

Biodegradace zeinových nanovláken

Barbora Gajdošová

Bakalářská práce
2023/2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Barbora Gajdošová**
Osobní číslo: **T21764**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Ochrana životního prostředí**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Biodegradace zeinových nanovláken**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část
Nanovláčna z biopolymerů se zaměřením na zein.
Metody stanovení biodegradace.
II. Praktická část
Test biodegradace.
Vyhodnocení výsledků a formulace závěrů práce.

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

Seznam doporučené literatury:

ALI, Shamshad, Zeeshan KHATRI, Kyung Wha OH, Ick-Soo KIM a Seong Hun KIM. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. *Macromolecular Research*. 2014, 22(9), 971-977. ISSN 1598-5032. Dostupné z: doi:10.1007/s13233-014-2136-4

ŠERÁ, Jana, Lynn SERBRUYNS, Bruno DE WILDE a Marek KOUTNÝ. Accelerated biodegradation testing of slowly degradable polyesters in soil. *Polymer Degradation and Stability*. 2020, 171. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2019.109031

XIE, Shiyu, Bo XU, Li YUAN, et al. Electrospun Hydrophobic Nanofiber Films from Biodegradable Zein and Curcumin with Improved Tensile Strength for Air Filtration. *Journal of Polymers and the Environment*. 2023, 31(1), 287-296. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-022-02564-5

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Pavel Pleva, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 6. února 2024

PROHLÁŠENÍ AUTORKY

BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky:

.....

podpis studentky

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá analýzou vlivů přídatných látek (nisin, thymol, eugenol) na biodegradabilitu nanovláken na bázi prolaminového proteinu nacházejícím se v kukuřici, kterým je zein. Biodegradace je klíčový proces pro udržení životního prostředí, protože umožňuje rozklad organických látek na jednodušší látky, které mohou být znovu využity v ekosystému. Díky biodegradaci se minimalizuje hromadění odpadů a podporuje se udržitelnost prostředí pro budoucí generace. Cílem práce bylo zhodnotit, zda tyto přídatné látky mohou zpomalit či zrychlit průběh biodegradace. Metodika zahrnovala zahájení, monitorování a samotné vyhodnocení průběhu biodegradace u 7 vzorků nanovláken a filmů. Hlavními výsledky práce je zhodnocení ovlivnění daných přídatných látek na průběh biodegradace. Závěr této práce podporuje minimální ovlivnitelnost těchto přídatných látek na biodegradabilitu nanomateriálu na bázi zeinu (Zein/PEG).

Klíčová slova: nanomateriály, zeinová nanovláknina, biodegradace, Zein/PEG, udržitelnost

ABSTRACT

This thesis deals with the analysis of the effects of additives (nisin, thymol, eugenol) on the biodegradability of nanofibres based on the prolamin protein that can be found in the maize and is called a zein. Biodegradation is a key process for sustaining the environment as it allows the breakdown of organic matter into simpler substances that can be reused in the ecosystem. Biodegradation minimizes the accumulation of waste and promotes environmental sustainability for future generations. The aim of this work was to evaluate whether these additives can slow or speed up the biodegradation process. The methodology included initiation, monitoring and actual evaluation of the biodegradation process in 7 nanofiber and film samples. The main results of the work are the evaluation of the influence of the additives on the biodegradation process. The conclusion of this work supports the minimal influence of these additives on the biodegradability of the zein-based nanomaterial (Zein/PEG).

Keywords: nanomaterials, zein nanofibres, biodegradation, Zein/PEG, sustainability

Ráda bych poděkovala za pomoc a rady vedoucímu bakalářské práce Ing. Pavlu Plevovi, Ph.D., Ing. Lucii Bartošové za fluorescenční mikroskopii, přípravu filmů a s týmem Ústavu životního prostředí UTB za pomoc v laboratoři. Dále bych chtěla poděkovat Slovenské akademii věd za výrobu vzorků nanovláken.

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

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 POLYMERY A JEJICH CHARAKTERISTIKA.....	10
1.1 PŘÍRODNÍ POLYMERY	10
1.2 BIOPOLYMERY	12
1.3 ENVIROMENTÁLNÍ VÝZNAM POLYMERŮ	13
2 NANOVLÁKNA A FILMY.....	14
2.1 NANOVLÁKNA NA BÁZI ZEINU	14
2.2 ZEINOVÉ FILMY	16
2.3 NANOMATERIÁLY V OBLASTI ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ.....	17
3 BIODEGRADACE.....	18
3.1 METODY STANOVENÍ BIODEGRADACE	19
3.2 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY OVLIVŇUJÍCÍ PRŮBĚH BIODEGRADACE	21
3.2.1 Nisin	21
3.2.2 Thymol	22
3.2.3 Eugenol	22
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	24
4 CÍL PRÁCE	25
5 MATERIÁL A METODY	26
5.1 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A POMŮCKY	26
5.2 MATERIÁL.....	26
5.3 POPIS EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI	27
6 VÝSLEDKY A DISKUSE	30
6.1 NANOVLÁKNA.....	30
6.2 FILMY.....	33
ZÁVĚR	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	38
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	44
SEZNAM OBRÁZKŮ	45
SEZNAM GRAFŮ	46
SEZNAM PŘÍLOH.....	47

ÚVOD

Polymery jsou v dnešním rychle se rozvíjejícím světě neodmyslitelnou součástí každodenního života. Jejich vlastnosti z nich udělaly v některých oblastech nenahraditelný materiál. Tato široká skupina může být přírodního nebo syntetického původu a může se nacházet v nespočetně možných formách, tvarech s širokou škálou vlastností a použití v různých typech odvětví (Mecerreyes et al., 2020). Nicméně, s rostoucím používáním polymerů se také stupňuje ekologická problematika spojená s jejich výrobou, spotřebou a následným odpadem.

Polymery mají za následek nejen to, že vytvářejí obrovské množství odpadu, ale i intenzivní spotřebu fosilních paliv při jejich výrobě. Odpadová krize spojená s plastovými produkty postupně přerostla do globálního problému, neboť miliony tun plastů každoročně končí v oceánech, půdě a vzduchu, což má devastující dopad (Sivan, 2011). Tento odpad může poškozovat volně žijící živočichy, narušovat ekosystémy. Kromě fyzických dopadů plastového odpadu existují také obavy z chemických látek, které se mohou z plastových výrobků vyluhovat a potenciálně se dostat do potravního řetězce, což může mít vliv na lidské zdraví. Mikroplasty, což jsou malé plastové částice, které se mohou nacházet ve vodních zdrojích, jsou obzvláště znepokojivé kvůli svému potenciálnímu dopadu na lidské zdraví a životní prostředí (Koelmans et al., 2019). O řešení problému znečištění plasty vyžadující mnohostranný přístup, který zahrnuje omezení používání plastů, zlepšení postupů nakládání s odpady a také podporu udržitelných alternativ plastových výrobků, je vyvíjeno úsilí (Sivan, 2011). Příkladem je ekologická organizace One Earth – One Ocean, která pomáhá svým programem Marine Litter Cleanup zbavit moře i vnitrozemské vody plastového odpadu, ropy a chemikálií, za použití lodí, které shromažďují plastový odpad pomocí sítí sahajících až do hloubky čtyř metrů. Existuje ale spousta dalších organizací zabývajících se touto širokou problematikou (ONE EARTH – ONE OCEAN, c2022).

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POLYMERY A JEJICH CHARAKTERISTIKA

Polymery jsou obecně organické makromolekulární látky, které se skládají opakujících se podjednotek zvaných monomery. Tyto podjednotky jsou spojeny kovalentními vazbami a vytvářejí dlouhou řetězcovou strukturu (Mano, 2007). Vyznačují se vysokou molekulovou hmotností a dlouhými řetězci těchto opakujících se monomerů, které mohou být lineární, rozvětvené nebo zesíťované (Mecerreyes et al., 2020).

Dle jejich původu je lze rozdělit na syntetické a přírodní. Zatímco mezi příklady přírodních polymerů vyskytujících se, jak již název sám určuje, v přírodě patří bílkoviny, DNA, celulóza a kaučuk, tak mezi syntetické polymery vyráběné člověkem v laboratoři i v průmyslových odvětvích patří plasty, syntetická vlákna, lepidla, nátěrové hmoty či pryž (Mecerreyes et al., 2020) (Mano, 2007).

Polymery mají jedinečné vlastnosti, díky nimž jsou užitečné v různých aplikacích. Mohou být například pružné nebo tuhé, průhledné nebo neprůhledné a mohou mít různý stupeň pevnosti a odolnosti. Mezi jejich další vlastnosti patří hořlavost či elektrická, tepelná a akustická nevodivost, nízká hmotnost a výrazná cenová dostupnost. Mezi nevýhody se dá řadit již zmíněná hořlavost a s tím spojená omezená tepelná odolnost. Díky těmto vlastnostem mají polymery hojně využití v různých průmyslových odvětvích jako je například obalový a potravinářský průmysl, stavebnictví, automobilový průmysl, elektronika i zdravotnictví. Tyto vlastnosti lze přizpůsobit úpravou chemického složení a struktury polymeru. Vědci zabývající se polymery pracují na vývoji nových materiálů se specifickými vlastnostmi pro různé aplikace, jako jsou systémy pro podávání léčiv, elektronická zařízení a pokročilé materiály pro letecký a automobilový průmysl (Mano, 2007). Mohou být také upraveny tak, aby vykazovaly specifické funkce, jako je transport iontů, redoxní aktivita nebo katalytická aktivita, které jsou důležité pro bateriové aplikace. Mimo průmyslová odvětví nacházíme polymery v našem každodenním životě (Asiandu et al., 2021).

1.1 Přírodní polymery

Přírodní polymery jsou polymery, které se vyskytují v přírodě a pocházejí z živých organismů. Jsou produkovány rostlinami, živočichy a mikroorganismy a mají široké využití v různých oblastech, včetně medicíny, potravin a textilií (Mano, 2007). Pojmem přírodní polymery jsou označovány i látky vyráběné přeměnou přírodních látek například guma z přírodního kaučuku. Mezi další příklady přírodních polymeru biologického původu patří

například bílkoviny, DNA, celulóza a chitin. Celulóza je nejrozšířenějším přírodním polymerem a nachází se v buněčných stěnách rostlin, kterým poskytuje strukturální podporu. Způsob kombinace chemických látek společně se způsobem výroby dávají obrovské možnosti v ovlivňování výsledných vlastností polymerů (Mecerreyes et al., 2020). Přírodní polymery mají jedinečné vlastnosti, díky nimž jsou užitečné v různých aplikacích. Mohou být například biologicky odbouratelné, biokompatibilní a mají nízkou toxicitu. Díky těmto vlastnostem jsou atraktivní pro použití v lékařských aplikacích, jako jsou systémy pro podávání léčiv a tkáňové inženýrství. Přírodní polymery lze také využít při výrobě udržitelných materiálů, jako jsou bioplasty a biopaliva (Mano, 2007).

Polymery lze také na základě jejich vlastností rozdělit do několika skupin: termoplasty, reaktoplasty, elastomery a bioplasty (Narancic, O'Connor, 2019). Termoplasty jsou polymery, které při dosažení hranice teploty tání změknou a umožňují tak různé formovací procesy, jako je ohýbání, tažení, lisování nebo vyfukování. Po dalším ohřátí přecházejí do skupenství kapalného, což umožňuje další zpracování pomocí různých technologií, například vstřikování. Po ochlazení tyto materiály znovu ztuhnou, aniž by došlo k výrazným změnám jejich vlastností. Tento fyzikální proces je opakovatelný. Mezi významné termoplasty patří např. polyvinylchlorid (PVC), polystyren (PS), polyvinylacetát (PVAC), polyethylen (PE), akrylátové sklo a polyizobutylene (Narancic, O'Connor, 2019).

