý vázat vybrané antibakteriální činidla. Takto připravené povrchy byly charakterizovány pomocí dostupných metod, tak jako byla testována jejich antibakteriální účinnost.

Klíčová slova:

antibakteriální vlastnosti, povrchová reakce, polyethylen, aktivní povrch

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on preparation and later characterization of active surface materials with physically bonded antibiotics Norfloxacin and Ciprofloxacin which have a similar molecular structure. This was achieved via multistep physico-chemical approach. First, the polyethylene sample was washed and subjected to the plasma treatment. Consequently, allylamine was grafted to reactive surface sites in order to create a polyallylamine brush, which is capable to bond selected antibacterial agents. Such prepared surfaces were characterized by available methods as well as by antibacterial tests.

Keywords:

antibacterial properties, surface reaction, polyethylene, active surface

Děkuji vedoucímu své diplomové práce, doc. Ing. Mariánu Lehockému, Ph.D., za odborné vedení, velkou trpělivost, podnětné připomínky a cenné rady, které mi poskytl při zpracování mé práce.

Dále bych ráda poděkovala všem pracovníkům z Centra polymerních materiálů, kteří jakýmkoliv způsobem pomohli při vzniku praktické části.

Na tomto místě bych ráda poděkovala spolupracovníkům z Ústavu technologie potravin na budově U3 zejména Ing. Gabriele Nagyové za velkou pomoc při závěrečné kompletaci této práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 OBALOVÉ MATERIÁLY V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU.....	12
1.1 VÝZNAM OCHRANNÝCH FUNKCÍ OBALOVÝCH MATERIÁLŮ.....	12
1.1.1 Přenos složek obalu do baleného produktu	12
1.1.2 Přenos složek potravin do obalového materiálu.....	13
1.1.3 Pronikání složek potravin obalem do okolního prostředí	13
1.1.4 Pronikáním složek z okolního prostředí do potravin	13
1.2 OCHRANNÉ FUNKCE OBALŮ.....	13
1.3 AKTIVNÍ A INTELIGENTNÍ OBALOVÉ MATERIÁLY A JEJICH ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI	14
2 MATERIÁL PRO VÝROBU OBALŮ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU	17
2.1 POLYETHYLEN.....	17
2.1.1 Výroba polyethylenu	17
2.1.2 Charakteristika polyethylenu	18
3 ÚPRAVA POVRCHU POMOCÍ PLAZMATU	20
3.1 VZNIK PLAZMATU	20
3.2 REAKCE MEZI PLAZMATEM A POLYMERNÍM POVRCHEM	21
4 PATOGENNÍ MIKROORGANIZMY.....	22
4.1 MECHANIZMUS PŮSOBNÍ PATOGENNÍCH MIKROORGANIZMŮ.	22
4.2 ESCHERICHIA COLI	23
4.2.1 Charakteristika	23
4.3 STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	25
4.3.1 Charakteristika	25
5 ANTIBAKTERIÁLNÍ ČINIDLA	27
5.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA ANTIBIOTIK.....	27
5.2 MECHANIZMUS ÚČINKU	28
5.3 PŘÍKLADY ANTIBAKTERIÁLNÍCH LÁTEK	28
5.3.1 Norfloxacin	28
5.3.2 Ciprofloxacin.....	30
5.4 METODY STANOVENÍ CITLIVOSTI MIKROORGANIZMŮ.....	30
5.4.1 Difúzní disková metoda	31
5.4.2 Diluční metoda	31
5.4.3 E-test	31
5.4.4 Analytické metody	32
II PRAKTICKÁ ČÁST	33
6 CÍL PRÁCE.....	34
7 MATERIÁL A METODY	35

7.1	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	35
7.2	METODY CHARAKTERIZACE VZORKŮ	36
7.2.1	Antimikrobiální testy	36
7.2.2	Měření povrchové energie a kontaktního úhlu.....	37
7.2.3	XPS – rentgenová fotoelektronová spektroskopie	38
7.2.4	FTIR-ATR.....	38
7.2.5	SEM skenovací elektronový mikroskop	39
8	VÝSLEDKY A DISKUZE	40
8.1	ANTIMIKROBIÁLNÍ TESTY	40
8.2	MĚŘENÍ POVRCHOVÉ ENERGIE A KONTAKTNÍHO ÚHLU	45
8.3	XPS – RENTGENOVÁ FOTOELEKTRONOVÁ SPEKTROSKOPIE.....	47
8.4	FT-IR-ATR.....	48
8.5	SEM RASTROVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE.....	52
	ZÁVĚR	63
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	64
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	70
	SEZNAM OBRÁZKŮ	72
	SEZNAM TABULEK.....	74

ÚVOD

V současné době existuje celá řada obalů, které jsou vyrobeny z různých materiálů (např. papíru, plastu, skla a další). Základní funkcí obalových materiálů je ochrana produktu nebo výrobku před poškozením, čímž by došlo k jeho znehodnocení. V posledních letech je kladen velký důraz na problematiku ochrany lidského zdraví a životního prostředí. V této souvislosti se začaly vyvíjet nové technologie obalových materiálů šetrnějších nejen k produktům nebo výrobkům, ale také k lidskému zdraví a životnímu prostředí. K takovým obalovým materiálům v současné době patří tzv. aktivní a inteligentní obalové systémy, které jsou využívány v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Účel aktivních a inteligentních obalových materiálů spočívá například v omezování rozvoje mikroorganismů v balené potravine od výroby až po spotřebu. Jejich úkolem je prodloužení doby trvanlivosti a zvýšení kvality potravin, jejich senzoričkových vlastností a nutriční hodnoty.

Teoretická část diplomové práce je věnována charakteristice materiálu pro výrobu testovaných vzorků, jeho vlastností. Dále jsou popsány použité antimikrobiální činidla a testované mikroorganismy.

V praktické části byla provedena povrchová úprava testovaných vzorků, funkcionalizace a nanesení antimikrobiálních činidel. U takto upravených vzorků byla realizována sada testů pro charakterizaci jejich daných vlastností.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBALOVÉ MATERIÁLY V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU

Zákon č. 477/2001 Sb. o obalech definuje obal jako výrobek zhotovený z materiálu jakékoliv povahy, který slouží k ochraně, manipulaci, dodávce, případně prezentaci výrobku nebo výrobků určených spotřebiteli nebo jinému konečnému uživateli [1].

Obaly a obalové materiály určené pro přímý kontakt s potravinou musí splňovat kritéria uvedená v zákoně č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a vyhlášce č. 38/2001 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy. Takový obal musí chránit potravinu před znehodnocením, nesmí umožnit záměnu obsahu bez otevření nebo změny obalu. Odpovídá požadavkům na předměty a materiály, které přicházejí do styku s potravinou. Nesmí tedy obsahovat patogenní nebo podmíněně patogenní mikroorganismy, být zdrojem mikrobiálního znečištění a narušit žádoucí enzymatické a mikrobiální pochody v potravine. Dále by neměl ovlivnit potravinu senzorycky nebo jiným způsobem [2, 3].

1.1 Význam ochranných funkcí obalových materiálů

Význam ochranných funkcí obalových materiálů spočívá zejména v ochraně balených produktů vůči fyzikálním a chemickým reakcím, které jsou výsledkem vzájemné interakce mezi obalovým materiálem a potravinou. Tyto reakce mohou negativně ovlivňovat složení, jakost, vlastnosti obalového materiálu, ale především potraviny [4 - 6]. Z obecného hlediska lze vzájemné působení obalového materiálu na potravinu a opačně rozdělit do následujících základních skupin, které jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1: *Vzájemné vztahy obal-potravina [4, 6].*

Působení obalového materiálu na potravinu
přenos složek obalu do baleného produktu
přenos složek potraviny do obalu
pronikání složek potraviny obalem do okolního prostředí
pronikání složek z prostředí do potraviny

1.1.1 Přenos složek obalu do baleného produktu

Přenos složek obalového materiálu do baleného produktu představuje děj, kterým je koroze. Tento proces probíhá zejména u kovových obalových materiálů působením potraviny,

čímž může docházet k úplné perforaci obalu nebo jeho části během skladování a přepravy. Pronikání složek obalu do baleného produktu je označováno jako migrace [7]. V tomto případě dochází k uvolňování některých složek obalu např. rezidua monomeru, aditiv nebo produktů degradace polymeru do potraviny. Při těchto reakcích nedochází k vizuálním změnám obalového materiálu, ale tyto děje mohou negativně ovlivnit jakost balených potravin, a proto se do takových obalových materiálů aplikují např. antimikrobní činidla, antioxidanty nebo stabilizátory, které kvalitu balených potravin udržují v akceptovatelné míře [4, 6, 7].

1.1.2 Přenos složek potraviny do obalového materiálu

Tento přenos je dán možností absorpce aromatických složek obalovým materiálem, čímž může docházet např. k delaminaci jeho lepených spojů. K pozitivním vlivům potraviny na obalový materiál patří např. absorpce nežádoucích pachů obalem, snižování obsahu kyslíku v atmosféře uvnitř obalu, pohlcování ethylenu vzniklého při deteriorativních reakcích apod. [4, 6 - 9].

1.1.3 Pronikání složek potraviny obalem do okolního prostředí

K dalším vzájemným interakcím mezi obalovým materiálem a potravinou patří pronikání složek potraviny obalovým materiálem do okolního prostředí. Jedná se zejména o negativní ovlivňování kvality balených potravin, protože velmi často dochází k jejich vysychání, ke ztrátám aroma či snižování obsahu oxidu uhličitého u sycených nápojů [4, 6 - 9].

1.1.4 Pronikáním složek z okolního prostředí do potraviny

Jde o přenos především kyslíku, vlhkosti, světla, aromatických látek, toxinů či různých mikroorganismů z okolí do samotné potraviny. Funkční obalové materiály by tomuto pronikání uvedených složek z vnějšího prostředí měly zabránit [4 - 6, 7].

1.2 Ochranné funkce obalů

Ochranné funkce obalových materiálů představují ochranu produktů před nežádoucími ději, které zpravidla probíhají nebo mohou probíhat mezi obalem a potravinou. Obalové materiály tedy chrání potraviny před uvedenými negativními změnami. Možné změny jsou uvedeny v tabulce 2 [4, 6, 10].

Tabulka 2: Negativní změny potravin [4, 6, 10].

Negativní změny
ochrana před mechanickým poškozením
ochrana před změnami vlhkosti
ochrana před oxidačními a redukčními změnami
ochrana před změnami chutí a vůní
ochrana před vlivem záření
ochrana před změnami teploty
ochrana před kontaminací
ochrana před mikrobiálním znehodnocením
ochrana před hmyzem a hlodavci

Ochrana před mechanickým poškozením představuje poškození potravin v podobě zrychlení expirační doby, enzymatických přeměn, tvarových či vzhledových změn [4 – 6, 10].

Ochrana před změnami vlhkosti zahrnuje takové obalové materiály, které eliminují následující přeměny potravin po hmotnostní ztrátě, morfologické a objemové změny (např. scvrkávání skladovaných plodin), koloidně-chemické změny (změny konzistence, velikosti částic), fyzikálně-chemické změny (krystalizace sacharidů, tvorba hydrátů atd.), chemické a mikrobiologické změny [4 – 6, 10]. K obalovým materiálům, které eliminují negativní vliv změn vlhkosti na potraviny, patří zejména skleněné, kovové či plastové obaly [5].

1.3 Aktivní a inteligentní obalové materiály a jejich antibakteriální vlastnosti

Aktivní obalové systémy představují novou technologii obalových materiálů využívanou v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, kde jsou velmi přísné hygienické požadavky [6, 11, 12].

Principem aktivního balení je samovolná změna podmínek v okolí balené potraviny, která směřuje k prodloužení skladovatelnosti, zlepšení bezpečnosti nebo organoleptických

vlastností při zachování kvality potravinářského výrobku. Příklady aktivního balení jsou uvedeny v tabulce 3 [6, 11 – 13].

Tabulka 3: Příklady aktivního balení [6, 12, 14].

Příklady aktivního balení
odstranění kyslíku
regulace vlhkosti
uvolňování konzervačních látek
absorpce nežádoucích pachů
pohlcení nebo odražení určitých vlnových délek světelného spektra, která obsah obalu znehodnocují
odstranění ethylenu

K zajištění požadavků aktivního balení se používají různé systémy pracující na principech aktivního pohlcování (absorbéry) nebo aktivního uvolňování (emitéry) [6, 13, 14].

Systémy absorbérů odstraní nežádoucí sloučeniny jako kyslík, oxid uhličitý, ethylen, nadměrný obsah vodních par, nehomogenity a jiné specifické sloučeniny. Uvolňující systémy aktivně přidají do balené potraviny sloučeniny, např. konzervační prostředky. Cílem obou systémů je prodloužení údržnosti potravin nebo zvýšení jejich kvality. Příklady praktického využití aktivních obalových systémů založených na absorpci a aktivním uvolňování jsou uvedeny v tabulce 4 [6, 13].

Tabulka 4: Příklady praktického využití aktivních obalových systémů [6, 13].

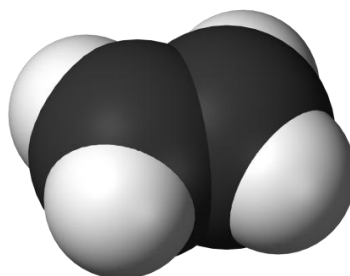
Typ aktivního obalového systému	Příklad využití (druh potraviny)	Používaná aktivní látka
absorbéry kyslíku	sýry, pečivo, ořechy, sušené mléko, káva, čaj, fazole, obilí, těstoviny, masné výrobky, hotové porcované pokrmy	kyselina askorbová, sloučeniny na bázi železa, askorbová kyselina, soli kovů
absorbéry oxidu uhličitého	pečivo, maso, ryby, drůbež, krájené, syrové ovoce a zelenina	glycerol, silikagel, propylen glykol polyakryláty
absorbéry ethylenu	pražená káva	hydroxid vápenatý, hydroxid draselný a hydroxid sodný
absorbéry vlhkosti	ovoce (např. banány, jablka, mango, avokádo) a zelenina (např. květák, okurky, rajčata, mrkev či brambory)	oxid hlinitý, manganistan draselný, aktivní uhlí, zeolity
absorbéry chutí a vůní	potraviny snadno podléhající oxidaci (např. potraviny obsahující rybí tuk), ovocné džusy	kyselina citrónová v polymezech, polyamidy, estery celulózy
regulátory vlhkosti	regulace obsahu vody	zelenina
emitéry oxidu uhličitého	inhibice růstu negativních mikroorganismů, prodloužení životnosti	maso, drůbež, ryby, hotové pokrmy, nezpracovaná zelenina a ovoce
emitéry etanolu	inhibice růstu mikroorganismů, včetně patogenních mikroorganismů	pečivo, sušené rybí produkty
emitéry organických kyselin	antimikrobní účinek	různorodé
emitéry oxidu siřičitého	bělící, antioxidační a antimikrobiální účinek	sušená bílá zelenina, některé tepelně ošetřené zpracované potraviny, různé typy zpracovaných či nezpracovaných potravin

2 MATERIÁL PRO VÝROBU OBALŮ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU

K materiálům, které byly tradičně používány pro výrobu obalů, patří sklo, kovy, papír a plast. Obaly z plastu patří k nejběžnějším, protože vykazují dobré mechanické vlastnosti, odolnost proti většině anorganických i organických látek a také určitou odolnost proti mikroorganizmům. Dnes je pro jejich výrobu často používána kombinace několika materiálů současně, přičemž pro potraviny mohou být využity následující polymery polyethylen, polypropylen, polyestery, polyamidy, polystyreny, fluoropolymery a další [5, 7, 9].

2.1 Polyethylen

Polyethylen patří do skupiny termoplastů, je označován jako homopolymer ethylenu a kopolymer s α -alkenů. Základní monomerní jednotkou polyethylenu je ethylen, který nemá substituovaný žádný vodík $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)_n$ [15 - 17]. Jeho prostorová struktura je znázorněna na obrázku 1.



Obrázek 1: Prostorová struktura ethylenu [18].

2.1.1 Výroba polyethylenu

Polyethylen (PE) lze vyrábět různými postupy, které vedou k velké různorodosti produktů s užitnými vlastnostmi [16, 17]. Základní reakcí při přípravě polyethylenu je polymerace. Molekula ethylenu je poměrně stabilní a reakce probíhá pouze za přítomnosti katalyzátorů [17]. Nejrozšířenější technologií přípravy polyethylenu je koordinační polymerace, která využívá Ziegler-Natta katalyzátoru (chlorid titanitý). Jedná se o nízkotlakou polymeraci. Další možností je využití katalyzátorů na bázi chromu. Tato polymerace je zařazována mezi středotlakou polymeraci. Polyethylen lze vyrábět radikálovou polymerací, ale tento způsob má omezené použití a vyžaduje vysokotlaké přístroje [16, 17, 19].

2.1.2 Charakteristika polyethylenu

Vlastnosti polyethylenu jsou závislé na větvení řetězce, krystalinitě a molekulové hmotnosti [1-5]. Typy polyethylenu jsou zobrazeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Typy polyethylenu podle hustoty [5, 16, 19, 20].

Typ polyethylenu	Charakteristika
PE s velmi nízkou hustotou ULDPE (Ultra-Low Density)	Hustota 0,888-0,915 g·cm ⁻³ . Lineární řetězec s vysokým stupněm větvením a krátkým řetězcem. Vhodný pro výrobu trubek, pytlů a obalů pro potraviny.
PE s nízkou hustotou LDPE (Low Density)	Hustota 0,910-0,940 g·cm ⁻³ . Vyráběn radikálovou polymerací. Řetězec je vysoce větvený a obsahuje vysoký amorfní obsah. LDPE se používá pro výrobu např. pevných kontejnerů, plastových fólií a igelitových tašek.
Lineární PE s nízkou hustotou LLDPE (Linear Low Density)	Hustota 0,915 až 0,925 g·cm ⁻³ . Je lineární polymer s významným množstvím krátkých větví. Používá se při výrobě obalů, zejména tašek a fólií.
PE se střední hustotou MDPE (Medium Density)	Hustota 0,926 až 0,940 g·cm ⁻³ . MDPE se obvykle používá v oblasti výroby plynových trubek, tvarovek, pytlů, smršťovacích fólií, obalových fólií, tašek a šroubových uzávěrů.
PE s vysokou hustotou HDPE (High Density)	Hustota 0,94 - 0,97 g·cm ⁻³ . K hlavní aplikaci použití je výroba potrubí pro vodu a plyn, obaly pro průmyslové chemikálie a obaly pro čisticí prostředky do domácnosti.
PE s vysokou molekulovou hmotností HMWPE (High Molecular Weight)	Hustota 0,941-0,954 g·cm ⁻³ . Lineární řetězec s molekulovou hmotností v rozmezí $M_w = 2 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

	K výrobě trubek, pytlů, palivových nádrží pro automobilové nádrže.
PE s ultravysokou molekulovou hmotností UHMWPE (Ultra-High Molecular Weight)	Hustota 0,944-0,954 g·cm ⁻³ . Lineární řetězec s molekulovou hmotností v rozmezí $M_w = 3 \cdot 10^6 - 6 \cdot 10^6 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Uplatňuje se např. při výrobě protetických pomůcek ve zdravotnictví, vlákna do neprůstřelných vest.

Polyethylen je tuhá látka, která je v tenkých vrstvách ohebná, elastická, průhledná případně mléčného zákalu. Všechny typy polyethylenu mají vysokou krystalinitu. Teplota tání se pohybuje mezi 105 až 136 °C. Dále má vysokou houževnatost a tažnost, je velmi stálý proti chemickým látkám, ale vykazuje omezenou stálost proti oxidačním činidlům. K další významné vlastnosti polyethylenu patří nepropustnost pro vodní páru a mrazuvzdornost. Absorbují tuky, uhlovodíky, aminy, ethery, ketony i jiné kapalné organické sloučeniny, které jím difundují. Polyethylen je nejlépe dostupný polymer vyráběný z ropy. Dnes jde o běžný obalový materiál, který je díky svým dobrým mechanickým vlastnostem používán ve velkém měřítku [17, 21].

