

Tvorba biofilmu na polymerních površích

Bc. Kristýna Janů

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů
akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Kristýna Janů**
Osobní číslo: **T14470**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Tvorba biofilmu na polymerních površích**

Zásady pro vypracování:

Studentka se seznámí s dosud publikovanými studiemi o vztahu povrchových vlastností polymerů a tvorby biofilmu na nich. V návaznosti na takto získané informace naplánuje a provede sérii experimentů za účelem stanovení tvorby biofilmu na polymerních površích. Povrchy následně charakterizuje z hlediska jejich povrchových a biologických vlastností. Studentka se detailně seznámí s prací v mikrobiologické laboratoři s metodami syntézy, modifikace a charakterizace polymerních filmů.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., RELICHOVÁ, J. et al. Genetika. Brno: Masarykova univerzita, 2009.

ALBERTS B. et al. Molecular Biology of the Cell 5th ed. Garland Science.

DAVID A.P. BIZIOS R. Biological Interactions on Material Surfaces. ISBN 978-0-387-98160-4

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.**
Centrum polymerních materiálů

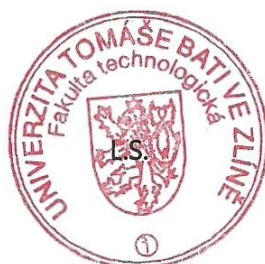
Datum zadání diplomové práce: **15. ledna 2016**

Termín odevzdání diplomové práce: **16. května 2016**

Ve Zlíně dne 1. března 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Jaroslav Krivýma

Obor: Inženýrství polymerů

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 4.5.2016

Jaroslav Krivýma

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 nevdělečně 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). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

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

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

ABSTRAKT

Tato diplomová práce pojednává o vztahu biofilmu s polymerními povrchy. Zkoumala se tvorba biofilmu plísní a bakterií na 17 různých polymerních nátěrech, které slouží jako ochrana proti korozi. Kromě polymerních nátěrů byla testována tvorba biofilmu také na polyanilinové soli, bázi a bázi upravené fosfowolframovou kyselinou. V experimentu byly využity gramnegativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a grampozitivní *Bacillus cereus* a plísně *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Paecilomyces variotii* a *Gliocladium virens*. V případě biofilmu plísní, se zjišťovala schopnost biofilmu přerůst vzorek a schopnost tvořit biofilm přímo na povrchu vzorku. Za pomoci dvou různých agarů, kompletního a nekompletního, bylo možné vyhodnotit, zda testované vzorky poskytují živiny pro růst biofilmu. Vyhodnocení bakteriálního biofilmu spočívalo v jeho kvantifikaci pomocí luminometru a v případě plísní ve výpočtu procentuální míry přerůstání a tvorby biofilmu na povrchu vzorku. Na všech površích byla měřena povrchová energie pomocí metody sedící kapky. Výsledky z tvorby biofilmu bakterií nevykazovaly výrazné rozdíly kromě vzorku SiO₂ obsahující PANI. U biofilmu plísní měl vliv na přerůstání a tvorbu biofilmu zvolený typ agaru. Protože plísně na nekompletním agaru musely vyhledávat živiny, vytvářely na povrchu vzorků porost řídkého mycélia. V případě polyanilinových filmů, některé plísně potřebovaly pro přerůstání a tvorbu biofilmu živiny z agaru.

Klíčová slova: Biofilm, plísně, bakterie, polymerní nátěry, polyanilin

ABSTRACT

This thesis focused on the formation of bacterial and fungal biofilm on polymer surfaces, mainly on polymeric coating. The biofilm formation on surfaces of 17 various polymeric coatings, and polyaniline salt, base and base modified by phosphotungstic acid was studied. Gram negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, gram positive bacteria *Bacillus cereus* and four fungi (*Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Paecilomyces variotii* and *Gliocladium virens*) were used as model microorganism. In the case of fungi, two different agars, were used to evaluate whether the tested samples provide nutrients for the biofilm growth. The results clearly show that there is no significant impact of coating composition on bacterial biofilm formation, except the polymeric coating containing polyaniline and SiO₂. In case of fungi, the type of agar had significant effect on biofilm formation and overgrowth. In the case of polyaniline films, some fungi needed nutrients from agar for overgrowth and formation of biofilm. The surface was also characterized by surface energy and XPS.

Keywords: Biofilms, molds, bacteria, polymer coatings, polyaniline

Tímto bych chtěla poděkovat mému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Petru Humpolíčkovi, Ph.D. za pomoc, ochotu, inspiraci, cenné rady a trpělivost při zpracování této práce. Mé poděkování patří také doc. RNDr. Janu Růžičkovi, Ph.D. a Ing. Nikole Mikušové za pomoc a spolupráci při získávání údajů pro výzkumnou část.

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

OBSAH

ÚVOD	12
I TEORETICKÁ ČÁST	13
1 BIOFILM	14
1.1 VZNIK A TVORBA BIOFILMU	15
1.1.1 Plísně	16
1.1.2 Bakterie	17
1.2 PROBLÉMY SPOJENÉ S TVORBOU BIOFILMU A JEHO PRAKTICKÉ VYUŽITÍ	18
1.2.1 Plísně	18
1.2.2 Bakterie	18
1.3 VZTAH BIOFILMU K MATERIÁLU	19
2 VODIVÉ POLYMERY	21
2.1 POLYANILIN	22
2.1.1 Poly(<i>p</i> -phenylenediamin)	23
2.2 POLYPYRROL.....	23
2.3 VODIVOST	24
2.4 SYNTÉZA A ZPRACOVÁNÍ.....	25
2.5 BIODEGRADABILITA	26
2.6 BIODROPATIBILITA	27
2.7 MODIFIKACE POVRCHU	27
2.8 PŘÍKLADY VZTAHU BIOFILMŮ K VODIVÝM POLYMERŮM	30
2.8.1 Bakterie	30
2.8.2 Plísně	30
2.8.3 Kvasinky	30
2.9 VYUŽITÍ A APLIKACE	31
2.9.1 Uvolňování léčiv	31
2.9.2 Elektrická stimulace přes vodivý scaffold a elektromechanický efekt	31
2.9.3 Biosenzory.....	31
2.9.4 Nervové sondy	32
2.9.5 Tkáňové inženýrství	32
2.9.6 Stínění proti elektromagnetickému rušení	32
2.9.7 Fotovoltaika.....	33
2.9.8 Další aplikace	33
3 POLYMERNÍ NÁTĚRY	35
3.1 EPOXYESTEROVÉ PRYSKYŘICE	36
3.2 PŘÍSADY	37
Diatomit - SiO ₂	37
Wollastonit - CaSiO ₃	37
Zinkferit - ZnFe ₂ O ₄	37
Wolframan železitý - Fe ₂ WO ₆	37
Molybdenan železitý - Fe ₂ (MoO ₄) ₃	37
Perovskit - CaTiO ₃	38
4 CHARAKTERIZACE POVRCHU	39

4.1	POVRCHOVÁ ENERGIE	39
4.2	RENTGENOVÁ FOTOELEKTRONOVÁ SPEKTROSKOPIE	40
4.3	RAMANOVA SPEKTROSKOPIE.....	41
4.4	MIKROSKOPIE ATOMÁRNÍCH SIL.....	42
II PRAKTICKÁ ČÁST		44
5	MATERIÁL A METODIKA	45
5.1	STANOVENÍ TVORBY BIOFILMU	45
5.1.1	Plísně	45
5.1.2	Bakterie	45
5.2	ŽIVNÉ PŮDY A MÉDIUM	45
5.2.1	Živné půdy pro biofilm plísní	45
	Kompletní agar	45
	Nekompletní agar	46
5.2.2	Živná půda a médium pro bakteriální biofilm.....	46
5.3	POLYMERNÍ NÁTĚRY	47
5.3.1	Laboratorní příprava pigmentů	49
5.3.2	Povrchová úprava pigmentů pomocí VP a zinkferitu	49
5.3.3	Příprava vzorků nátěrových hmot	51
5.3.4	Epoxyesterová pryskyřice	51
5.4	POLYANILIN	51
5.4.1	PANI-S	51
5.4.2	PANI-B	52
5.4.3	PANI-B reprotonovaná kyselinou fosfowolframovou	52
5.5	OČKOVÁNÍ	52
5.5.1	Očkování plísní	52
5.5.1.1	Polymerní nátěry	52
5.5.1.2	PANI filmy	53
5.5.2	Očkování bakterií	53
5.6	ODEČET TVORBY A PŘERŮSTÁNÍ BIOFILMU	53
5.7	CHARAKTERIZACE POVRCHU.....	54
5.7.1	Měření kontaktního úhlu metodou sedící kapky	54
5.7.2	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie	54
6	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	55
6.1	VÝSLEDKY Z MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU	55
6.2	VÝSLEDKY Z MĚŘENÍ XPS PANI FILMŮ	57
6.3	PŘERŮSTÁNÍ A TVORBA BIOFILMU PLÍSNÍ	59
6.3.1	Polymerní nátěry	60
6.3.2	PANI filmy	66
6.4	TVORBA BAKTERIÁLNÍHO BIOFILMU.....	72
ZÁVĚR		74
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		75
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		84
SEZNAM OBRÁZKŮ		87
SEZNAM TABULEK.....		88

SEZNAM GRAFŮ	89
---------------------------	-----------

ÚVOD

Polyanilin, polypyrrol a poly(*p*-phenylenediamine) jsou polymery obsahující konjugovaný systém dvojných vazeb, patří tedy do skupiny vodivých polymerů. Vodivé polymery je možné připravit různými metodami a vytvořit je tak v různých formách. Polyanilin je možné připravit v pěti různých formách, které se liší svými vlastnostmi a jsou rozeznatelné pouhým okem, díky jejich odlišnému zbarvení. Vodivé polymery se využívají v mnoha aplikacích, např. jako biosenzory, scaffoldy pro tkáňové inženýrství, nervové sondy, zařízení pro elektromagnetické stínění, prostředek pro uvolňování léčiv či jako součást polymerních nátěrů, kde tvoří antikorozi složku. Posledně jmenované jsou hlavním předmětem této práce.

Polymerní nátěry slouží jako ochrana materiálu proti korozi. Jsou složeny z epoxyesterové pryskyřice, antikorozi složky a pigmentů, kterými lze upravovat různé vlastnosti. Aby mohly mít široké uplatnění, musí být všechny tyto komponenty ekologicky nezávadné. Vodivé polymery zde mohou sloužit jako náhrada antikorozi látek.

Mikroorganismy tvoří biofilm na površích materiálů, čímž způsobují závažné problémy v různých odvětvích průmyslu i v medicíně. Mohou způsobovat závažná onemocnění nebo urychlovat korozi materiálů. Jelikož ve formě biofilmu jsou odolné vůči chemickému, biologickému i mechanickému namáhání, je nutné hledat řešení v přípravě antimikrobiálních povrchů.

Cílem této práce je zjistit vliv složení nátěrových hmot a jejich povrchové energie na schopnost mikroorganismů tvořit na nich biofilm.

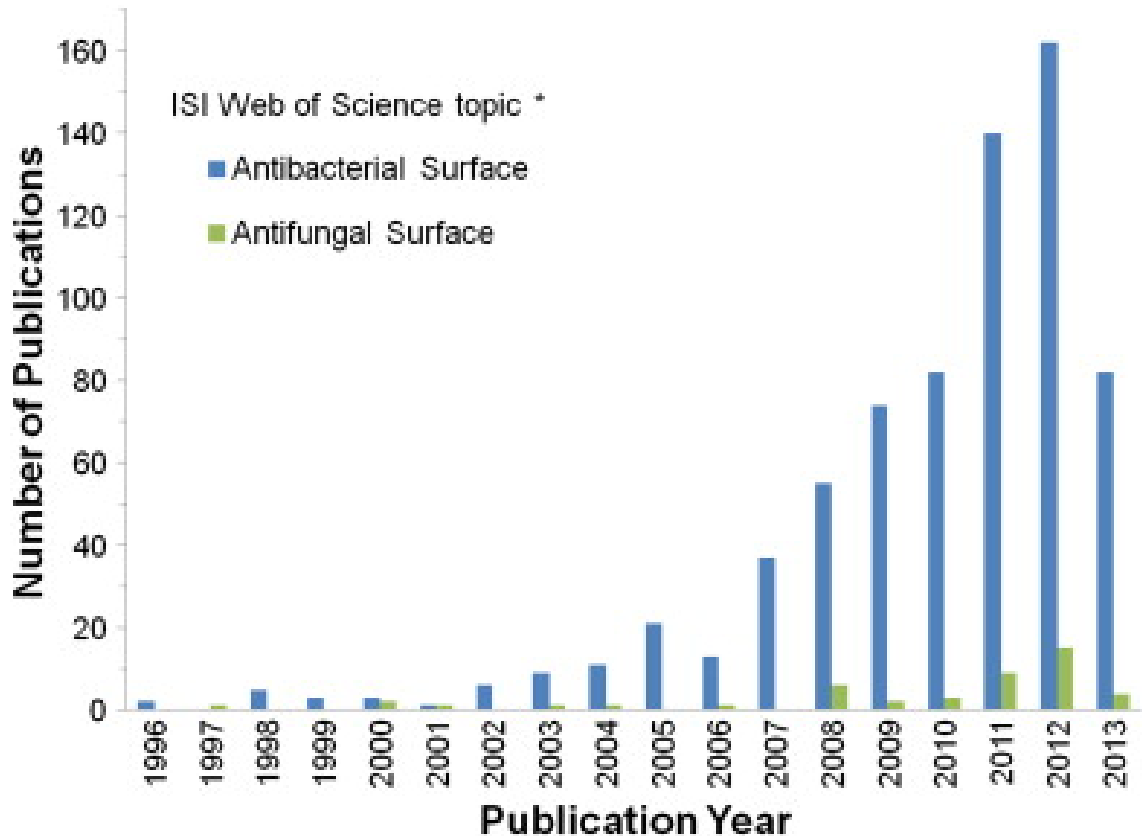
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOFILM

Biofilm je společenství mikroorganismů (mikrobiální komunita), které se tímto způsobem přizpůsobují různému prostředí [1]. Dle jiné definice je biofilm společenství mikroorganismů připojené na povrch substrátu a produkující extracelulární polymerní látky (EPS). Bakterie v biofilmu vykazují změněný fenotyp ve srovnání s odpovídajícími planktonickými buňkami, liší se zejména v růstu, genové transkripci, produkci proteinů a mezibuněčné interakci [2]. Biofilm vytváří vhodné prostředí, díky kterému mohou přežít takové podmínky, které by pro daného jedince byly neslučitelné se životem. Může být složen z jednoho i více druhů, např. zubní biofilm (zubní plak) se může skládat z více než 700 různých druhů, a to jak bakterií, tak kvasinek [1]. Biofilmy mohou kolonizovat povrchy syntetických materiálů, polymerních, keramických i kovových [3]. Liší se v mnoha ohledech, ve složení, jak a kde rostou, a zda například mohou způsobovat onemocnění. Biofilmy ale nezpůsobují jen závažné problémy, např. v těle vytváří mikroflóru, která nás brání proti patogenním mikroorganismům, podílí se tak na prevenci onemocnění. Jsou také důležitou složkou životního prostředí (symbióza s rostlinami) [1]. Kvůli problémům, které biofilmy způsobují, viz kapitola Problémy spojené s tvorbou biofilmu, probíhají studie o povřích, které by bránily vzniku biofilmu tzv. antimikrobiální povrchy.