Reaktoplasty jsou plasty, které lze formovat pomocí tepla. Jsou dodávány ve formě tekutých látek s medovou konzistencí, obvykle jako pryskyřice, a k nim se přidávají tvrdidla. Po smíšení se tyto látky zpracovávají a při následném zahřátí změknou. Dalším zahřátím dochází k jejich ztvrdnutí, a po této fázi je již nelze přeměnit do plastického či tvárného stavu. Mezi významné reaktoplasty patří fenolová (formaldehydová) pryskyřice, melaminoformaldehydová pryskyřice, močovinoformaldehydová pryskyřice, nenasycené polyesterové pryskyřice a polyuretanové pryskyřice (Narancic, O'Connor, 2019) (Ducháček, 1995).

Elastomery jsou materiály s elastickými vlastnostmi, které lze snadno tvarovat a po odlehčení napětí se vrátí do své původní podoby. Jejich gumová elasticita je z velké části nezávislá na teplotě. Mezi významné elastomery patří kaučuky, ať už syntetické i přírodní, mezi něž spadá butylkaučuk, polysulfidový kaučuk, polyuretanový kaučuk a silikonový kaučuk (Narancic, O'Connor, 2019).

1.2 Biopolymery

K běžným polymerům již existuje spousta alternativ, které částečně řeší environmentální problematiku. Biopolymery, lidově řečeno bioplasty, byly vyvinuty právě jako alternativa ke konvenčním plastům s cílem překonat problémy životního prostředí (Mano, 2007).

Bioplastem se označuje typ přírodního polymeru, který se vyrábí z obnovitelných zdrojů biomasy, jako jsou rostlinné bílkoviny, tuky a oleje, kukuřičný škrob, hrachový škrob nebo mikrobiota, namísto fosilních paliv. Biopolymery mohou být biologicky odbouratelné i neodbouratelné a mohou mít podobné vlastnosti jako tradiční plasty na bázi ropy (Sivan, 2011). Biopolymery lze rozdělit na již zmíněné dva hlavní typy, kterými jsou biologicky odbouratelné a biologicky neodbouratelné biopolymery. Biologicky odbouratelné biopolymery se získávají z biologických zdrojů, zatímco biologicky neodbouratelné biopolymery se vyrábějí z obnovitelných zdrojů (Kong et al., 2023).

Biodegradabilní polymery jsou polymerní materiály vyrobeny z přírodních materiálů a lze je použít jako alternativu k plastům. Jedná se o polymery, které mohou být rozloženy mikroorganismy v biologickém prostředí, jako je půda či kompost. Za přítomnosti kyslíku a vlhkosti jsou za pomoci těchto mikroorganismů rozkládány na přírodní látky, jako je voda, oxid uhličitý a biomasa. Vyrábějí se z přírodních materiálů, jako je škrob, celulóza a bílkoviny, nebo ze syntetických materiálů, jako je kyselina polyléčná a polyhydroxyalkanoáty (Kong et al., 2023). Biologicky odbouratelné polymery, včetně polykaprolaktonu, kyseliny polyglykolové a polybutylensukcinát-koadipátu, se syntetizují především z petrochemikálií. Mikrobiální fermentace biopolymerů, včetně polyhydroxyalkanoátů a bakteriální celulózy, je udržitelný způsob výroby, který funguje za relativně neškodných podmínek s nízkou spotřebou energie. Různé mikroorganismy mohou při kultivaci za různých živin a podmínek prostředí akumulovat PHA jako zásobní látky. Tato schopnost umožňuje jejich přežití ve stresových podmínkách. Počet a velikost granulí PHA, složení monomerů, makromolekulární struktura a fyzikálně-chemické vlastnosti se liší v závislosti na produkujících mikroorganismech, dodávaných surovinách a provozních podmínkách (Kong et al., 2023). Biologicky odbouratelné polymery se používají v řadě aplikací, včetně obalů, zemědělství a zdravotnických prostředků. Oproti běžným plastům nabízejí několik výhod, včetně menšího ekologického dopadu díky jejich možnosti rozkladu v přírodě či možnosti kompostování, což pomáhá snížit množství odpadu na skládkách. Díky jejich výrobě z obnovitelných zdrojů, jako jsou rostlinné materiály, pomáhají snížit spotřebu fosilních paliv. S biologicky rozložitelnými polymery jsou však spojeny i některé problémy,

například jejich cena a omezená dostupnost v některých oblastech (Kong et al., 2023) (Ducháček, 1995).

1.3 Enviromentální význam polymerů

Polymery mají pozitivní i negativní dopady na životní prostředí v závislosti na jejich výrobě, používání a likvidaci. Pozitivní je, že polymery umožnily vývoj mnoha výrobků, které zlepšily kvalitu našeho života, jako jsou lékařské přístroje, elektronika, doprava či potravinářský průmysl. Polymery jsou také lehké, odolné a všestranné, což je činí atraktivními pro použití v různých aplikacích (Mano, 2007). Tento velmi oblíbený materiál má mnoho již zmíněných žádoucích vlastností. Ironií je, že právě nejpreferovanější vlastnost polymerů, kterou je trvanlivost a odolnost vůči mikrobiálnímu rozkladu, je zároveň hlavní hrozbou pro životní prostředí. Polymery mohou v životním prostředí přetrvávat stovky let a mohou poškodit biodiverzitu a ekosystémy (Sivan, 2011).

Výroba a likvidace polymerů však může mít negativní dopady na životní prostředí. Výroba syntetických polymerů zahrnuje využití neobnovitelných zdrojů, jako je ropa a zemní plyn, což přispívá k emisím skleníkových plynů a klimatickým změnám. Během výrobního procesu mohou také vznikat odpady a znečištění, které poškozují životní prostředí a ohrožují lidské zdraví. Odstranění polymerů rovněž představuje velký problémem, protože mnoho z nich není biologicky rozložitelných a mohou přetrvávat v životním prostředí po stovky let. To může vést k znečištění půdy, vody, ovzduší, poškodit ekosystém a vyčerpat přírodní zdroje. Ve snaze o řešení těchto problémů je vyvíjeno úsilí o vytváření udržitelnějších polymerů a o zdokonalení postupů výroby a procesů likvidace. Tato snaha zahrnuje vývoj biodegradabilních polymerů a jejich případná recyklace (Mano, 2007). Biopolymery mají významný environmentální dopad, protože jsou oproti syntetickým polymerům vytvářeny z obnovitelných surovin a podléhají přirozenému biologickému rozkladu. Celkově mají biopolymery potenciál poskytnout udržitelnější a k životnímu prostředí šetrnější alternativy k syntetickým polymerům. Nicméně, není vždy zaručeno, že biopolymery budou vždy tou nejlepší volbou z ekologického hlediska, protože jejich výroba může vyžadovat značné množství energie a vody a mohou představovat riziko znečištění. Je tedy klíčové zajistit, aby výrobní a likvidační procesy biopolymerů byly rovněž udržitelné z hlediska životního prostředí a nezpůsobovaly nepříznivé a nežádoucí enviromentální dopady (Ducháček, 1995) (Mano, 2007).

2 NANOVLÁKNA A FILMY

Nanovlákná představují materiál s průměrem v rozsahu nanometrů (uvádí se 100–500 nm). Mohou být vytvořena z různých materiálů, včetně polymerů, kovů, keramiky a uhlíku. Jejich malá velikost poskytuje nanovláknům unikátní vlastnosti zahrnující vysoký poměr povrchu k objemu, vysokou pórovitost s malou velikostí pórů, vysokou mechanickou pevnost a chemickou a tepelnou stabilitu. Tyto vlastnosti otevírají široké možnosti v oblasti aplikací jako je biomedicína, energetika, elektronika či environmentální inženýrství (Rafique et al., 2010).

2.1 Nanovlákná na bázi zeinu

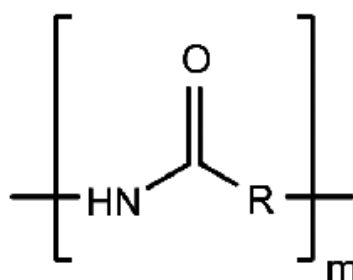
Nanovlákná na bázi zeinu jsou nanovlákná vyrobená z bílkoviny získávané z kukuřice. Tato nanovlákná lze vyrábět různými technikami, včetně elektrospinningu a separace fází. Mezi jejich přední vlastnosti patří vysoký poměr plochy povrchu k objemu, což je činí užitečnými pro aplikace, jako je hojení ran, podávání léčiv a tkáňové inženýrství. Nanovlákná na bázi zeinu lze také vybavit různými molekulami pro zlepšení jejich vlastností, například antimikrobiálními látkami nebo růstovými faktory (Ali et al., 2014).

Struktura zeinových nanovláken, je tvořena jedním polypeptidovým řetězcem, který je stabilizován intramolekulárními disulfidovými vazbami. Makromolekulární struktury bílkovinných nosičů, včetně zeinu, jsou podobné strukturám přirozeně se vyskytujících bílkovin ve tkáních a orgánech, což zajišťuje biologickou funkčnost, která může být degradována přirozenými enzymy a metabolizována fyziologickými mechanismy (Ali et al., 2014).

Zein je převládající zásobní bílkovinou obsaženou v kukuřici (*Zea mays L.*) (50 % a více). Funkcí těchto bílkovin je zřejmě skladování dusíku pro vyvíjející se semena. Představuje ekonomicky významný vedlejší produkt v odvětví zpracování kukuřičného škrobu. Získává se z již zmíněné kukuřice a běžně se používá v potravinářském průmyslu jako potah cukrářských výrobků. Jedná se o látku s hydrofobním charakterem díky obsahu velkého množství nepolárních aminokyselin jako je leucin, alanin a prolin. To z něj činí látku, která není rozpustná ve vodě, a dokonce i v nízkých koncentracích solí. K udržení jeho molekulární konformace je zapotřebí ethanol ve vysokých koncentracích (60–95 %) (Zhang et al., 2018) (Chen et al., 2022).

Zein je také slibným přírodním polymerem pro použití v různých aplikacích díky své nízké molekulové hmotnosti, netoxicitě, stabilitě vůči teplu a vlhkosti, schopnosti sloužit jako bariéra proti světlu, kyslíku, vlhkosti a mikrobiálním kontaminacím, biologické odbouratelnosti či dobré biokompatibilitě. Zein má také vynikající mechanické vlastnosti, jako je vysoká pevnost a elasticita, což z něj dělá vhodný materiál pro výrobu biodegradabilních obalů, sáčků a jiných obalových materiálů. Zein také vykazuje dobré vlastnosti bariéry proti plynům a parám, což z něj dělá vhodný materiál pro výrobu obalů pro potraviny a farmaceutické produkty. Používá se také jako stavební materiál v tkáňovém inženýrství. Díky svým vlastnostem je schopen tvořit filmy a vlákna (Ali et al., 2014) (Chen et al., 2022).

Pokud jde o strukturu zeinu (obrázek 1), jedná se o prolaminový protein, který se skládá z vysokého podílu hydrofobních aminokyselin, jako je prolin a glutamin. Má poměrně jednoduchou strukturu, skládá se z jednoho polypeptidového řetězce, který je stabilizován intramolekulárními disulfidovými vazbami (Ali et al., 2014).



Obrázek 1 Molekulová struktura zeinu (Ali et al., 2014)

Nanovlákna lze vyrábět různými metodami, včetně elektrospinningu, meltblowingu a separace fází (Rafique et al., 2010).

Elektrospinning je široce používaná technika výroby nanovláken, při níž elektromagnetickým polem vytahuje polymerní roztok nebo tavenina do jemných vláken. Během tohoto procesu se vysoké napětí přivede na stříkačku s roztokem polymeru, který je následně vystřikován skrze malou trysku. Elektrické pole způsobí, že roztok vytvoří Taylorův kužel, který se pak při pohybu směrem ke kolektoru natahuje a prodlužuje až vytvoří trysku. Jak se rozpouštědlo odpařuje, polymer tuhne do podoby nanovláken (Ali et al., 2014).