3 ÚPRAVA POVRCHU POMOCÍ PLAZMATU

Plazma je označováno jako čtvrté skupenství hmoty. Jde o soubor nabitých a neutrálních částic v různých kvantových stavech (elektrony, ionty, excitované stavy, neutrální atomy, molekuly, kvanta záření širokého intervalu vlnových délek), ve kterém platí, že jeho celkový prostorový náboj je přibližně roven nule (tzv. kvazineutralita) [22, 23].

Plazma vzniká vnějším působením energie na hmotu, což může být provedeno dodáním tepla nebo elektromagnetickým polem [22].

3.1 Vznik plazmatu

Pro vytvoření plazmatu je potřeba, aby se z atomů nebo molekul v plynné fázi uvolnily elektrony nebo došlo k ionizaci. K ionizaci dochází, když atom nebo molekula získá dostatečné množství energie z vnějšího zdroje nebo ze vzájemných srážek se sousedními částicemi. Ke generaci a udržení plazmatu je potřebný zdroj energie způsobující ionizaci. Pokud je zdrojem energie stejnosměrný proud, musí se použít elektricky vodivé elektrody, v opačném případě by se izolant nabíjel a rušil by výboj. Tento problém lze zmírnit, pokud za zdroj zvolíme střídavý proud. V tomto případě jsou kladné náboje akumulované během jedné poloviny cyklu, bombardovány elektrony z následujícího cyklu [22, 23].

Plazma je velmi chemicky reaktivní prostředí, ve kterém dochází k jinak jen stěží předpokládaným reakcím. Velká hustota ionizovaných a excitovaných částic obsažených v plazmatu může změnit povrchové vlastnosti i materiálu, který je za normálních podmínek inertní, jako je např. keramika nebo sklo. Plazma modifikuje hodnotu povrchové energie materiálu, což má následný dopad na adhezní sílu, vlastnosti povrchových nátěrů a biokompatibilitu. Výhody a nevýhody použití plazmatu při úpravách biomateriálů jsou shrnuty v tabulce 6 [22, 23].

Tabulka 6: Výhody použití plazmatu při úpravách biomateriálů [23].

Výhody použití	aplikovatelnost na různý tvar vzorku, na jakýkoli druh materiálu: kovy, polymery, keramiky a kompozity
	vliv na rozdílné povrchové charakteristiky: chemické, tribologii (tření), elektrické, optické, biologické a mechanické
	sterilizuje povrchy
	šetrný k životnímu prostředí biokompatibilitu povrchu lze selektivně modifikovat
	excitované částice v plazmatu mohou modifikovat jakýkoliv typ polymeru
	výběrem používaného plynu je možné zvolit typ chemické úpravy pro povrch polymeru
	rovnoměrnost modifikace po celém povrchu
Nevýhody	náročnost na technologické vybavení
	úprava musí probíhat většinou ve vakuu
	parametry jsou pro každý systém specifické
	plazmatický proces je velmi komplexní. Je obtížné dobře chápat všechny interakce mezi plazmatem a povrchem
	těžké přesně kontrolovat množství funkčních skupin

3.2 Reakce mezi plazmatem a polymerním povrchem

Reakce mezi plazmatem a polymerním povrchem lze rozdělit na povrchové reakce, plazmová polymerace, čištění a lepení. Povrchové reakce jsou reakce mezi prvky plynu a povrchem, reakce mezi povrchovými funkčními skupinami na povrchu a síťování. Plazmová polymerace je vytvoření tenké vrstvy na povrchu polymeru díky polymeraci organického monomeru, jako CH_4 , C_2H_6 , C_2F_4 a C_3F_6 přítomných v plazmatu. Čištění a leptání představuje odstraňování materiálu z povrchu polymeru chemickými reakcemi nebo fyzikálním působením. Kyslík obsahující plazma se používá na odstranění organických nečistot. Leptání se liší od čištění pouze v množství odstraněného materiálu, přičemž nejčastěji používané plazma je kyslíkaté a fluoridové [23 - 27].

4 PATOGENNÍ MIKROORGANIZMY

Patogenita je schopnost mikroorganismu poškozovat buňky a vyvolat onemocnění. Mikroorganismy lze dělit podle patogenity do tří skupin, které jsou shrnuty v tabulce 7 [28 -31].

Tabulka 7: Rozdělení mikroorganismů podle patogenity [28].

Typ mikroorganismu	Charakteristika
Nepatogenní	Mikroorganismy se mohou vyskytovat v hostitelské buňce jako komenzál, kde se množí a využívají ho jako zdroj živin, ale buňku nepoškozují.
Podmíněně (oportunně) patogenní	Onemocnění vyvolávají jen při snížené obranyschopnosti napadaného organismu.
Patogenní	Mikroorganismy schopné vyvolat onemocnění u zdravých organismů.

4.1 Mechanismus působení patogenních mikroorganismů.

Mechanismus působení patogenních mikroorganismu na buňky probíhá v následujících krocích a to adheze, invaze, produkce toxinů a reakce imunitního systému [29 - 31].

Adheze a invaze

Adheze a invaze patří k prvnímu kroku infekce. Patogenní mikroorganismy využívají pro napadení hostitelské buňky interakce mezi svými specifickými organelami (např. fimbrií) a vhodnými receptory na povrchu hostitelské buňky. Tento proces je popisován jako teorie klíče a zámku (buňka patogenu představuje klíč a povrch hostitelské buňky zámek). Po zničení ochranných bariér napadené buňky se patogenní mikroorganismus začíná šířit do vnitřního prostoru [29 - 31].

Produkce toxinů

Po vniknutí patogenního mikroorganismu do hostitelské buňky začne patogenní mikroorganismus produkovat toxiny. Toxiny jsou látky převážně bílkovinné povahy, které způsobují onemocnění nebo mohou být příčinou destrukce buňky. Rozdělení toxinů je shrnuto v tabulce 8 [29, 31].

Tabulka 8: Rozdělení toxinů.

Podle místa působení	
1. Reakce s membránami eukaryotních, buněk, které poškozuje.	
2. Pronikají po vazbě na specifický receptor na buňce do cytoplazmy.	
Podle cílových orgánů	
enterotoxiny	Působí na buňky střeva (cholagen).
neurotoxiny	Působí na nervové buňky (botulotoxiny, tetanospasmin).
hemolysiny	Podílejí se na rozpadu leukocytů, erytrocytů.
kardiotoxiny	Látky poškozující srdce.

4.2 Escherichia coli

4.2.1 Charakteristika

Taxonomické zařazení bakterie *Escherichia coli* je popsáno v tabulce 9 [32].

Tabulka 9: Taxonomické zařazení bakterie *Escherichia coli*.

Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Proteobacteria</i>
Třída	<i>Gammaproteobacteria</i>
Řád	<i>Enterobacteriales</i>
Čeleď	<i>Enterobacteriaceae</i>
Rod	<i>Escherichia</i>
Druh	<i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli jsou gram-negativní tyčinky 2-3 μm dlouhé a přibližně 0,6 μm široké. Na povrchu mají fimbrie, které umožňují adhezi na hostitelskou buňku. Některé typy *Escherichia coli* tvoří pouzdra a jejich kolonie mají hlenovitý charakter. Štěpí glukózu a laktózu za tvorby plynu, produkují indol a neštěpí močovinu. *Escherichia coli* se vyskytuje jako komenzál tlustého střeva. Fekálním znečištěním se dostává do vody, kde může

přežít i několik týdnů a proto slouží jako indikátor fekálního znečištění pitné vody [28, 29, 33].

Patogenní *Escherichia coli* mohou vyvolat 2 typy onemocnění:

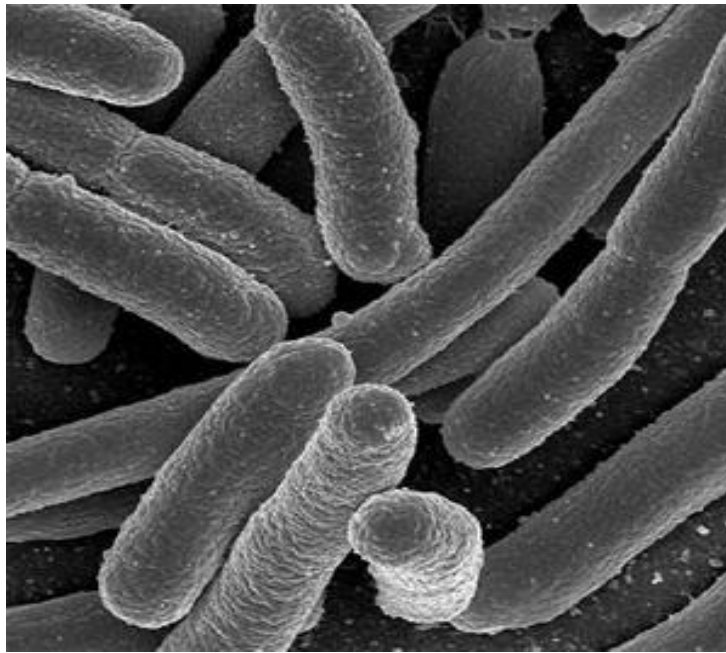
- extraintestinální (močové cesty, septická onemocnění, infekce ran, hnisavé procesy)
- v intestinálním traktu infekce provázené průjmy (určité kmeny)

Escherichia coli přítomné ve střevech lze dělit podle sérologických parametrů a virulence do pěti skupin. Charakteristika těchto skupin je shrnuta v tabulce 10 [29].

Tabulka 10: Rozdělení *Escherichia coli* podle patogenity.

Typ	Charakteristika
ETEC (enterotoxigenní)	Kolonizují tenké střevo pomocí proteinových fimbrií, které jsou druhově specifické (pro člověka, pro selata, pro telata). Mohou vyvolat průjmy jak u dětí, tak i u dospělých. Mohou produkovat 2 typy enterotoxinů: termolabilní enterotoxin (TL) a termostabilní enterotoxin (TS).
EPEC (enteropatogenní)	Původci novorozeneckých průjmů. Dochází k dehydrataci případně i k smrti. U starších dětí a dospělých onemocnění nevyvolávají.
EIEC (enteroinvazivní)	Pronikají do buněk, kde se množí. Onemocnění probíhá jako bacilární dysenterie.
EHEC (enterohemoragické)	Působí stejným mechanismem jako EPEC. Kolonizují převážně tlusté střevo. Zdrojem je infikované hovězí maso.

Patogenní mikroorganismu *Escherichia coli* je vyobrazen na obrázku 2.



Obrázek 2: Kolonie *Escherichia coli* [34].

4.3 *Staphylococcus aureus*

4.3.1 Charakteristika

Taxonomické zařazení bakterie *Staphylococcus aureus* je popsáno v tabulce 11 [35].

Tabulka 11: Taxonomické zařazení bakterie *Staphylococcus aureus*.

Doména	<i>Bacteria</i>
Říše	<i>Eubacteria</i>
Oddělení	<i>Firmicutes</i>
Třída	<i>Bacilli</i>
Řád	<i>Bacillales</i>
Čeleď	<i>Staphylococcaceae</i>
Rod	<i>Staphylococcus</i>
Druh	<i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus je řazen do skupiny hlavních patogenních mikroorganismů člověka. Patří mezi fakultativně anaerobní grampozitivní koky o velikosti kolem 1 μm tvořící hroznovité uspořádání. Je nepohyblivý, nesporulující mikroorganismus, buňky jsou halotolerantní: jsou schopny rozmnožovat se při 10%ní koncentraci chloridu sodného [28]. Tvoří

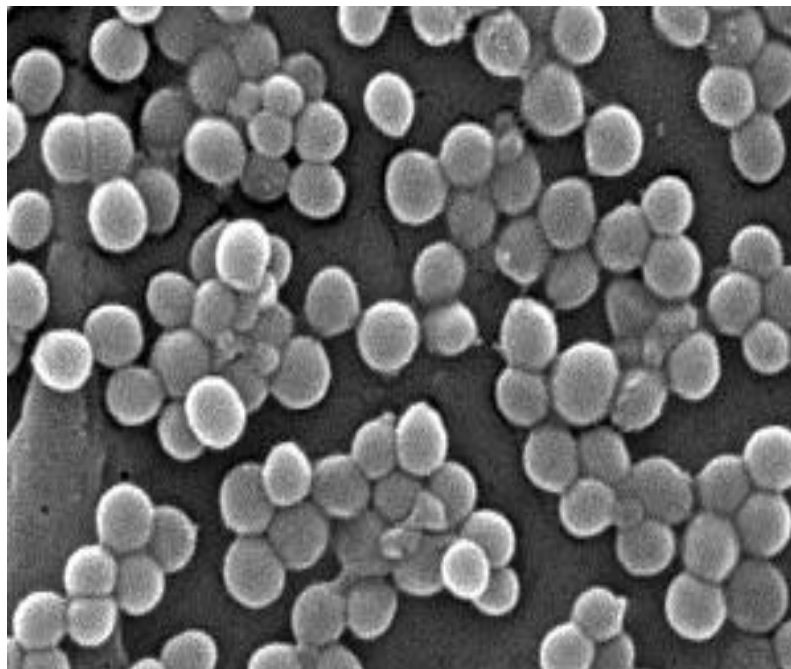
hladké, lesklé, kulaté, žlutě až oranžově zbarvené kolonie. Zkvašují převážně glukózu za tvorby kyseliny mléčné a acetonu. Pro svůj růst je schopen využívat další hexózy a některé sacharidy [28 - 31, 36, 37].

Staphylococcus aureus osidluje kůži a slizniční membrány teplokrevných zvířat a člověka. U 30-70% lidské populace žije jako komenzál v nosní dutině, aniž by negativně působil na jeho organizmus. Pokud dojde k oslabení organizmu, může *Staphylococcus aureus* způsobit zdravotní komplikace. Mezi onemocnění patří např. kožní infekce, angína, endokarditida, hemolytický zápal plic, syndrom toxického šoku a otravy z jídla [28 – 31].

Pokud *Staphylococcus aureus* pronikne do potravin, začne produkovat enterotoxiny bílkovinné povahy, což jsou produkty jeho metabolismu. Projevem těchto otrav je průjem, zvracení a bolesti břicha. Závažnost onemocnění závisí na množství přijaté potravin, již 20-100 mg tohoto enterotoxinu může způsobit vážné zdravotní komplikace [28 - 31]

Mléko, drůbež, šunka, korýši, hovězí, telecí maso, zelenina a další potraviny mohou být vhodným médiem pro růst bakterie *Staphylococcus aureus* [31].

Patogenní mikroorganismu *Staphylococcus aureus* je vyobrazen na obrázku 3.



Obrázek 3: Kolonie *Staphylococcus aureus* [38].

5 ANTIBAKTERIÁLNÍ ČINIDLA

5.1 Obecná charakteristika antibiotik

Antibakteriální činidla neboli antibiotika patří mezi nejdůležitější a nejpoužívanější skupiny léčiv. Antibiotika jsou produkována mikroorganismy se schopností usmrtit nebo inhibovat růst a množení jiných mikroorganismů. Pro použití daných antibiotik je důležité znát mechanismus působení na organismus, reakce daného organismus, toxikologii daného antibiotika a cyklus antibiotik v životním prostředí [39 – 43].

Antibiotika jsou velká a rozmanitá skupina látek, které lze rozdělit do několika skupin podle různých kritérií např. původ, účinek, chemická struktura. Rozdělení antibiotik je shrnuto v tabulce 12 [39, 43].

Tabulka 12: Rozdělení antibiotik.

Podle původu	
Přírozená	produkovaná přímo mikroorganismy
Semisyntetická	připravovaná ze základní molekuly přírodního antibiotika jeho chemickou obměnou
Syntetická	připravená chemickou syntézou
Podle účinku	
Bakteriostatický	inhibují růst buněk nebo jejich reprodukci
Bakteriocidní	na buňku působí destruktivně
Podle spektra účinnosti	
Úzké spektrum účinnosti	ovlivňují jen určitou skupinu mikroorganismů
Široké spektrum účinnosti	blokují růst velkého množství různých mikrobiálních kmenů, včetně kmenů normálně přítomných v organismu
Podle chemické struktury	
Beta-laktamová antibiotika	obsahují laktamový kruh, struktura skládající se ze tří atomů uhlíku a jednoho atomu dusíku (peniciliny, cefalosporiny)
Tetracykliny	struktura se skládá ze čtyř šestičlenných kondenzovaných cyklů

Aminoglykosidy	aminocyklitolový kruh je struktura odvozená od inositolu substituovaného různými aminoskupinami. K tomuto kruhu jsou glykosidickou vazbou připojeny další dva aminosacharidy
Makrolidy	makrocyclické laktony, na které jsou glykosidicky navázány většinou dva méně obvyklé sacharidy
Linkosamidy	prolin substituovaný amidy a aminosacharidem
Polypeptidová antibiotika	rozvětvené cyklické peptidy

5.2 Mechanismus účinku

Každé antibiotikum má svůj charakteristický mechanismus účinku a svá místa působení v organismu, pomocí nichž inhibují růst bakteriálních buněk. Na buňku patogenního mikroorganismu může antibiotikum působit jedním mechanismem nebo se na účinku podílejí více mechanismů najednou. Místem napadení patogenní buňky může být bakteriální buněčná stěna, ribozomy, nukleové kyseliny, cytoplazmatická membrána a dále mohou ovlivnit také důležité děje v buňce např. syntézu kyseliny listové a další. Mechanizmy účinku antibiotik lze rozdělit do několika skupin viz. tabulka 13 [39, 41, 43].

Tabulka 13: Mechanizmy účinku antibiotik.

Místo účinku	Mechanismus účinku
Buněčná stěna	inhibice syntézy buněčné stěny
Cytoplazmatická membrána	poškození funkce cytoplazmatické membrány
Kyselina listová	inhibice syntézy kyseliny listové
Nukleové kyseliny	inhibice syntézy nukleových kyselin
Ribozomy	inhibice syntézy buněčných bílkovin

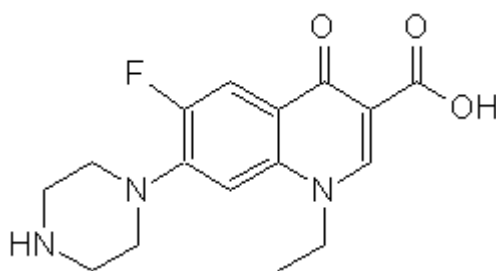
5.3 Příklady antibakteriálních látek

5.3.1 Norfloxacin

Norfloxacin je zařazován do skupiny chinolových chemoterapeutik, která nejsou produkována mikroorganismy. Chinolonová chemoterapeutika lze rozdělit do čtyř generací. Spo-

lečným mechanismem účinku pro všechny generace je schopnost inhibovat bakteriální DNA-gyrázy, enzymu zodpovědného za splétání a rozplétání řetězců bakteriální nukleové kyseliny v průběhu G-fáze buněčného cyklu [44 – 46].

Norfloxacin je baktericidní látka druhé generace, která působí především na gram-negativní mikroorganismy. Jeho strukturní vzorec je zobrazen na obrázku 4.



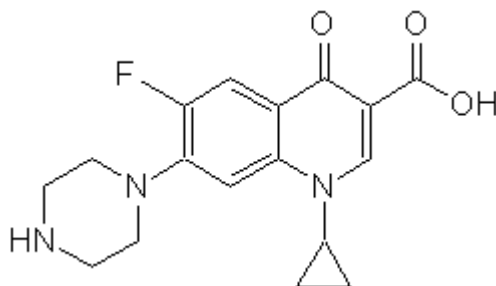
Obrázek 4: Strukturní vzorec Norfloxacinu.

Norfloxacin je bílý nebo bledě žlutý krystalický prášek, hygroskopický a citlivý na světlo. Je velmi těžce rozpustný ve vodě při neutrálním pH, v acetonu a 96 % lihu. Norfloxacin interaguje s řadou jiných léků, bylinných a přírodních přípravků. Tyto interakce zvyšují riziko antikoagulace a toxicitu [44, 46].