V posledních 15 letech došlo k nárůstu studií o antimikrobiálních povřích, většina těchto publikací je zaměřena na výzkum antibakteriálních povrchů. Velmi málo studií je výhradně zaměřeno na antimykotické povrchy. Antibakteriální mechanismy jsou často vysvětlovány i jako protiplísňové, ale přitom se jedná o dvě odlišné biologické domény (rozdílné taxonomické oblasti - prokaryota a eukaryota) mající odlišnou buněčnou fyziologii, strukturu a chemické složení. Je tedy sporné, zda tato zobecnění jsou platná. Jak již bylo řečeno, existuje jen velmi málo studií zaměřených čistě na antimykotické povrchy, ale zájem o ně stále roste. Grafické znázornění počtu studií o antibakteriálních a antimykotických povřích je uvedeno níže v grafu. Z grafu lze vyčíst, jak velký je rozdíl v počtu publikací mezi nimi. Např. v roce 2012 počet publikací o antibakteriálních povřích je více než 160 a publikací o antimykotických povřích je pod 20 [3].

Graf 1. Počet publikací (o antibakteriálních a antimykotických povrchích) uvedených ročně v ISI Web of Science databázi ročně v kategorii „ISI materiálová věda: multi-disciplinární“ [3].



1.1 Vznik a tvorba biofilmu

Mikroorganismy se častěji vyskytují ve formě biofilmu než v planktonní formě, jelikož se tak zvyšuje jejich odolnost proti chemickému, biologickému a fyzikálnímu namáhání. Různými měřicími metodami lze zachytit strukturu biofilmu a při použití časového záznamu lze zachytit i děje probíhající v čase. Za pomoci mikroelektrod lze i měřit v bakteriálním biofilmu množství kyslíku či dostupnost živin, jež ovlivňuje tloušťku biofilmu [4]. Pochopení mechanismu adheze buněk k povrchu pevných látek má velký význam, ale charakterizace a kvantitativní hodnocení interakcí mezi povrchem a buňkou je veliký problém. Jeho řešení by umožnilo analytické předvídání chování na rozhraní [5].

1.1.1 Plísně

U biofilmu plísní, také nazývaných jako mikroskopické vláknité houby, se dá očekávat, že mají odlišné morfologické znaky od bakteriálních a kvasinkových biofilmů [6].

Buněčná struktura a složení buněčné stěny se velmi liší v závislosti na životním cyklu, prostředí, jakož i druhu houby. Chitin v buněčné stěně je jedinečný pro houby mezi mikroorganismy. Hraje klíčovou roli při stabilizaci sítě glukanu, okolo buněčné membrány, je zapojen do produkce hyf a spor. Chitin je v buněčné stěně plísní zastoupen ve větším množství než u kvasinek, v případě kvasinek je to 1-3 %, ale u vláknitých hub se jedná o 10-15 %. Ale nejhojnější zastoupení mají glukany. Glukan a chitin vytvářejí strukturální integritu, která chrání buněčnou membránu [3].

Plísně rostou na nejrůznějších organických a anorganických materiálech. Na počátku tvorby biofilmu je uchycení na povrch a poté tvorba zralého biofilmu [1]. Mnohé vláknité houby se šíří prostřednictvím vznášejících se spor. Ulpívání spor na povrch a jejich další rozvoj jsou složité procesy, silně závislé na různých fyzikálně-chemických faktorech [7]. Ulpívání začíná interakcí strukturálních makromolekul na povrchu buněk a rozhraní. Důležitými parametry, které určují tyto interakce, jsou povrchový náboj a hydrofobita podkladu. Faktory molekul, které určují povrch spor, obsahují glykoproteiny, sacharidy a lipidy. Interakce buňka-buňka mezi sporami anebo hyfami jsou předpokladem pro vývoj trojrozměrné mycelární struktury [8].

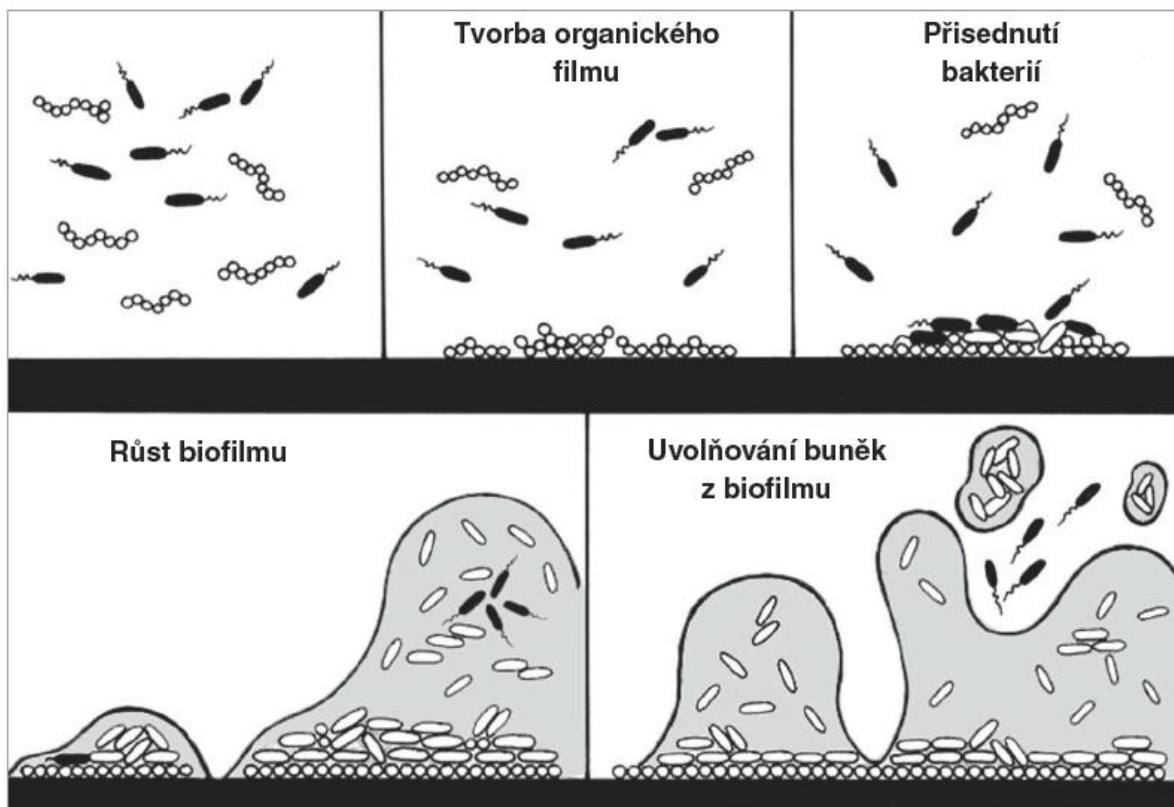
Makroskopické forma mycelia expanduje, jako radiální symetrická kolonie expanduje konstantní rychlostí z místa klíčení spor. Hyfy nebo mycelium rostou na povrchu, a pokud je to možné, pod povrchem substrátu [9]. Během tvorby zralého biofilmu dochází ke změnám v genové expresi (sekrece polysacharidů, rezistence k antibiotikům) [1]. Pro růst je zapotřebí alespoň 13 prvků - kyslík, uhlík, vodík, dusík, fosfor, draslík, síra, hořčík, mangan, železo, zinek, měď a molybden. Prvních osm je zapotřebí relativně ve velkém množství (makroživiny), dalších pět je zapotřebí v malém množství (stopové prvky) [10].

Vláknité houby se dorozumívají prostřednictvím tzv. quorum sensing, není to jen záležitostí bakteriálního či kvasinkového biofilmu. Prostřednictvím difúzních molekul si mohou předat informaci o morfologii, mohou tak zamezit sporulaci (tvorbě spor) nebo filamentaci (tvorbě vláken) v případě husté populace. Komunikací tak řídí změnu v genové expresi, morfologii a vývoji [6].

1.1.2 Bakterie

Bakterie mají tendenci přilnout k různým povrchům a vytvářet na nich biofilm. Biofilm poskytuje ochranu, chrání buňky od okolí, působí proti různým látkám, záření i mechanickému poškození. Vznik biofilmu začíná přichycením buněk na vhodném povrchu, kde začíná dělení, shlukování [11].

Jednotlivé bakterie se mohou přichytit k povrchu tzv. adheziny. Jedná se o látky různého typu, jako jsou bílkoviny, polysacharidy, glykopeptidy [4]. Po přilnutí k povrchu začnou produkovat polysacharidy a jiné polymery, dochází k růstu, diferenciaci a zrání biofilmu. Takto vzniklý biofilm se nazývá primární. Produkuje extracelulární matrix, který má vliv na vlastnosti, skládá se převážně z vody a také z polysacharidů, které vytváří nosnou kosturu. Na tento biofilm se mohou navázat další buňky, a tím vzniká sekundární biofilm. Ale protože dochází v primárním biofilmu k adaptaci na změnu prostředí, nastává prodleva. Postupem času se růstová rychlost zpomaluje, jelikož se omezuje transport substrátu do nižších vrstev a tloušťka biofilmu se ustálí. Bakterie jsou v biofilmu rozloženy nerovnoměrně, vytváří houbovitě tvary, mezi kterými jsou kanálky, zobrazení houbovitých tvarů je na obrázku 1. Pro tvorbu biofilmu je důležitá buněčná signalizace [11].



Obrázek 1. Vývojové fáze biofilmu, upraveno dle [11].

Komunikace mezi buňkami bakterií probíhá za pomoci signálních molekul, celý systém komunikace je označován jako quorum sensing. Je tak ovlivněna regulace tvorby biofilmu, kdy buňky jsou upozorněny na vysokou konkurenci a proto se dále hustota nezvyšuje. Také lze předat informaci o nevhodných podmínkách a bakterie se mohou uvolnit do planktonní formy a opět vytvořit biofilm na pro ně vhodnějším místě [11].

1.2 Problémy spojené s tvorbou biofilmu a jeho praktické využití

Vznik biofilmů způsobuje nepříznivé důsledky v různých oblastech, od biomedicínských zařízení, zařízení pro skladování vody a odpadních systémů, v potravinářském průmyslu a mnoho dalších, všude tam kde jsou příznivé podmínky pro jeho růst [3]. Biofilmy jsou všudypřítomné, a nachází se i po celém lidském těle (v ústní dutině, dýchacích cestách, zažívacím a močovém traktu, ranách a biomedicínských materiálech) [12]. Ve spojitosti s biomateriálem, nastává problém s infekcí organismu, protože se buňky mohou oddělit od biofilmu a šířit se dále do okolních tkání nebo krevního oběhu. Odhaduje se, že až 80 % z mikrobiálních infekcí v lidském těle zahrnují tvorbu biofilmu [13].

1.2.1 Plísně

Plísně produkují nejen extracelulární enzymy, ale také velké množství dalších typů molekul. Mnoho z těchto molekul jsou mykotoxiny, jedná se o látky, které jsou toxické pro jiné organismy a mohou být velmi nebezpečné [9]. Skupina druhů rodu *Aspergillus* tvoří medicínsky významné biofilmy. Způsobuje infekce katétrů, kloubních endoprotéz, srdečních chlopní, kardiostimulátorů a prsních implantátů. *Aspergillus fumigatus* způsobuje infekci v čelistních protézách nebo onemocnění dýchacích cest [12]. Plísně rostou v různých vodních prostředích, včetně rozvodů pitné vody, zde se především jedná o plísně rodu *Aspergillus* a *Alternaria*, které mohou vyvolat u citlivých jedinců alergické reakce [14].

Nicméně schopnost vláknitých hub přilnout na inertní substráty může být využita např. v biotechnologických aplikacích, kde imobilizované mycelium má často výhodnější vlastnosti oproti myceliu suspenzi [8].

1.2.2 Bakterie

Některé bakterie mají velkou odolnost vůči dezinfekcím a antibiotikům. Způsobují řadu komplikací v medicíně, potravinářství a mnoha odvětvích průmyslu. V oblasti lékařství rostou na cévkách, umělých kloubech a chlopních, jsou příčinnou různých infekcí, jako je

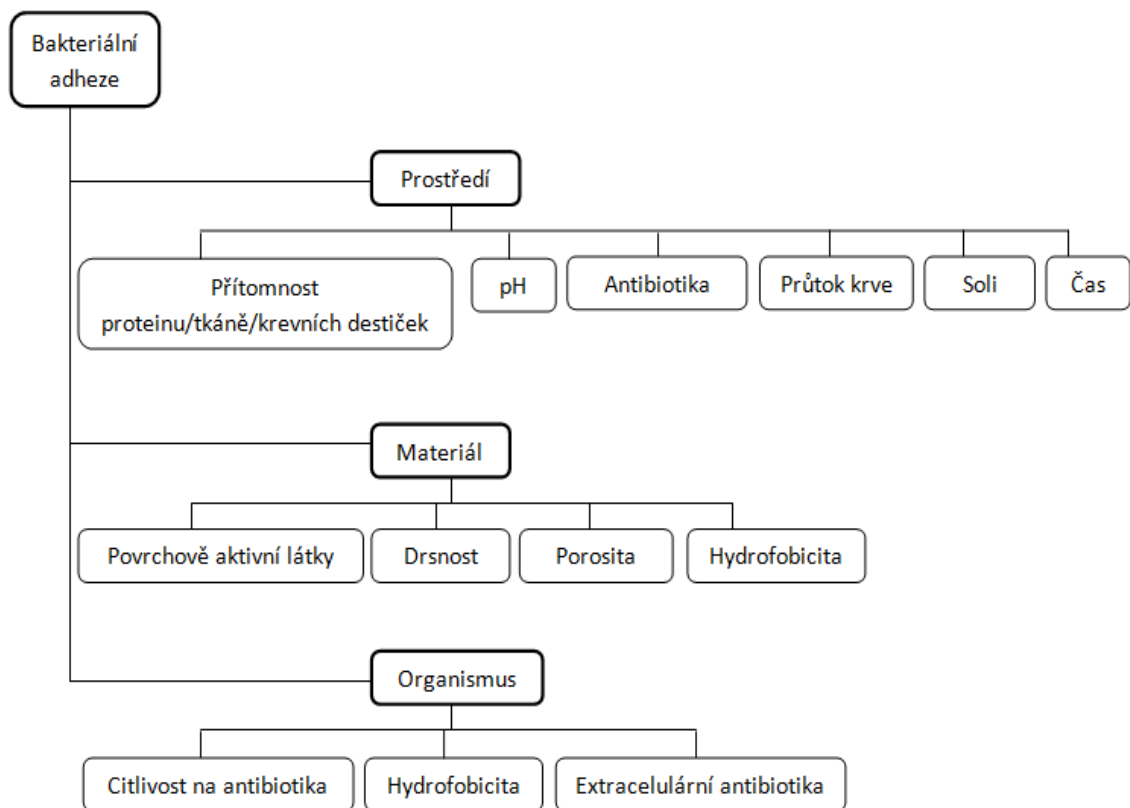
cystická fibróza, infekce močových cest, zánět středního ucha, oční infekce a zubní kaz [15].

V potravinářském průmyslu jsou příčinou technických problémů, brání proudění tepla po povrchu, zvyšují odpor tekutin a míru koroze povrchů, ve zpracovatelském prostředí mohou kontaminovat potraviny [16].

Bakterie se vyskytují po celém lidském těle, a mohou způsobovat problémy, které jsou uvedené výše, ale také tvoří nedílnou součást trávicího traktu, kde přímo ovlivňují jeho správnou funkci. Okyselují střevní obsah, vytváří např. vitamín B₁₂ a vitamín K a podporují střevní imunitu [17]. Jako další pozitivní vliv lze uvést např. čištění vody nebo půdy. Rovněž se využívají jako organismy tvořící náplň biofiltrů k čištění vzduchu [18].