Alternativním postupem pro výrobu nanovláken je meltblowing neboli metoda tavení, která zahrnuje vytlačování polymerní taveniny skrze trysku a následné protahování taveniny za použití vysokorychlostního horkého vzduchu nebo jiných plynů. Tenká vlákna se pak shromažďují na dopravním pásu. Vlákna vyrobená touto metodou mají obvykle průměr větší než průměr vláken vyrobených elektrospinningem. Tavení je kontinuální proces, který lze použít k rychlé a efektivní výrobě velkého množství vláken (Ali et al., 2014).

Separace fází je proces používaný k výrobě nanovláken z roztoku polymeru. Při této technice se polymer rozpustí v rozpouštědle a roztok se poté podrobí změně teploty nebo přidavku nesolventního činidla. To způsobí, že se polymerní roztok rozdělí na dvě fáze: fázi bohatou na polymery a fázi bohatou na rozpouštědla. Fáze bohatá na polymer pak může ztuhnout do vláknité struktury, kterou lze zpracovat na nanovlákna. Konkrétní podmínky nutné k tomu, aby došlo k oddělení fází, závisí na použitém systému polymer-rozpouštědlo a lze je optimalizovat tak, aby bylo dosaženo požadovaných vlastností výsledných nanovláken (Rafique et al., 2010).

2.2 Zeinové filmy

Zeinové filmy jsou tenké listy nebo vrstvy biopolymeru zvaného zein vyrobené z kukuřice. Tyto filmy jsou biologicky odbouratelné, biokompatibilní a netoxické, což z nich činí slibný materiál pro potravinářský průmysl, protože mohou být použity jako alternativa k tradičním obalovým materiálům, které nejsou biologicky rozložitelné a mohou mít negativní dopad na životní prostředí (Yoshino et al., 2002). Lze je vyrábět tradičními technikami, jako je odlévání, vytlačování a koextruze, nebo pokročilejšími metodami, jako je elektrospřevování, které umožňuje vytvářet filmy s vynikajícími strukturními vlastnostmi a bariérovými a tepelnými vlastnostmi (Gaona-Sánchez et al., 2015).

Elektrospřevování (electrospraying) je obecně proces, při kterém se kapalina rozprašuje na drobné kapky pomocí elektrostatického pole. V konkrétním případě zeinu dochází k vstříkování roztoku zeinu do kapiláry, který je vystavena právě elektrostatickému poli. Elektrostatické sprejování je považováno za efektivní metodu, protože umožňuje vytvářet mikrometrické nebo nanometrické kapky a umožňuje ukládat až 80–90 % vstupního materiálu (Gaona-Sánchez et al., 2015).

Kromě elektrostatického sprejování lze zeinové filmy vyrábět také pomocí tradičních technik, jako je lití, extruze a koextruze. Lití přináší možnost vytvářet filmy s různými vlastnostmi. Jak již název lití napovídá, při této technice se roztok zeinu nalije do formy,

kteřá může být vyrobena z různých materiálů, například ze skla nebo kovu. Forma se poté umístí do pece, kde se roztok zahřeje a nechá ztuhnout. Po ztuhnutí se film vyjme z formy a může být dále zpracován. Tento proces umožňuje vytvářet filmy různých tloušťek a velikostí, ale výsledné filmy mohou být náchylné k trhlinám a mohou mít omezenou pružnost. Lití je vhodné pro výrobu filmů s vysokou optickou čistotou a s vysokou tepelnou odolností (Gaona-Sánchez et al., 2015).

Při extruzi se roztok zeinu vytlačuje skrz trysku různých tvarů a velikostí, což umožňuje vytvářet filmy s vysokou homogenitou a konzistencí, což znamená, že výsledné filmy mají konzistentní tloušťku a vlastnosti. Výsledný produkt se může dále zpracovávat nebo se může nechat ztuhnout a poté použít jako hotový film. Extrudované filmy mají vynikající mechanické vlastnosti, jako je pevnost a pružnost, a jsou vhodné pro výrobu obalů a potravinářských obalů (Gaona-Sánchez et al., 2015).

Koextruze umožňuje kombinovat různé materiály a vytvářet filmy s různými vlastnostmi. Při koextruzi se dva nebo více materiálů vytlačují skrz jednu trysku, což umožňuje vytvářet filmy s různými vrstvami a vlastnostmi (Gaona-Sánchez et al., 2015).

2.3 Nanomateriály v oblasti životního prostředí

Vliv nanomateriálů na životní prostředí je komplexní a různorodá problematika, která je stále předmětem výzkumu. Jedním z hlavních aspektů je potenciální škodlivost nanomateriálů pro vodní organismy a ekosystémy. Transformace umělých nanomateriálů v mořské vodě mohou ovlivnit biologické interakce a toxické účinky na úrovni populací a ekosystémů. Toto je způsobeno tím, že velikost nanomateriálů hraje klíčovou roli v procesech buněčného vstřebávání a přeměnách, které probíhají v přírodním prostředí (Esposito et al., 2021).

Kromě potenciální toxicity nanomateriálů existují také nejistoty týkající se základních vlastností nanotechnologií, které ztěžují vývoj optimálně fungujících aplikací nebo hodnocení rizika pro lidské nebo ekologické zdraví. Osud a bezpečnost nanomateriálů při aplikaci, která může být spojena s jejich uvolňováním do životního prostředí, jsou z velké části neznámé. Proto je důležité pečlivě sledovat ekologickou bezpečnost nanotechnologií používaných pro environmentální sanaci (Esposito et al., 2021).

3 BIODEGRADACE

Biodegradace je přirozený proces rozkladu organických látek přirozeně se vyskytujícími biologickými organismy. Při tomto procesu enzymy nebo chemický rozklad prováděný živými organismy, jako jsou bakterie, houby či řasy, hrají klíčovou roli. Organické látky jsou takto rozkládány na jednodušší sloučeniny, kterými jsou voda, oxid uhličitý (CO_2), biomasa a další minerální látky (Bueno et al., 2023). V souvislosti s polymery se biodegradace vztahuje na proces, při kterém tyto mikroorganismy rozkládají polymer na menší sloučeniny. Tento proces může vést ke ztrátě specifických vlastností polymeru, jako je hmotnost, pevnost a pružnost nebo průhlednost (Albright, Chai, 2021). Tento proces může probíhat aerobně, což je za přítomnosti kyslíku, nebo anaerobně, tedy za nepřítomnosti kyslíku (Silva et al., 2023).

Biodegradaci můžeme rozdělit do třech hlavních kategorií, který mi jsou primární, environmentálně přijatelná a konečná biodegradace. Primární biodegradace zahrnuje změny v chemické struktuře látky, což má za následek ztrátu určitých vlastností polymeru. Další kategorii nazýváme jako environmentálně přijatelná biodegradace, která se týká procesu, při kterém jsou odstraněny nežádoucí vlastnosti sloučeniny. Konečná biodegradace zahrnuje úplný rozklad sloučeniny na plně oxidované nebo redukované jednoduché molekuly, jako je například oxid uhličitý či methan, dusičnan či amon a voda (Silva et al., 2023).

Biodegradační proces lze rozdělit do dvou fází. První fází je biodegradace, která je charakterizována společným působením různých mikroorganismů a abiotických faktorů, které rozkládají polymery na malé frakce. Jedná se o povrchovou degradaci, kterou lze identifikovat pouhým okem a která je zodpovědná za změnu mechanických, fyzikálních a chemických vlastností materiálu. Druhou fází je biofragmentace, která je charakterizována vylučováním katalytických činidel, jako jsou enzymy, mikroorganismy. Tato činidla postupně snižují molekulovou hmotnost polymerů (Silva et al., 2023).

Tento proces v laboratorních podmínkách zahrnuje vystavení polymerního materiálu mikroorganismům za pečlivě kontrolovaných podmínek a monitorování degradačního procesu v průběhu času. Postup biodegradace tedy začíná výběrem vhodného mikrobiálního prostředí, které simuluje podmínky prostředí, tedy reprezentativní pro prostředí, ve kterém se degradace polymeru očekává. Dalším krokem je samotná příprava zkušebních vzorků. Polymery se rozdělí na malé kousky nebo rozmělní na prášek, což zvětšuje povrch dostupný pro mikroorganismy. Tyto zkušební vzorky se následně umístí do řízeného prostředí, které

poskytuje optimální podmínky pro růst a aktivitu těchto mikrobů, jako je teplota, vlhkost a přístup k živinám. Průběh biodegradace je sledován v průběhu času měřeními různých parametrů, jako je ztráta hmotnosti, produkce oxidu uhličitého, růst mikroorganismů a změny fyzikálních a chemických vlastností polymeru. Výsledky degradace jsou analyzovány za účelem stanovení rychlosti a rozsahu biodegradace a srovnání biologické rozložitelnosti různých typů polymerních materiálů. Konkrétní podrobnosti postupu biodegradace se mohou lišit v závislosti na typu polymeru, podmínkách prostředí a účelu experimentu (Albright, Chai, 2021).

Schopnost polymerů podvolit se biologickému rozkladu závisí nejen na původu polymeru, ale také na jeho chemické struktuře a podmínkách rozkladu v daném prostředí, například přítomnost konkrétního mikrobiálního společenstva (Albright, Chai, 2021) (Attallah et al., 2021). Tato struktura ovlivňuje možnost rozkladu polymerů hydrolytickým nebo oxidačním štěpením na úrovni makromolekul. Existuje také řada syntetických polymerů, které splňují kritéria biodegradability, jako například kyselina polyléččná, poly- ϵ -kaprolakton, polyoxyetylen, polyvinylalkohol, alifatické polyestery na bázi diolů a dikarboxylových kyselin, aromaticko-alifatické kopolyestery a polyesteramidy (Ducháček, 1995).

Podmínky biodegradace zahrnují přítomnost živých organismů, jako jsou bakterie a houby, které jsou schopny rozkládat organické látky. Dalšími faktory, které ovlivňují biodegradaci, jsou teplota, vlhkost, pH prostředí, dostupnost kyslíku a živin (Vroman, Tighzert, 2009). Například zvýšená teplota a vlhkost mohou urychlit proces biodegradace, zatímco nízká hladina kyslíku ji může zpomalit. Rychlost a rozsah biodegradace mohou být také ovlivněny přítomností konkrétních mikrobiálních společenstev, jelikož různé druhy mikroorganismů mají rozdílné schopnosti rozkládat specifické druhy polymerů (Albright, Chai, 2021).

Kromě biodegradace existují i další procesy, které mohou iniciovat environmentální degradaci polymerních materiálů, jako je fotodegradace, tepelná degradace a chemická degradace (Albright, Chai, 2021).

3.1 Metody stanovení biodegradace

Metody pro stanovení biologické degradace zahrnují fyzikální metody, jako jsou SEM, TEM či extenzometr pro sledování poškození povrchu a pevnostních vlastností. Dále zde řadíme chromatografické metody, jako jsou GC a SEC/GPC pro analýzu složení, spektroskopické metody, jako jsou NMR a FTIR pro detekci stopových prvků a strukturních vlastností, respirometrické metody pro měření rychlosti respiračního metabolismu, termické metody

pro analýzu vlastností a chemických vazeb, a metaanalýzu pro statistický odhad rychlosti biologické degradace a životnosti. Tyto metody umožňují komplexní pochopení složení a degradačních vlastností biologicky rozložitelných polymerů (Baidurah, 2022).