Tato skupina antibiotik se používá především k terapii infekcí močových cest, kde se využívá jejich schopnosti rychlého vyloučení do urogenitálního traktu. Jejich sérová koncentrace je nízká a nedosahuje požadovaných hladin pro léčbu systémových infekcí. Norfloxacin vykazuje vyšší terapeutické hladiny v některých tkáních, ale léčebně se toho nevyužívá. Užívání Norfloxacinu je spojeno s řadou nežádoucích účinků. Mezi citlivé mikroorganismy na přítomnost Norfloxacinu patří např. grampozitivní aerobní mikroorganismy *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae* a gramnegativní aerobní mikroorganismy *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* [47].

5.3.2 Ciprofloxacin

Ciprofloxacin je antibiotikum chinolonového typu druhé generace. Tato generace zahrnuje léčiva se širokým antibakteriálním spektrem. Jeho strukturní vzorec je uveden na obrázku 5.



Obrázek 5: Strukturní vzorec Ciprofloxacinu.

Ciprofloxacin obsahuje ve své molekule piperazinový kruh, a proto vykazuje významné interakce s léky, zejména s teofylinem, cyklosporinem a některými nesteroidními antiflogistiky. Chinolony mají také schopnost tvořit chelátové vazby s vícemocnými ionty a proto současné podání některých nesteroidních antirevmatik může vést ke vzniku křečí [45, 47].

Ciprofloxacin je účinný proti gram-pozitivním mikroorganismům (*Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarhalis*, *Proteus mirabilis*, a *Pseudomonas aeruginosa*) gram-negativním mikroorganismům (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* a *Streptococcus pyogenes*). V krvi a tkáních vytváří dostatečné hladiny pro baktericidní působení [46, 47].

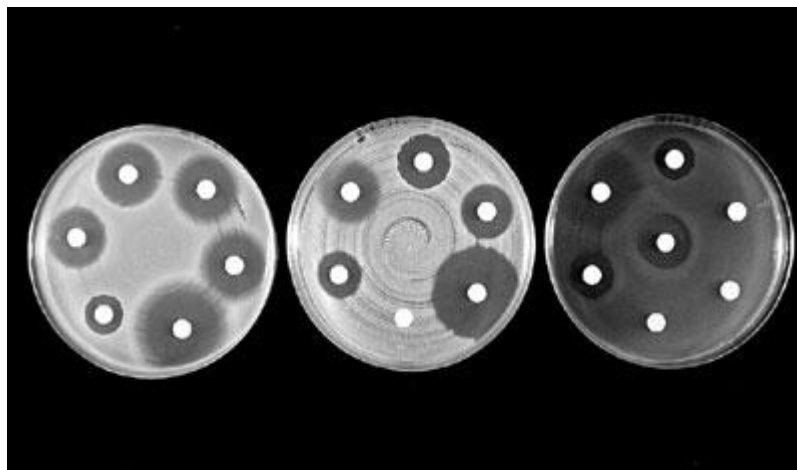
Ciprofloxacin se používá v terapii infekcí horních a dolních dýchacích cest, infekce urogenitálního ústrojí, měkkých tkání a kůže. Dále je využívána jeho aktivita proti *Mycobacterium tuberculosis* [47].

5.4 Metody stanovení citlivosti mikroorganismů

Citlivost mikroorganismů na antibiotika lze stanovit mikrobiologickými nebo analytickými metodami, které se mohou dále dělit na kvantitativní a kvalitativní [48].

5.4.1 Difúzní disková metoda

Tato metoda patří mezi kvalitativní metody. Principem této metody je difúze antimikrobiální látky z disku vzorku do agarové půdy. Agar je naočkován stanovenou koncentrací testovaného mikroorganismu. Vlivem absorpce vody z půdy dochází k rozpouštění látky a její následné difúze do média. Kolem disku vzniká koncentrační gradient účinné látky inhibující růst mikroorganismu. Vznikají tzv. zóny inhibice, jejichž průměr a naměřená hodnota se srovnává s hodnotou inhibičních zón pro citlivé kmeny. Výsledek této metody je zobrazen na obrázku 6 [48 - 50].



Obrázek 6: Výsledek difúzního testu [51].

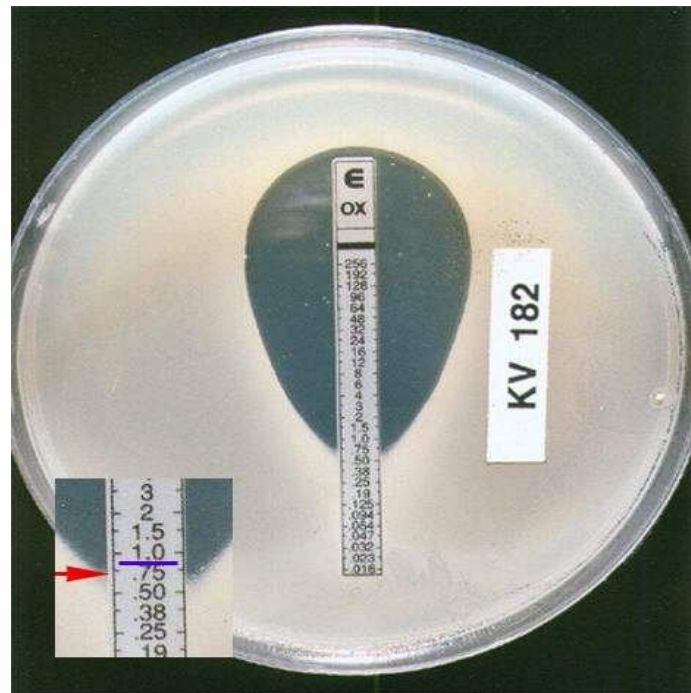
5.4.2 Diluční metoda

Diluční metoda je užívána ke stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC), nebo minimální baktericidní koncentrace (MBK). Metoda je kvantitativní, lze ji plně automatizovat a standardizovat. Antibiotika jsou ředěna geometrickou řadou. Výhodou metody je možnost otestovat kmen vůči několika antibiotikům najednou. Stanovení se provádí na mikrotestičce nebo ve zkumavkách [48, 50].

5.4.3 E-test

Metoda E-test je metoda, která kombinuje obě předcházející, přičemž je stanovována minimální inhibiční koncentrace difúzí. Během testu je utvářena eliptická inhibice růstu ko-

lem proužku s čínidlem. Minimální inhibiční koncentrace se určí ze stupnice při protnutí proužku s okrajem zóny inhibice. Výsledek E-testu je vyobrazen na obrázku 7 [49, 50].



Obrázek 7: Výsledek E-testu [51].

5.4.4 Analytické metody

Tyto metody jsou založeny na kontrole uvolňování antibakteriálního činidla z polymerního systému. K určení množství uvolněného činidla lze využít kapalinovou chromatografii, UV-VIS spektrometry a refraktometry, které mohou být použity jako detektory. K dalším metodám patří například atomová absorpční spektroskopie. Principem metody je stanovení kovové sloučeniny v polymerním systému [52, 53].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce byla příprava a charakterizace antibakteriálních obalových materiálů.

Pro dosažení výše zmíněného cíle bylo nutné:

v teoretické části zpracovat:

- rešerši na zadané téma,

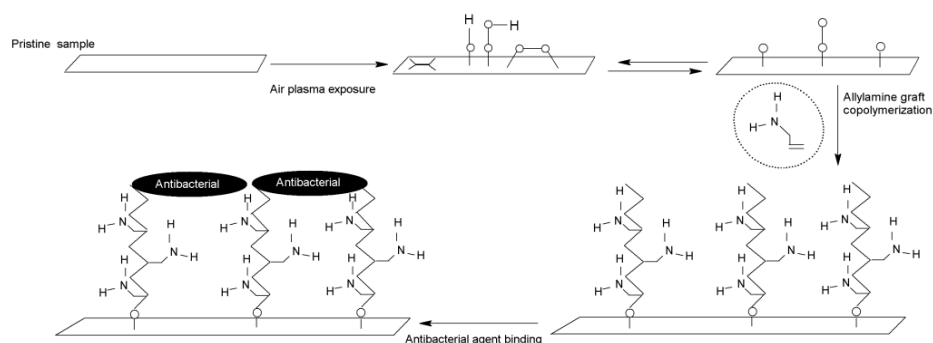
v praktické části bylo nutné naplnit tyto dílčí cíle:

- provést povrchovou úpravu obalových materiálů,
- následně navázat antibakteriálních látky,
- porovnat antibakteriální vlastnosti připravených obalových materiálů,
- na základě teoretické části a výsledků formulovat závěr.

7 MATERIÁL A METODY

7.1 Příprava vzorků

Pro přípravu vzorku byla použita polyethylenová (PE-LD) fólie o tloušťce 0,1 mm, která byl nastříhána na čtverce o rozměrech 5 x 5 cm. Čtverce polyethylenu byly omyty v deionizované vodě, roztoku kationaktivního tenzidu a následně důkladně omyty opětovně deionizovanou vodou. Takto povrchově očištěné vzorky byly sušeny při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin. Po těchto operacích následovalo oboustranné opracování vzorků nízkoteplotním plazmatem. Tento proces probíhal za přesně definovaných podmínek po dobu 1 min, výkonu reaktoru 20 W, frekvenci mikrovlnného výboje 2,45 GHz, přičemž průtok plazmového plynu (vzduchu) byl nastaven na 20 sccm. Po vyjmutí z reaktoru byl opracovaný vzorek vystaven parám allylaminu po dobu 15 s. Allylamin byl použit pro funkcionizaci povrchu. Při této operaci vzniká polyallylamin ve formě tzv. „polymerního hřebene“ s aminy, vhodného pro navázání antimikrobiálních látek mezimolekulárními silami. Délka řetězce polyallylaminu je závislá na reakčním čase, tedy na době, po kterou je plazmově opracovaný vzorek s povrchovými reakčními skupinami (nejčastěji radikály) umístěn v prostředí allylaminových par. Poté byly vzorky ihned ponořeny do roztoků antimikrobiálních látek Norfloxacinu a Ciprofloxacinu po dobu 24 hodin pro dosažení maximálního navázání. Tyto roztoky byly připraveny tak, že do 100 ml deionizované vody bylo kvantitativně převedeno 0,5 g antibakteriálního činidla a 50 μl koncentrované H_3PE_4 pro snížení pH a tudíž lepší rozpustnost antibakteriálních činidel. Po 24 hodinách byly vzorky vyjmuty a dostatečně omyty deionizovanou vodou pro odstranění nenavázaných molekul antimikrobiálních činidel. Následovalo sušení vzorků za laboratorních podmínek po dobu 2 hodin. Nakonec byly vzorky skladovány v uzavíratelných sáčcích, které byly vloženy do exsikatoru. Schéma přípravy vzorků je uvedeno na obrázku 8 [14, 55, 56].



Obrázek 8: Schéma přípravy vzorků polyethylenu [14].

7.2 Metody charakterizace vzorků

Pro charakterizaci vzorků byly použity metody uvedené v tabulce 14.

Tabulka 14: Metody pro charakterizaci vzorků.

Použité metody
Antimikrobiální testy
Měření povrchové energie a kontaktních úhlů
Rentgenová fotoelektronová spektroskopie XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy)
Infračervená spektroskopie FTIR-ATR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
Rastrovací elektronová mikroskopie SEM (Scanning Electron Microscope)

7.2.1 Antimikrobiální testy

Antimikrobiální testy byly provedeny difúzní diskovou metodou. V této práci byla zjišťována účinnost vzorků vůči patogenním kmenům *Staphylococcus aureus* CCM 4516 a *Escherichia coli* CCM 4517.

Principem metody je difúze antibakteriální látky v agaru, který je naočkován testovanými mikroorganismy. Průměr inhibičních zón je porovnáván s hraničním průměrem inhibiční zóny pro citlivé kmeny. Pokud tato zóna vzniká kolem testovaných vzorků, použitý materiál vykazuje antibakteriální vlastnosti [14, 56].

Živné médium (HiMedia Laboratories PII. Ltc.) bylo připraveno podle návodu od výrobce a následně 3 hodiny sterilováno v autoklávu. Připravený agar byl nalit do Petriho misek a po zaschnutí byl naočkován testovanými bakteriálními suspenzemi o objemu 100 μl . Jednotlivá bakteriální suspenze obsahovala $1 \cdot 10^8$ bakterií [56, 57].

Z použitých vzorků byly připraveny kruhové výseče o průměru 8 mm, promyty v etanolu a osušeny za laboratorních podmínek. Takto upravené vzorky byly umístěny na plotnu agarové půdy naočkované bakteriální suspenzí. Vzorky byly dále inkubovány 24 hodin při teplotě 37 °C. Poté byl změřen průměr inhibiční zóny v 5 směrech a byla vypočítána průměrná hodnota. Každý test byl třikrát opakován [14, 57].

7.2.2 Měření povrchové energie a kontaktního úhlu

Mezi důležité charakteristiky kapalin patří vlastnosti jejich povrchu. Kapaliny se snaží získat takové prostorové uspořádání, aby měly vždy co nejmenší povrch. Toto chování je založeno na základě teorie mezimolekulových přitažlivých sil. Uvnitř kapaliny působí tyto síly ve všech směrech stejně, ale směrem k povrchu kapaliny je toto pravidlo porušováno. U povrchu kapalin převažují síly působící směrem dovnitř. Z tohoto důvodu je snahou kapalin snížit počet molekul na svém povrchu. Této teorie je využíváno při kontaktu kapaliny s pevnou látkou. Pokud převažují síly mezi kapalinou a pevnou látkou nad mezimolekulárními silami kapaliny, kapalina pokryje větší plochu pevné látky, v opačném případě se snaží zmenšit svůj povrch a styčnou plochu tuhé fáze. Tato skutečnost je principem nepřímých metod pro zjištění povrchové energie, protože přímé měření povrchové energie je obtížné [58, 59].

Z nepřímých stanovení povrchového napětí je nejčastěji používáno měření kontaktního úhlu smáčení. Kontaktní úhel je úhel, který svírá rozhraní kapaliny a plynu s pevnou deskou. Pokud je úhel menší než 90° daná kapalina smáčí povrch je hydrofilní, pokud je tento úhel větší než 90° kapalina jej nesmáčí je hydrofobní [59].

Vztah mezi úhlem smáčení a mezifázovými energiemi je dán Youngovou rovnicí.

$$\gamma_{lv} \cos \theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad (1)$$

Kde γ_{lv} je mezipovrchová energie fázového rozhraní mezi kapalnou a plynnou fází, γ_{sv} mezipovrchová energie fázového rozhraní mezi tuhou a plynnou fází, γ_{sl} mezipovrchová energie fázového rozhraní mezi tuhou a kapalnou fází [58, 59].

Úpravou Youngovy rovnice dostáváme vztah pro zjištění kontaktního úhlu:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lv}} \quad (2)$$

Tento vztah slouží pro zjištění typu povrchu sledovaných materiálů. Povrchová energie obalových materiálů patří mezi významné vlastnosti např. pro umožnění nanášení vrstev jiného materiálu, adhezních vlastností, potisků a dalších úprav [14].

Měření bylo provedeno na přístroji Surface Energy Evaluation System – See Systém (Advex Instruments, s.r.o. (Česká republika). Ke stanovení byly použity tři druhy kapalin a to deionizovaná voda (vlastní výroba), ethylenglykol (Sigma-Aldrich), diiodonmethan (Sigma-Aldrich). Na povrch měřeného vzorku bylo pipetováno 5 μ l uvedené kapaliny

a následně byl stanoven kontaktní úhel. Každé měření bylo provedeno pětkrát a výsledná hodnota kontaktního úhlu byla empiricky vypočtena jako průměr jednotlivých měření.

7.2.3 XPS – rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie je někdy v literatuře nazývána jako elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu. Dnes je metoda využívána jako nedestruktivní metoda pro charakterizaci povrchů, tenkých vrstev a mezifází [60].

Podstatou metodou XPS je fotoelektrický jev. Pokud je studovaný materiál ozářen RTG zářením o známé energii, lze ze změřených hodnot kinetických energií vyzářených fotoelektronů zjistit jejich vazebnou energii. Měření musí probíhat ve vakuu [60 – 63].

Výsledkem měření je elektronové spektrum, což je závislost intenzity na kinetické nebo vazebné energii. Z elektronového spektra lze zjistit prvky přítomné v materiálu, sloučeniny, u kterých dochází vlivem vazby k posunu vazebných energií, a proto je pík posunutý. Metoda XPS může být použita pro analýzu všech prvků periodického systému kromě vodíku a helia [60 – 63].

Toto měření bylo provedeno v laboratořích spolupracujícího pracoviště ve Slovinsku.

7.2.4 FTIR-ATR

Principem metody je absorpce infračerveného záření při odrazu od vzorku. Pro vzorky, které silně absorbují infračervené záření nebo, u kterých chceme znát povrchovou strukturu, je využívána metoda zeslabené totální reflektance ATR. Podstatou metody je totální vnitřní reflexe infračerveného záření při průchodu krystalem o velkém indexu lomu. Ve vzorku, který je umístěn v těsném kontaktu s měřícím ATR krystalem, vzniká při totálním odrazu na rozhraní opticky hustšího prostředí (ATR hranol) s prostředím opticky řidším (vzorek) zeslabující se absorpční vlna, která klesá exponenciálně se vzdáleností od rozhraní. Krystaly pro tuto techniku jsou vyráběny např. ZnSe, AgCl, Si, Ge, safíru a další [64].

Měření bylo provedeno na spekrometru Nicolet iS5 (Nicolet, USA). Byl použit Ge-krystal a úhel dopadu byl volen 45°. Pro každé měření bylo provedeno 64 skenů se spektrálním rozlišením 2 cm⁻¹. Kvalita spektra byla závislá na dobrém kontaktu mezi krystalem a vzorkem.

7.2.5 SEM skenovací elektronový mikroskop

Principem metody je pozorování interakcí primárních detektorů s povrchem vzorku, přičemž dojde k uvolnění sekundárních elektronů, které jsou snímány detektory. Při této mikroskopické metodě je na každé místo vzorku zaměřen úzký paprsek elektronů. Při postupu paprsku vzorkem je měněna úroveň signálu podle charakteru povrchu. Svazek elektronů je emitován ze žhavené katody a urychlovaných v elektronové trysce, která se skládá ze systému katoda - Wehneltův válec – anoda. Paprsek je zpracován elektromagnetickými čočkami a postupně skenuje povrch pozorovaného objektu. Zároveň s tímto svazkem elektronů je zaznamenáván elektronový svazek paprsku v pozorovací obrazovce. Interakcí elektronového svazku s povrchem pozorovaného objektu vznikají sekundární elektrony (fotony, odražené elektrony a další). Tyto elektrony jsou pak sbírány detektory a jsou převáděny na signál [65].

V případě SEM mikroskopie je nutné pracovat ve vakuu (minimálně 10^{-2} Pa). Pokud mají být skenovány nevodivé materiály, je nutno opatřit jejich povrch vodivou vrstvou, aby nedocházelo ke vzniku náboje na jejich povrchu, který by mohl být příčinou zkreslených nebo naprosto odlišných zobrazení [65].

Měření bylo provedeno na přístroji VEGA II LMU Tescan (Česká republika).

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Antimikrobiální testy

Průměrné hodnoty inhibičních zón naměřených pomocí difúzní metody pro pozorování antibakteriální účinnosti a vypočítané plochy inhibičních zón jsou uvedeny v tabulce 15.

Tabulka 15: Průměry inhibičních zón a vypočítané plochy inhibičních zón.