1.3 Vztah biofilmu k materiálu

Růst biofilmu se řídí řadou fyzikálních, chemických a biologických procesů. Připevnění buňky k substrátu se nazývá přilnavost, a upevnění buňky k buňce se nazývá soudržnost [16]. Všeobecně hlavní faktory ovlivňující ulpívání na polymerním povrchu jsou životní prostředí, typ mikroorganismu a vlastnosti materiálu. A každý z těchto faktorů je ovlivněn dalšími parametry, jak je zobrazeno na obrázku 2. Faktory závislé na polymerním materiálu ovlivňující vznik biofilmu jsou především tvar, velikost, povrchová chemie a drsnost, morfologie a porosita, složení, sterilita, degradabilní vlastnosti, smáčivost, mechanická tuhost, pružnost [19]. Jak lze vidět faktorů ovlivňující vznik a tvorbu biofilmu, včetně migrace, diferenciací a strukturální reorganizace je tedy velmi mnoho [20]. Jedná se tedy o komplexní a multifaktoriální jev [7].



Obrázek 2. Příklady faktorů ovlivňující adhezi, upraveno dle [19].

Významným faktorem adheze je hydrofobicitu a to jak buňky, tak povrchu [5]. Mikroorganismy s hydrofobní vnější strukturou upřednostňují hydrofobní materiál a naopak [19]. Takže pro hydrofobní buňky jsou lepší nepolární povrchy, jako je např. teflon a jiné plasty, a naopak nepříznivé pro ně jsou kovy a sklo [21].

Z hlediska topografie povrchu materiálu, čím hladší je povrch, tím menší je přilnavost. Drsný povrch má větší povrchovou plochu a poskytuje tak příznivé místa pro adheze [19]. Bylo otestováno, že při nízké povrchové energii ($< 13 \text{ mJ/m}^2$) a hladkém povrchu, kdy rozdíly v drsnosti jsou $< 6 \text{ nm}$ je přilnavost nízká [22]. Je to způsobeno tím, že smykové síly jsou větší a povrchová plocha je menší. Lze tak ovlivnit rychlost a rozsah připevnění. Mezi další faktory, které mohou přispívat k větší přilnavosti, pokud ovšem nepřekračují kritickou úroveň, patří teplota, rychlost proudění kapaliny a koncentrace živin [21].

2 VODIVÉ POLYMERY

Polymery jsou převážně nevodivé látky, ovšem existuje skupina polymerů, které jsou vodivé. Dnes už existuje více než 25 vodivých polymerů (VP) [23]. Mezi nejznámější patří polypyrrol, polythiofen, polyphenylen či poly(*p*-phenylenvinylem) a polyanilin. U těchto polymerů je vodivost srovnatelná s anorganickými polovodivými materiály, protože jejich vodivost je 0,01 - 30 S/cm. Úroveň vodivosti lze upravit různými způsoby [24], např. u polyacetyleny je možné za použití pár jodu zvýšit vodivost [23]. Celkově existují čtyři základní typy elektricky aktivních vodivých polymerů, které mají různý stupeň vodivosti.

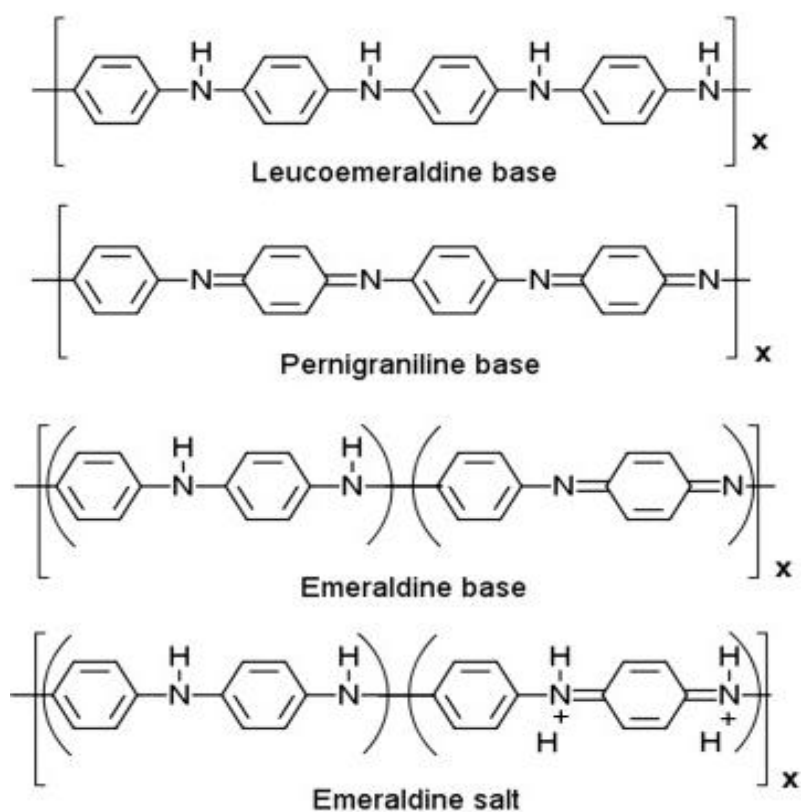
- 1.) Nejrozšířenější vodivé polymerní systémy jsou kompozity, které se skládají z nevodivé polymerní matrice a vodivého plniva např. uhlík či kov.
- 2.) Iontově vodivé polymery, kde je elektrická vodivost způsobena pohybem přítomných iontů v systému, např. polyethylenoxid, jenž obsahuje ionty lithia.
- 3.) Tzv. redoxní polymery, jedná se o polymery s obsahem elektroaktivních center neboli redoxních center, pohyb je uskutečněn tzv. přeskokováním.
- 4.) Polymery s konjugovaným systémem. Zde patří dále uvedené polymery: polyanilin, polypyrrol a poly(*p*-phenylenediamin) [26].

Tabulka 1. Přehled hodnot vodivosti vybraných vodivých polymerů [23].

Vodivý polymer	Vodivost [S/cm]
Polypyrrol	$10^2 - 7,5 \cdot 10^3$
Polyanilin	30 - 200
Polythiophen	$10 - 10^3$
Polyacetylen	$10^3 - 1,7 \cdot 10^5$
Polyphenylen	$10^2 - 10^3$
Poly(<i>p</i> -phenylenevinylem)	$3 - 5 \cdot 10^3$

2.1 Polyanilin

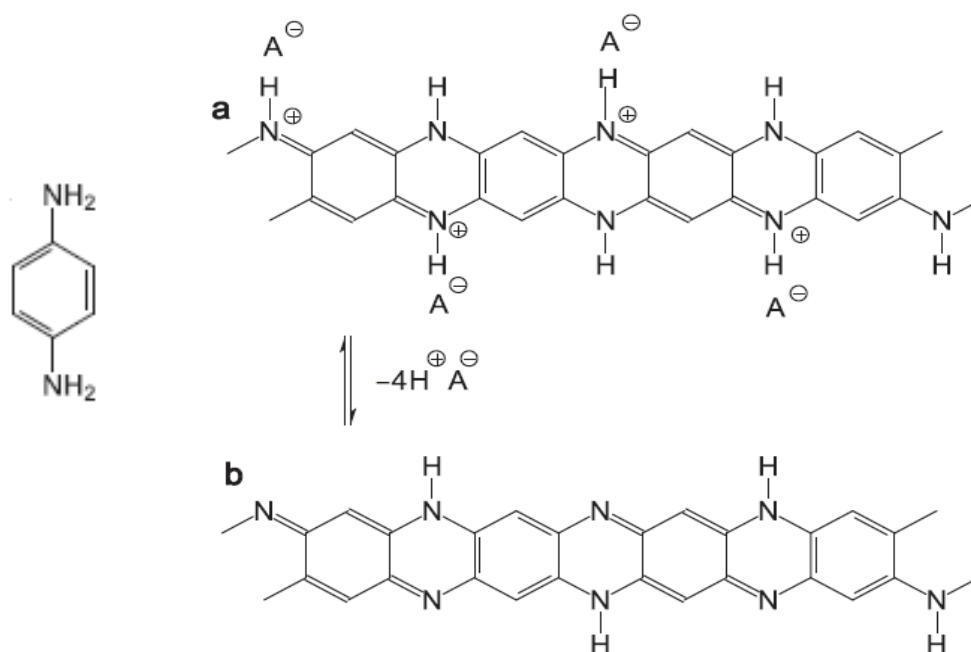
Polyanilin (PANI) je významný materiál, který má mnohostranné využití. Je vhodný např. pro aplikaci v tkáňovém inženýrství, jelikož některé typy buněk mohou reagovat na elektrické signály, lze tak ovlivnit buněčné chování a funkci, prostřednictvím právě tohoto materiálu. Bylo provedeno již několik studií, ze kterých lze říci, že elektrické podněty mohou vyvolat u elektricky dráždivých tkání (např. kosterní svalstvo, nervové a srdeční tkáně) žádoucí buněčné reakce [20]. PANI se vyskytuje ve více formách, základní forma je emeraldinová báze (PANI-B), oxidací vznikne forma pernigranilin a redukcí leukoemeraldin [24]. PANI-B, která není vodivá, lze tzv. dopováním přeměnit na vodivou formu - emeraldinovou sůl (PANI-S). Úprava vodivosti dopováním je vysvětlena níže [20]. Tyto formy se liší nejen svými elektrickými vlastnostmi, ale i chováním při kontaktu s živými buňkami, k přechodu mezi nimi dochází při pH 5-6 [27]. Na obrázku 3. jsou zobrazeny formy PANI.



Obrázek 3. Formy PANI - liší se vodivostí a barevností [20].

2.1.1 Poly(*p*-phenylenediamin)

Fenylenediaminy úzce souvisí s anilinem, lze je také připravit elektrochemicky či chemicky [28]. Poly(*p*-phenylenediamin) (PPDA) je derivát PANI, nahrazuje se vodík aminoskupinou v anilinu [29]. Vodivost PPDA je o několik řádů nižší, mezi 10^{-10} a 10^{-9} S/cm [28]. PPDA je zajímavý vodivý polymer vzhledem k jeho vodivosti, elektrochromním a fotoelektronickým vlastnostem a zejména permeační selektivitě. Vhodný pro využití v elektrochromním displeji, biosenzorech a při ochraně proti korozi [29]. Oxidací *p*-phenylenediaminu různými látkami lze získat různou morfologii (nanovlákná, tyčinky, mikrokuličky atd.) Poly (*p* - phenylenediamine) sůl lze deprotonovat na bázi, jedná se o reverzibilní proces. PPDA může tvořit tenký polymerní film na površích ponořených v reakční směsi (potahování grafenů). Využití může být také jako antikoroziční součást nátěrů [28].

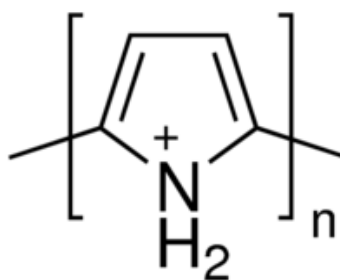


Obrázek 4. Zobrazení struktury (nalevo) Phenylenediamin para isomer a (napravo) poly(*p*-phenylenediamin) sůl (a) ireverzibilním procesem deprotonuje na bázi (b) [28].

2.2 Polypyrrol

Polypyrrol (PPY) je jedním z nejvíce studovaných vodivých polymerů. Jedná se o materiál, který má dobrou stabilitu v oblasti životního prostředí a dobrou tepelnou stabilitu, jeho syntéza je snadná a jeho vodivost patří mezi nejvyšší, má také mnohostranné využití

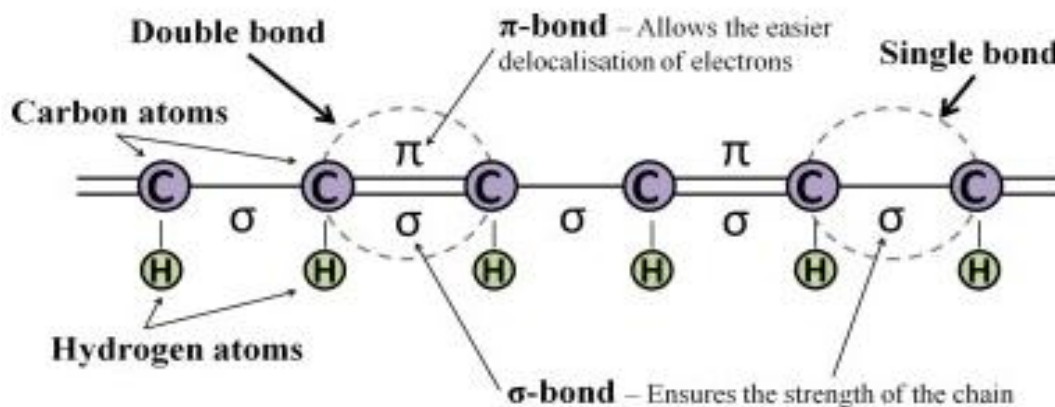
tak jako PANI. Syntetický PPY je nerozpustný a netavitelný, což značně omezuje jeho zpracování a využití v dalších oborech [30]. Polypyrrol a jeho deriváty mohou být snadno syntetizovány chemicky nebo elektrochemicky. PPY v dotovaném stavu mění svou barvu při každém přechodu z formy vodivé do nevodivé formy [31]. Jeho elektrická vodivost se zvyšuje s teplotou, ale také s koncentrací příměsí aniontu až do určité úrovně nasycení. Typ příměsí aniontu má vliv na strukturu a konečné vlastnosti PPY. Jednou z největších nevýhod PPY je stárnutí za přítomnosti kyslíku. Dochází k reakci, při níž se mění délka konjugace a v důsledku toho dochází ke snížení vodivosti [32].



Obrázek 5. Struktura PPY [33]

2.3 Vodivost

Vodivé polymery skládající se z konjugovaného systému, obsahují střídavě jednoduché a dvojně vazby, vytváří tak rozsáhlou π síť, kterou vidíme na obrázku níže [20]. Elektrony se mohou volně pohybovat mezi atomy, jelikož se jejich orbitály navzájem překrývají [23]. Jak již bylo zmíněno, tzv. dopováním je možné polymer oxidovat či redukovat pomocí protiionu (dopant), který zavádí nosič náboje a ten se může pohybovat po a mezi polymerními řetězci [20]. Dopování je reverzibilní. Např. emeraldinová báze má nízkou vodivost 10^{-10} S/cm, ale emeraldinová sůl jenž je získána dopováním má vodivost 30 S/cm [23]. Elektrickou vodivost a stupeň oxidace polymeru lze ovlivnit různými faktory prostředí např. typem kyseliny (chlorovodíková, sulfonová, sírová), obsahem vlhkosti, stupněm protonace [20], molekulovou hmotností, molekulárním uspořádáním a procentem krystalinity (se zvyšující se krystalinitou se zvyšuje organizovanost a tím i vodivost), úrovni oxidace, procentem dopování a typem směsi [26].



Obrázek 6. Zjednodušené schéma konjugovaného řetězce [23].

2.4 Syntéza a zpracování

V současné době existují dvě hlavní metody syntézy vodivých polymerů, chemická či elektrochemická. Při chemické syntéze se vytváří prášek nebo film. Tímto způsobem lze vytvořit všechny typy vodivých polymerů. Elektrochemicky lze vytvořit pouze některé, avšak při tomto způsobu je vodivost vyšší než při chemické syntéze. Elektrochemická polymerizace probíhá za působení elektrického proudu prostřednictvím elektrod vložených do roztoku s monomerem, rozpouštědlem a příměsí. Touto metodou je možné ovlivnit tloušťku a morfologii vzniklého filmu [23]. Celkové výhody a nevýhody těchto metod jsou uvedeny v tabulce 2. [25]. Vodivé polymery se využívají i v kombinaci s jiným materiálem, vytváří tzv. kompozity, kombinují tak různé vlastnosti použitých materiálů. Je také možné elektrostatické zvlákňování nebo příprava v podobě hydrogelu [23].