Fyzikální metody analýzy biologicky rozložitelných polymerů zahrnují techniky, jako je elektronová mikroskopie (SEM a TEM), extenzometrie a vážení na vahách. Tyto metody se používají k pozorování poškození povrchu, mikrostruktury a morfologie polymerů a k měření pevnostních vlastností, jako je pevnost v tahu a viskoelastičita. Poskytují cenné poznatky o fyzikálních změnách a degradaci biopolymerů a umožňují posoudit stupeň biodegradace a vliv podmínek prostředí na materiály. Tyto fyzikální metody nabízejí výhody z hlediska vizuálního pozorování a přesného měření mechanických vlastností, ale mají také omezení z hlediska požadavků na velikost vzorku a časové náročnosti některých analýz (Baidurah, 2022).

Chromatografické metody zahrnují separaci chemické směsi pomocí mobilní fáze (plyn nebo kapalina), která směs přenáší přes stacionární fázi. Tento proces umožňuje separaci, identifikaci a stanovení chemických složek složitých směsí a polymerů. Chromatografie je považována za výkonný a praktický nástroj pro separaci a identifikaci polymerů díky své schopnosti oddělovat sloučeniny na základě jejich velikosti, molekulové hmotnosti a chemického složení. Plynová chromatografie (GC) a velikostně vylučovací chromatografie (SEC) jsou specifické typy chromatografických metod používaných pro analýzu chemického složení a molekulové hmotnosti biopolymerů. Tyto metody jsou široce používány ve výzkumu polymerů a jsou cenné pro charakterizaci polymerů díky své schopnosti poskytovat přesné údaje o molekulové hmotnosti (Baidurah, 2022).

Pro charakterizaci polymerních materiálů se běžně používají i spektroskopické metody. Tyto metody jsou založeny na měření emise, absorpce, rozptylu, fluorescence a difrakce elektromagnetického záření. Příkladem spektroskopických metod jsou NMR, IR a rentgenové metody, které se používají k analýze množství záření generovaného nebo absorbovaného molekulárními nebo atomovými druhy vzorku, který je předmětem zájmu. Tyto metody poskytují cenné poznatky o strukturních vlastnostech a složení biologicky odbouratelných polymerů (Baidurah, 2022).

Respirometrické metody jsou metody, které mohou poskytnout cenné informace týkající se mechanismů biodegradace polymerních vzorků v důsledku aktivity mikroorganismů. Zahrnují měření množství spotřebovaného plynného kyslíku (O₂) nebo oxidu uhličitého (CO₂) uvolněného materiály během jejich rozkladu, což může pomoci posoudit biologickou

degradaci vzorků. Respirometrické metody lze navíc doplnit dalšími analytickými metodami, jako je měření úbytku hmotnosti, FTIR a NMR, a získat tak komplexnější představu o procesu rozkladu (Baidurah, 2022).

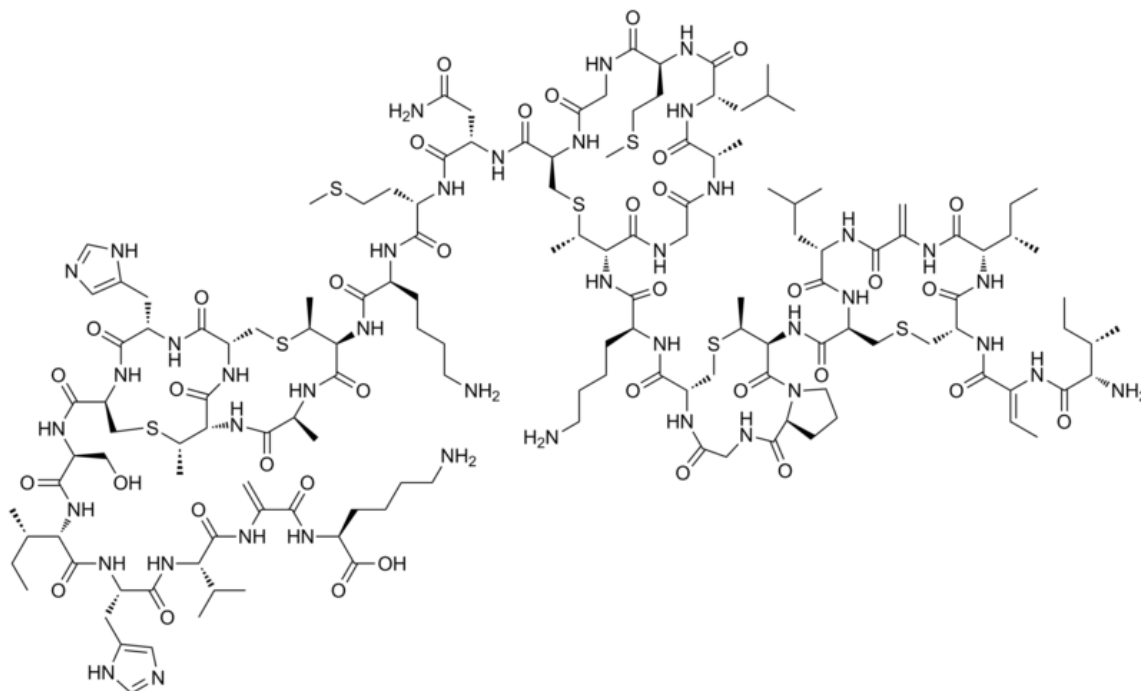
Prostředí biodegradačního procesu

Dle studie Kliem et al., 2020, nejpriznivější podmínky rozkladu se nacházejí v kompostovacích prostředích. V domácím kompostu, stejně jako v průmyslových kompostárnách, je velká mikrobiální rozmanitost s vysokou aktivitou, zejména při dobrém zásobení kyslíkem. V druhém případě jsou také zvýšené teploty, které dále podporují aktivitu mikroorganismů. V půdě a v čistírenských kalech jsou stále přítomny četné mikroorganismy, ale teploty částečně podléhají velkým regionálním výkyvům. Vodní prostředí (sladká a mořská voda) vykazuje nejnižší biologickou aktivitu, protože voda poskytuje silné ředění. Na skládkách probíhá biologická degradace pomaleji a za vyloučení kyslíku a je silně závislá na způsobu provozu.

3.2 Biologicky aktivní látky ovlivňující průběh biodegradace

3.2.1 Nisin

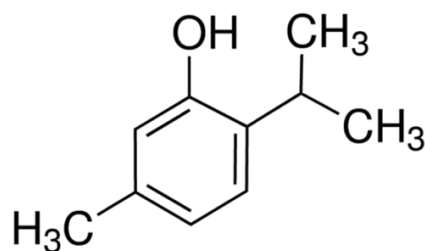
Nisin, jako polypeptidový bakteriocin, účinně působí proti široké škále gram pozitivních bakterií a je zvláště efektivní v boji s bakteriálními spory. Nicméně, vůči gram negativním bakteriím, kvasinkám a plísním má minimální nebo žádnou aktivitu. Toto přírodní antibiotikum je produkováno určitými bakteriemi rodu *Lactococcus* a je široce využíváno jako konzervační prostředek v potravinářském průmyslu po celém světě, čímž prodlužuje dobu trvanlivosti výrobku (Caballero et al., 2003). Jeho poměrně komplikovanou strukturu zobrazuje obrázek č. 3 (Râpă et al., 2013).



Obrázek 2 Chemická struktura nisinu (Râpă et al., 2013)

3.2.2 Thymol

Thymol (obrázek 4), též známý jako isopropylmethylfenol, IPMP, isopropyl-m-kresol nebo hydroxycymen, je přírodní fenol, který se často používal k léčbě infekcí u lidí či ke konzervaci mumií ve starověkém Egyptě. Tato látka se nachází v různých koncentracích v éterických olejích rostlin (především z čeledi hluchavkovitých), včetně tymiánu či dobromyslu. Extrahuje se jako bílá krystalická látka příjemné vůně se silnými antiseptickými vlastnostmi (Priestley et al., 2003), (Marchese et al., 2016).

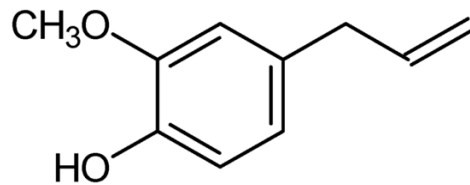


Obrázek 3 Chemická struktura thymolu (Dong et al., 2020)

3.2.3 Eugenol

Eugenol (obrázek 4), fenolová aromatická sloučenina, je primárně extrahována z oleje z hřebíčku. Obsažen je ale i bazalce, skořici, meduňce či muškátovém oříšku. Díky svým dobře známým antibakteriálním, antivirovým, protiplísňovým, protizánětlivým a

antioxidačním vlastnostem se už dlouho využívá v různých odvětvích, včetně kosmetiky, medicíny či farmacie. Eugenol se tedy používá jako aroma, dráždidlo, senzibilizátor a může vyvolat lokální anestezii. Avšak při vyšších koncentracím může vykazovat toxické účinky. V ostatních případech může způsobovat křeče, nevolnost, zrychlený tep a závratě (Ulanowska, Olas, 2021), (Pavithra, 2014).



Obrázek 4 Chemická struktura eugenolu (Kamatou et al., 2012)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této práce je vyhodnotit biologickou rozložitelnost obohacených zeinových nanovláken a filmů za pomoci měření uvolněného oxidu uhličitého dle ISO 14855. Dílčím cílem bylo také provedení fluorescenční mikroskopické analýzy částečně degradovaných vzorků nanovláken i filmů a následné vyvození doporučení a možností dalšího směru výzkumu v oblasti udržitelných nanomateriálů. Tato práce byla motivována potřebou porozumění dopadu těchto materiálů na životní prostředí a jejich schopnosti rozkládat se přirozenými procesy.

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Přístrojové vybavení a pomůcky

Použitými přístroji byly Hiden Analytical HPR-40 DSA Membrane Inlet Mass Spectrometer, analytické váhy Sartorius (Německo), analyzátor vlhkosti Ohaus MB25, fluorescenční mikroskop Olympus BX53M (Olympus). Mezi další využitě pomůcky patřily automatické pipety, lžička, kádinky, násypka, biometrické baňky se zátkami opatřenými septem, zkumavky, pinzeta, drátek či injekční stříkačka.

5.2 Materiál

Průmyslový kompost (Argo CS a.s., Česká Skalice, Česká republika)

Perlit (Argo CS a.s., Česká Skalice, Česká republika)

Minerální médium

- 10 ml $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 g/l
- 10 ml $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 3 g/l
- 20 ml A- KH_2PO_4 9,07 g/l
- 10 ml $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 g/l
- 10 ml NaCl 50 g/l
- 80 ml B- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 23,90 g/l
- 10 ml NH_4Cl 30 g/l
- 2,4 ml roztok stopových prvků

KHCO_3 , HCl, Celuloza (Sigma Aldrich, USA)

Vzorky nanovláken (Slovenská akademie věd) - Zein/PEG, Zein/PEG + 2 % eugenol, Zein/PEG + 2 % thymol, Zein/PEG + 2 % nisin, Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % thymol, Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % nisin, Zein/PEG + 2 % thymol + 2 % nisin (Sigma Aldrich, USA)

LIVE/DEAD® BacLight Bacterial Viability Kit (ThermoFisher Scientific), SYTO9, propidium jodid

5.3 Popis experimentální části

Biodegradace byla měřena podle produkce oxidu uhličitého dle ISO 14855, který se při tomto procesu uvolňuje. Konkrétně je měřen procentuální podíl organického uhlíku z testovaného materiálu, který se přeměnil na oxid uhličitý (Šašinková et al., 2022).

Jako substrát pro tento experiment byl použit vyzrálý komerční zahradní kompost Argo (Argo CS a.s., Česká Skalice, Česká republika). K zahájení biodegradace byl kompost přeseť přes síto s velikostí otvorů 0,2 mm. Následujícím krokem byla kultivace a samotné dozrávání kompostu, které proběhlo v boxu v termostatu při udržované teplotě 58°C. Kompost byl umístěn na látku a byl zvlhčen destilovanou vodou za pomoci stříčky. Vlhkost kompostu byla kontrolována každý druhý den a případně bylo provedeno další zvlhčování. Pro optimální vývoj kompostu bylo důležité zajistit pravidelné provzdušňování po dobu 1 týdne. K tomu sloužil provzdušňovací motorek, který byl připojen k boxu (Šašinková et al., 2022).