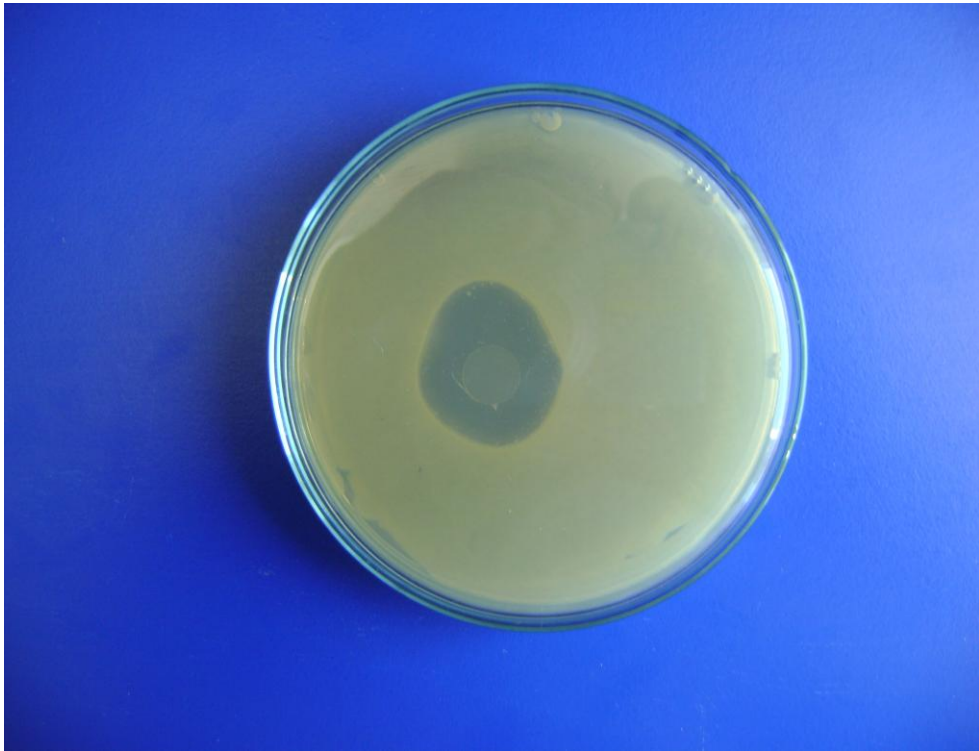
vzorek	<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516		<i>Escherichia coli</i> CCM 4517	
	Průměr inhibiční zóny [mm]	Plocha inhibiční zóny [mm ²]	Průměr inhibiční zóny [mm]	Plocha inhibiční zóny [mm ²]
PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN	10	28,3	28	565,5
PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN	34	857,7	41	1270

Z uvedených výsledků je zřejmé, že připravené materiály vykazují antibakteriální účinnost. V případě gram-negativní bakterie *Escherichia coli* je konkrétně průměrná inhibiční zóna v případě Ciprofloxacinu 28 mm a 41 mm v případě Norfloxacinu. V případě grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* jde o průměr inhibiční zóny pro vzorek s obsahem Norfloxacinu 34 mm. V případě vzorku s navázaným Ciprofloxacinem byla pozorována jen minimální inhibiční zóna, která v průměru činila 10 mm včetně samotného disku vzorku o standardizovaném průměru 8 mm.

Z uvedených výsledků je zřejmé, že vzorek, na který byl navázán Norfloxacin, vykazuje daleko účinnější antibakteriální vlastnosti. Zároveň je jako jediný účinný proti grampozitivní bakterii. Je to zřejmě způsobeno tím, že Norfloxacin daleko lépe splňuje podmínky pro navázání mezimekulovými silami na povrch připravených substrátů, které byly povrchově roubovány pomocí allylaminu. Porovnáme-li strukturu molekuly Norfloxacinu a Ciprofloxacinu, zjistíme, že při jejich výrazné podobnosti se liší pouze tím, že molekula Norfloxacinu má postranní substituent ethyl, nýbrž Ciprofloxacin má postranní substituent cyklopropyl. Tento objemnější postranní řetězec má zřejmě za následek také stérické vlivy, které brání molekule antibakteriálního činidla v interakci s allylaminovým hřebenem. Významný vliv zde mohou mít i síly tzv. Bornova typu, které působí opačným směrem proti penetraci objemných řetězců do více či méně pórovité struktury povrchu. Výsledky pro PE, PE po plazmové úpravě a PE po plazmové úpravě s navázaným allylaminem nejsou

v tabulce zahrnutý, neboť nevykazovaly žádné inhibiční zóny, což je v souladu s dříve publikovanými pracemi [14, 55 – 57].

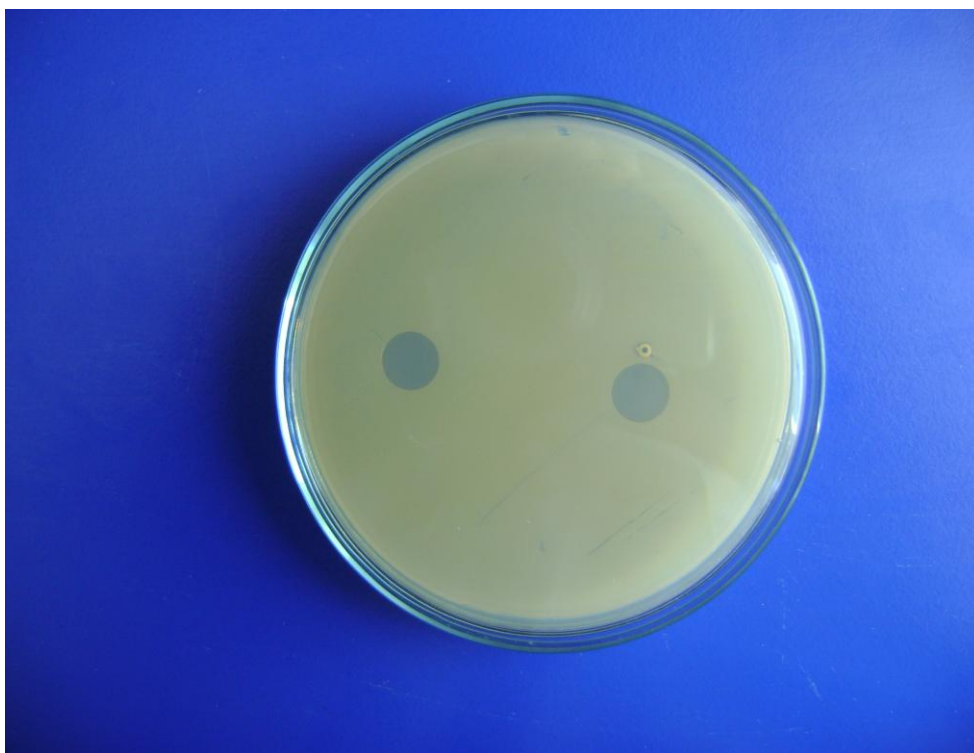
Snímky jednotlivých testovaných vzorků a jejich inhibiční zóny jsou uvedeny na obrázcích 9 – 16.



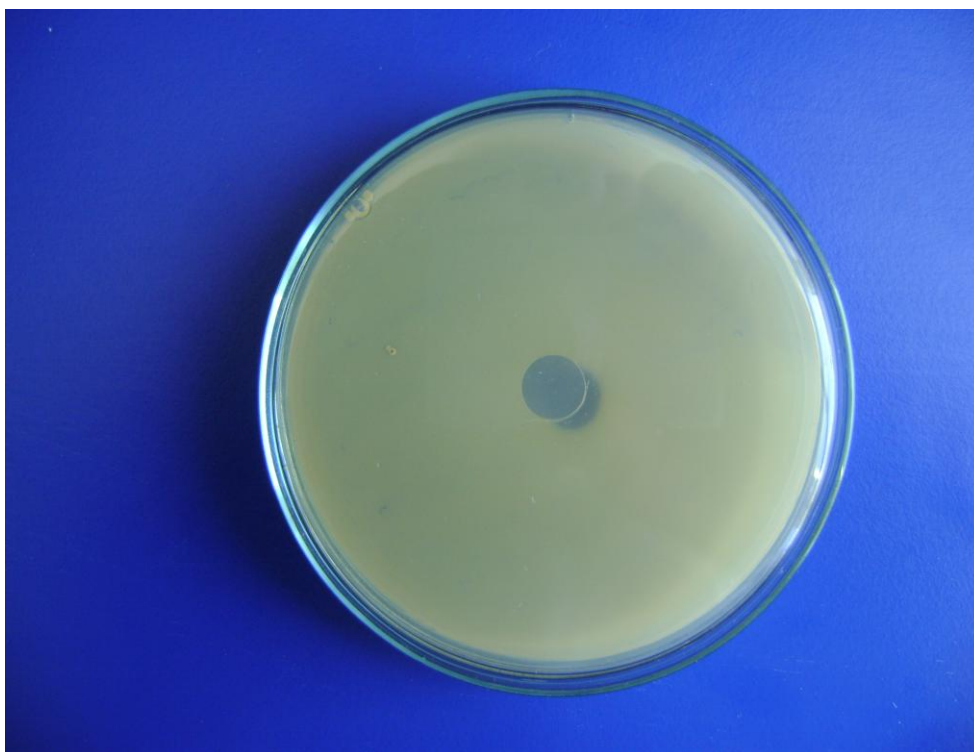
Obrázek 9: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a Esherichia coli.



Obrázek 10: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a *Esherichia coli*.



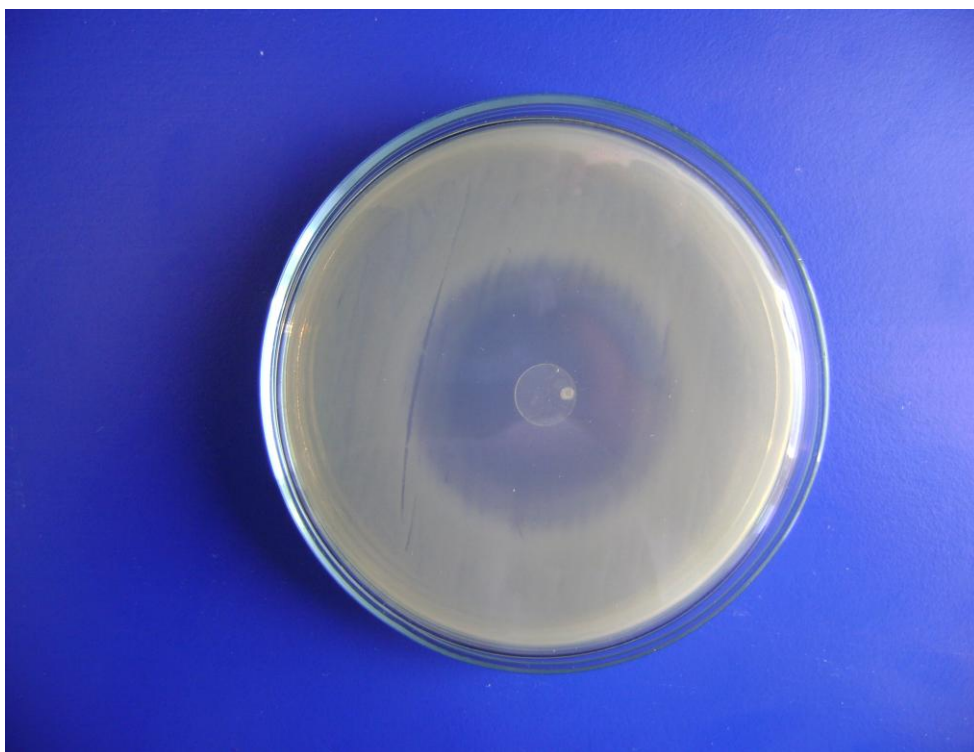
Obrázek 11: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a *Staphylococcus aureus*.



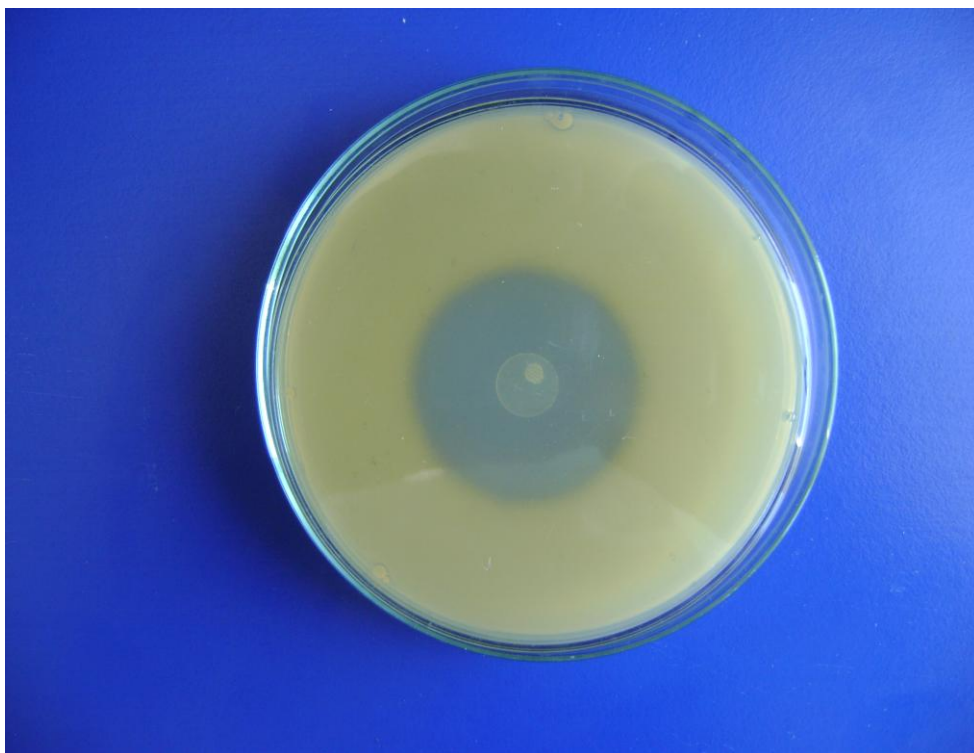
Obrázek 12: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a *Staphylococcus aureus*.



Obrázek 13: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a *Escherichia coli*



Obrázek 14: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a *Esherichia coli*.



Obrázek 15: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a *Staphylococcus aureus*.



Obrázek 16: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a *Staphylococcus aureus*.

8.2 Měření povrchové energie a kontaktního úhlu

V tabulce 16 jsou hodnoty kontaktních úhlů (mezních úhlů smáčení) pro deionizovanou vodu, ethylenglykol a diidomethan. Z uvedených hodnot plyne, že vzorek PE vykazuje hydrofobní vlastnosti a to vzhledem k tomu, že kontaktní úhel deionizované vody nabývá hodnoty přibližně 92° . Po provedení plazmové úpravy však tato hodnota poklesla na přibližně 50° . To je dáno tím, že plazmovou úpravou vytvoříme na povrchu polární funkční skupiny. Další znatelný pokles této hodnoty lze pozorovat po provedení roubování pomocí allylaminu, kdy hodnota kontaktního úhlu deionizované vody poklesla až na přibližně 20° . Po navázání Ciprofloxacinu a Norfloxacinu na tento povrch dochází opět ke zvýšení této hodnoty na přibližně 75° pro oba substráty.

V případě hodnot celkové povrchové energie (uvedených v tabulce 17) lze výsledky hodnotit tak, že z původních přibližně $37 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ tato hodnota vzroste po plazmové úpravě až na přibližně $47 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$.

Tento nárůst lze pozorovat především díky polární složce, která vzrostla z $0,33$ na $8,72 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$. Nárůst lze zaznamenat především ve složce γ^- , což indikuje přítomnost $-\text{COOH}$ a $-\text{OH}$ skupin. Tyto hodnoty odpovídají teorii i dříve naměřených výsledků.

Roubování allylamine na povrch pak má za následek další zvýšení hodnoty celkové povrchové energie, její polární složky a i složky γ^- , a to v důsledku přítomnosti aminových skupin. Navázáním Ciprofloxacinu a Norfloxacinu pak dojde ke snížení všech těchto hodnot, což taktéž indikuje povrchovou přítomnost těchto antibakteriálních činidel.

Tabulka 16: Hodnoty kontaktních úhlů pro jednotlivé vzorky (deionizovaná voda – W, ethylenglykol – E, diiodomethan – D).

Vzorek	Θ_W [°]	Θ_E [°]	Θ_D [°]
PE	92,47 ± 6,13	64,34 ± 2,46	45,79 ± 2,30
PE po plazmové úpravě	51,53 ± 20,21	44,38 ± 14,81	42,87 ± 23,73
PE po plazmové úpravě + AAM	21,01 ± 7,45	34,52 ± 14,26	47,47 ± 4,33
PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN	77,45 ± 15,45	56,56 ± 2,01	40,58 ± 2,57
PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN	72,72 ± 6,27	55,361 ± 2,39	40,41 ± 3,11

Tabulka 17: Hodnoty povrchové energie

vzorek	γ^{total} [mJ·m ⁻²]	γ^{LW} [mJ·m ⁻²]	γ^{AB} [mJ·m ⁻²]	γ^+ [mJ·m ⁻²]	γ^- [mJ·m ⁻²]
PE	36,92	36,59	0,33	0,01	2,02
PE po plazmové úpravě	46,86	38,14	8,72	0,43	44,08
PE po plazmové úpravě + AAM	50,22	35,67	14,54	0,62	84,73
PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN	42,42	39,32	3,11	0,20	11,76
PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN	44,50	39,40	5,10	0,38	17,29

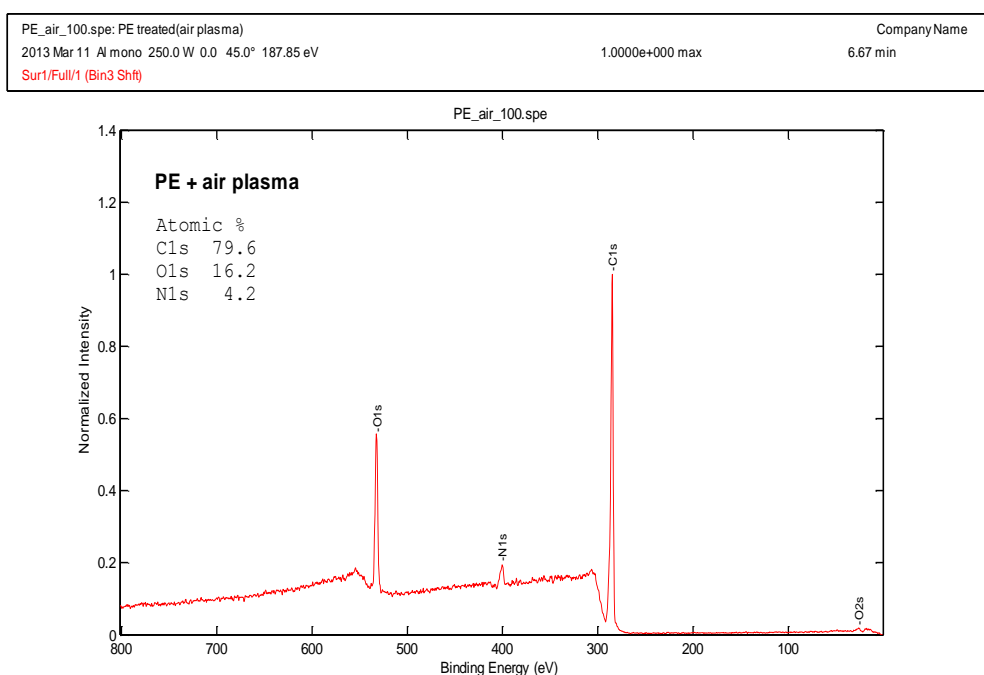
8.3 XPS – rentgenová fotoelektronová spektroskopie

V tabulce 18 je pro příslušné substráty uvedeno procentuální množství přítomnosti atomů C, N, O, F a vzájemné poměry N/C a O/C. Množství vodíku je metodou XPS neidentifikovatelné, a proto jeho zastoupení v tabulkách absentuje. Výsledky indikují, že vzorek PE obsahuje v podstatě jen C. Toto zjištění koresponduje s chemickou strukturou PE. Zanedbatelné příměsi N a O mohou být dány přítomností povrchových nečistot. Po plazmové úpravě dochází k výraznému nárůstu přítomnosti N a O důsledkem vytvoření polárních funkčních skupin. Toto má za následek i významně nižší zastoupení C v povrchové struktuře vzorku. Po následném roubování allylaminem dochází k dalšímu nárůstu přítomnosti N a zároveň k poklesu O, a v podstatě nezměněné hodnotě C. Tento výsledek nepochybně naznačuje, že dochází k účinnému navázání allylaminu na reaktivní centra vytvořené pomocí plazmové úpravy. V případě vzorků s povrchově uchyceným Norfloxacinem a Ciprofloxacinem lze pozorovat jen nepatrný pokles C a N při současném mírném nárůstu F. Pro objektivní zjištění množství navázaného antibakteriálního činidla je rozhodující obsah F v povrchové struktuře. Ten byl zaznamenán v případě obou antibiotik ovšem v případě Norfloxacinu tvořil až 1,4 %, kdežto u Ciprofloxacinu jen 0,4 %. Tento výsledek nepochybně indikuje daleko příznivější podmínky pro navázání Norfloxacinu, což je v souladu i se závěry a výsledky dříve popsány při hodnocení inhibičních zón.