Tabulka 2. Výhody a nevýhody dvou způsobů polymerace VP [25].

Způsob polymerace	Výhody	Nevýhody
Chemická	<ul style="list-style-type: none"> - objemná produkce - možnost po-kovalentní modifikace - další možnosti kovalentní úpravy hlavního řetězce polymeru 	<ul style="list-style-type: none"> - nelze vytvořit tenký film - složitější syntéza
Elektrochemická	<ul style="list-style-type: none"> - lze vytvořit tenký film - snadná syntéza - zachycení molekul do VP - současné dopování 	<ul style="list-style-type: none"> - obtížné odstraňování fólie z povrchu elektrody - po-kovalentní modifikace je obtížná

2.5 Biodegradabilita

V aplikaci pro tkáňové inženýrství se s výhodou využívají biodegradabilní materiály. Vodivé polymery samotné jsou však nebiodegradabilní. Navíc pokud jsou VP delší dobu *in vivo*, mohou způsobit zánětlivou reakci [34]. Možným řešením je tedy syntetizovat VP jako kompozit spolu s biodegradabilním polymerem, což ale neřeší problém odstranění VP z organismu. VP se kvůli rozložitelnosti také upravují různými kyselinami, které se naváží na hlavní řetězec [23]. Např. je-li vytvořena směs PPY s odbouratelným polymerem, jako je polylaktid (PLA), jedná se o kompozit, který je vodivý a rozložitelný, změnou jejich poměru lze ovlivnit dané vlastnosti [25]. Možností jsou také erodovatelné VP, tyto polymery by se rozkládaly postupným rozpuštěním nebo rozložitelné vodivé polymery obsahující vodivé oligomery [34]:

- a.) Lineární rozložitelné VP - oligomery pyrrolu, thiophenu a anilinu mohou být likvidovány makrofágy a následně vyloučeny přes ledviny. Jako první byly syntetizovány oligomery z pyrrolu a thiophenu se dvěma hydroxylovými skupinami na obou koncích a poté by došlo ke spojení s adipoyl chloridem. Takto lze vytvořit rozložitelný vodivý kopolymer.
- b.) Roubování rozložitelných VP - zde se jedná o modifikaci postranního řetězce. Výhodou je, že lze kontrolovat obsah oligomeru anilinu v kopolymeru. Využívá se toho i v případě úpravy hydrofobnosti a funkčních míst na povrchu.
- c.) Hvězdovitý tvar a vysoce rozvětvené rozložitelné VP - morfologické a fyzikálně-chemické vlastnosti závisí na makromolekulárním uspořádání. Hvězdovitý tvar obsahující PLA a trimer anilinu měl elektroaktivitu podobnou PANI, a v případě vysoce rozvětvených polymerů byla vodivost vyšší než u lineárních polymerů.
- d.) Rozložitelné a vodivé hydrogely - testují se kombinací látek s PLA a tetramerem anilinu. Problém je, že by produkt z rozkladu PLA mohl způsobit místní kyselé prostředí *in vivo*. Při použití vysokého obsahu anilinového oligomeru by také mohlo dojít až k toxicitě materiálu. Při použití přírodního polymeru chitosanu a anilinového tetrameru lze vytvořit hydrogel, který lze aplikovat jako tenký film.
- e.) Vlastní montáž rozložitelných VP - pokud jsou v hlavním řetězci esterové vazby, je možné získat degradabilní a elektroaktivní nanomateriály [34].

Jako výzva do budoucnosti je zde brána optimalizace zpracovatelnosti, rozpustnosti ve vodě, rozložitelnosti a vodivosti, jelikož je v těchto případech nízká [34].

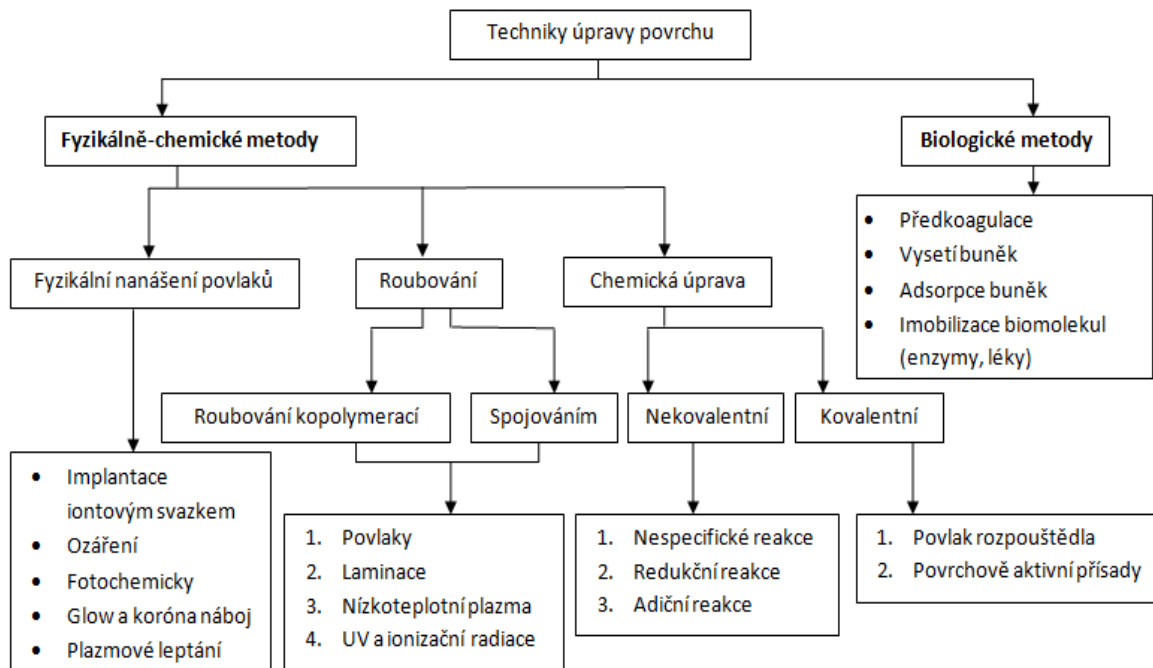
2.6 Biokompatibilita

Biokompatibilita vyjadřuje schopnost materiálu koexistovat s živými organismy a tkáněmi, aniž by došlo k jejich poškození [35]. Pro biomedicínské aplikace je tak v první řadě nezbytná dobrá buněčná odezva na biomateriál. Je známo, že vodivé polymery podporují růst mnoha různých typů buněk [23]. Byly tak například provedeny testy schopnosti přichycení a růstu lidských jaterních buněk, na PANI-S a PANI-B. Buňky se na nich mohly přichytit, ale dále se už lišily svou schopností na nich proliferovat. Vyšší proliferace byla u PANI-B, proto se PANI-S, u níž je proliferace nižší, musí upravit pro případné zvýšení biokompatibility [27]. V případě PANI byla měřena cytotoxicita způsobená přítomností vedlejších produktů a zbytků z reakce, než samotným PANI, jelikož monomer a zmíněné reakční meziprodukty jsou aromatické aminy, které mohou být fyziologicky aktivní, dokonce až škodlivé [35]. Biokompatibilitu ovlivňují vlastnosti materiálů (složení, pórovitost, smáčivost, drsnost a morfologie povrchu atd.), proto se provádí jejich úprava [23].

2.7 Modifikace povrchu

Modifikace povrchu biomateriálů se provádí za účelem zachovat klíčové fyzikální vlastnosti s modifikací nejzevnějšího povrchu ovlivňujícího interakci. S vhodnou modifikací povrchu, budou mechanické vlastnosti a funkčnost nezměněny. Jak lze vidět na obrázku 7. je mnoho způsobů jak upravit povrchové vlastnosti materiálu. Těmito úpravami lze dosáhnout: snížení/zvýšení přilnavosti určitých typů buněk, chemické inertnosti, zlepšení odolnosti proti degradaci, zvýšení tvrdosti, zvýšení přitažlivosti pro upevnění různých látek pro cílené uvolňování léků, vodivost, polaritu, index lomu, smáčivost atd. [19].

VP vykazují mnoho výhod oproti běžným polymerům, viz kapitola o vodivých polymezech. Ale vždy je zapotřebí další optimalizace pro konkrétní aplikaci. Většina úprav se vztahuje na biologické a fyzikální vlastnosti. Využívá se včlenění biologicky aktivních molekul, prostřednictvím různých technik. Je ale důležité si uvědomit sterické účinky, jelikož začleněním funkční skupiny je možné narušit konjugovaný systém a snížit tak vodivost. Také se musí brát v úvahu fyzikální a elektrické vlastnosti, např. chemické složení, jelikož mnoho VP je krystalických s malou porézností. VP lze modifikovat stejně jako jiné polymery, je však obtížné porovnat jejich výsledky z různých skupin, jelikož je mnoho způsobů jak je modifikovat [25].



Obrázek 7. Možnosti modifikaci povrchu, upraveno dle [19].

Zde je uvedeno jen několik způsobů úpravy povrchů:

Pro čištění nebo chemickou modifikaci povrchu se používá plynný výboj nebo UV záření. Roubování - vysokoenergetické elektrony, gama záření, UV a viditelné světlo se využívá pro změnu chemické struktury, např. pro zlepšení hemokompatibility. Vytvoření povlaku na materiálu je možné provést několika způsoby a to např. roubováním, zesíťováním, odpařováním, pomocí plasmy, různým typem záření atd. [19].

Vakuový obloukový iontový zdroj je unikátní zařízení pro generování paprsku kovových a plynných iontů nebo jejich kombinace. Tímto způsobem je možné upevnit různé částice na povrch a tím třeba zvýšit antimikrobiální vlastnosti. Ale za určitých okolností může nastat problém s toxicitou vzhledem k nanočásticím [36].

Existuje několik způsobů jak plazmou upravit povrch, je možné povrch čistit, aktivovat funkčními skupinami, leptat, nanášet na něj vrstvu materiálu. Nebo využít pro úpravu před další modifikací (jako je lepení, povlakování, svařování, potisk, spojování a další) [37]. Ale typ povrchových úprav spočívá na výběru typu plazmatu, plynu, době působení, materiálu a dalších parametrech. Patří zde doutnavý výboj, nízkoteplotní plazma, plazmové leptání, které jsou uvedené na obrázku výše.

Záření zajišťuje dobrou kontrolu roubovacího stupně, pokud jsou vhodně zvoleny podmínky ozařování, jako je koncentrace monomeru, dávka záření a její rychlost [38]. Princip spočívá v aplikaci nízko viskózní směsi složené z reaktivních monomerů a oligomerů, jako záření se využívá UV záření nebo elektronový paprsek. Téměř okamžitě po vystavení zdroji záření je směs zesíťována a je vytvořen nátěr [39].

Včlenění biologicky aktivních molekul lze dosáhnout různými způsoby: fyzikální adsorpce, dopování, zachycení a kovalentní připojení. Fyzikální adsorpce je jednoduchá metoda, ale problém je v tom, že se molekula může uvolnit a tím se stane materiál neaktivním. Kontrola včlenění je omezená a orientace je náhodná. Při zachycení jsou dané molekuly začleněny do materiálu přímo v průběhu syntézy, ale je zapotřebí vysoké koncentrace molekul. Dopování se využívá nejen k úpravě vodivosti, ale i k úpravě vlastností. Při kovalentním připojení lze polymerovat monomer s danými funkčními skupinami [25].

Oxidací a redukcí vytvoříme různé formy VP, např. u PANI jak již bylo řečeno základní forma je emeraldinová báze, oxidací vznikne forma pernigranilin a redukcí leukoemeraldin [24]. Formy PANI viz kapitola PANI.

Laminace je tvořena tenkou vrstvou iniciátoru a monomeru, které jsou naroubovány mezi dvěma tenkými filmy pomocí UV záření. Poté se krátké roubované řetězce při působení UV spojují navzájem a vyplní prostor mezi filmy. Vzniklý laminát má vysokou pevnost, a mohou mít i dobré bariérové vlastnosti [40].

Vlastnosti a cílená aplikace povrchově aktivních přísad, jako jsou např. polymery s více funkčními postranními řetězci, vyplývají ze složení postranního řetězce, protože chrání hlavní řetězec, je pružný a schopný interakce s prostředím. Jsou aplikovány na rozhraní filmu, a už malé množství způsobuje velké změny ve smáčivosti povrchu. Velikost je od desítek až po stovky nanometrů, jejich tvar může být kulovitý nebo podlouhlý, a mohou být navrženy pro danou aplikaci [41].

2.8 Příklady vztahu biofilmů k vodivým polymerům

Zde je uvedeno několik příkladů vztahu VP a daného mikroorganismu.

2.8.1 Bakterie

V mnoha studiích bylo vyzorováno, že měnící se povrchové parametry mají různé účinky v závislosti na druhu bakterií. Jedna z povrchových vlastností, která má velký vliv na ulpívání bakterií je hydrofobicita jak na povrchu buněk, tak na povrchu materiálu. Bakteriální buňky mají větší tendenci k upevnění na hydrofobních površích než hydrofilních površích. Ovšem v některých případech je tomu naopak. Takže se zdá, že vztah mezi počtem ulpívajících mikroorganismů a povrchové hydrofobicitě je stále kontroverzní. Topografie povrchu různě ovlivňuje ulpívání bakterií. Souvisí s tím také redoxní stav, protože ovlivňuje tloušťku, drsnost a hydrofobnost, ovlivňuje tak ulpívání bakterií [7].

2.8.2 Plísně

Je poměrně málo známo o růstu plísní na vodivých polymerech. Nejčastěji studovanou plísní je *Aspergillus niger*, jelikož je jednou z nejvíce stabilních plísní ve všech klimatických pásmech. Byl studován vliv *A. niger* na PANI povrch [42]. Protiplísňové úpravy povrchů mohou inhibovat kolonizaci povrchu nebo aktivně zabít plísňe při kontaktu. Velkým problémem jsou plísňe na biomedicínských zařízeních, kde mohou ohrožovat život pacienta [3].

2.8.3 Kvasinky

Kvasinky mají velký potenciál jako mikrobiální biopalivové buňky, jsou vhodné pro výrobu elektrické energie. Jelikož mají nízkou vodivost buněčné stěny, je snaha vytvořit biopalivo na základě redoxního potenciálu, který je generován uvnitř buňky, přeměnou na elektrochemický potenciál. Účinnost takového elektrochemického systému je nízká, ale efektivní způsob ke zvýšení účinnosti je propojení cytoplazmy a extracelulárního matrixu s vodivým polymerem. Tím by došlo ke zvýšení rychlosti přenosu náboje přes buněčnou membránu a buněčnou stěnu. A pro tento účel je nejvhodnější PPY, jelikož je možné ho připravit v různých formách. Nebo se PPY využívá jak senzor, který by sloužil pro detekci některých sloučenin, které ovlivňují některé metabolické procesy kvasinkových buněk [43]. Více o biosenzorech v kapitole Využití a aplikace.

Kvasinky byly také testovány na polystyrenu, PANI-S a PANI-B a to v mé bakalářské práci [44]. Výsledek ale nebyl jednoznačný, nebylo možné přesně říci, který povrch kvasinky preferovaly, jejich růst byl minimální. Ale ve studii Estivill [45] byly kvasinky testovány na polyvinylchloridu, teflonu a polyuretanu a na všech třech materiálech byl výrazný růst.