Experiment byl proveden pro 7 vzorků sledovaných nanomateriálů a 7 vzorků filmů se stejnou koncentrací aktivní látky. Každý vzorek nanomateriálů i filmů byl sledován ve 3 opakováních. Dále byly připraveny 4 blanky (lahve bez vzorku) společné pro nanovlákná i filmy a 6 standardů s celulórou. 3 standardy byly použity pro vzorky nanomateriálů a 3 standardy pro vzorky filmů.

Pro zahájení biodegradace bylo počáteční množství lahví navýšeno, aby bylo možné případně vyřadit v přípravné fázi láhve s výraznou odchylkou od ostatních, tedy ty lahve se špatnou těsností vršku (Šašinková et al., 2022).

Vlastní biodegradace

Do každé z lahví byl navážen perlit za použití předvážky o hmotnosti 1,5 g. Dále za stejného použití předvážky byl navážen vyzrálý průmyslový kompost o hmotnosti 3,3 g. K dosažení 50 % vlhkosti byl obsah lahví zvlhčen vypočteným množstvím minerálního média, kdy po přidání byla směs lehce protřepána. Takto připravené lahve byly uzavřeny vršky a byly umístěny ke kultivaci při 58 °C (± 2 °C). Po 1 týdnu kultivace bylo změřeno za pomoci hmotnostního spektrometru CO₂ a Ar a byla vyhodnocena těsnost vršků výraznou odchylkou. Po vyřazení lahví s výraznou odchylkou od ostatních, tedy s nevhodnou těsností vršku, byly do jednotlivých lahví naváženy vzorky dle hmotností viz příloha I (Česká technická norma (ČSN EN ISO 14855)).

Rozpis hmotností na jednu láhev

m_1 – Vyžrálý průmyslový kompost - 3,3 g

m_2 – Promytý a vysušený perlit - 1,5 g

V – Minerální médium – 2,72 ml

Výpočet pro potřebné množství minerálního média

K dosažení 50 % vlhkosti v lahvi je nutné nejdříve zjistit za pomoci analyzátoru vlhkosti vlhkost kompostu.

Za pomoci analyzátoru vlhkosti Ohaus MB25 byla zjištěna vlhkost kompostu 27,43 %. Pro výpočet objemu minerálního média byla použita trojčlenka, kdy m je označením pro hmotnost kompostu.

Dle výpočtu bylo do lahví s naváženým kompostem a perlitem přidáno 2,72 ml minerálního média k dosažení 50 % vlhkosti.

$$\begin{array}{l} m \dots \dots \dots 27,43 \% \\ (m + x) \dots \dots \dots 50 \% \end{array}$$

$$\frac{(3,3 + x)}{3,3} = \frac{50}{27,43}$$

$$(3,3 + x) = \frac{50 \times 3,3}{27,43}$$

$$x = \left(\frac{50 \times 3,3}{27,43} \right) - 3,3 = 2,72 \text{ ml}$$

Těsnost lahví – hmotnostní spektrometr

Po 1 týdnu kultivace bylo za pomoci hmotnostního spektrometru měřeno množství CO_2 a Argonu v lahvích. Lahve z termostatu bylo potřeba nechat zchladnout na laboratorní teplotu.

Za pomoci drátku byla zkontrolována průchodnost jehly a zároveň proběhla výměna filtru. Dle manuálu došlo k zapnutí hmotnostního spektrometru a počítače a proběhla kontrola kondice přístroje. Kondice přístroje obsahovala kontrolu turba, které musí vykazovat hodnotu 100 % a zároveň kontrolu tlaku, který nesmí přesahovat hodnotu 9.10-5. Po kontrole těchto hodnot byl na počítači zapnut program Hiden Analytical Limited MASsoft Professional a vybrán soubor odpovídající měření CO_2 a Ar. Pro ustálení hodnot je vždy nutné nechat přístroj alespoň 1 hodinu běžet. Po přípravě přístroje bylo možné zahájit

měření. Do injekční stříkačky byl natáhnut vzduch přibližně 1,5 - 2 ml konstantně pro všechna měření. Průchodnost jehly byla zkontrolována drátkem. Po kontrole průchodnosti byla jehla napíchnuta na septum lahve a natažený vzduch v injekční stříkačce byl vymáčknut do lahve pro zabránění neprůchodnosti jehly, což by způsobilo zkreslené výsledky. Po ustálení hodnot byly zapisovány hodnoty CO₂ a Argonu. Dle zapsaných výsledků byly následně vyřazeny lahve s výraznou odchylkou od ostatních (Česká technická norma (ČSN EN ISO 14855)).

Procento biodegradace (Dt) bylo vypočteno jako:

$$Dt = \frac{(CO_2)_t \times (CO_2)_b}{ThCO_2}$$

Kde (CO₂)_t je akumulovaný CO₂ uvolněný každým vzorkem, (CO₂)_b je akumulovaný CO₂ uvolněný slepými baňkami a ThCO₂ je teoretický CO₂ ze vzorku (Šerá et al., 2022).

Vzorky

V tomto experimentu bylo pracováno se vzorky nanovláken a filmů na bázi zeinu. Do každé této lahve bylo naváženo za pomoci analytických vah přibližně 0,1000 g s odchylkou ± 0,005 g. Konkrétní navážky nanomateriálů v jednotlivých lahvích jsou uvedeny v příloze I. Filmy byly do lahví naváženy v polovičním množství. Konkrétní navážky filmů v jednotlivých lahvích jsou uvedeny v příloze II. Láhve se vzorky byly pět umístěny do termostatu s 58 °C. Měření CO₂ a Ar bylo prováděno přibližně po 7 dnech. Měření mělo stejný postup jako pro lahve bez vzorků. Navíc bylo zavedeno provzdušnění po přibližně 14 dnech (Šašinková et al., 2022).

Fluorescenční mikroskopie

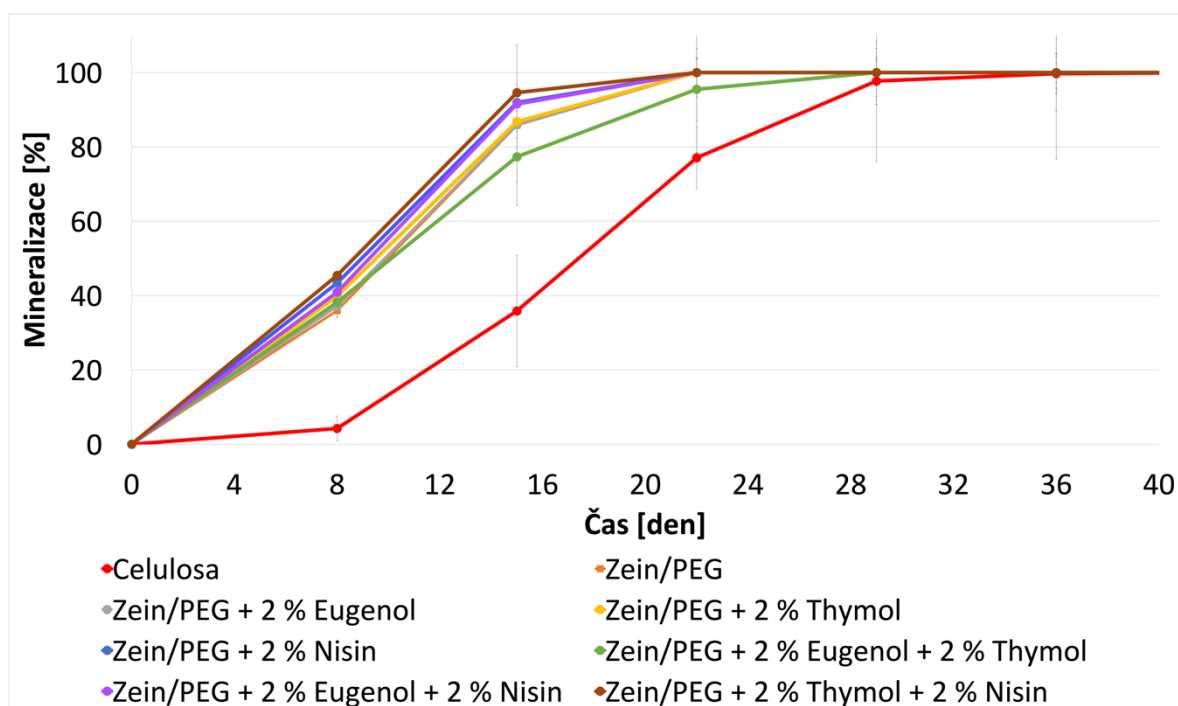
Mikroorganismy byly obarveny metodou živé/mrtvé. Vzorky polymerů byly obarveny pomocí LIVE/DEAD® BacLight Bacterial Viability Kit (ThermoFisher Scientific) podle pokynů výrobce. Dvě barviva, SYTO9 a propidium jodid, byla smíchána se sterilní destilovanou vodou. Živé a mrtvé mikroorganismy byly pozorovány pomocí vertikálního mikroskopu Olympus BX53M (Olympus) ve fluorescenčním režimu (Šerá et al., 2022).

6 VÝSLEDKY A DISKUSE

V literatuře autoři Mariotti et al. (2020) uvádějí a bylo tedy pracováno s předpokladem, že sledovaný materiál je biodegradovatelný. Níže jsou ve 2 kapitolách popsány výsledky vzorků nanovláken a filmů. V první části práce byl proveden test biodegradability měřením vývoje CO₂, který sloužil k monitorování procesu mineralizace. Dále bylo fluorescenční mikroskopickou analýzou potvrzen průběh biodegradace nanovláken a filmů prostřednictvím identifikace defektů ve struktuře.

6.1 Nanovlákná

Měření vývoje CO₂ sloužilo k monitorování procesu mineralizace nanovláken. Získaná data poskytla indikace o významné biodegradaci, která byla pozorována ve všech aktivních látkách ve srovnání s referenčními a kontrolními látkami. Dle grafu č. 1 je viditelný rychlý počátek biodegradčního procesu u každého vzorku.