Pro přibližnou představu je níže vyobrazeno XPS spektrum pro plazmově opracovaný PE.

Tabulka 18: Výsledná data - XPS rentgenová fotoelektronová spektroskopie.

vzorek	C (%)	N (%)	O (%)	F (%)	N/C	O/C
PE	98,3	0,4	1,3		0,004	0,013
PE po plazmové úpravě	79,6	4,2	16,2		0,053	0,204
PE po plazmové úpravě + AAM	81,2	6,8	12,0		0,084	0,148
PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN	77,1	6,1	16,4	0,4	0,079	0,213
PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN	76,6	5,7	16,3	1,4	0,074	0,213



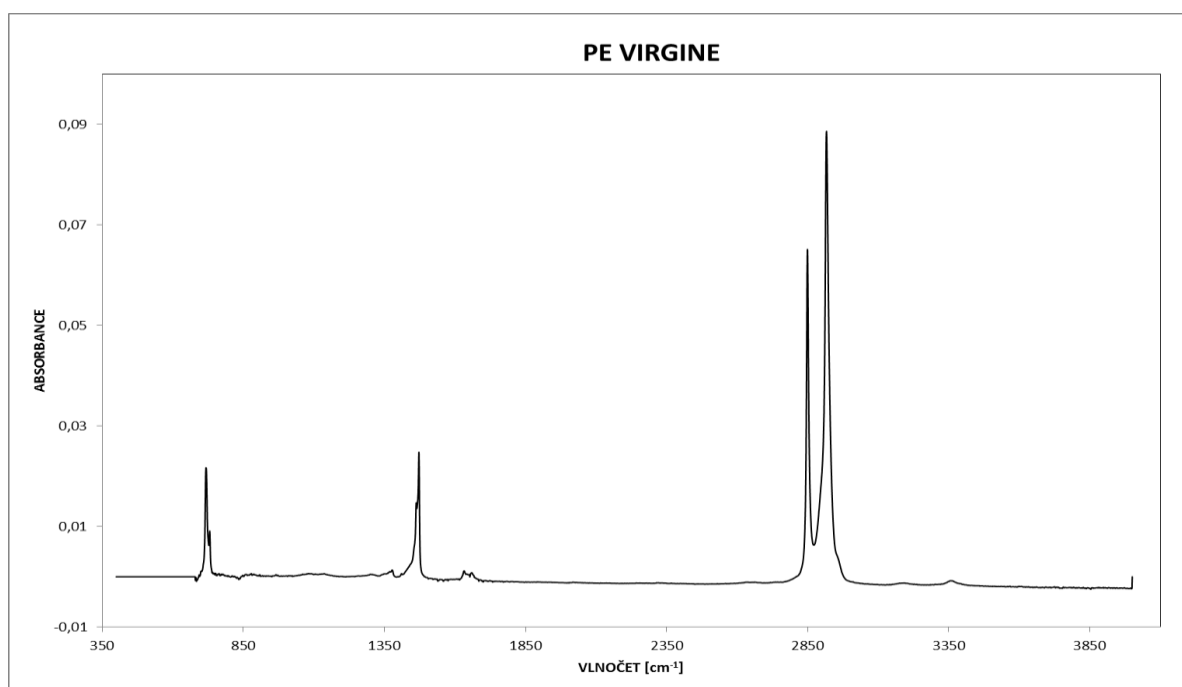
Obrázek 17: XPS spektrum plazmově opračovaného PE.

8.4 FT-IR-ATR

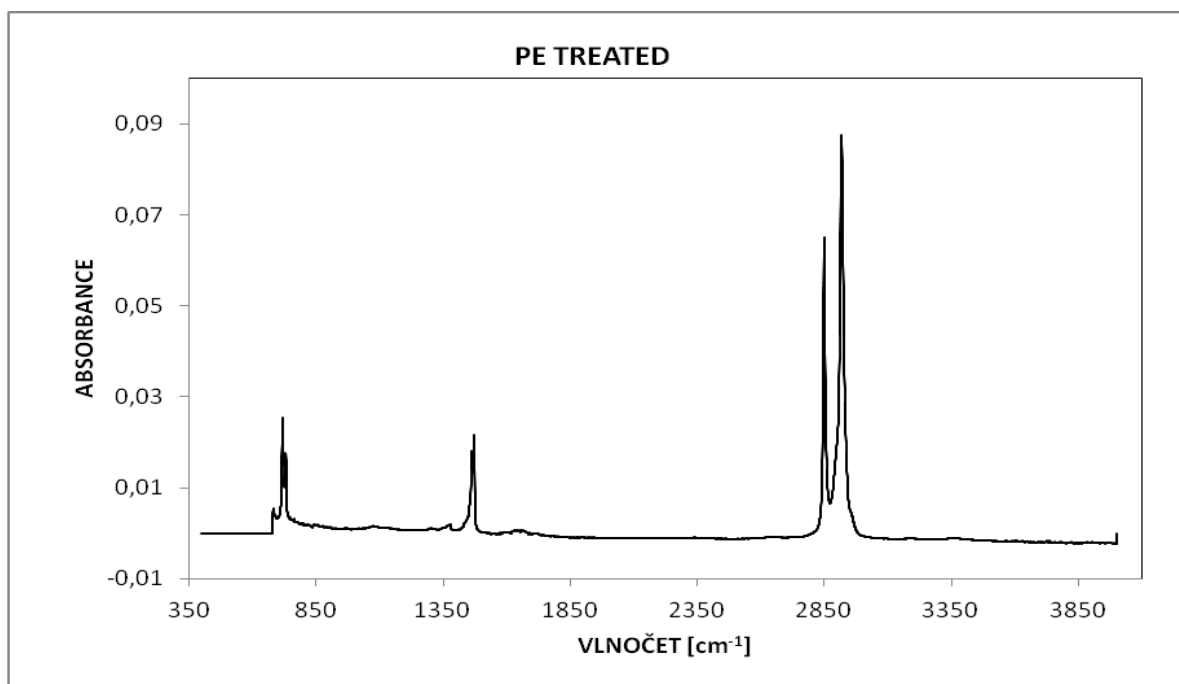
FTIR spektra jsou uvedena na obrázcích 18 – 22. Při porovnání uvedených spekter je patrné, že spektrum PE, PE po plazmové úpravě a PE po plazmové úpravě s navázaným allylaminem vykazují výrazné rozdíly. Ze spekter lze odečíst slabý signál v oblasti přibližně $3900 - 3400 \text{ cm}^{-1}$, které jsou v literatuře přiřazeny – OH vibraci [55, 56]. Dále ve spektech nalezneme dvě výrazné vibrace při hodnotách $2940 - 2800 \text{ cm}^{-1}$, které jsou typické pro C-H vibraci. Ve spektru lze odečíst taktéž téměř nezatelný signál při 2326 cm^{-1} , který odpovídá vibraci CO_3 , který pochází zřejmě z atmosféry. Slabý pík v oblasti $1477 - 1385 \text{ cm}^{-1}$ náleží vibraci O-OH. Signál v rozsahu vlnočtu $1384 - 1310 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá C-H vibraci. Další dva výrazné signály odpovídají CH vibraci při vlnočtu 718 cm^{-1} a CH_2 vibraci při vlnočtu 721 cm^{-1} . U spektra vzorku s Ciprofloxacinem lze nalézt odlišnosti v oblasti $800 - 1400 \text{ cm}^{-1}$. Tyto odlišnosti jsou však natolik nevýrazné, že je lze jen stěží přiřadit k příslušným vibracím. Taktéž uvedené semi-kvantitativně naznačuje, že v souladu se zjištěními z XPS nelze hovořit o výrazné přítomnosti tohoto antibiotika v povrchové struktuře. Zcela odlišná situace nastává u vzorku s povrchově navázaným Norfloxacinem. Zde lze ze spektra odečíst –OH vibrace při vlnočtech $3550 - 3500 \text{ cm}^{-1}$, dále nevýraznou vibraci iminové skupiny v rozsahu vlnočtů $3500 - 3300 \text{ cm}^{-1}$. Aromatický

cyklus tohoto antibiotika lze detekovat při vlnočtech $3000 - 2950 \text{ cm}^{-1}$. Další píky v rozmezí $2750 - 2700 \text{ cm}^{-1}$ odpovídají ethylové skupině substituované v molekule. Při vlnočtu 2500 cm^{-1} pak jde o vibraci OH skupiny v karboxylu a při vlnočtu 1700 cm^{-1} jde o karbonylovou skupinu karboxylu. Další skupina výrazných píků zahrnuje při srovnání s literaturou [66] především iminovou skupinu v oblasti $1650 - 1600 \text{ cm}^{-1}$. Signál při $1500 - 1450 \text{ cm}^{-1}$ indikující O-C-O skupinu z karboxylu. Signál $1300-1250 \text{ cm}^{-1}$ znamená OH vibraci a $1050 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ indikuje vibraci vazby C-F. Dále pak následuje signál iminů v oblasti $950 - 900 \text{ cm}^{-1}$ a v oblasti 800 cm^{-1} lze detekovat vibraci vazby mezi aromatickými uhlíky a příslušnými vodíky.

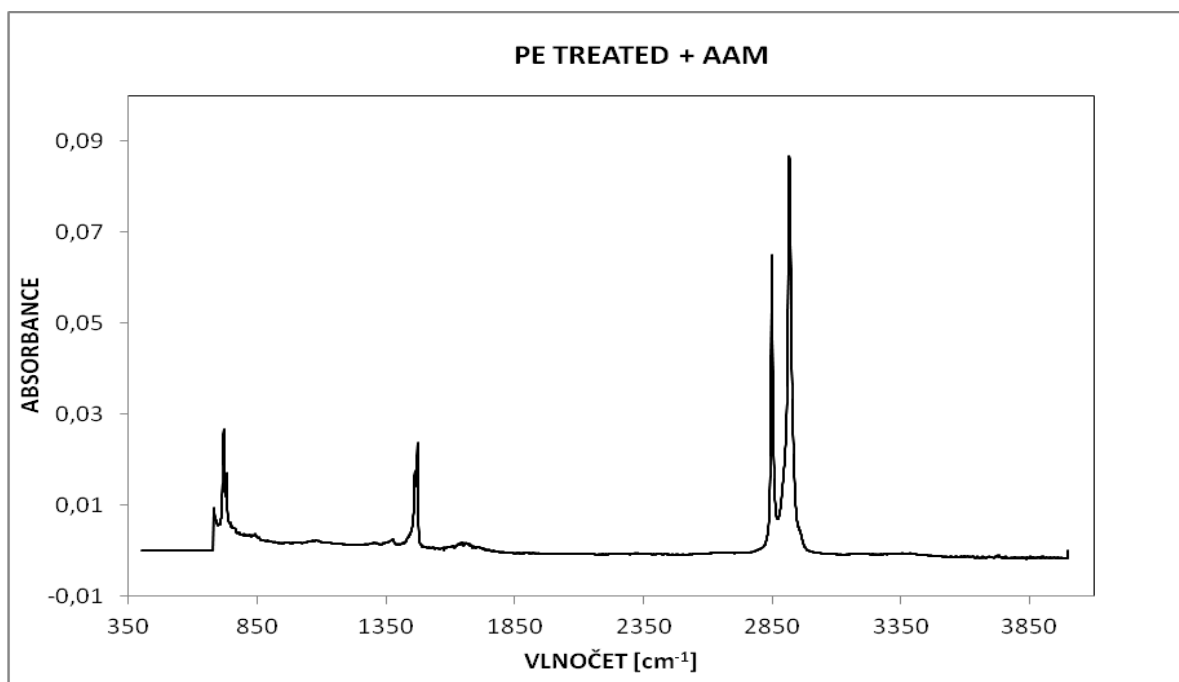
Tyto výsledky jsou opět ve shodě s předchozími zjištěními.



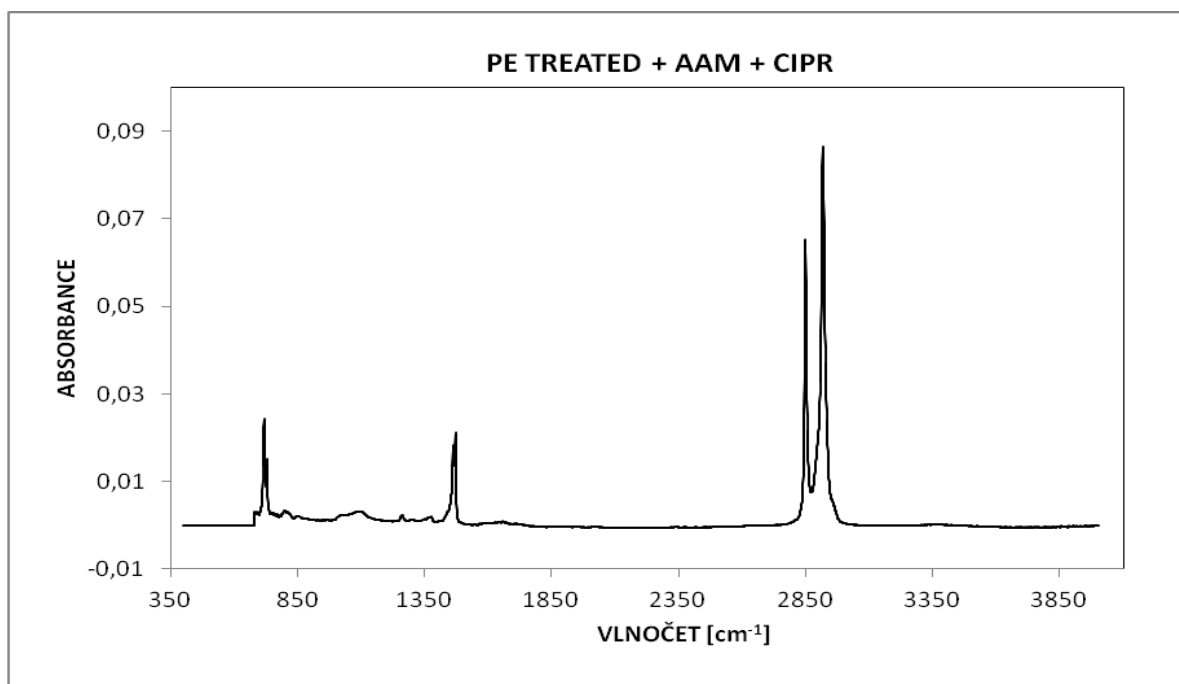
Obrázek 18: Spektrum vzorku PE.



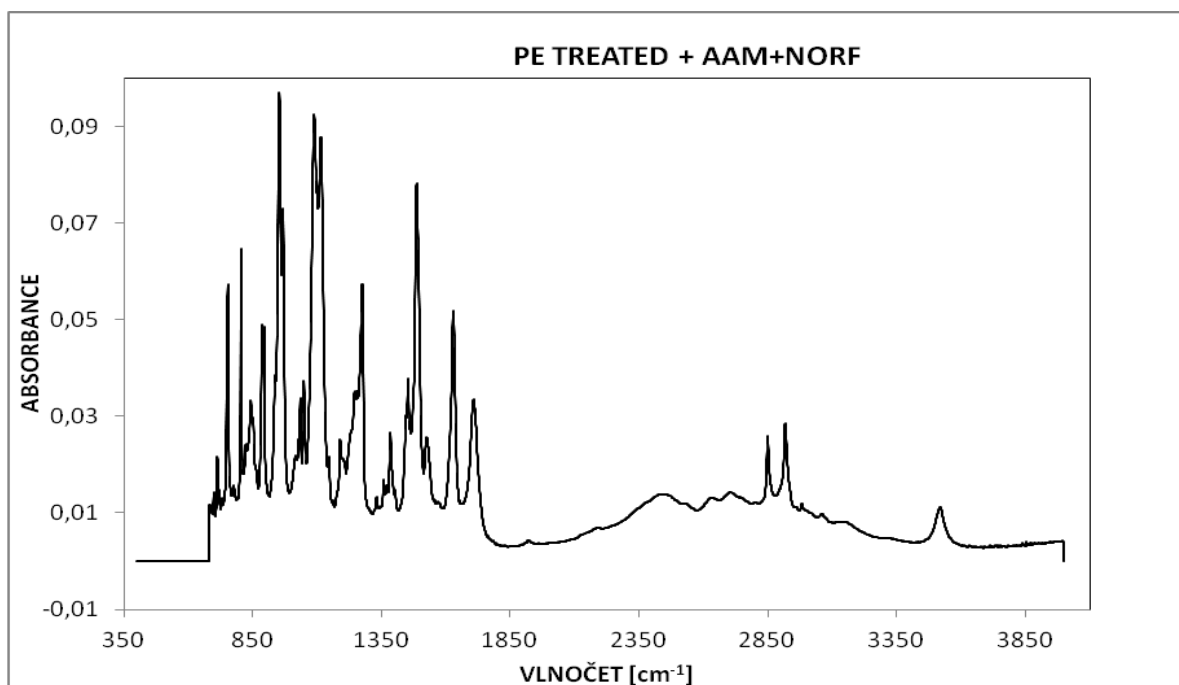
Obrázek 19: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě.



Obrázek 20: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě + AAM.