2.9 Využití a aplikace

Jak již bylo zmíněno vodivé polymery se mnou využívat jako samostatné materiály anebo jako součásti kompozitu. Významnou vlastností VP je jejich závislost na okolním prostředí, v němž mohou měnit svou strukturu, a tím i své fyzikální vlastnosti [46].

2.9.1 Uvolňování léčiv

Vodivé polymery by mohly být využity pro řízené uvolňování léčiv při použití elektrického potenciálu, několik pokusů již bylo úspěšně provedeno [23]. Elektrická stimulace byla použita k uvolnění řady terapeutických proteinů a léků např. dexamethasonu a heparinu [25]. Ovšem existuje několik faktorů, které omezují použití vodivých polymerů pro uvolňování léčiv, jako je problém s malým množstvím navazující látky, jejím nábojem a tendencí molekuly difundovat ven z polymeru. Další problém je, že dopování je reverzibilní, tedy opakovaným cyklickým namáháním se snižuje vodivost, a tím se snižuje životnost [23].

2.9.2 Elektrická stimulace přes vodivý scaffold a elektromechanický efekt

VP se používají jako scaffold pro elektrickou stimulaci, která má blahodárné účinky jako např. zlepšení nervové regenerace *in vivo*. Nejčastějším výsledkem je větší růst neuritů v nervových buňkách. Elektrická stimulace působí také na Schwannovy buňky, kde zvyšovaly jejich životaschopnost.

U VP lze řídit mechanickou sílu na základě elektrochemické reakce. Díky tomu, že může pracovat ve fyziologických tekutinách, je možné tohoto využít při výrobě umělého svalu. Ale problém spočívá v jejich pomalé rychlosti reakce [23].

2.9.3 Biosenzory

Biosenzory slouží k monitorování a diagnostice metabolitů. Skládá se ze snímacího prvku a snímače. S analytem produkující chemický signál reaguje snímací prvek. Vzniklý chemický signál je přenášen na snímač, který tento chemický signál převádí na elektrický. VP se zde uplatňují jako snímače. Podle snímání chemického signálu a přenesení je možné

biosenzory rozdělit do několika kategorií: ampérometrické, potenciometrické, konduktometrické, optické, kalorimetrické a piezoelektrické. Nejčastější jsou první dva. VP zprostředkovávají přenos elektronů mezi enzymem a elektrodou, ale přesný mechanismus není znám. Např. detekce močoviny se provádí přes výrobu NH_3 , který reaguje s PPY a vytvoří tak elektrický signál, který může být výsledkem změny pH a iontové pohyblivosti [25].

2.9.4 Nervové sondy

Nervová sonda je zařízení, které usnadňuje funkční stimulaci a zaznamenává aktivitu neuronů v periferní a centrální nervové soustavě. Problém je, že při aplikaci *in vivo* zařízení ztrácí schopnost zaznamenávat nervovou aktivitu už několik dní až týdnů po implantaci. Příčina může spočívat ve snížení hustoty neuronů v blízkosti sondy, zvýšení impedance elektrod nebo tvorbou jizvy v narušené tkáni [47]. Pro výrobu nervových sond se v současné době místo zlata, platiny a křemíků dává přednost VP. Pro dlouhodobou funkci je důležitá biokompatibilita, aby nedocházelo ke snížení funkčnosti a tím ani ke zvýšení spotřeby energie. Dalším problémem je koroze. Řešení je v aplikaci VP na povrch elektrod, jelikož VP zvýší biokompatibilitu a tím životnost sondy [48]. Využívá se i elektrochemický způsob nanášení, při kterém se nanáší VP s bioaktivními molekulami, které by podporovaly buněčnou adhezi a přitahování neuronů [47].

2.9.5 Tkáňové inženýrství

Tkáňové inženýrství je slibnou metodou, jak nahradit poškozenou tkáň funkční náhradou. Tkáňové inženýrství má tři důležité prvky a to jsou jádra buněk, biologická rozložitelnost a bioaktivní faktory. Struktura napodobující extracelulární matrix má mít dobrou biokompatibilitu a biodegradabilitu, poskytuje prostředí pro adhezi, proliferaci a diferenciaci buněk. Mnohé výzkumy ukázaly, že elektrická stimulace a elektroaktivita podporuje proliferaci a diferenciaci buněk citlivých na elektrický signál např. fibroblasty, neurony, kardiomyocyty, myoblasty atd. Využívají se proto VP, a to PANI, ale problém je, jak již bylo řečeno, s jeho nerozložitelností. Řešení spočívá v kombinaci s želatinou [49].

2.9.6 Stínění proti elektromagnetickému rušení

V dnešní moderní době se rozrostl počet elektrických a elektronických zařízení, kvůli tomu se zvýšila i emise elektromagnetické energie, tedy vzrostlo elektromagnetické rušení (ER). ER zhoršuje výkonnost systémů a zařízení. Tato skutečnost by mohla způsobit problémy v průmyslových, vědeckých a vojenských zařízeních. Bylo zaznamenáno mnoho selhání

zapříčiněných ER a velký problém by byl v případě vlivu na zdravotnická a bezpečnostní zařízení s vysokou citlivostí např. infuzní pumpy, kardiostimulátoru atd. ER ovlivňuje nejen zařízení, ale také lidi, jelikož vyvolává nespavost, nervozitu a bolesti hlavy. Proto byly vyvinuté různé prostředky stínění proti ER, nejen z důvodu zabránit těmto problémům, ale také pro delší životnost elektronických zařízení a lepší účinnosti [50].

Dříve byly pro tyto účely využívány kovové materiály, jelikož mohou účinně odrážet nebo vést elektrony. Problém spočívá v jejich použitelnosti, jako je obtížná zpracovatelnost, váha a koroze. Proto je snaha kovové materiály nahradit VP, jelikož jsou lehké, nízkonákladové, odolávají korozi a snadno se ovládá jejich vodivost. Nejvhodnější VP je PANI a PPY [50]. Kontrola vodivosti závisí na účinnosti absorbování, které je ovlivněno velikostí polymerního řetězce, úrovní dopování, typu příměsí a metodou syntézy VP. Jelikož tyto parametry ovlivňují molekulární strukturu, je tak ovlivněna i elektromagnetická vlastnost materiálu absorbovat záření [51]. Elektromagnetická vlna se při dopadu na stínící materiál buď odrazí, absorbuje nebo se vevnitř vícenásobně odrazí [52]. VP je možné také aplikovat na textilii, zvýší se tak flexibilita a stínění je homogenní oproti polymerním kompozitům s vodivými částicemi. Textilii je možné využít pro ochranné oděvy [53], bytový textil, textilní výrobky, v průmyslu a biomedicíně [52]. Stínění slouží i proti elektronické špionáži [53]. Pro nejlepší vlastnosti stínícího materiálu se testují vodivé tkaniny obsahující kov [52].

2.9.7 Fotovoltaika

Ceny energií neustále narůstají po celém světě a konvenčními způsoby výroby energie dochází ke znečištění životního prostředí. Řešení spočívá v generování energie z přírodních zdrojů, tedy ze slunečního záření. Solární články mají dobrou účinnost ve fotovoltaické přeměně. A právě zde jsou VP využívány, zejména PPY, PANI a polythiofen, protože vykazují dobré fotovoltaické vlastnosti. V kombinaci s TiO_2 se výkon s rostoucí koncentrací oxidu zvyšuje [55]. Zvláštní pozornost je věnována kompozitu PANI s TiO_2 , jelikož má dobrou stabilitu a je šetrný k životnímu prostředí, využívá se v případě usměrňovače, plynového senzoru a především ve fotoelektrochemickém zařízení [54].

2.9.8 Další aplikace

Na výrobu maskovacích sítí např. pro ochranu vojenských objektů a pro „neviditelná“ letadla. Protože PANI absorbuje nejen ve viditelné oblasti, ale absorbuje i infračervené mikrovlnné záření [46]. VP lze použít jako vodivá plniva, výhodou je jejich cena, využívají

se pro odporové topné elementy, antistatické podlahy nebo obaly. Dokonce je možné použít na tapety a okna, kde se přizpůsobí na přání [56]. Nebo jako plniva při výrobě kanystrů na palivo, nevznikne díky nim elektrostatický náboj [46]. Je vhodný pro detekci plyných chemikálií „elektronické nosy“ nebo pro detekci kapalných chemikálií „elektronické jazyky“ [56].

3 POLYMERNÍ NÁTĚRY

V České republice v důsledku koroze materiálů dochází k finančním ztrátám a to v desítkách miliard korun. Jako ochrana se využívají nátěrové hmoty, obsahující anti-korozní pigmenty. Důležité je získat vysoce účinné antikorozní nátěry s nízkou cenou [57]. Výzkum náhrady zinku vhodnými materiály se především zaměřuje na kombinaci anorganických pigmentů, plniv, vodivých polymerů a případně zinku, ale s rozdílnými tvary částic [31]. Účinnost protikorozních ochranných povlaků závisí na předběžném ošetření kovového povrchu, typu a koncentraci antikorozních pigmentů, způsobu vytváření filmu, přilnavosti povlaku na kovovou základnu a na mechanických vlastnostech celého nátěrového systému. U antikorozních pigmentů se využívá jejich vlastností, kdy ovlivní účinnost nátěrového filmu a to nejen antikorozní vlastnosti, ale i fyzikálně-chemické vlastnosti a zároveň chrání kovový podklad. Pigmenty mohou zvýšit bariérové vlastnosti, díky jejich tvaru a optimální distribuci [58]. Vodivé polymery jsou nyní zkoumány jako nová třída materiálů pro ochranu kovů proti korozi. Jsou netoxické a očekává se, že by nahradily škodlivé antikorozní přidávané látky na bázi oxidů přechodných kovů. Na rozdíl od jiných používaných makromolekulárních látek mají bariérové vlastnosti, porézní strukturu a jsou tak vysoce propustné pro kapaliny a plyny. Proto jsou používány v kombinaci s bariérovými povlaky, jako primer nebo součást bariérové vrstvy [59]. Anorganické částice v kompozitech jsou potaženy polymerní vrstvou, která zlepšuje fyzikální vlastnosti materiálu [60]. Výhodou využití vodivých polymerů, jsou vlastnosti vyplývající z jejich struktury. Na rozdíl od anorganických polovodičů, polymerní materiály jsou schopny změnit svou molekulární strukturu a tím i jejich vlastnosti po reakci s okolním prostředím. Další výhodou je nízká hmotnost. Elektrická vodivost je nutná např. v antistatických povlacích [61]. Největší počet prací o použití protikorozních vodivých polymerů jsou s PANI. Může být v různých formách, různých stupních oxidace či protonace. Celkově má PANI dobrou tepelnou stabilitu (oproti běžně používaným polymerům) a vynikající stabilitu v koncentrovaných roztocích kyselin a zásad [59], tedy chemickou stabilitu, relativně vysokou elektrickou vodivost, nízké výrobní náklady, stabilitu v životním prostředí, a široké uplatnění. Výhodou také je, že spontánně tvoří vrstvu polymeru na různých materiálech [62]. V normálních provozních podmínkách PANI v emeraldinové formě se skládá z místních oblastí, které mají různý stupeň oxidace (včetně pernigranilin, emeraldin a leukoemeraldin) a po vystavení vnějším podnětům se může stupeň oxidace místních oblastí změnit [59]. Nevýhodou je, že povlak PANI nemá tak dobré mechanické vlastnosti, proto

bývá začleněn do termoplastu a termosetu, interakce mezi těmito polymery je dobrá. Nanočástice PANI se využívají pro zlepšení ochrany kovového podkladu proti korozi, při zachování jeho vodivosti [63].

3.1 Epoxyesterové pryskyřice

Epoxyesterové pryskyřice jsou reakční produkty epoxidových pryskyřic a mastných kyselin. Jsou díky svým výjimečným vlastnostem široce používány jako povrchové vrstvy materiálu, kde nahrazují jiné materiály v mnoha aplikacích. Výhody epoxidových esterů jsou: vynikající flexibilita, lepší chemická odolnost než u alkydů, dlouhá životnost, velmi dobrá přilnavost, snadná manipulace, rychlé schnutí na vzduchu nebo vytvrzování v kombinaci s formaldehydovými pryskyřicemi a velmi dobrá houževnatost u filmů [64]. Využití v lepidlech, laminovaných deskách, tiskařských barvách a především nátěrových hmotách [65]. Chemická odolnost je přibližně mezi termoplastickými a epoxidovými pryskyřicemi, vytvrzování probíhá na vzduchu [63]. Má výbornou ochranu proti korozi hliníkových a zinkových pigmentů. V některých případech není uvedeno dodavatelem přesné chemické složení epoxyesterů, proto nejsou rozdíly mezi jejich účinky proti korozi vysvětleny podrobně [66].

Volba vhodné mastné kyseliny je velice důležitá. Existuje široká škála mastných kyselin, které jsou k dispozici pro reakci s epoxidovými pryskyřicemi. Poskytují řadu vlastností, v závislosti na požadavcích konečného uživatele a určených podmínkách vytvrzování. Typ a množství nenasycených molekul v mastné kyselině určuje její vlastnosti (vysychavé, nevysychavé nebo polovysychavé). Nejčastěji se používají vysychavé a polovysychavé kyseliny (kyseliny ze sóje, lněného semeno, světlice barvířské, a dehydratovaného ricinu). Nevysychavé mastné kyseliny (kokosové a ricinové) se používají méně často.

Druh a podíl mastné kyseliny v epoxyesteru určuje do značné míry vlastnost epoxidového esteru. Rovněž to určuje členění epoxidových esterů podle délky oleje. Krátké oleje (30 - 50 procentní ekvivalent) obvykle zachovávají vlastnosti epoxidových pryskyřic a používají se pro vzduchem sušící se stříkací systémy. Dlouhé oleje epoxyesterů (70 - 90 procentní ekvivalent) jsou rozpustné v alifatických rozpouštědlech, mají lepší pružnost a odolnost proti vodě a používají se pro štětcem nanášené povlaky, které jsou vysoušeny na vzduchu.

Příprava epoxyesteru probíhá v uzavřeném reaktoru, ve kterém je epoxyester, mastné kyseliny, modifikátory a katalyzátory. V reaktoru je také míchací a teplotní regulační systém, chladič atd., chemikálie se nechají zreagovat. Při vzniku čirého roztoku se teplota zvýší

na 240 - 260 °C po dobu 4 - 6 hodin, dokud není dosaženo požadovaného čísla kyselosti. Jejich vytvrzování probíhá ve dvou krocích [64].

3.2 Přísady

V současnosti už se nevyvíjí nové polymery, ale upravují se vlastnosti již používaných polymerů. Vlastnosti se mohou upravovat i pomocí přísad. Přísady lze rozdělit podle účelu jako např. plniva, pigmenty, stabilizátory (tepelné, UV), retardéry a další [67].

Diatomit - SiO_2

Silika tvoří 22 fází a 12 polymerních forem (křemenné sklo, diatomit, silikagel atd.). Zlepšuje mechanické vlastnosti, nejen modul, ale také pevnost a je odolný proti oděru [67].

Wollastonit - CaSiO_3

Jinak řečeno silikát vápníku nebo křemičitan vápenatý. Jedná se o nejměkčí materiál bílé barvy, zlepšuje tepelné a mechanické vlastnosti (odolnost proti poškrábání a zvýšení modulu pružnosti). Zvyšuje životnost nátěrů [67].

Zinkferit - ZnFe_2O_4

Zinkferit je intenzivně studován kvůli tomu, že je vysoce elektromagnetický. Má vynikající chemickou stabilitu, mechanickou tvrdost. Tyto vlastnosti jsou závislé na chemickém složení a mikrostruktuře, u níž lze velikost částic a tvar upravit ve výrobním procesu [68].