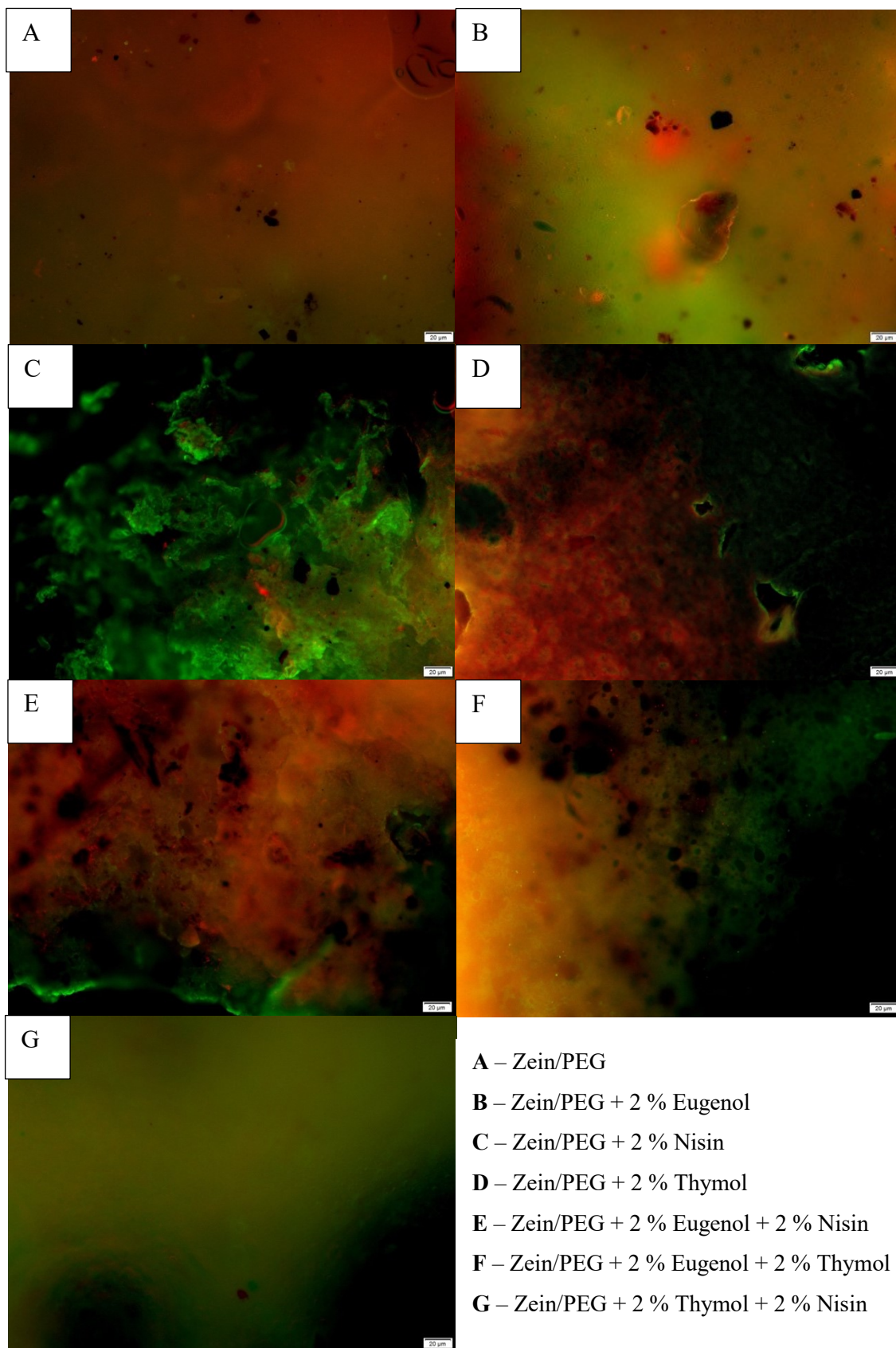
Graf č. 1 Biodegradace nanovláken Zein/PEG⁺ v závislosti na mineralizaci v průběhu času

Výsledky Grafu 1 ukazují vývoj biodegradace vzorků nanovláken na bázi zeinu v závislosti na mineralizaci v průběhu času. V grafu jsou uvedeny hodnoty pouze po 40. den experimentu, jelikož po tomto dni byly všechny vzorky zdegradovány a již nebyl viditelný žádný další vývoj biodegradace. Jako standard byla použita celulóza, která dle grafu č. 1 má nejpomalejší rozklad. To mohlo být ovlivněno například stářím použitého vzorku celulózy.

Všechny vzorky kromě Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % thymol byly rozloženy po přibližně 22 dnech v průmyslovém kompostu při 58°C. Vzorek Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % thymol vykázal největší účinnost při zpomalování biodegradace (5 %), prodlužující dobu o 7 dní ve srovnání s ostatními vzorky. Po 29 dnech byly všechny vzorky, včetně referenčního, plně mineralizovány. Navzdory obsahu antibakteriálních látek, jako jsou eugenol, thymol a nisin, při koncentraci 2 %, bakterie přítomné v testovaném kompostu kompletně degradovaly každý vzorek po 29 dnech.

Výzkum provedený v rámci studie Mariotti et al. (2020) se zaměřil na zkoumání elektricky zvláknovaných vláken na bázi zeinu s bioaktivním sklem (BG) s antibakteriálními vlastnostmi. Vláknina prokázala nízkou absorpci částic BG do zeinové matrice, přičemž obsah BG a CuBG se pohyboval mezi 5 a 6 % celkové hmotnosti vláknové matrice. Termická analýza odhalila několik stupňů úbytku hmotnosti, které lze přisoudit dehydrataci a degradaci zeinu. Degradací studie ukázaly změny pH, absorpce vody a morfologické změny v průběhu 14 dnů. Buněčné studie in vitro prokázaly zvýšenou životaschopnost buněk při použití vláken s inkorporovaným bioaktivním sklem. Procento životaschopnosti bylo vyšší u vzorků obsahujících bioaktivní sklo ve srovnání se vzorky bez BG. Fluorescenční mikroskopie prokázala nárůst buněk v průběhu času, což podporuje výsledky životaschopnosti. Inkorporace bioaktivního skla do vláken na bázi zeinu zlepšila jejich biologické vlastnosti, což je činí slibnými pro aplikace v tkáňovém inženýrství a regenerativní medicíně (Mariotti et al., 2020).

Studie Jing et al. (2018) zkoumala výrobu nosných struktur pomocí směsí inkoustů z polykaprolaktonu a zeinu. Přidání zeinu do zlepšilo mechanické vlastnosti oproti čistému polykaprolaktonu. Navíc se zvýšila biologická rozložitelnost díky enzymatické degradaci zeinu. Studie naznačuje potenciální použití v biomedicínských aplikacích (Jing et al., 2018).



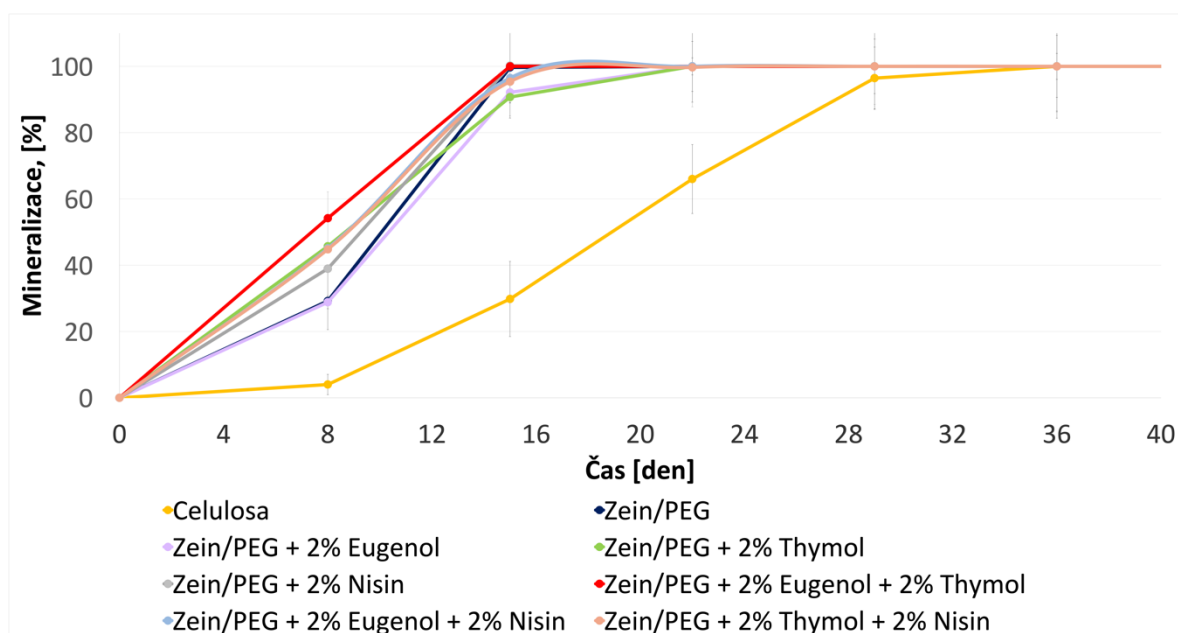
Obrázek 5 Fluorescenční mikroskopie vzorků nanovláken po 7 dnech biodegradace (20µm)

Údaje o biodegradaci byly podpořeny snímky z fluorescenčního mikroskopu obrázek 5 (A-G). Tyto fotografie dokazují průběh biodegradace nanovláken i s jednotlivými aditivami, kde již po 7 dnech jsou patrné defekty ve struktuře každého vzorku. U vzorků Zein/PEG + 2 % nisin a Zein/PEG + 2 % thymol + 2 % nisin lze nejlépe vidět velké množství živých buněk, které znázorňuje zelená barva. Barva červená pak ukazuje již mrtvé buňky mikroorganismů, které převládají u vzorků Zein/PEG, Zein/PEG + 2 % eugenol, Zein/PEG + 2 % thymol, Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % nisin, Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % thymol.

Dle snímku z fluorescenčního mikroskopu lze vidět na obrázku G, že vzorek Zein/PEG + 2 % thymol + 2 % nisin po 7 dnech degradace obsahuje nejméně defektů v porovnání se vzorky se stejným obsahem přídatné antibakteriální látky. Tento vzorek měl však dle grafu č. 1 přibližně o 1 % rychlejší nástup rozkladu.

6.2 Filmy

Měření vývoje CO₂ bylo použito také k sledování procesu mineralizace i u filmů. Získané údaje naznačují významnou biodegradaci, která byla pozorována ve všech aktivních látkách ve srovnání s referenčními a kontrolními látkami. Graf č. 2 ukazuje rychlý začátek biodegradace procesu ve všech vzorcích filmů.



Graf č. 2 Biodegradace filmů Zein/PEG⁺ v závislosti na mineralizaci v průběhu času

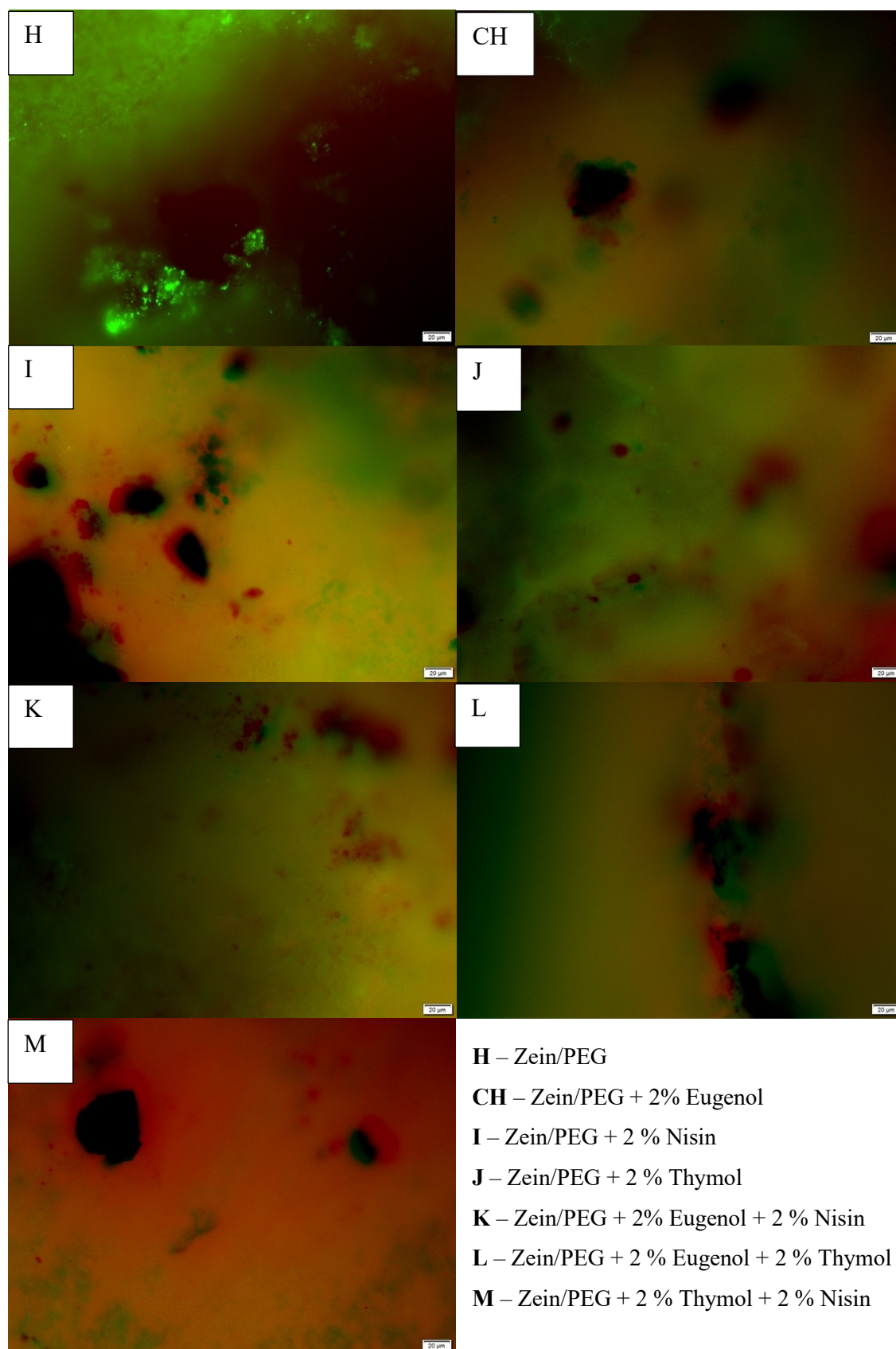
Graf č. 2 ukazuje vývoj biodegradace vzorků filmů na bázi zeinu v závislosti na mineralizaci v průběhu času. V grafu jsou uvedeny hodnoty pouze po 40. den experimentu, jelikož po