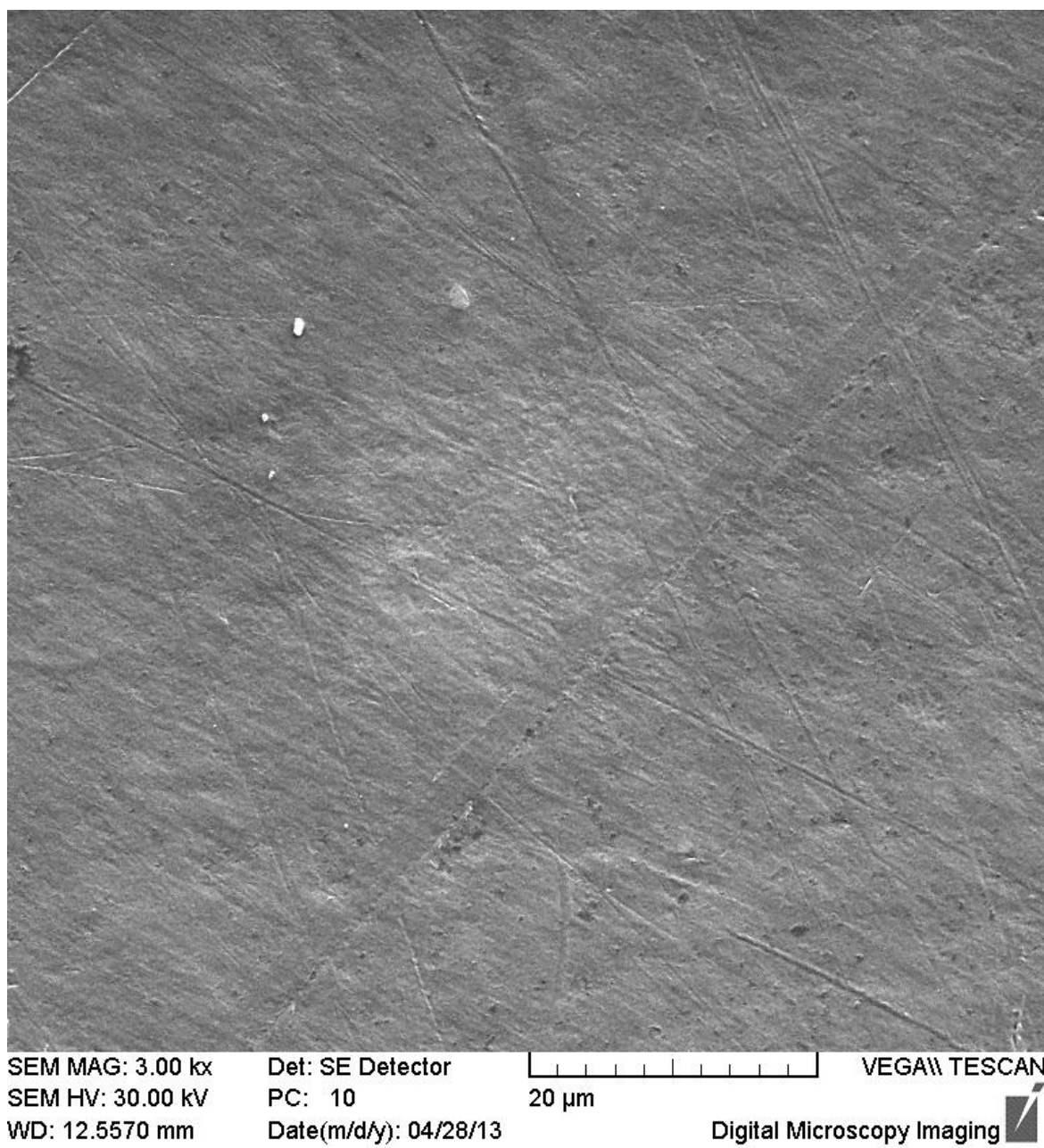
Obrázek 21: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN



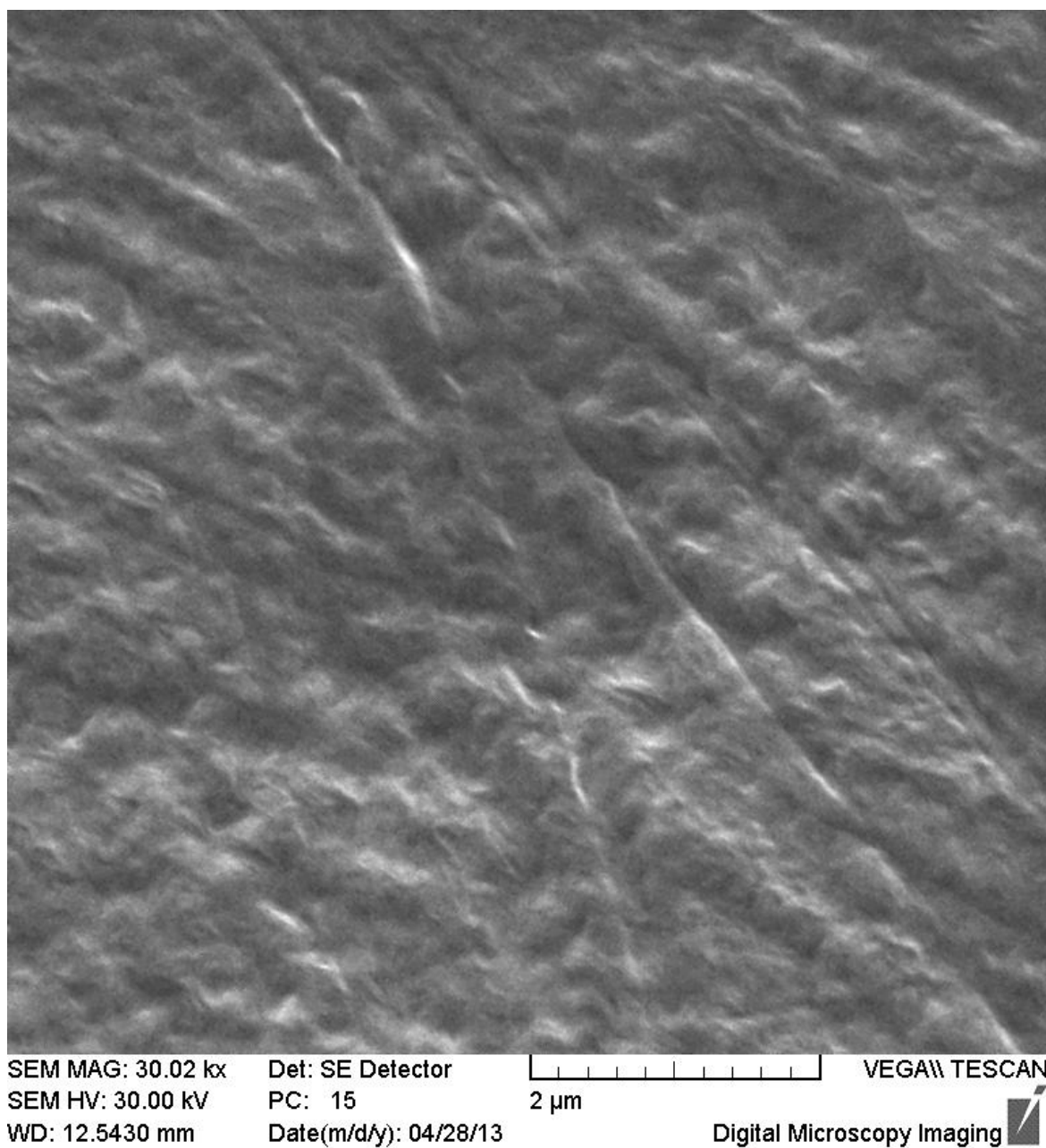
Obrázek 22: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN.

8.5 SEM rastrovací elektronová mikroskopie

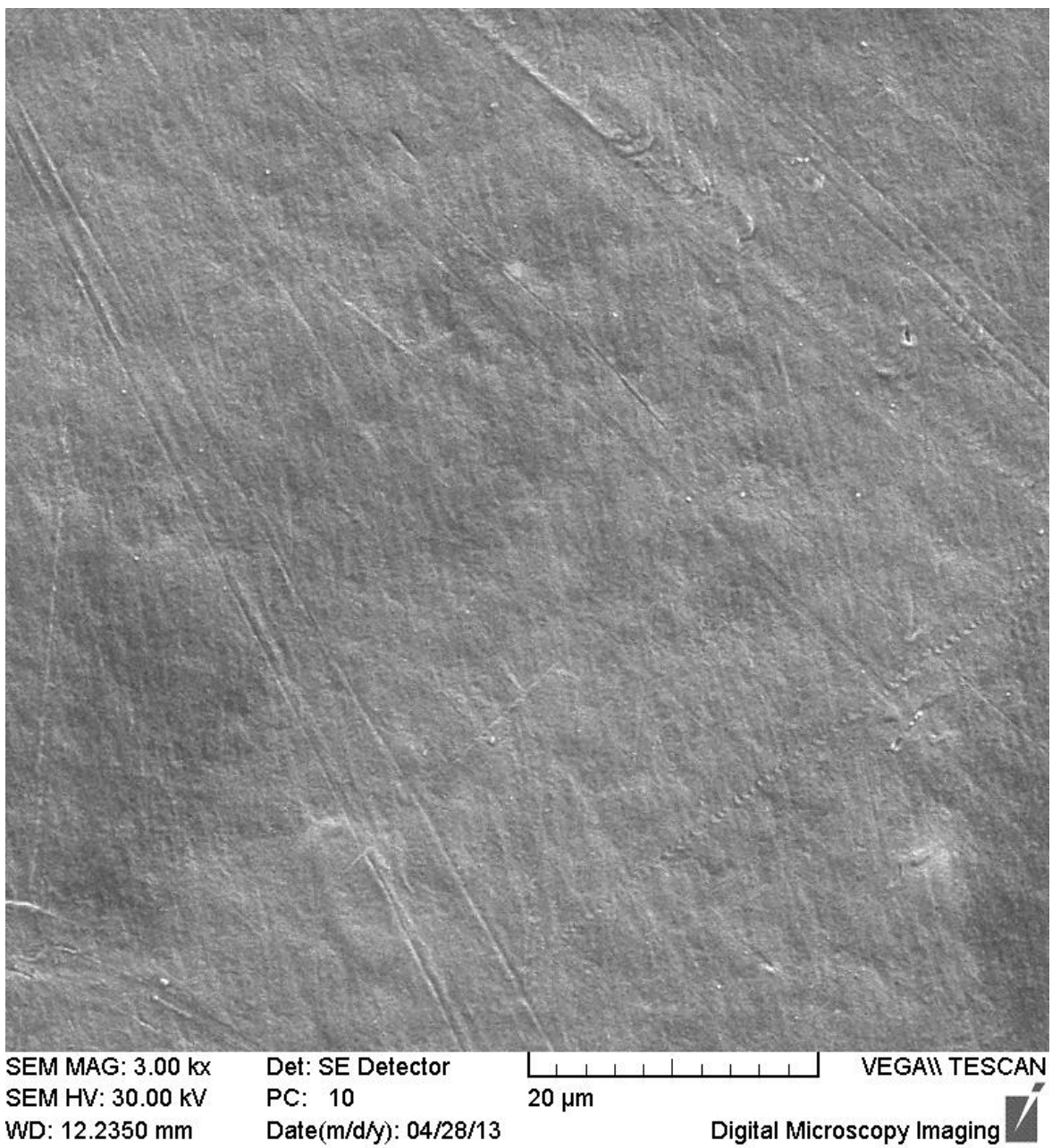
Snímky z rastrovací elektronové mikroskopie pro jednotlivé vzorky jsou znázorněny na obrázcích 23 – 32 vždy tak, že nejprve je uveden celkový náhled při zvětšení $3\,000\times$ a dále podrobnější povrchová struktura při zvětšení $30\,000\times$. Z těchto obrázků je zřejmé, že povrchová morfologie PE je relativně hladká, pouze jsou zde zřetelné obtisky strojů, které vznikly při zpracování PE folie. U vzorků PE po plazmové úpravě dochází vizuálně k poměrně výraznému nárůstu povrchové drsnosti, což je známý jev, který vzniká v důsledku plazmové úpravy. Při srovnání dalších snímků, tedy PE po plazmové úpravě s allylaminem, PE po plazmové úpravě AAM Ciprofloxacinem a PE po plazmové úpravě AAM a Norfloxacinem již nelze hovořit o výrazných odlišnostech.



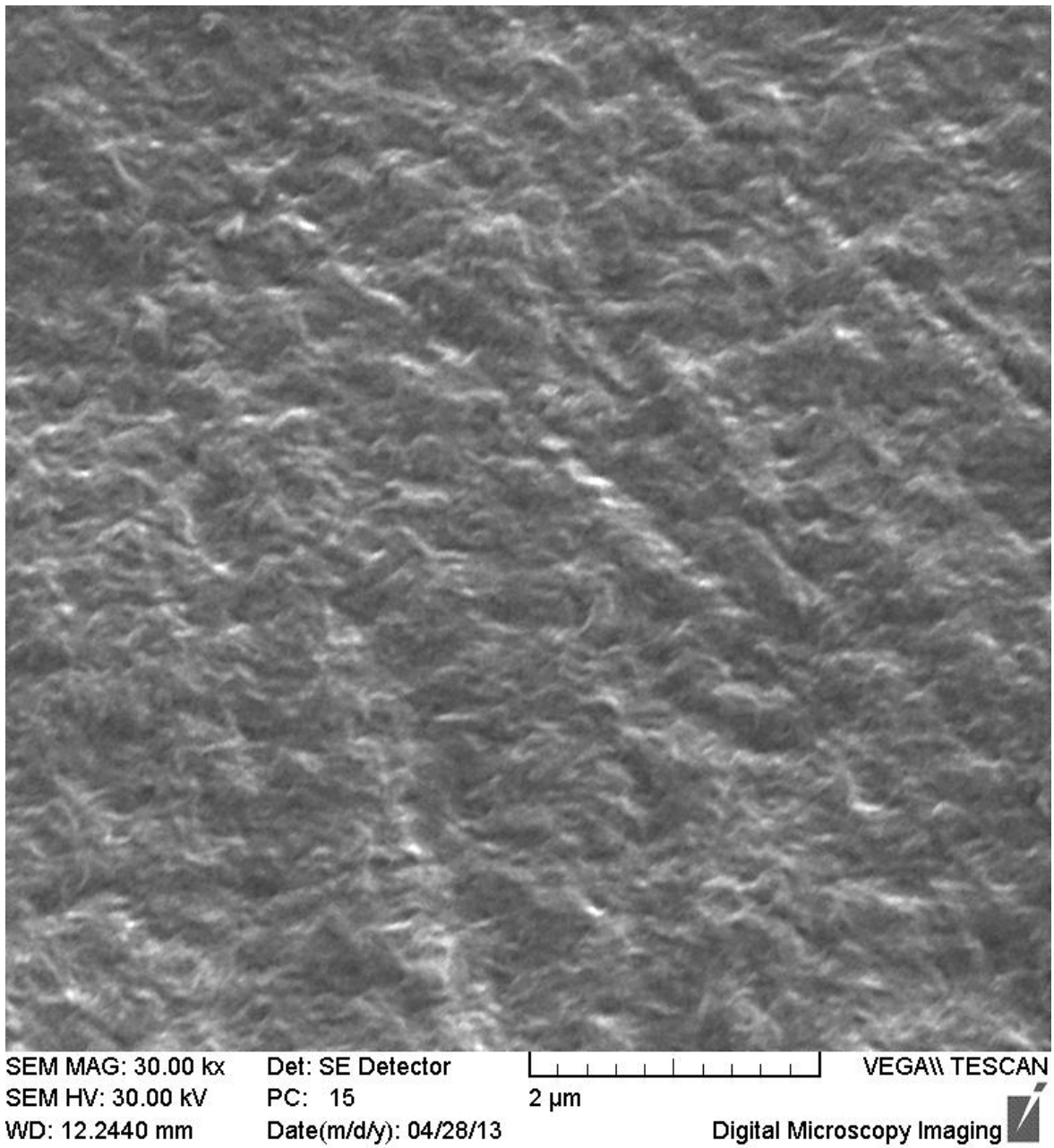
Obrázek 23: SEM – vzorek PE 3 000 × zvětšeno.



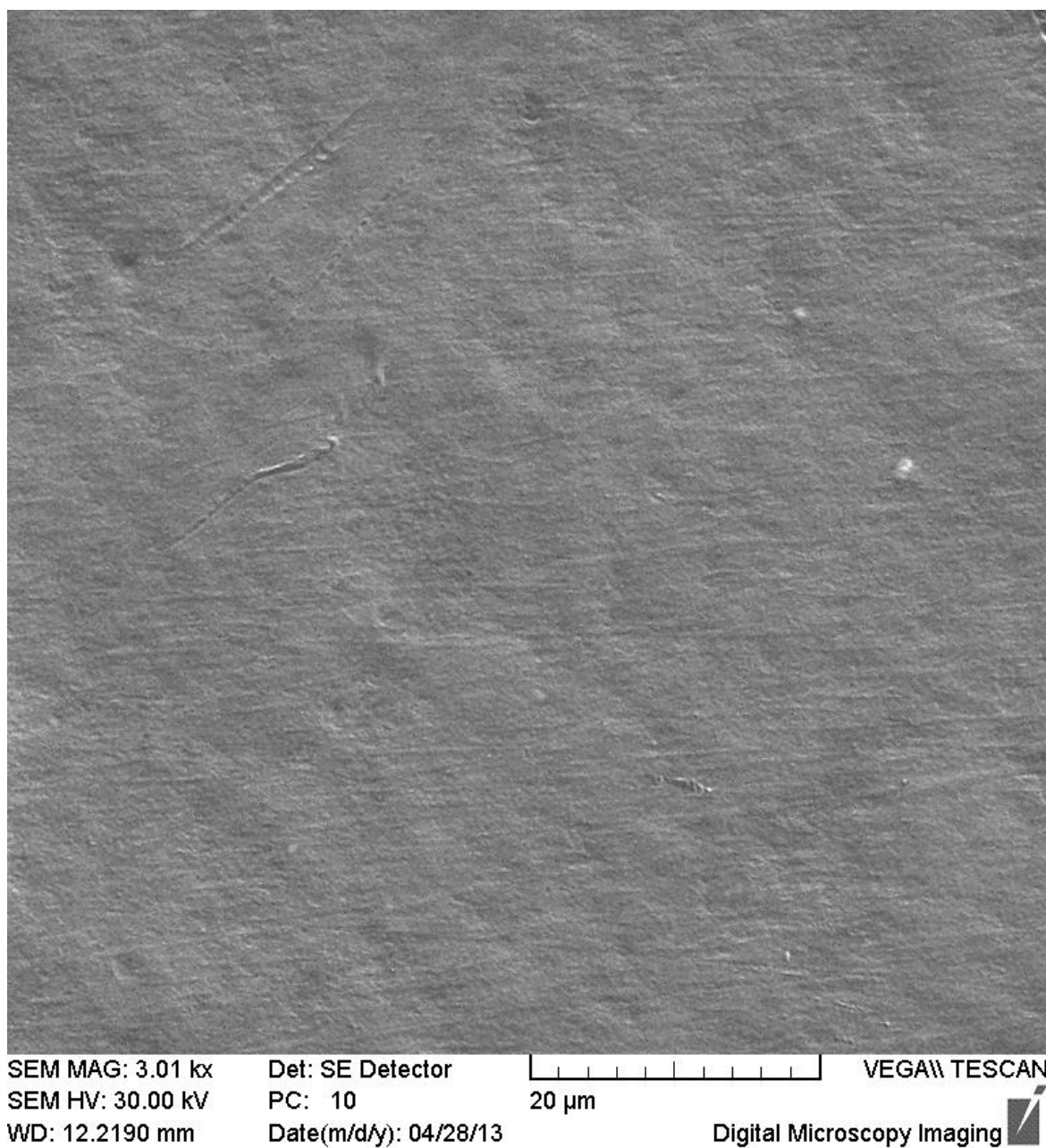
Obrázek 24: SEM – vzorek PE 30 000 × zvětšeno.



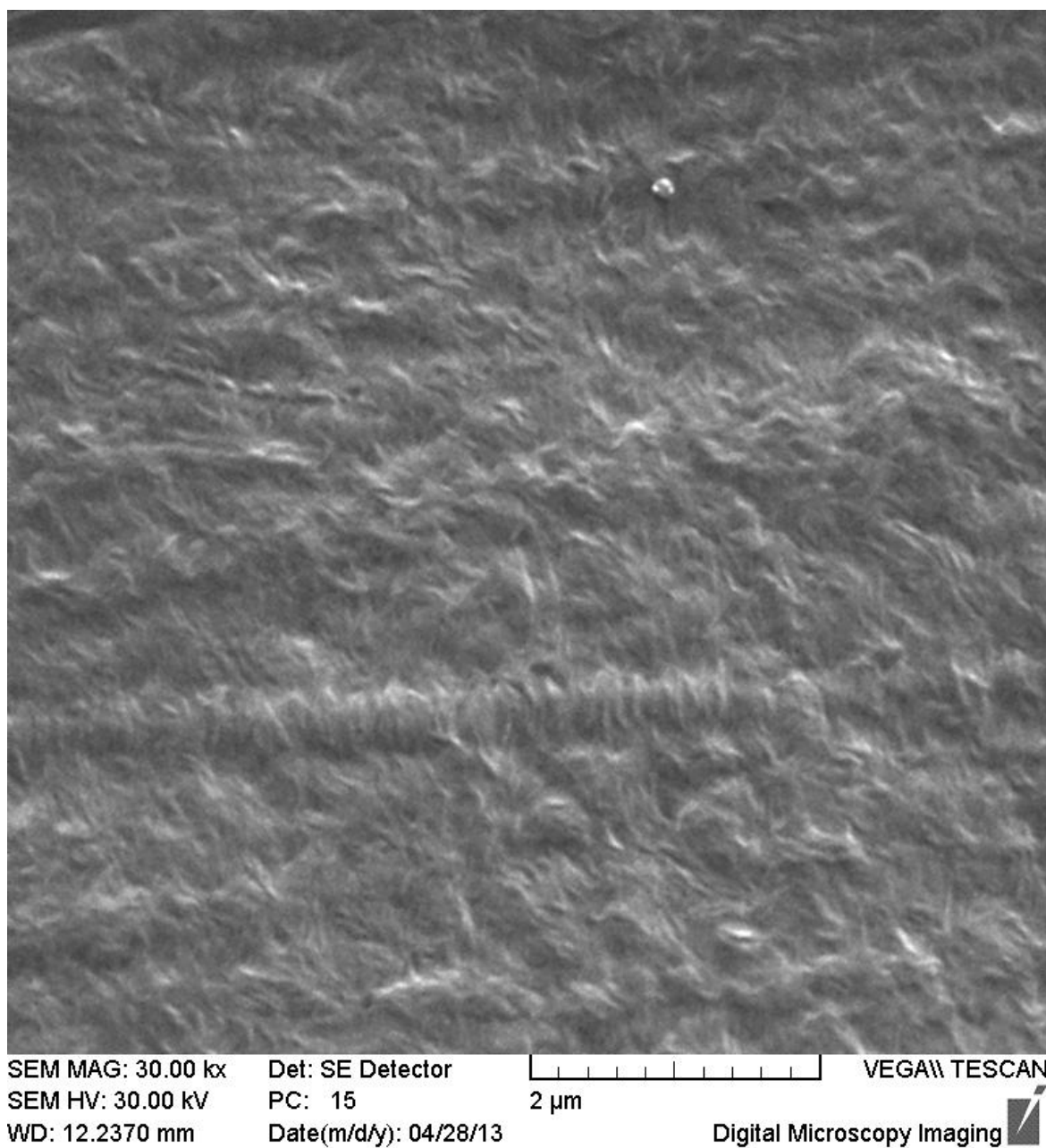
Obrázek 25: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě 3 000 × zvětšeno.