Wolframan železitý - Fe_2WO_6

Wolfram tvoří slitinu s železem, a zachovává si funkční vlastnosti (mechanické, magnetické atd.) i při vyšších teplotách. Proto má velké uplatnění v průmyslovém odvětví. Má vynikající tepelnou odolnost a velkou tažnost [69].

Molybdenan železitý - $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$

Jedná se pravděpodobně o nejvíce studovaný molybden obsahující oxid. Molybdenan železitý má významné průmyslové aplikace, jako katalyzátor v syntéze formaldehydu a při oxidaci propylenu na propylenoxid. Využívá se také jako katoda [70].

Perovskit - CaTiO_3

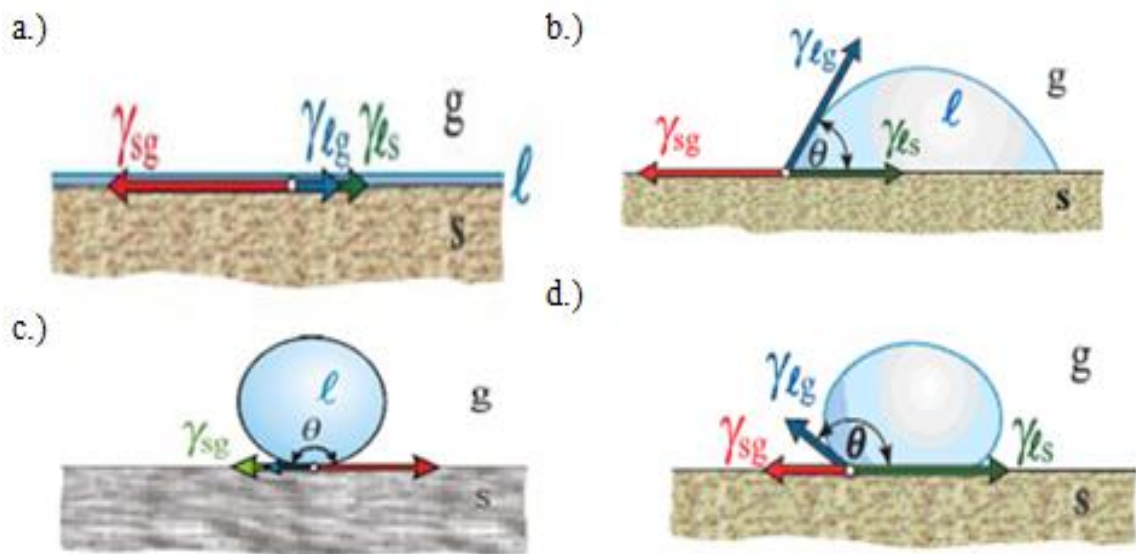
Jedná se o oxid vápenato-titaničitý, vykazuje vysokou iontovou vodivost, což vede k široké škále aplikací [71]. Je často používán v elektronických keramických materiálech, a k imobilizaci vysoce radioaktivního odpadu [72]. Aplikace elektronika, keramika, supra-vodiče a další. Lze ho připravit mnoha způsoby, u některých je možné kontrolovat růst krystalů a optimalizovat fyzikálně-chemické vlastnosti [73].

4 CHARAKTERIZACE POVRCHU

Za pomoci různých měřících metod lze analyzovat povrch materiálu a charakterizovat ho. Hydrofobnost/hydrofilnost, opotřebení, abraze a další faktory jsou ovlivňovány fyzikálními a chemickými vlastnostmi materiálu [74]. Níže uvedené metody slouží k analýze molekulové - Ramanova spektroskopie, morfologicko-strukturní analýze - Mikroskopie atomárních sil a k analýze prvkové - rentgenová fotoelektronová spektroskopie.

4.1 Povrchová energie

Povrchová energie hraje významnou roli ve vztahu k biofilmu, určuje míru adheze, jak je již zmíněno výše. Obvykle bývají použity nepřímé měřící metody, jelikož přímé měřící metody jsou složitější. Za pomoci smáčení několika kapalinami lze využít metody měření kontaktního úhlu. Celkovou povrchovou energii lze rozdělit do několika složek podle použité teorie. Při použití jen dvou měřících kapalin se jedná o teorii „*OWRK*“ (Owens - Wendt - Rabel - Kaelble), u této metody se celková povrchová energie rozdělí na polární a disperzní složku. Při využití alespoň tří kapalin se jedná o teorii „*Acid- Base*“ a jedna ze tří kapalin má nulovou polární složku. Takto lze měřit rozhraní plyn/kapalina/pevná látka, kde se měří tvar menisku, tedy úhel, jenž odpovídá tečně k povrchu kapky, začínající v místě styku kapky s rozhraním. Díky tomuto postupu měření lze říci, zda celková povrchová energie je hydrofilní nebo hydrofobní. A čím je měřený kontaktní úhel menší tím je povrch danou kapalinou lépe smáčen [75]. Jak je uvedeno na obrázku 8., smáčení dělíme podle úhlu: dokonalé smáčení $\theta = 0^\circ$, dobré smáčení $0^\circ < \theta < 90^\circ$, dokonalé nesmáčení $\theta = 180^\circ$ a špatné smáčení $90^\circ < \theta < 180^\circ$ [76].



Obrázek 8. Příklady úhlu smáčení a.) dokonalé smáčení, b.) dobré smáčení, c.) dokonalé nesmáčení, d.) špatné smáčení [76].

4.2 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

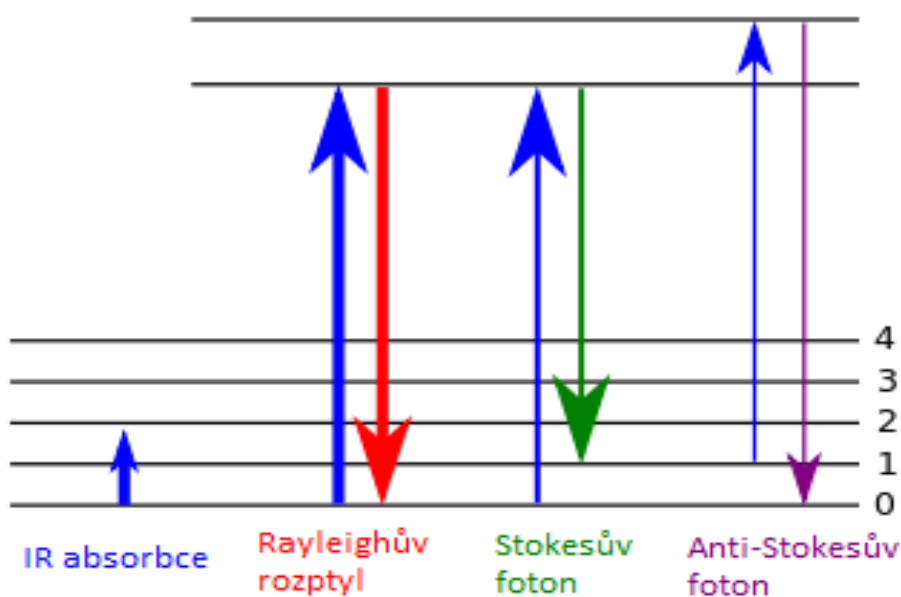
Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) je metoda pro analýzu a mapování povrchu materiálu. Jedná se o nedestruktivní metodu, kterou zjistíme kvalitu a kvantitu složení vzorku. Velkou výhodou je to, že se jedná o metodu s vysokou citlivostí, stanoví se tak všechny prvky. Pokud je jejich koncentrace větší než 0,1 atomových %, s výjimkou H a He. Nevýhodou je, že i ve vysokém vakuu musí být vzorek a jeho nosič stálý a práce musí probíhat v čistém prostředí [74].

Fotoelektrický jev je základem této metody, jedná se o nepružnou srážku fotonu s elektronem atomu v dané látce, kdy je elektron emitován do vakua. Takto získané elektrony jsou rozděleny podle četnosti a kinetické energie. Pokud se jedná o prvek s atomovým číslem $Z > 2$, zjistíme vazebnou energii elektronů, jelikož známe hodnotu energie fotonů budícího záření a ještě změřenou kinetickou energii. Dochází zde k tzv. chemickému posunu, jelikož vnitřní elektronový orbital blízký orbitalu valenčnímu je ovlivněn vznikem chemické vazby, proto lze odlišit od sebe železo vázané na oxid od metalického železa nebo uhlík v esterové skupině od vázaného v aminu [74]. Na polohu i tvar píku má vliv oxidační stav a vazebné uspořádání. Interpretace je relativně snadná, a k překrytí čar by docházet nemělo [77]. Výsledný graf je závislost intenzity na vazebné energii nebo kinetické energii, většinou se používá vazebná. Podle toho, ze které hladiny je fotoelektron, jelikož každý prvek má své předepsané spektrum, zobrazí se ve spektru daná spektrální čára - pík. Kvantové čísla energetických hladin označují píky ve spektru.

Písmeno n značí hlavní kvantové číslo, nabírá hodnot 1-3, vedlejší kvantové číslo značené písmenem l , které nabírá hodnot 0,1 ... (n-1), ale používají se písmena (0 = s, 1 = p, 2 = d a 3 = f). Toto zobrazení slouží pro kvalitativní analýzu, a pro kvantitativní analýzu je zapotřebí určit plochu píku [78].

4.3 Ramanova spektroskopie

Jedná se o metodu vibrační molekulové spektroskopie. Slouží pro určování látek, pro jejich složení a strukturu [79]. Princip je založen na tzv. Ramanově jevu či jinak řečeno Ramanově rozptylu, kdy tento jev popisuje neelastický optický rozptyl. Jelikož při průchodu světelného paprsku prostředím je část absorbována, část rozptýlena a část zůstává beze změny [80]. Což tedy znamená, že při interakci laseru s elektrony měřeného materiálu může dojít k: 1.) Přejechodu elektronu ze základního do vyššího energetického stavu, ale pouze na krátkou dobu, poté se vrací zpět a dochází k vyzáření fotonu, který má vlnovou délku jako laser. Vlnová délka je nezměněna. Jedná se o Rayleighův rozptyl. 2.) Pokud se po vybuzení vrátí do vyšší hladiny, než z hladiny z níž byl vybuzen, dojde opět k vyzáření fotonu, ale s vyšší vlnovou délkou než je vlnová délka laseru. Tzv. Stokesovy fotony. 3.) Anti-Stokesovy fotony - může totiž dojít také k opačnému jevu a to, že se elektron vrátí do nižší hladiny než z hladiny, z níž byl vybuzen. Souhrnně je to zaznamenáno na obrázku 9. [81].



Obrázek 9. Zobrazení možností interakce elektronů s laserem [81].

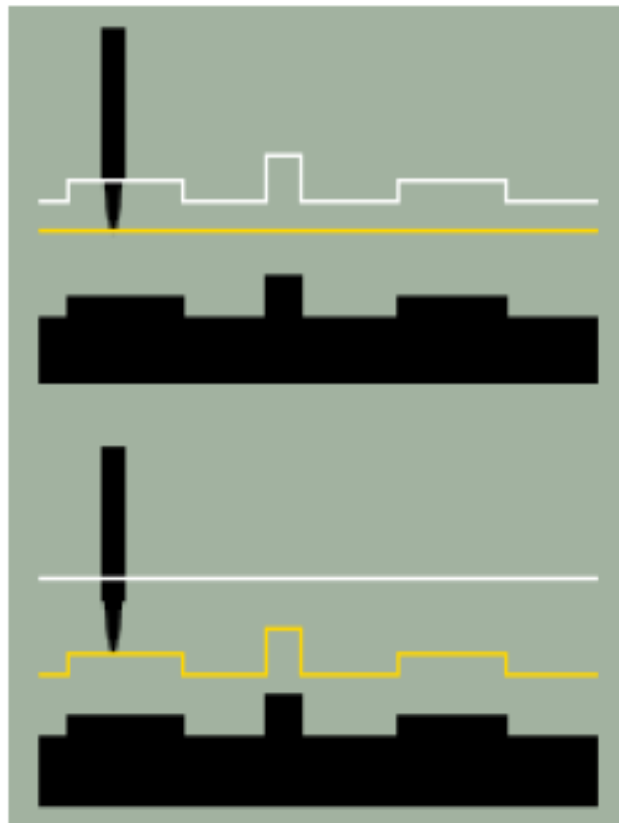
Posun vlnové délky je pro každou látku charakteristický, využívá se toho pro určení chemického složení vzorku, jedná se o nedestruktivní metodu. Nevýhodou je, že může dojít

k zahřívání vzorku kvůli velké intenzitě laseru, k specifické absorpci světla tzv. fluorescenci nebo chybě v interpretaci spekter v případě kontaminace vzorku [81]. Ramanovou spektroskopií lze měřit pevné, kapalné i plynné látky. Je možné tuto metodu kombinovat s mikroskopií atomárních sil nebo konfokální, elektronovou mikroskopií [80].

4.4 Mikroskopie atomárních sil

Mikroskopie atomárních sil (AFM) slouží k určení drsnosti v mikrometrech až nanometrech. Zobrazení je trojrozměrné [82]. Obraz vzorku je snímán pomocí sondy po jednotlivých řádcích. Snímací sondu tvoří mikropružina s hrotem, který je ovládán vzdáleností od povrchu vzorku, vzniklým piezoelektrickým jevem. Mezi atomy hrotu a vzorku působí přitažlivé síly při určité vzdálenosti, u většího přiblížení působí síly odpudivé [83]. Povrch může být snímán ve dvou režimech:

- 1.) Kontaktní režim je hrot přímo v kontaktu se vzorkem, působí zde odpudivé síly a tím se pružina ohýbá. Existují dvě snímací metody mikroskopu, které jsou i uvedeny na obrázku 10.
 - a.) Díky konstantnímu ohybu je i přítlak hrotu konstantní, a povrch je snímán podle velikosti vzniklého napětí.
 - b.) Druhá metoda funguje opačně. Zde je proměnný pohyb pružiny a napětí je konstantní. Výhodou je vysoká snímací rychlost, ale vzorek musí být velmi plochý [83].
- 2.) U bezkontaktního režimu pružina osciluje s určitou frekvencí, a je sledována změna amplitudy nebo fázový posun. Působí zde přitažlivé síly a lze určit i síly většího dosahu, např. magnetické a elektrostatické. Využívá se toho při měření materiálů, které by mohly být poškozeny hrotem v případě kontaktního režimu [83].



Obrázek 10. Kontaktního režimu horní obrázek zobrazuje konstantní polohu hrotu (režim a), spodní obrázek zobrazuje konstantní proud (režim b) [84].

Výhodou je že není zapotřebí vzorek nějak ošetřovat jako u jiných metod např. vakuum či pokovení [82]. Nerovnosti na měřeném vzorku ale musí být jen několik atomárních vrstev. Teplota vzorku by měla být konstantní, jelikož teplota může ovlivnit posouvací rychlost hrotu. Důležité je také umístění daného zařízení, jelikož AFM je citlivá na okolní vibrace [83].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Stanovení tvorby biofilmu

Pro tento pokus byly využity plísně a bakterie z České sbírky mikroorganismů v Brně.

5.1.1 Plísně

Níže uvedené plísně, které tvoří biofilm, byly použity pro testování tvorby biofilmu na povrchu vzorků a přerůstání povrchu vzorků biofilmem, za použití dvou rozdílných agarů: kompletního a nekompletního agaru. Tyto plísně byly testovány:

- *Aspergillus niger* CCM 8155
- *Trichoderma viride* F 486
- *Paecilomyces variotii* CCM F-398
- *Gliocladium virens* CCM 8042

5.1.2 Bakterie

Byly testovány níže uvedené bakterie, které vytváří biofilm. Byly vybrány jako zástupci grampozitivních i gramnegativních bakterií.