tomto dni byly všechny vzorky zdegradovány a již nebyl viditelný žádný další vývoj biodegradace stejně jako u vzorků nanovláken. Získaná data ukazují rychlejší proces biodegradace ve srovnání s nanovláknem. Na rozdíl od nanovláken byly však filmy navažovány do lahví o přibližně poloviční hmotnosti. Jako standard byla použita celulóza, která dle grafu č. 1 má nejpomalejší rozklad. To mohlo být ovlivněno stářím použitého vzorku celulózy.

Dle grafu č. 2 lze říci, že všechny vzorky filmů projevily rychlý počátek biodegradčního procesu a byly zdegradovány již přibližně po 16 dnech. Avšak vzorek Zein/PEG + 2% eugenol + 2% thymol vykazuje nejrychlejší postup degradace, zatímco vzorky Zein/PEG + 2% Eugenol a Zein/PEG + 2% Thymol byly rozloženy až po 22 dnech v průmyslovém kompostu při 58 °C. Po 7 dnech jsou patrné defekty i u filmů na bázi Zein/PEG, které byly pozorovány fluorescenčním mikroskopem.

Studie Pleva et al. (2022) vyhodnocovala tvorbu biofilmu na vybraných biodegradabilních polymerních fóliích (PLA, PBAT, PBS) s vybranými bakteriálními kmeny. Studie také pracovala se vzorky s inkorporovanými antimikrobiálními sloučeninami (thymol nebo eugenol). Na obohacených polymerních filmech byla stanovena antimikrobiální aktivita a také snížení tvorby biofilmu. Bylo tedy prokázáno, že všechny jsou antimikrobiální a účinné při snižování tvorby biofilmu, který přispívá k biodegradaci. Tato studie podporuje zjištění týkající se účinků látek jako je thymol a eugenol na biodegradční procesy (Pleva et al., 2022).

Antibakteriální účinky potvrzují autoři studie Lopresti et al. (2021). V této studii byly připraveny antibakteriální filmy na bázi MB s obsahem karvakrolu a nisinu jako biocidů. Tato studie potvrzuje antibakteriální aktivitu proti *L. monocytogenes*, *S. enteritidis*, *E. coli* a *St. Aureus* (Lopresti et al., 2021).



Obrázek 6 Fluorescenční mikroskopie vzorků filmů po 7 dnech biodegradace (20µm)

Údaje o biodegradaci byly jako u vzorků nanovláken podpořeny snímky z fluorescenčního mikroskopu. Obrázky H-M se vzorky Zein/PEG, Zein/PEG + 2% Eugenol, Zein/PEG + 2 % Nisin, Zein/PEG + 2 % Thymol, Zein/PEG + 2% Eugenol + 2 % Nisin, Zein/PEG + 2 % Eugenol + 2 % Thymol, Zein/PEG + 2 % Thymol + 2 % Nisin dokazují průběh biodegradace nanovláken i s jednotlivými aditivami, kde již po 7 dnech jsou patrné defekty ve struktuře každého vzorku.

Na snímcích je viditelné zeleně zbarvené živé konsorcium bakterií a červeně zbarvené mrtvé buňky. Na obrázku M (Zein/PEG + 2 % thymol + 2 % nisin) převládají mrtvé buňky. Lze tedy z obrázku 6 odvodit že tyto přidané látky jsou schopné mikroorganismy po nějakou dobu inhibovat či usmrcovat a dokud se neuvolní do prostředí tak zpomalují biodegradaci. Tato zjištění mohou mít důležitý dopad na vývoj biodegradabilních materiálů s regulovatelnými vlastnostmi.

ZÁVĚR

Studovaná nanovlákna na bázi zeinu (Zein/PEG) jsou biodegradabilním materiálem s vhodným využitím například v potravinářském průmyslu jako obalový materiál či jako obal farmaceutických produktů. Používá se také jako stavební materiál v tkáňovém inženýrství. Díky svým vlastnostem je schopen tvořit filmy a vlákna. Výsledky provedeného experimentu ukazují na fakt, že všechny vzorky nanovláken i filmů vykazují rychlý počátek biodegradčního procesu v průmyslovém kompostu při 58 °C (± 2 °C). Ze skupiny vzorků nanovláken vzorek Zein/PEG s přídavkem kombinace thymolu (2 %) a nisinu (2 %) má nejrychlejší průběh biodegradace a byl zcela zdegradován po přibližně 22 dnech. Nejpomaleji zdegradovaný vzorek byl Zein/PEG + 2 % eugenol + 2 % thymol, který oproti vzorku s přídavkem 2 % nisinu + 2 % thymolu byl v 16 dni pomalejší až o 15 %. Ve 22. dni byl však rozdíl již zanedbatelný.

Ze skupiny vzorků filmů jsou rozdíly v nejrychlejším průběhu biodegradace nevýznamné. Téměř všechny vzorky filmů byly rozloženy již po 16 dnech. Nejpomalejší průběh však vykazují vzorky Zein/PEG film + 2 % eugenol + 2 % nisin a Zein/PEG film + 2 % thymol. Přídavné látky prodloužily dobu degradace o přibližně 5 dní. Snímky z fluorescenčního mikroskopu dokazují, že již po 7 dnech od zahájení biodegradace jsou patrné defekty na všech sledovaných vzorcích nanovláken i filmů. Závěrem lze říct, že přídavné látky s antibakteriálními účinky průběh degradace výrazně nezpomalují, maximálně o 2-5 dnů, což je nevýznamný časový úsek.

Tato práce přispívá k porozumění biodegradace nanovláken i filmů vyrobených na bázi zeinu a jejich možných aplikací v oblasti environmentálně šetrných materiálů. Vzhledem k tomuto zjištění lze experiment dále rozšířit například zvýšením koncentrací či jiných kombinací přídavných látek.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALBRIGHT, Vurtice C. a CHAI, Yunzhou, 2021. Knowledge Gaps in Polymer Biodegradation Research. Online. Environmental Science & Technology. 2021-09-07, roč. 55, č. 17, s. 11476-11488. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c00994>. [cit. 2023-10-25].

ALI, Shamshad; KHATRI, Zeeshan; OH, Kyung Wha; KIM, Ick-Soo a KIM, Seong Hun, 2014. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. Online. Macromolecular Research. Roč. 22, č. 9, s. 971-977. ISSN 1598-5032. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13233-014-2136-4>. [cit. 2023-10-24].

ASIANDU, Angga Puja; WAHYUDI, Agus a SARI, Septi Widiya, 2021. AQUATIC PLASTICS WASTE BIODEGRADATION USING PLASTIC DEGRADING MICROBES. Online. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. 2021-12-01. ISSN 1338-5178. Dostupné z: <https://doi.org/10.55251/jmbfs.3724>. [cit. 2023-10-24].

ATTALLAH, Olivia A.; MOJICEVIC, Marija; GARCIA, Eduardo Lanzagorta; AZEEM, Muhammad; CHEN, Yuanyuan et al., 2021. Macro and Micro Routes to High Performance Bioplastics: Bioplastic Biodegradability and Mechanical and Barrier Properties. Online. Polymers. Roč. 13, č. 13. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13132155>. [cit. 2023-10-24].

BAIDURAH, Siti, 2022. Methods of Analyses for Biodegradable Polymers: A Review. Online. Polymers. Roč. 14, č. 22. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14224928>. [cit. 2024-04-25].

BUENO, Irene; HE, Huan; KINSLEY, Amy C.; ZIEMANN, Sarah J.; DEGN, Lauren R. et al., 2023. Biodegradation, photolysis, and sorption of antibiotics in aquatic environments: A scoping review. Online. Science of The Total Environment. Roč. 897. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165301>. [cit. 2023-11-06].

CABALLERO, Benjamin; TRUGO, Luiz C. a FINGLAS, Paul M. Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. San Diego, Calif.: Academic, 2003. ISBN 9780122270550. Dostupné také

z: <https://proxy.k.utb.cz/login?url=http://www.sciencedirect.com/science/referenceworks/9780122270550>

DONG, Jing; ZHANG, Lushan; LIU, Yongtao; XU, Ning; ZHOU, Shun et al., 2020. Thymol Protects Channel Catfish from *Aeromonas hydrophila* Infection by Inhibiting Aerolysin Expression and Biofilm Formation. Online. *Microorganisms*. Roč. 8, č. 5. ISSN 2076-2607. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050636>. [cit. 2024-05-05].

DUCHÁČEK, Vratislav, 1995. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 8070802413.

ESPOSITO, Maria Consiglia; CORSI, Ilaria; RUSSO, Gian Luigi; PUNTA, Carlo; TOSTI, Elisabetta et al., 2021. The Era of Nanomaterials: A Safe Solution or a Risk for Marine Environmental Pollution? Online. *Biomolecules*. Roč. 11, č. 3. ISSN 2218-273X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom11030441>. [cit. 2023-10-30].

GAONA-SÁNCHEZ, V.A.; CALDERÓN-DOMÍNGUEZ, G.; MORALES-SÁNCHEZ, E.; CHANONA-PÉREZ, J.J.; VELÁZQUEZ-DE LA CRUZ, G. et al., 2015. Preparation and characterisation of zein films obtained by electrospraying. Online. *Food Hydrocolloids*. Roč. 49, s. 1-10. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.003>. [cit. 2023-10-24].

HE, Chuanglong; NIE, Wei a FENG, Wei, 2014. Engineering of biomimetic nanofibrous matrices for drug delivery and tissue engineering. Online. *J. Mater. Chem. B*. Roč. 2, č. 45, s. 7828-7848. ISSN 2050-750X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C4TB01464B>. [cit. 2023-10-24].

CHEN, Han; SU, Jiaqi; BRENNAN, Charles S.; VAN DER MEEREN, Paul; ZHANG, Nana et al., 2022. Recent developments of electrospun zein nanofibres: Strategies, fabrication and therapeutic applications. Online. *Materials Today Advances*. Roč. 16. ISSN 25900498. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100307>. [cit. 2023-10-24].

Introductory tutorial for electrospinning: Typical electrospinning device, c2022. Online. In: *Nanofiber Labs*. Dostupné z: <https://www.nanofiberlabs.com/solutions/introductory-tutorial-for-electrospinning.html>. [cit. 2023-10-24].