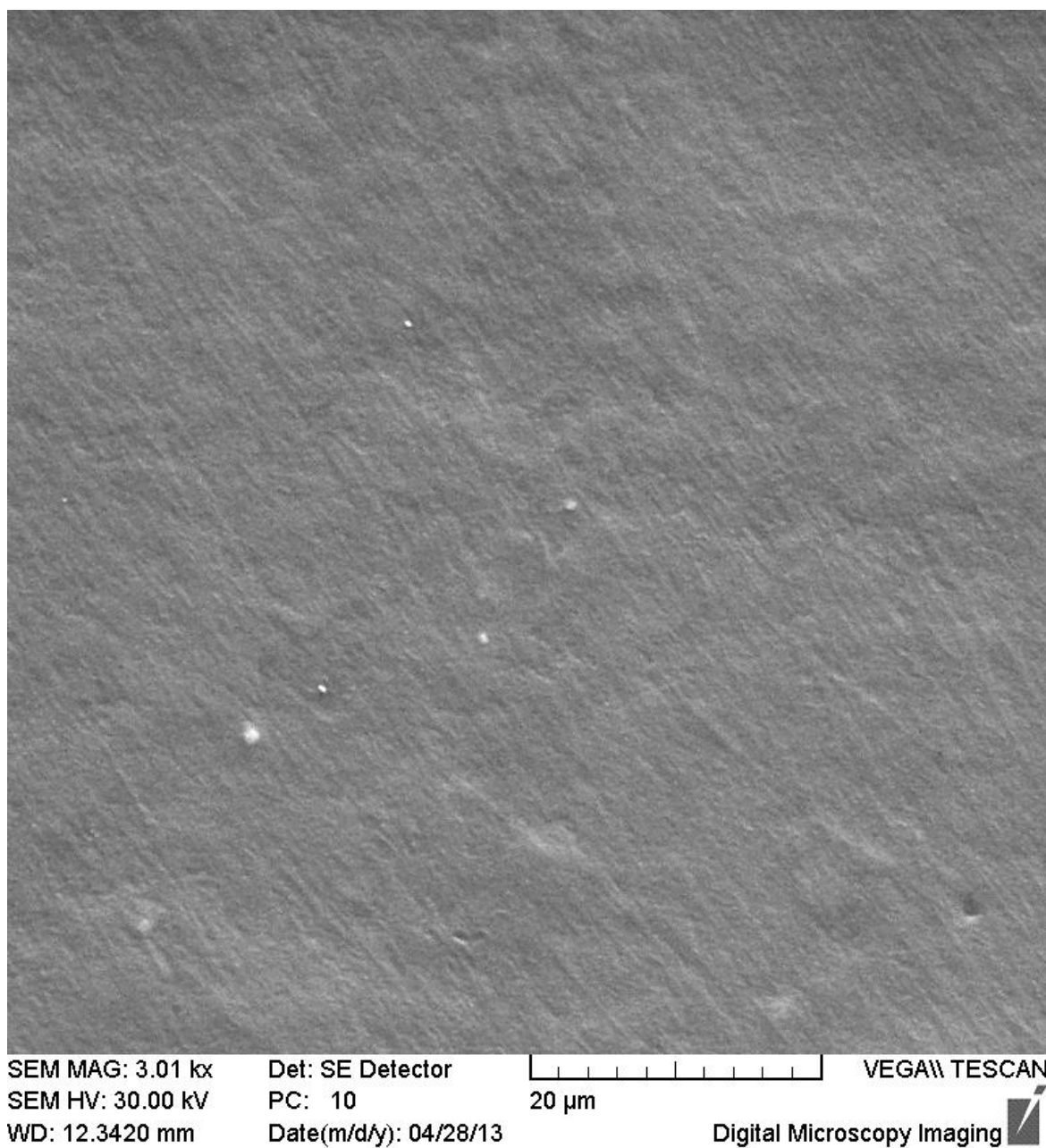
Obrázek 26: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě 30 000 × zvětšeno.



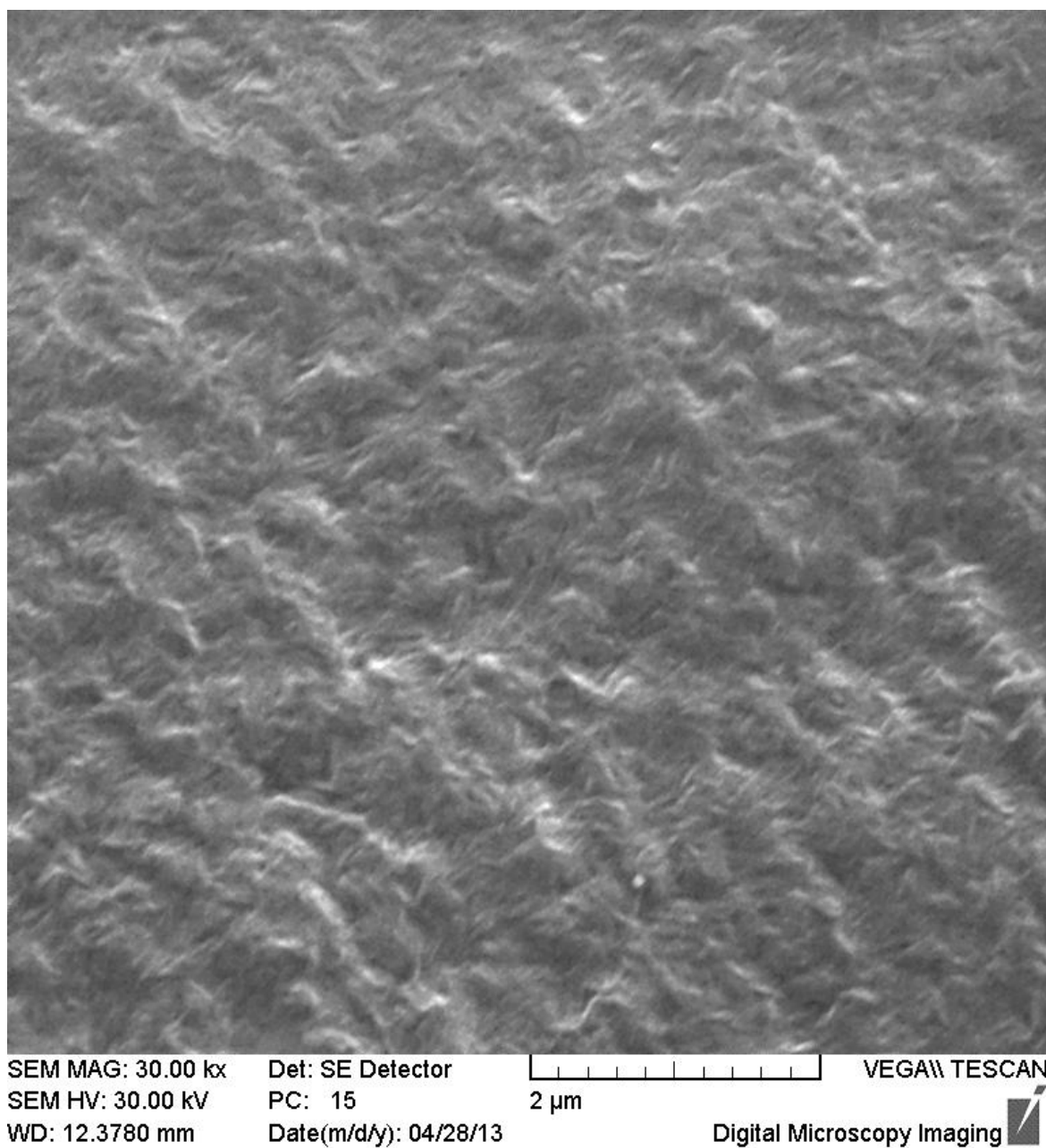
Obrázek 27: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM 3 000 × zvětšeno.



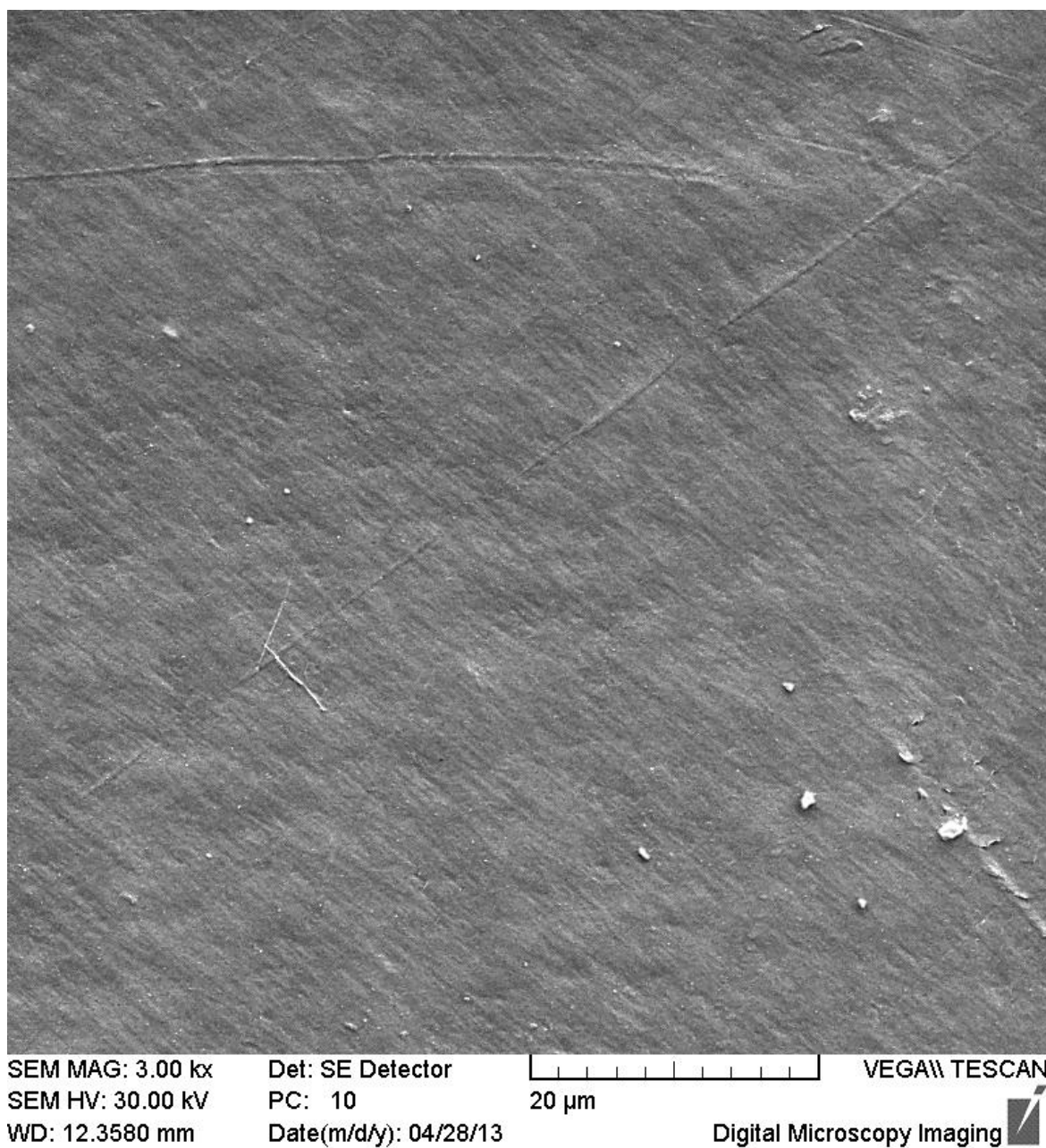
Obrázek 28: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM 30 000 × zvětšeno.



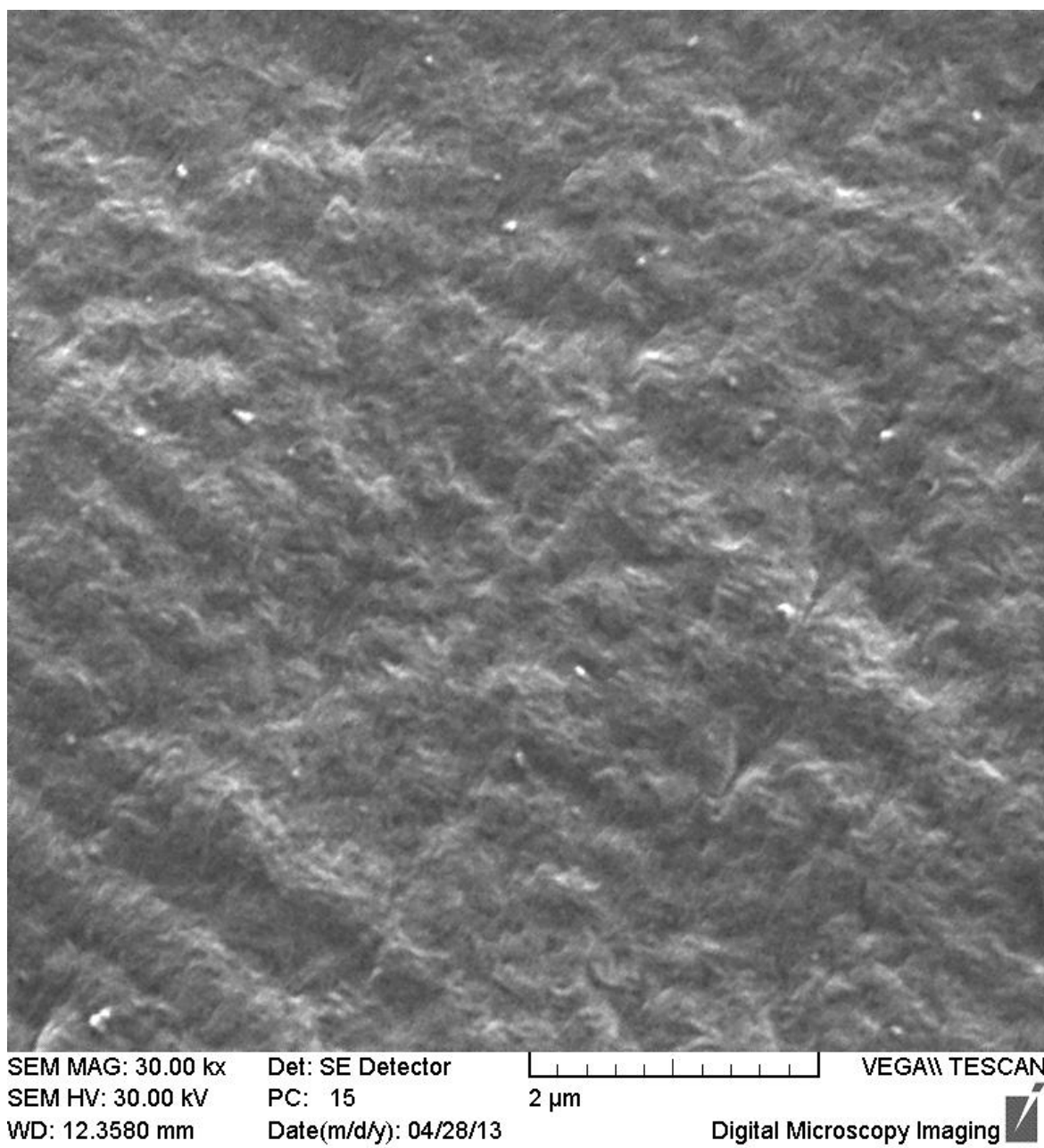
Obrázek 29: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN
3 000 × zvětšeno



Obrázek 30: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN
30 000 × zvětšeno.



Obrázek 31: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN
3 000 × zvětšeno.



Obrázek 32: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN
30 000 × zvětšeno.

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo připravit vzorek na bázi polyethylenu (PE), který by vykazoval antibakteriální vlastnosti. Zvolený substrát byl popsán způsobem povrchově očištěn a následně byl vystaven účinkům nízkoteplotního plazmatu, ve kterém došlo k tvorbě reaktivních povrchových skupin způsobilých pro iniciaci reakce vedoucí k povrchovému roubování allylaminu. Takto připravené vzorky byly použity pro navázání antibakteriálních látek Norfloxacinu a Ciprofloxacinu z roztoku. Všechny tyto vzorky byly charakterizovány pomocí analytických metod a byla také charakterizována jejich bakteriální účinnost.

Výsledky antibakteriálních testů prokázaly zejména vysokou účinnost vzorků, na který byl vázán Norfloxacin, a to pro gram-pozitivní i gram-negativní bakterie. Čistý PE, PE opracovaný v plazmatu a PE opracovaný v plazmatu s allylaminem nevykazovaly podle očekávání žádný antibakteriální efekt.

Z hodnot naměřených kontaktních úhlů a výsledných vypočtených hodnot povrchové energie vyšlo podle předpokladů najevo, že u čistého PE je hodnota nejnižší. Toto zjištění reflektuje přirozenou hydrofobitu PE. Jakákoliv další operace s tímto substrátem hodnotu povrchové energie zvýšila, zejména úprava v plazmatu, roubování allylaminem, poté došlo k mírnému poklesu v důsledku přítomnosti antibakteriálních látek.

Měřením XPS spekter došlo k relativně přesné kvalifikaci přítomnosti jednotlivých prvků v povrchové struktuře a dále byl popsán účinek nízkoteplotního plazmatu a roubování allylaminu na množství sledovaných prvků. Největšího významu však tato pozorování přinesla v podobě detekce množství F, kdy vyšlo najevo, že množství Norfloxacinu v povrchové struktuře je přibližně $3,5 \times$ vyšší než v případě Ciprofloxacinu.

Při pozorování ATR-FTIR spekter nebyly zaznamenány významnější odchylky, až na vzorek obsahující Norfloxacin. Jeho spektrum odpovídalo literatuře a zároveň znamená na rozdíl od Ciprofloxacinu, při zohlednění velikosti signálů, i výraznější zastoupení v povrchové struktuře.