- *Bacillus cereus* CCM 2010 - grampozitivní bakterie
- *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 - gramnegativní bakterie

5.2 Živné půdy a médium

Pro kultivaci uvedených plísní byl využit kompletní agar, na němž rostou výše uvedené plísně a nekompletní agar neboli ochuzený. Tyto půdy byly vybrány pro zjištění, zda plísně potřebují živiny pro tvorbu a přerůstání vzorku biofilmem z agaru nebo budou čerpat živiny ze vzorku.

Jako kultivační médium pro bakterie byl použit masopeptonový agar s glukózou (Himedia, India). A jako tekuté živné médium, trypton-sójový bujón s glukózou.

5.2.1 Živné půdy pro biofilm plísní

Kompletní agar

Kompletním agarem je nazýván Malt Extract Broth Base, Himedia ref M255-500 G (MEBB). Pro přípravu tohoto agaru bylo zapotřebí navážit 4 g MEBB do 200 ml destilo-

vané vody, a poté bylo přidáno 4 g purifikovaného agaru L28 OXOID, který zde slouží jako ztužovací prostředek. Výsledné pH při teplotě 25 °C je $5,4 \pm 0,2$. Tento agar byl také použit jak kultivační médium. Složení je uvedeno v tabulce 3.

Tabulka 3. Složení kompletního agaru

Složení	Množství
Sladový extrakt	3,4 g
Mykologický pepton	0,6 g
Agar	4,0 g
Destilovaná voda	200 ml

Nekompletní agar

Jedná se o tzv. ochuzený agar, složení je uvedeno v následující tabulce.

Tabulka 4. Složení nekompletního agaru

Látka	Množství	Látka	Množství
NaNO ₃	1 g	FeSO ₄	0,01 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g	Sojový pepton	0,1 g
K ₂ HPO ₄	1 g	Agar	18 g
KCl	0,5 g	Roztok stopových prvků	1 ml
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,5 g	Destilovaná voda	1000 ml

Kompletní a nekompletní agar byl sterilizován v autoklávu při teplotě 115 °C, poté promíchán a po ochlazení přibližně na 45 °C, nalit do Petriho misek.

5.2.2 Živná půda a médium pro bakteriální biofilm

Masopeptonový agar s glukózou

Bakterie byly kultivovány na masopeptonovém agaru po dobu 48 hod. Teplota kultivace byla 37°C pro *Bacillus cereus* CCM 2010 a pro *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 byla teplota 30°C. Složení je uvedeno v následující tabulce.

Tabulka 5. Složení masopeptonového agaru

Složení	Gramů/litr
Beef extrakt	3
Pepton	5
Agar	15
NaCl	5
Glukóza	5

Trypton-sójový bujón s glukózou

Jedná se o tekuté živné médium pro bakterie. V tabulce 6. je uvedeno složení.

Tabulka 6. Složení trypton-sójového bujónu

Složení	Gramů/100ml
Trypton	1,7
Pepton	0,3
NaCl	0,5
K ₂ HPO ₄	0,25
Glukóza	0,5

5.3 Polymerní nátěry

Vzorky pro testování tvorby a přerůstání biofilmem poskytla prof. Ing. Andrea Kalendová, Dr. z Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek Fakulty chemicko-technologické, Univerzity Pardubice, která poskytla také následující popis vzorků. Jak již bylo zmíněno výše, jedná se o snahu nahradit nevyhovující pigmenty (Pb, Cr⁺⁶) v nátěrových hmotách za ekologicky (chemicky a toxikologicky) vyhovující pigmenty. Využívá se zde epoxyesterová pryskyřice (rozpouštědlového typu), která byla ředěna xylem a obsahovala různé druhy a množství pigmentů, které byly vytvořeny aplikací kapalné nátěrové hmoty na skleněné substráty. Připravované polymerní filmy se lišily typem pigmentu (nosičem vodivého polymeru) a typem povrchové úpravy VP (PANI, PPY a PPDA,

nebo ZnFe_2O_4), objemová koncentrace testovaných pigmentů (OKP) byla rovna 1 %, pouze u $\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PANI}$ byla koncentrace pigmentů 15 %.

Tabulka 7. Souhrnné označení vzorků polymerních nátěrů

Název	Zkratka
Diatomit	SiO_2
Diatomit + polyanilin	SiO_2/PANI
Diatomit + poly(<i>p</i> -phenylenediamin)	SiO_2/PPDA
Diatomit + zinkferit	$\text{SiO}_2/\text{ZnFe}_2\text{O}_4$
Wollastonit	CaSiO_3
Wollastonit + polyanilin	$\text{CaSiO}_3/\text{PANI}$
Wollastonit + poly(<i>p</i> -phenylenediamin)	$\text{CaSiO}_3/\text{PPDA}$
Wollastonit + zinkferit	$\text{CaSiO}_3/\text{ZnFe}_2\text{O}_4$
WorléeDur D 46 - samotná pryskyřice	WorléeDur D 46
Wolframan železitý	Fe_2WO_6
Wolframan železitý + polyanilin (OKP = 1 %)	$\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PANI}$ 1 %
Wolframan železitý + polyanilin (OKP = 15 %)	$\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PANI}$ 15 %
Wolframan železitý + poly(<i>p</i> -phenylenediamin)	$\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PPDA}$
Molybdenan železitý + polypyrrol	$\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PPY}$
Molybdenan železitý + polyanilin	$\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PANI}$
Molybdenan železitý + poly(<i>p</i> -phenylenediamin)	$\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PPDA}$
Oxid vápenato-titaničitý (perovskit)	CaTiO_3

Poznámka: OKP - objemová koncentrace pigmentu

V tabulce 7. jsou uvedeny názvy polymerních nátěrů a jejich zkratky, které jsou dále používány pro označení nátěrů. První skupina vzorků obsahovala pigment přírodní oxid křemičitý SiO_2 tzv. diatomit, který působí v nátěrových filmech fyzikálním mechanismem ochrany kovového podkladu. Ve 2. skupině byl využit jako pigment přírodní wollastonit CaSiO_3 . 3. skupina obsahovala pouze samotnou pryskyřici - WorléeDur D 46, neobsahova-

la pigmenty ani vodivé polymery. V dalších skupinách byly využity syntetizované pigmenty - molybdenan železitý, perovskit oxid vápenato titaničitý a wolframán železitý. Pro zvýšení antikoroziční účinnosti v nátěrových filmech byly chemicky aktivní pigmenty molybdenan železitý a wolframán železitý v nátěrových filmech povrchově upraveny PANI, PPY a PPDA. Zlepší se tím nejen antikoroziční účinnost původních pigmentů, ale i dispergace vodivých polymerů v nátěrových filmech na pigmentových nosičích. U wolframánu železitého s PANI byl použit pigment při dvou různých objemových koncentracích - 1 % a 15 %.

5.3.1 Laboratorní příprava pigmentů

Informace o přípravě a povrchové úpravě polymerních nátěrů byly poskytnuty prof. Ing. Andreou Kalendovou, Dr. Laboratorně byly připraveny pigmenty na bázi perovskitu, wolframánu a molybdenu. Metodika přípravy byla uskutečněna podle obecných zásad přípravy vysokoteplotních anorganických pigmentů, kdy syntéza probíhala v pevné fázi kalcinací zhomogenizované směsi výchozích látek za vyšších teplot, celkově syntéza probíhala v několika krocích. Byla provedena homogenizace směsi, kalcinace při dané teplotě, promývání vodou, mletí a sušení.

5.3.2 Povrchová úprava pigmentů pomocí VP a zinkferitu

Vzorky diatomit SiO_2 a wollastonit CaSiO_3 byly upraveny vrstvou zinkferitu. Z železnaté a zinečnaté soli v zásaditém prostředí při hydrolyze močoviny byla vyloučena tato vrstva ve vodném prostředí na pigmentových částicích a poté následovala kalcinace. Pigmenty byly následovně povrchově upraveny vrstvou VP.

PANI: pigmenty byly povrchově upraveny za laboratorních podmínek polymerní oxidací anilinu; bylo rozpuštěno 9,06 ml anilinu v 250 ml destilované vody okyselené 0,8 M (85%) H_3PO_4 . Po rozpuštění bylo do tohoto roztoku přidáno 20 g pigmentu. Dále byl připraven roztok peroxodisíranu draselného a byla zahájena polymerace, po 1 hodině míchání ukončeno, ponecháno dopolymerovat do druhého dne.

PPDA: příprava obdobná jako u PANI – výchozí látkou je 0,2 M p-phenylenediamin.

PPY: výchozí látkou je samotný pyrrol

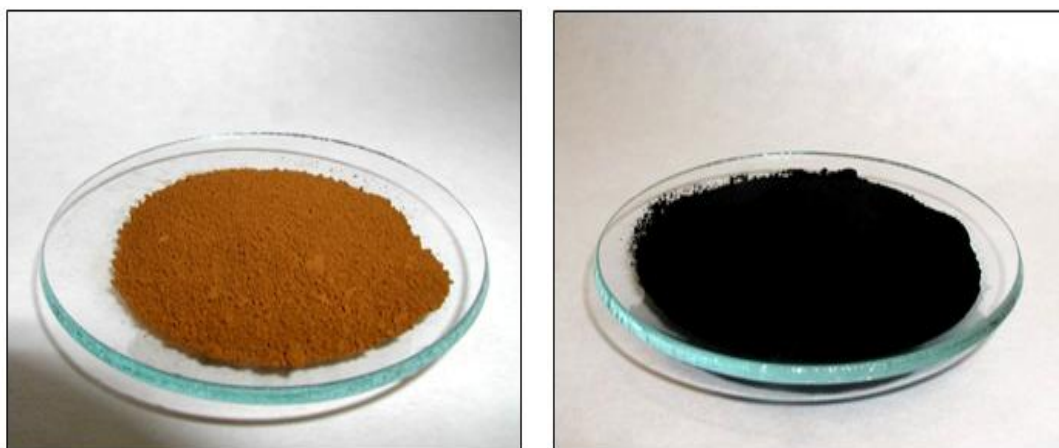
a) Povrchová úprava pigmentů polyanilinem fosfátem - postup

V 250 ml 0,8 M H_3PO_4 (13,2 ml 85 % kyseliny) bylo za stálého míchání rozpuštěno 9,06 ml anilinu. Po hodině míchání bylo přidáno 28,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ rozpuštěného

v 250 ml destilované vody a přisypáno 20 g pigmentu. Po další hodině bylo míchání dokončeno a směs byla nechána ještě 24 hodin depolymerovat. Na druhý den byl povrchově upravený pigment promyt roztokem 13,56 ml H_3PO_4 v 500 ml destilované vody a zfiltrován přes Büchnerovu nálevku s filtračním papírem. Pro lepší prosušení byly pigmenty na závěr promyty 50 ml acetonu. Po ukončení filtrace byly pigmenty z filtračního koláče převedeny na hodinové sklíčko a ponechány 24 hodin volně schnout na vzduchu. Na druhý den byly pigmenty dosušeny v sušárně předehřáté na 110 °C. Dokonale prosušený pigment byl převeden do uzavíratelné skleněné označené nádoby.

b) Povrchová úprava pigmentů polypyrrolem fosfátem - postup

17 ml 85 % H_3PO_4 bylo doplněno destilovanou vodou na obsah 250 ml roztoku a za stálého míchání v něm rozpuštěno 7 ml pyrrolu. Po hodině míchání bylo přidáno 28,5 g $(NH_4)_2S_2O_8$ rozpuštěného v 250 ml destilované vody a přisypáno 20 g pigmentu. Po další hodině bylo míchání dokončeno a směs byla nechána ještě 24 hodin depolymerovat. Na druhý den byl povrchově upravený pigment promyt roztokem 13,56 ml H_3PO_4 v 500 ml destilované vody a zfiltrován přes Büchnerovu nálevku s filtračním papírem. Pro lepší prosušení byly pigmenty na závěr promyty 50 ml acetonu. Po ukončení filtrace byly pigmenty z filtračního koláče převedeny na hodinové sklíčko a ponechány 24 hodin na prosušení na vzduchu. Na druhý den byly pigmenty dány do předehřáté sušárny na 110 °C. Dokonale prosušený pigment byl převeden do uzavíratelné skleněné označené nádoby.



Obrázek 11. Ukázka povrchově neupraveného (vlevo) pigmentu a povrchově upraveného pigmentu $ZnFe_2O_4$ polyanilinem fosfátem (vpravo). Obrázky od prof. Ing.

Andrey Kalendové, Dr.

5.3.3 Příprava vzorků nátěrových hmot

Nátěrové hmoty byly připraveny dispergací kapalného pojiva a práškového podílu pigmentu. Dispergace byla provedena v perlovém mlýnu (Dispermat CV pearl mill WMA Getzmann GmbH, Verfahrenstechnik, Germany) při otáčkách 3000 ot./min. po dobu 45 minut. Vysokoúčinná dispergace je důležitá pro včlenění práškového pigmentu do pojiva. Pro účinnou dispergaci a homogenní rozdělení pigmentu do pojiva je důležitá volba typu dispergačního zařízení, velikost míchadla, počet otáček a mnoho dalších. Objemová koncentrace testovaných pigmentů (OKP) byla rovna 1 %, pouze Fe_2WO_6 /PANI byl testován i při 15 %.

5.3.4 Epoxyesterová pryskyřice

Pryskyřice WorléeDur D46

- výrobce: Worlée - Chemie, Německo
- složení: epoxyesterová pryskyřice (60 % epoxid, 40 % konjugované mastné kyseliny tungového oleje)
- hustota: $1,07 \text{ g/cm}^3$
- sušina: 60 %
- číslo kyselosti: 4,1 mg KOH
- rozpouštědlo: xylen

5.4 Polyanilin

Jako podklad pro přípravu polyanilinových filmů (PANI) byla použita 100% polypropylenová fólie, z níž byly vystříženy čtverečky o rozměrech 4x4 cm.

5.4.1 PANI-S

Množství 2,59 g anilin hydrochloridu (AH) bylo naváženo do odměrné baňky a pro získání koncentrace 0,2 M doplněno ultračistou vodou. Do další odměrné baňky v množství 5,71 g byl navážen amonium persulfát (APS) a pro získání konečné koncentrace 0,25 M doplněn ultračistou vodou. Takto připravené roztoky byly při laboratorní teplotě ponechány 1 hodinu, po uplynuté době proběhla kontrola, zda jsou navážené látky dokonale rozpuštěny. Fólie byly umístěny do nádoby a zality oběma připravenými roztoky, reakce trvala 10 minut při laboratorní teplotě. Potom byly fólie opláchnuty 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou

a methanolem. Po opláchnutí vzniklý film schnul na vzduchu. Takto byla vytvořena tmavě zelená tzv. emeraldinová sůl na povrchu fólie.

5.4.2 PANI-B

PANI-B získáme z PANI-S, tím že je necháme před deprotonací 1 hodinu v destilované vodě. Po uplynuté době byly fólie ponořeny do 1 M vodného roztoku hydroxidu amonného, který působil 12 hodin. Poté byly fólie vytaženy a vytvořený film se sušil na vzduchu. Tímto způsobem z PANI-S vznikla deprotonovaná PANI-B. Tato změna se projevuje změnou barvy, z tmavě zelené na modrou.