JING, Linzhi; WANG, Xiang; LIU, Hang; LU, Yuyun; BIAN, Jinsong et al., 2018. Zein Increases the Cytoaffinity and Biodegradability of Scaffolds 3D-Printed with Zein and Poly(ϵ -caprolactone) Composite Ink. Online. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2018-06-06, roč. 10, č. 22, s. 18551-18559. ISSN 1944-8244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsami.8b04344>. [cit. 2024-05-14].

KAMATOU, Guy P.; VERMAAK, Ilze a VILJOEN, Alvaro M., 2012. Eugenol—From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. Online. *Molecules*. Roč. 17, č. 6, s. 6953-6981. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules17066953>. [cit. 2024-05-06].

KLIEM, Silvia; KREUTZBRUCK, Marc a BONTEN, Christian, 2020. Review on the Biological Degradation of Polymers in Various Environments. Online. *Materials*. Roč. 13, č. 20. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma13204586>. [cit. 2024-05-12].

KOELMANS, Albert A.; MOHAMED NOR, Nur Hazimah; HERMSEN, Enya; KOOI, Merel; MINTENIG, Svenja M. et al., 2019. Microplastics in freshwaters and drinking water: Critical review and assessment of data quality. Online. *Water Research*. Roč. 155, s. 410-422. ISSN 00431354. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.054>. [cit. 2023-11-04].

KONG, Uwei; MOHAMMAD RAWI, Nurul Fazita a TAY, Guan Seng, 2023. The Potential Applications of Reinforced Bioplastics in Various Industries: A Review. Online. *Polymers*. Roč. 15, č. 10. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym15102399>. [cit. 2023-10-24].

LOPRESTI, Francesco; BOTTA, Luigi; LA CARRUBBA, Vincenzo; DI PASQUALE, Liliana; SETTANNI, Luca et al., 2021. Combining carvacrol and nisin in biodegradable films for antibacterial packaging applications. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. Roč. 193, s. 117-126. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.118>. [cit. 2024-05-14].

MANO, Eloisa Biasotto, 2007. Natural Polymer Characterization. Online. *Macromolecular Symposia*. Roč. 258, č. 1, s. 1-4. ISSN 1022-1360. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/masy.200751201>. [cit. 2023-10-26].

MARCHESE, Anna; ORHAN, Ilkay Erdogan; DAGLIA, Maria; BARBIERI, Ramona; DI LORENZO, Arianna et al., 2016. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A

brief review of the literature. Online. Food Chemistry. Roč. 210, s. 402-414. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>. [cit. 2024-05-06].

MARIOTTI, Camilla E.; RAMOS-RIVERA, Laura; CONTI, Bice a BOCCACCINI, Aldo R., 2020. Zein-Based Electrospun Fibers Containing Bioactive Glass with Antibacterial Capabilities. Online. Macromolecular Bioscience. Roč. 20, č. 7. ISSN 1616-5187. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mabi.202000059>. [cit. 2024-04-06].

MECERREYES, David; PORCARELLI, Luca a CASADO, Nerea, 2020. Innovative Polymers for Next-Generation Batteries. Online. Macromolecular Chemistry and Physics. Roč. 221, č. 4. ISSN 1022-1352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/macp.201900490>. [cit. 2023-10-24].

NARANCIC, Tanja a O'CONNOR, Kevin E., 2019. Plastic waste as a global challenge: are biodegradable plastics the answer to the plastic waste problem? Online. Microbiology. 2019-02-01, roč. 165, č. 2, s. 129-137. ISSN 1350-0872. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/mic.0.000749>. [cit. 2023-10-24].

ONE EARTH - ONE OCEAN, c2022. Online. ONE EARTH - ONE OCEAN. Dostupné z: <https://oneearth-oneocean.com/en/the-problem/>. [cit. 2024-01-20].

PAVITHRA, B., 2014/01/01. Eugenol - A review. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Roč. 6, s. 153-154. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/287676963_Eugenol_-_A_review

PLEVA, Pavel; BARTOŠOVÁ, Lucie; MÁČALOVÁ, Daniela; ZÁLEŠÁKOVÁ, Ludmila; SEDLAŘÍKOVÁ, Jana et al., 2022. Biofilm Formation Reduction by Eugenol and Thymol on Biodegradable Food Packaging Material. Online. Foods. Roč. 11, č. 1. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods11010002>. [cit. 2024-05-10].

PRIESTLEY, Caroline M; WILLIAMSON, Elizabeth M; WAFFORD, Keith A a SATTELLE, David B, 2003. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA A receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. Online. British Journal of Pharmacology. Roč. 140, č. 8, s. 1363-1372. ISSN 0007-1188. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705542>. [cit. 2024-05-05].

RAFIQUE, Javed; YU, Jie; ZHA, Xiaoxiong a RAFIQUE, Khalid, 2010. Fabrication of ultra thin and aligned carbon nanofibres from electrospun polyacrylonitrile nanofibres. Online. Bulletin of Materials Science. Roč. 33, č. 5, s. 553-559. ISSN 0250-4707. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12034-010-0085-x>. [cit. 2023-10-24].

RÂPĂ, Maria, P STOICA, Elisabeta POPA, Elena GROSU a G VLAD, 2013/07/01. Preparation of medical devices with antimicrobial properties. JOURNAL OF OPTOELECTRONICS AND ADVANCED MATERIALS. 15, 807-816. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/274641303_Preparation_of_medical_devices_with_antimicrobial_properties/citation/download

SILVA, Rafael Resende Assis; MARQUES, Clara Suprani; ARRUDA, Tarsila Rodrigues; TEIXEIRA, Samiris Cocco a DE OLIVEIRA, Taíla Veloso, 2023. Biodegradation of Polymers: Stages, Measurement, Standards and Prospects. Online. Macromol. Roč. 3, č. 2, s. 371-399. ISSN 2673-6209. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/macromol3020023>. [cit. 2023-11-06].

SIVAN, Alex, 2011. New perspectives in plastic biodegradation. Online. Current Opinion in Biotechnology. Roč. 22, č. 3, s. 422-426. ISSN 09581669. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.013>. [cit. 2023-10-24].

ŠAŠINKOVÁ, Dagmar; SERBRUYNS, Lynn; JULINOVÁ, Markéta; FAYYAZBAKSHI, Ahmad; DE WILDE, Bruno et al., 2022. Evaluation of the biodegradation of polymeric materials in the freshwater environment—An attempt to prolong and accelerate the biodegradation experiment. Online. Polymer Degradation and Stability. Roč. 203. ISSN 01413910. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2022.110085>. [cit. 2024-02-16].

ŠERÁ, Jana; HUYNH, Florence; LY, Faith; VINTER, Štěpán; KADLEČKOVÁ, Markéta et al., 2022. Biodegradable Polyesters and Low Molecular Weight Polyethylene in Soil: Interrelations of Material Properties, Soil Organic Matter Substances, and Microbial Community. Online. International Journal of Molecular Sciences. Roč. 23, č. 24. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms232415976>. [cit. 2024-05-06].

ULANOWSKA, Magdalena a OLAS, Beata, 2021. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. Online. International Journal of Molecular

Sciences. Roč. 22, č. 7. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>. [cit. 2024-05-06].

VROMAN, Isabelle a TIGHZERT, Lan, 2009. Biodegradable Polymers. Online. Materials. Roč. 2, č. 2, s. 307-344. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma2020307>. [cit. 2023-10-24].

YOSHINO, Tomoyuki; ISOBE, Seiichiro a MAEKAWA, Takaaki, 2002. Influence of preparation conditions on the physical properties of zein films. Online. Journal of the American Oil Chemists' Society. Roč. 79, č. 4, s. 345-349. ISSN 0003-021X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0486-6>. [cit. 2023-10-30].

ZHANG, Jixian; WEN, Chaoting; ZHANG, Haihui; ZANDILE, Manyakara; LUO, Xiaoping et al., 2018. Structure of the zein protein as treated with subcritical water. Online. International Journal of Food Properties. 2018-01-01, roč. 21, č. 1, s. 128-138. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1414839>. [cit. 2023-10-24].

ZUO, Feng; TAN, Dawud H.; WANG, Zaifei; JEUNG, Soondeuk; MACOSKO, Christopher W. et al., 2013. Nanofibers from Melt Blown Fiber-in-Fiber Polymer Blends. Online. ACS Macro Letters. 2013-04-16, roč. 2, č. 4, s. 301-305. ISSN 2161-1653. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/mz400053n>. [cit. 2023-10-24].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CO ₂	Oxid uhličitý
Ar	Argon
O ₂	Kyslík
PEG	polyethylen glykol
ml	mililitr
g/l	gram/litr – jednotka hmotnostní koncentrace
m	hmotnost
V	objem
°C	stupeň Celsia – jednotka teploty
PVC	polyvinylchlorid
PS	polystyren
PVAC	polyvinylacetát
PE	polyethylen
PIB	polyizobutylem
PHA	polyhydroxyalkanoáty
SEM	Rastrovací elektronová mikroskopie (Scanning Electron Microscopy)
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie (Transmission Electron Microscopy)
GC	plynová chromatografie
SEC	Rozměrově-vylučovací chromatografie
GPC	Gelová chromatografie
NMR	Spektroskopie nukleární magnetické rezonance
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
PLA	kyselina polyléčná
PBAT	polybutylen adipát-co-tereftalát
PBS	polybutylensukcinát

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Molekulová struktura zeinu (Ali et al., 2014)	15
Obrázek 3 Chemická struktura nisinu (Râpă et al., 2013)	22
Obrázek 4 Chemická struktura thymolu (Dong et al., 2020).....	22
Obrázek 5 Chemická struktura eugenolu (Kamatou et al., 2012).....	23
Obrázek 5 Fluorescenční mikroskopie vzorků nanovláken po 7 dnech biodegradace (20μm)	32
Obrázek 6 Fluorescenční mikroskopie vzorků filmů po 7 dnech biodegradace (20μm).....	35

SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf č. 1 Biodegradace nanovláken Zein/PEG⁺ v závislosti na mineralizaci v průběhu času</i>	30
<i>Graf č. 2 Biodegradace filmů Zein/PEG⁺ v závislosti na mineralizaci v průběhu času.....</i>	33

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Navážky vzorků nanovláken

Příloha P II: Navážky vzorků biofilmů

PŘÍLOHA P I: NAVÁŽKY VZORKŮ NANOVLÁKEN

Označení lahví	1 A	1 B	1 C	2 A	2 B	2 C	3 A	3 B	3 C	4 A	4 B	4 C*
Hmotnost m [g]	0,1005	0,10004	0,10061	0,09976	0,09914	0,10033	0,10049	0,1001	0,10017	0,1003	0,10015	0,07668

Označení lahví	5 A	5 B	5 C	6 A	6 B	6 C	7 A	7 B	7 C	C A	C B	C C
Hmotnost m [g]	0,1014	0,10079	0,1004	0,10035	0,09988	0,10082	0,1018	0,09985	0,09966	0,1019	0,0990	0,1015

* U navážky do lahve 4 C pochyběl vzorek, proto je hodnota výrazně odlehlá od ostatních.

PŘÍLOHA P II: NAVÁŽKY VZORKŮ FILMŮ

Označení lahví	8 A	8 B	8 C	9 A	9 B	9 C	10 A	10 B	10 C	11 A	11 B	11 C
Hmotnost m [mg]	50,4	51,2	50,5	50,5	51,3	50,3	51,3	52,0	51,5	51,5	49,5	50,0

Označení lahví	12 A	12 B	12 C	13 A	13 B	13 C	14 A	14 B	14 C	C D	C E	C F
Hmotnost m [mg]	50,3	50,0	49,0	50,2	50,5	49,9	50,8	49,9	50,8	49,9	49,8	50,9