Metoda rastrovací mikroskopie byla použita pro pozorování povrchové morfologie vzorků a podle předpokladů bylo zjištěno, že původně relativně hladký povrch se vlivem plazmové úpravy změní tak, že dojde k nárůstu jeho drsnosti, která se během následných úprav již nemění.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Česká republika. Zákon o obalech: o obalech a o změně některých zákonů. In: *Sbírka 477/2001*. 2001.
- [2] Česká republika. Zákon o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka 110/1997 ve znění 281/2009*. 2009.
- [3] Česká republika. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví o hygienických požadavcích na výroby určené pro styk s potravinami a pokrmů. In: *Sbírka 38/2001. Poslední změna 111/2011*. 2011.
- [4] DOBIÁŠ, Jaroslav., ČURDA, Dušan. Syllabus textů k přednáškám z předmětu balení potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin a technologie masa, 2004.
- [5] MARSH, KENNETH a BETTY BUGUSU. Food Packaging—Roles, Materials,. *Journal of Food Science: a Publication of the Institute of Food Technologists*. Chicago: Institute of Food Technologists, 2007, č. 72, s. 39-55. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x.
- [6] SOSNOVCOVÁ, Jitka. Informace vědeckého výboru pro potraviny ve věci: Aktivní a inteligentní obalové systémy pro balení potravin. Brno: Státní zdravotní ústav, *Vědecký výbor pro potraviny*, 2008. 15 s, neklasifikovaný dokument.
- [7] JOHANSSON, C. *Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging: Functional barriers against migration for food*. 2011. vyd. Sweden: Woodhead Publishing, 2011, s. 316-344. ISBN 978-1-61344-365-1.
- [8] KIRWAN, Mark J. a John W. STRAWBRIDGE. *Food Packaging Technology: Plastics in food packaging*. Coles, Richard; McDowell, Derek; Kirwan. 2003, 346 s. ISBN 978-1-84127-221-4.
- [9] ARVANITOYANNIS, Ioannis S. a Alexandros Ch. STRATAKOS. Application of Modified Atmosphere Packaging and Active/Smart Technologies to Red Meat and Poultry: A Review. *FOOD AND BIOPROCESS TECHNOLOGY*. NEW YORK: SPRINGER, 2012, roč. 5, č. 5, 1423–1446. DOI: DOI 10.1007/s11947-012-0803-z
- [10] KADLEC, Pavel et al. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Obecné zásady výroby potravin*. Ostrava-Prívov: KEY PubliShing, 2009, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.

- [11] DOBIÁŠ, Jaroslav. Současný stav využívání aktivních systémů balení při výrobě potravin (I). *Packaging: Obal a věda*. Praha: Richtr & Co., spol. s r.o., 2003, č. 36, s. 14-15. ISSN 1211-9202.
- [12] OBRUČA, Stanislav. Inteligentní a aktivní obaly. *In Trend marketing*, 2008.
- [13] BRODY, Aaron L., Betty BUGUSU, Jung H. HAN, Claire Koelsch SAND a Tara H. MCHUGH. Innovative Food Packaging Solutions Scientific Status Summary. *Journal of Food Science*. 2008, roč. 73, č. 8, DOI: 10.1111/j.1750-3841.2008.00933.x.
- [14] SULOVSÁ, Kateřina. *Antibakteriální vlastnosti obalových materiálů v potravinářství*. Zlín, 2011. Diplomová práce. UTB Zlín. Vedoucí práce doc Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
- [15] PARISI, Salvatore. *Food Packaging and Food Alterations - The User-Oriented Approach: Chemistry and Technology of Packaging*. London: Smithers Rapra, 2012, 398 s. ISBN 978-1-84735-606-2
- [16] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 3., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2011. ISBN 978-807-0807-880
- [17] MLEZIVA, Josef. *Polymery - výroba, struktura, vlastnosti a použití: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. 2. přepr. vyd. Praha: Sobotáles, 2000, 537 s. ISBN 80-859-2072-7
- [18] Prostorová struktura polyethylenu. *Wikipedia, the free encyclopedia* [online]. [cit. 2013-03-25]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Ethylene-3D-vdW.png>
- [19] MALPASS, Dennis B. *Introduction to Industrial Polyethylene - Properties, Catalysts, and Processes: Introduction to Polymers of Ethylene*. 2010, 147 s. ISBN 978-1-61344-182-4.
- [20] KURTZ, Steven M. *UHMWPE Biomaterials Handbook - Ultra-High Molecular Weight Polyethylene in Total Joint Replacement and Medical Devices (2nd Edition)*. 2. vyd. Kurtz, Steven M. 2010, 588 s. ISBN 978-0-08-088444-8.
- [21] POPELKA, Anton et al. Anti-bacterial Treatment of Polyethylene by Cold Plasma for. *MOLECULES*. 2012, roč. 17, č. 1, s. 762-785. DOI: 10.3390, ISSN 1420-3049
- [22] CHU, PK et al. Plasma-surface modification of biomaterials. *MATERIALS SCIENCE & ENGINEERING R-REPORTS*. 2002, roč. 36, 5-6, s. 143-206. DOI: 10.1016/S0927-796X(02)00004-9.

- [23] BÍLEK, František. *Příprava bioaktivních povrchů pomocí fyzikálně-chemických metod a jejich aplikace*. Zlín, 2006. Bakalářská. UTB Zlín. Vedoucí práce Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
- [24] CHAN C. M., KO T. M., HIRAOKA H.: *Polymer surface modification by plasmas and photo-tons: Surface Science Reports* 24 (2001), pp. 1-54
- [25] JUNKAR, Ita, CVELBAR Uros a LEHOCKÝ Marián. PLASMA TREATMENT OF BIOMEDICAL MATERIALS. *MATERIALI IN TEHNOLOGIJE*. 2011, roč. 45, č. 3, s. 221-226. ISSN: 1580-2949
- [26] ASADINEZHAD, Ahmad, Igor NOVÁK, Marián LEHOCKÝ, Vladimír SEDLAŘÍK, Alenka VESEL, Ita JUNKAR, Petr SÁHA a Ivan CHODÁK. A Physicochemical Approach to Render Antibacterial Surfaces on Plasma-Treated Medical-Grade PVC: Irganon Coating. *Plasma Processes and Polymers*. 2010-06-22, vol. 7, issue 6, s. 504-514. DOI: 10.1002/ppap.200900132
- [27] ASADINEZHAD, Ahmad, Igor NOVÁK, Marián LEHOCKÝ, Vladimír SEDLAŘÍK, Alenka VESEL, Ita JUNKAR, Petr SÁHA a Ivan CHODÁK. An in vitro bacterial adhesion assessment of surface-modified medical-grade PVC. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010, vol. 77, issue 2, s. 246-256. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.02.006
- [28] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. 1. vyd. Praha: VICTORIA PUBLISHING, 1995. ISBN 80-856-0571-6.
- [29] FRITZ, H. a M. D. KAYSER. *Medical Microbiology*. 9. vyd. Germany: Georg Thieme Verlag, 2005. ISBN 1-58890-245-5
- [30] BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.
- [31] SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-802-4731-704.
- [32] *Taxonomické zařazení: Escherichia coli*. [online]. [cit. 2013-03-25] Dostupné z <http://www.bacterio.cict.fr/e/escherichia.html>
- [33] KAPER, J. B., NATARO, J. P., MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*, *Nature Reviews Microbiology*, sv. 2, 2004, 123-140 s.
- [34] Obrázek bakterie *Escherichia coli*. [online]. [cit. 2013-03-25] Dostupné z:

- <http://io9.com/5877774/bugs-from-your-colon-could-produce-the-worlds-next->
- [35] *Taxonomické zařazení: Staphylococcus aureus*. [online]. [cit. 2013-03-25] Dostupné z <http://www.bacterio.cict.fr/allnamesz.html>
- [36] BAER, Arica A., Michael J. MILLER a Anna C. DILGER. Pathogens of Interest to the Pork Industry: A Review of Research on Interventions to Assure Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2013, vol. 12, issue 2, s. 183-217. DOI: 10.1111/1541-4337.12001.
- [37] NABER, Christoph K. Staphylococcus aureus Bacteremia: Epidemiology, Pathophysiology, and Management Strategies. *Clinical Infectious Diseases*. 2009-05-15, vol. 48, s4, S231-S237. DOI: 10.1086/598189.
- [38] Obrázek bakterie *Staphylococcus aureus*. [online]. [cit. 2013-03-25] Dostupné z: <http://io9.com/5877774/bugs-from-your-colon-could-produce-the-worlds-next->
- [39] LOCHMANN, Otto. *Základy antimikrobní terapie*. Triton, 1994, 175 s. ISBN 80-858-7505-5.
- [40] LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Martin WEHLING. *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0836-1.
- [41] KÜMMERER, K.: Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*. 2009, vol. 75, p.
- [42] LOCHMANN, Otto. *Antimikrobní terapie v praxi*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2006, 204 s. ISBN 80-725-4826-3.
- [43] DVOŘÁKOVÁ, Petra. *VYUŽITÍ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE PRO STANOVENÍ REZIUIV LÉČIV*. Brno, 2012. Dizertační. VUT Brno. Vedoucí práce prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.
- [44] NEWSOM, S. W. B. The antimicrobial spectrum of norfloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1984-01-01, vol. 13, suppl B, s. 25-31. DOI: 10.1093/jac/13.suppl_B.25
- [45] PŘÍBORSKÝ, Jan. *Chinolony: farmakologie a klinická farmakologie*. 1. vyd. Praha: MAXDORF-JESSENIUS, 2000. ISBN 80-859-1216-3

- [46] SLINTÁKOVÁ, Lucie. *Chinolin-4-ony se známými biologickými účinky*. Zlín, 2009. Bakalářská. UTB Zlín. Vedoucí práce doc. Ing. Stanislav Kafka CSc.
- [47] KHAN, Asad U. *Current trends in antibiotic resistance in infectious diseases*. New Delhi: I.K. International Pub. House, 2009. ISBN 978-938-0026-701
- [48] VYDRŽALOVÁ, Markéta. *Citlivost Mycoplasma hominis na antibiotika a přírodní látky*. Brno, 2010. Rigorózní práce. Masarykova univerzita
- [49] BECERRIL R, GÓMEZ-LUS R, GOÑI P, LÓPEZ P, NERÍN C.: Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon or oregano against E. coli and S. aureus., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007 vol. 388, no. 5–6, s. 1003-1011.
- [50] SAIHI, D., EL-ACHARI, A., VROMAN, I., PERICHAUD, A., Antibacterial activity of Modified Polyamide Fibers, *J. Appl. Polym. Sci*, 2005, 98, 997-1000
- [51] Obrázek: *Difúzní test*. [online]. [cit. 2013-03-25] Dostupné z:
<http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/bak/uceb/obsah/disktest/etest.htm>
- [52] Obrázek: *E testu* Dostupné z:
<http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/bak/uceb/obsah/disktest/etest.htm>.
- [53] SAIHI, D., EL-ACHARI, A., VROMAN, I., PERICHAUD, A., Antibacterial activity of Modified Polyamide Fibers, *J. Appl. Polym. Sci*, 2005, 98, 997-1000
- [54] KUMAR, R., MUNSTEDT, H. Antimicrobial polymers from polypropylene/silver composites-Ag⁺ release measured by anode stripping voltammetry, *React. Funct. Polym.*, 2006, 6
- [55] BÍLEK, František, Kateřina SULOVSÁ, Marián LEHOCKÝ, Petr SÁHA, Petr HUMPOLÍČEK, Miran MOZETIČ a Ita JUNKAR. Preparation of active antibacterial LDPE surface through multistep physicochemical approach II: Graft type effect on antibacterial properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013, vol. 102, s. 842-848. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.08.026
- [56] BÍLEK, František, Táňa KŘÍŽOVÁ a Marián LEHOCKÝ. Preparation of active antibacterial LDPE surface through multistep physicochemical approach: I. Allylamine grafting, attachment of antibacterial agent and antibacterial activity assessment.

- Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2011, vol. 88, issue 1, s. 440-447. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2011.07.027
- [57] KŘÍŽOVÁ, Táňa. *Příprava a charakterizace aktivních obalových materiálů*. Zlín, 2010. Diplomová práce. UTB Zlín. Vedoucí práce doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
- [58] ŠIMEK, Lubomír a Josef HRNČIŘÍK. *Fyzikální chemie I*. Vyd. 4. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005, 180 s. ISBN 80-731-8324-2.
- [59] ATKINS, Peter William. *Atkins' Physical Chemistry*. 7th ed. Oxford: Oxford University Press, 2002, 1149 s. ISBN 01-987-9285-9.
- [60] BASTL, Zdeněk. Fotoelektronová spektroskopie ve třetím tisíciletí. *Chemické listy*. 373–380, č. 103, 373–380. 0009-2770.
- [61] BRIGGS, D., GRANT, J. T. *Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, IM Publications and Surface Spectra Ltd., Trowbridge, 2003.
- [62] WATTS J. F., WOLSTENHOLME, J *An Introduction to surface analysis by XPS and AES*, JohnWiley & Sons Ltd., Chichester, 2003
- [63] POLOČÁK, Josef. *Analýza povrchů pevných látek pomocí fotoelektronů - počítačově řízené experimenty*. Brno, 2010. ISBN 80-214-. Teze dizertační práce. VUT Brno. Vedoucí práce prof. RNDr. Tomáš Šíkola, CSc
- [64] BUNACIU, Andrei A., Hassan Y. ABOUL-ENEIN a Serban FLESCHEIN. FTIR Spectrophotometric Methods Used for Antioxidant Activity Assay in Medicinal Plants. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2012, vol. 47, issue 4, s. 245-255. DOI: 10.1080/05704928.2011.645260
- [65] VONDRÁČEK, Petr. *Metody studia a charakterizace struktury polymerů*. 2., opr. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1991, 240 s. ISBN 80-708-0087-9
- [66] SAHOO, Subhashree et al. Characterization of Mucoadhesive Norfloxacin suspensions by fourier transform. *International Journal of Drug Development & Research*. 2011, roč. 3, č. 4. 0975-9344

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PE	polyethylen
ULDPE	polyethylen s velmi nízkou hustotou
LDPE	polyetyhel n s nízkou hustotou
LLDPE	lineární polyethylen s nízkou hustotou
MDPE	polyethylen se střední hustotou
HDPE	polyethylen s vysokou hustotou
HMWPE	lineární polyethylen s molekulovou hmotností
UHMWPE	polyethylen s ultravysokou molekulovou hmotností
M_w	molekulová hmotnost
ETEC	eterotoxigenní <i>Escherichia coli</i>
EPEC	enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
EIEC	enteroinvazní <i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohemoragická <i>Escherichia coli</i>
TL	termolabilní
TS	termostabilní
DNA	deoxyribonukleová kyselina
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MBK	minimální baktericidní koncentrace
UV	ultrafialové záření
VIS	viditelné záření
PE-LD	polyethylen s nízkou hustotou
XPS	rentgenová fotoelektronová spektroskopie
FTIR-ATR	infračervená spektroskopie
SEM	rastrovací elektronová spektroskopie
CCM	kontrolní kmeny mikroorganismů

γ_{lv}	povrchová energie kapalina - plyn
γ_{sv}	povrchová energie pevná látka – plyn
γ_{sl}	povrchová energie pevná látka – kapalina
AAM	allylamin
γ^-	donorová část disperzní složky
γ^+	akceptorová část disperzní složky
γ^{AB}	polární složka povrchové energie
γ^{LW}	disperzní složka povrchové energie
γ^{total}	celková povrchová energie
Θ_W	kontaktní úhel pro vodu
Θ_E	kontaktní úhel pro ethylenglykol
Θ_D	kontaktní úhel pro diiodomethan
W	deionizovaná voda
E	ethylenglykol
D	diiodomethan
$(-CH_2-CH_2-)_n$	monomer polyethylenu
C_2F_4	tetrafluorethylen
C_3F_6	hexafluorpropylen
AgCl	chlorid stříbrný
ZnSe	selenid zinečnatý
H_3PO_4	kyselina trihydrogenfosforečná
RTG	rentgenové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Prostorová struktura ethylenu [18].</i>	17
<i>Obrázek 2: Kolonie Escherichia coli [34].</i>	25
<i>Obrázek 3: Kolonie Staphylococcus aureus [38].</i>	26
<i>Obrázek 4: Strukturní vzorec Norfloxacinu.</i>	29
<i>Obrázek 5: Strukturní vzorec Ciprofloxacinu.</i>	30
<i>Obrázek 6: Výsledek difúzního testu [51].</i>	31
<i>Obrázek 7: Výsledek E-testu [51].</i>	32
<i>Obrázek 8: Schéma přípravy vzorků polyethylenu [14].</i>	35
<i>Obrázek 9: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a Escherichia coli.</i>	41
<i>Obrázek 10: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a Escherichia coli.</i>	42
<i>Obrázek 11: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a Staphylococcus aureus.</i>	42
<i>Obrázek 12: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN a Staphylococcus aureus.</i>	43
<i>Obrázek 13: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a Escherichia coli.</i>	43
<i>Obrázek 14: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a Escherichia coli.</i>	44
<i>Obrázek 15: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a Staphylococcus aureus.</i>	44
<i>Obrázek 16: Vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN a Staphylococcus aureus.</i>	45
<i>Obrázek 17: XPS spektrum plazmově opracovaného PE.</i>	48
<i>Obrázek 18: Spektrum vzorku PE.</i>	49
<i>Obrázek 19: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě.</i>	50
<i>Obrázek 20: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě + AAM.</i>	50
<i>Obrázek 21: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN.</i>	51
<i>Obrázek 22: Spektrum vzorku PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN.</i>	51
<i>Obrázek 23: SEM – vzorek PE 3 000 × zvětšeno.</i>	53
<i>Obrázek 24: SEM – vzorek PE 30 000 × zvětšeno.</i>	54

<i>Obrázek 25: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě 3 000 × zvětšeno.</i>	<i>55</i>
<i>Obrázek 26: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě 30 000 × zvětšeno.</i>	<i>56</i>
<i>Obrázek 27: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM 3 000 × zvětšeno.</i>	<i>57</i>
<i>Obrázek 28: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM 30 000 × zvětšeno.</i>	<i>58</i>
<i>Obrázek 29: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN 3 000 × zvětšeno</i>	<i>59</i>
<i>Obrázek 30: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + CIPROFLOXACIN 30 000 × zvětšeno.</i>	<i>60</i>
<i>Obrázek 31: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN 3 000 × zvětšeno.</i>	<i>61</i>
<i>Obrázek 32: SEM – vzorek PE po plazmové úpravě + AAM + NORFLOXACIN 30 000 × zvětšeno.</i>	<i>62</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Vzájemné vztahy obal-potravina [4, 6].</i>	12
<i>Tabulka 2: Negativní změny potravin [4, 6, 10].</i>	14
<i>Tabulka 3: Příklady aktivního balení [6, 12, 14].</i>	15
<i>Tabulka 4: Příklady praktického využití aktivních obalových systémů [6, 13].</i>	16
<i>Tabulka 5: Typy polyethylenu podle hustoty [5, 16, 19, 20].</i>	18
<i>Tabulka 6: Výhody použití plazmatu při úpravách biomateriálů [23].</i>	21
<i>Tabulka 7: Rozdělení mikroorganismů podle patogenity [28].</i>	22
<i>Tabulka 8: Rozdělení toxinů.</i>	23
<i>Tabulka 9: Taxonomické zařazení bakterie Escherichia coli.</i>	23
<i>Tabulka 10: Rozdělení Escherichia coli podle patogenity.</i>	24
<i>Tabulka 11: Taxonomické zařazení bakterie Staphylococcus aureus.</i>	25
<i>Tabulka 12: Rozdělení antibiotik.</i>	27
<i>Tabulka 13: Mechanizmy účinku antibiotik.</i>	28
<i>Tabulka 14: Metody pro charakterizaci vzorků.</i>	36
<i>Tabulka 15: Průměry inhibičních zón a vypočítané plochy inhibičních zón.</i>	40
<i>Tabulka 16: Hodnoty kontaktních úhlů pro jednotlivé vzorky (deionizovaná voda – W, ethylenglykol – E, diiodomethan – D).</i>	46
<i>Tabulka 17: Hodnoty povrchové energie.</i>	46
<i>Tabulka 18: Výsledná data - XPS rentgenová fotoelektronová spektroskopie.</i>	47