5.4.3 PANI-B reprotonovaná kyselinou fosfowolframovou

Pro vznik PANI filmu reprotonované kyseliny (PANI-PHO) byly využity fólie PANI-B. Tyto fólie byly zality roztokem kyseliny fosfowolframové o 50% koncentraci, reakce probíhala po dobu 24 hodin. Po uplynulé době byly fólie opláchnuty methanolem a fólie se sušily na vzduchu při pokojové teplotě.

5.5 Očkování

Z důvodu rozdílného počtu vzorků, byla v případě polymerních nátěrů použita směsná kultura plísni a u PANI filmů byla možnost naočkování jednotlivě každou plísní.

5.5.1 Očkování plísni

5.5.1.1 Polymerní nátěry

Před pokládáním vzorků na živné půdy (kompletní i nekompletní agar) v Petriho miskách, byly vzorky sterilizovány za pomoci UV záření po dobu 30 minut. Do zkumavky s 25 ml sterilního fyziologického roztoku byly vyžíhanou kličkou setřeny všechny čtyři druhy plísni do zakalení roztoku. Při každém setření byla použita vyžíhaná klička, aby nedošlo ke kontaminaci nakultivovaných půd. Takto připravená směsná kultura plísni byla aplikována na povrch živné půdy v množství 100 μ l a rozetřena vyžíhanou zahnutou kličkou. Po zaschnutí suspenze na povrchu půd, byly vzorky opatrně plochou pinzetou přeneseny na živné půdy tak, aby nedošlo k poškození filmu. Poté byly vzorky zaočkovány i na povrchu, jemným poklepem za pomoci sterilní vatové tyčinky, která byla namočena do suspenze směsné kultury. Takto naočkované vzorky byly kultivovány v inkubačním boxu při teplotě 25 °C.

5.5.1.2 PANI filmy

Zde byly využity také oba druhy živných půd. Vzorky byly sterilizovány UV záření po dobu 30 minut. Do zkumavek se 3 ml sterilního fyziologického roztoku byla setřena jednotlivá plíseň vyžíhanou kličkou. Na povrch živných půd byly šetrně položeny vytvořené PANI filmy tak, aby nedošlo k jejich poškození. Připravené suspenze spor plísní byly aplikovány za pomoci sterilních vatových tyčinek kolem okraje fólie a jemným poklepem byla suspenze aplikována i na povrch. Takto naočkované vzorky byly také kultivovány v inkubačním bosu při teplotě 25°C.

5.5.2 Očkování bakterií

Do fyziologického roztoku byly zaočkovány bakterie, tím byla připravena bakteriální suspenze, o hustotě 2. stupně McFarlandova standardu. Hustota se měřila na denzitometru.

Polymerní nátěry byly sterilizovány UV zářením po dobu 30 minut. Do Petriho misek (TPP, Švýcarsko) se vzorky o velikosti 28,3 mm² se napipetovalo 5 ml trypton-sójového bujónu a vše se následovně zaočkovalo 50 µl bakteriální suspenze. Inkubace probíhala po dobu 48 hodin při teplotách 30 °C a 37 °C podle použité bakterie. Po uplynutí inkubační době byl obsah odstraněn a vzorky opatrně opláchnuty fyziologickým roztokem, posléze usušeny na vzduchu. Pro uvolnění buněk z povrchu vzorků bylo použito 100 µl ultračisté vody smíchané se 100 µl Extraktantu B/S (BioThema, Sweden). Tato vzniklá bakteriální suspenze byla následovně měřena pro obsah buněk.

5.6 Odečet tvorby a přerůstání biofilmu

Plísně: Tvorba a přerůstání biofilmu přes povrch vzorků byla sledována po 7 denních intervalech, při kterých byl pořízen fotografický záznam. Poslední odečet byl 42. den, kdy byla také vyhodnocena procentuální míra tvorby a přerůstání biofilmu přes povrch vzorků.

Bakterie: Ze vzniklé suspenze bylo odpipetováno 40 µl do mikrozkušavky se 160 µl ATP Reagentu HS + diluent B solution (BioThema, Sweden) a byla změřena světelná emise ($I_{smp1/2}$) pomocí luminometru (Turner BioSystems). Po skončení měření bylo do mikrozkušavky přidáno 10 µl 100 nmol/L ATP Standardu (BioThema, Sweden) a opět byla změřena světelná emise ($I_{smp+std}$). Obsah ATP ve vzorku (pmol) byl vypočítán pomocí rovnice:

$$ATP_{smp} = I_{smp1} / (I_{smp+std} - I_{smp2})$$

5.7 Charakterizace povrchu

Pro charakterizace povrchu byly použity dvě metody. Pro stanovení povrchové energie byla použita metoda měření kontaktního úhlu sedící kapkou a rentgenová fotoelektronová spektroskopie.

5.7.1 Měření kontaktního úhlu metodou sedící kapky

Měření bylo prováděno s využitím *See systém 6.2* (Surface energy evaluation system). Kontaktní úhel byl měřen za pomoci deionizované vody, ethyleneglykolu a diiodomethanu. Jak je uvedeno v kapitole Povrchová energie, při použití alespoň tří měřících kapalin se jedná o teorii „*Acid - Base*“, která je v této kapitole rozvedena. Tato metoda byla použita pro všechny povrchy, které byly měřeny pro biofilm.

5.7.2 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Tato měření byla provedena ve spolupráci s Jožef Stefan Institute ve Slovinsku, kde jsem byla v rámci studentské stáže v období leden až březen. Metodou XPS byla měřena pouze PANI-S a PANI-B a to z důvodu nutnosti přípravy vzorků přímo na místě.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

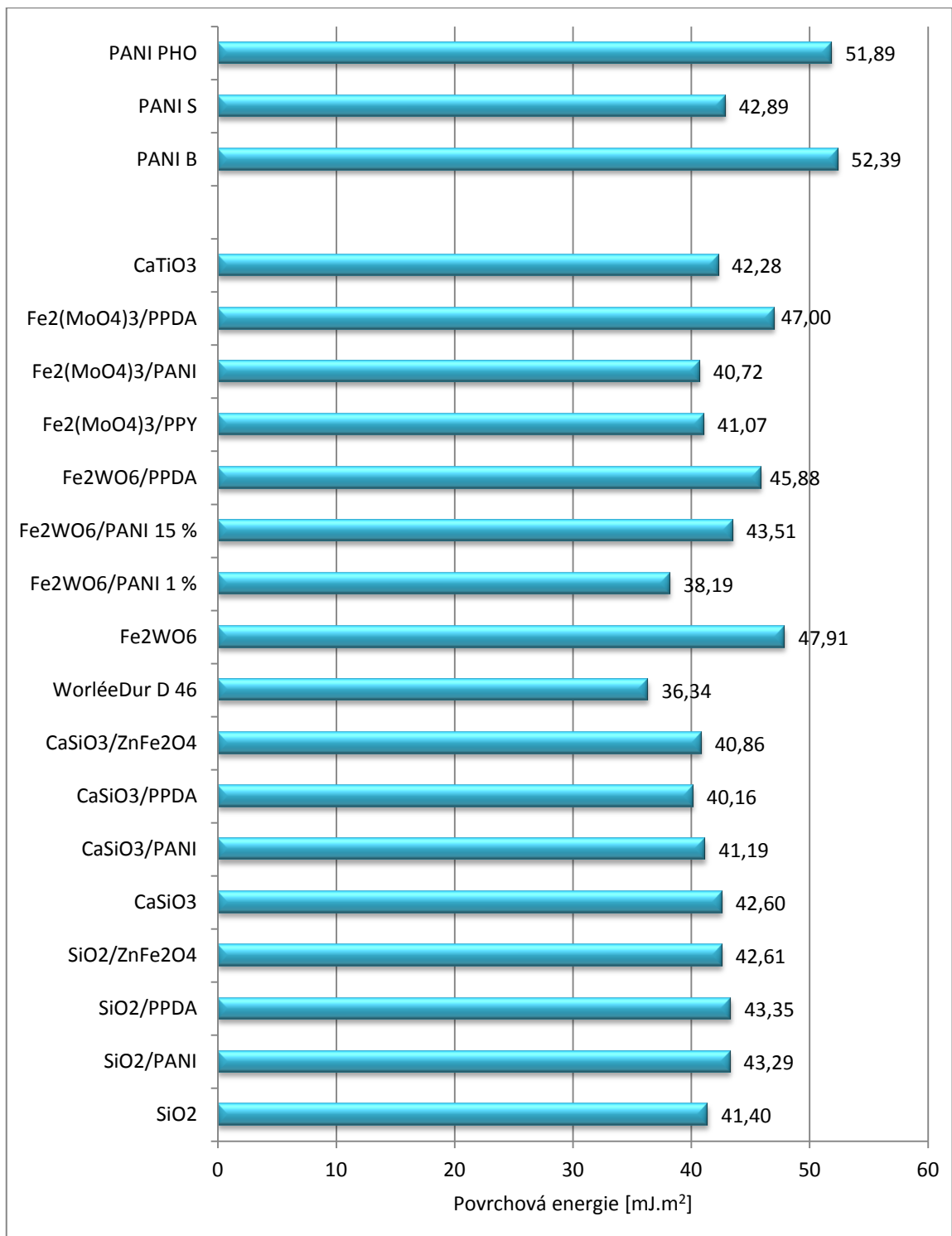
V této kapitole jsou uvedeny výsledky z měření povrchové energie polymerních nátěrů a PANI-S, PANI-B a PANI-PHO. Výsledky z měření XPS PANI-S a PANI-B. Tvorba a přerůstání biofilmu plísni na povrchu polymerních nátěrů a PANI-S, PANI-B a PANI-PHO, na dvou různých agarrech (kompletním a nekompletním). A tvorba bakteriálního biofilmu na polymerních nátěrech.

6.1 Výsledky z měření kontaktního úhlu

V následujícím grafu jsou uvedeny výsledné hodnoty povrchové energie polymerních nátěrů, PANI-S, PANI-B a PANI-PHO.

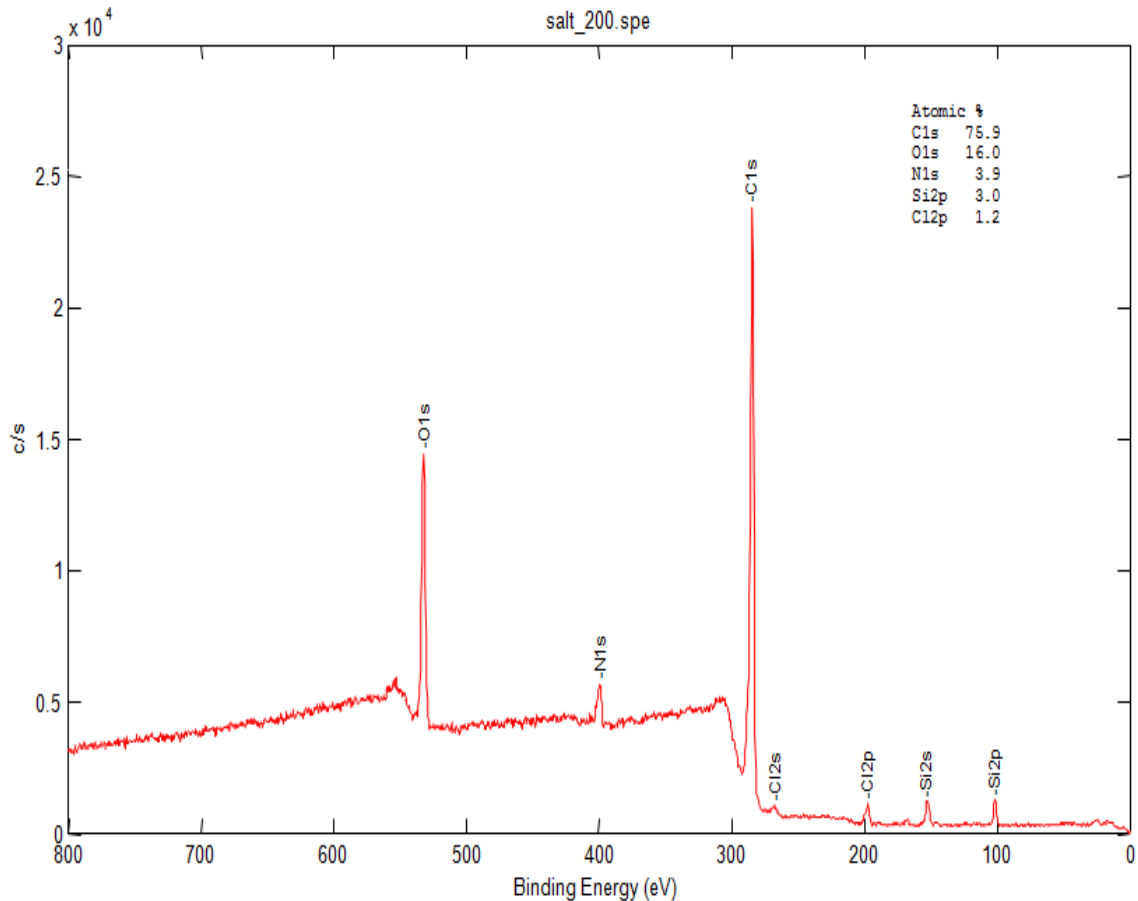
Nejnižší hodnotu povrchové energie u polymerních nátěrů měl vzorek samotné pryskyřice WorléeDur při $36,34 \text{ mJ.m}^2$ a naopak nejvyšší hodnotu měl vzorek Fe_2WO_6 $47,91 \text{ mJ.m}^2$. Povrchová energie 13 vzorků ze 17 vzorků polymerních nátěrů dosahovala hodnot od $40 - 44 \text{ mJ.m}^2$. Zbývají 4 vzorky, patří zde vzorek s nejvyšší a nejnižší hodnotou povrchové energie a poté dva vzorky s povrchovou energií vyšší než 44 mJ.m^2 a to Fe_2WO_6 s PPDA $45,88 \text{ mJ.m}^2$ a $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ s PPDA $47,00 \text{ mJ.m}^2$. Ze vzorků $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ byla hodnota povrchové energie nejvyšší v případě přítomnosti PPDA a u vzorků Fe_2WO_6 , byla nejvyšší povrchová energie u samotného Fe_2WO_6 . Fe_2WO_6 obsahující PPDA měl vyšší povrchovou energii oproti PANI, ale při zvyšující se koncentraci PANI hodnota povrchové energie vzrůstá. U SiO_2 je hodnota povrchové energie při použití PPDA také nejvyšší, ale rozdíly nejsou tak výrazné. U CaSiO_3 tomu tak ale není. Povrch PANI-S má nižší hodnotu povrchové energie $42,89 \text{ mJ.m}^2$ než PAN B $52,39 \text{ mJ.m}^2$ a PANI-PHO $51,89 \text{ mJ.m}^2$. Ve studii [85] byly PANI povrchy také měřeny na povrchovou energii PANI-S $52,54 \text{ mN/m}$ a PANI-B $50,88 \text{ mN/m}$, také za použití destilované vody, ethyleneglykolu a diidomethanu. Výsledky spolu téměř korespondují. Studie zabývající se polymerními nátěry testují jinými fyzikálně-chemickými metodami, ale netestují povrchovou energii. Přísady mají hydrofobní charakter, jelikož jejich povlak je z VP. Polypyrrol má povrchovou energii 46 mJ.m^2 [86], což je nižší hodnota než u PANI. V grafu 2. směs $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PANI}$ má $40,72 \text{ mJ.m}^2$ a $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PPY}$ má $41,07$, což je rozdíl pouze $0,35 \text{ mJ.m}^2$.

Graf 2. Znárodnění hodnot povrchové energie [$\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$] pro polymerní nátěry a PANI-S, PANI-B a PANI-PHO



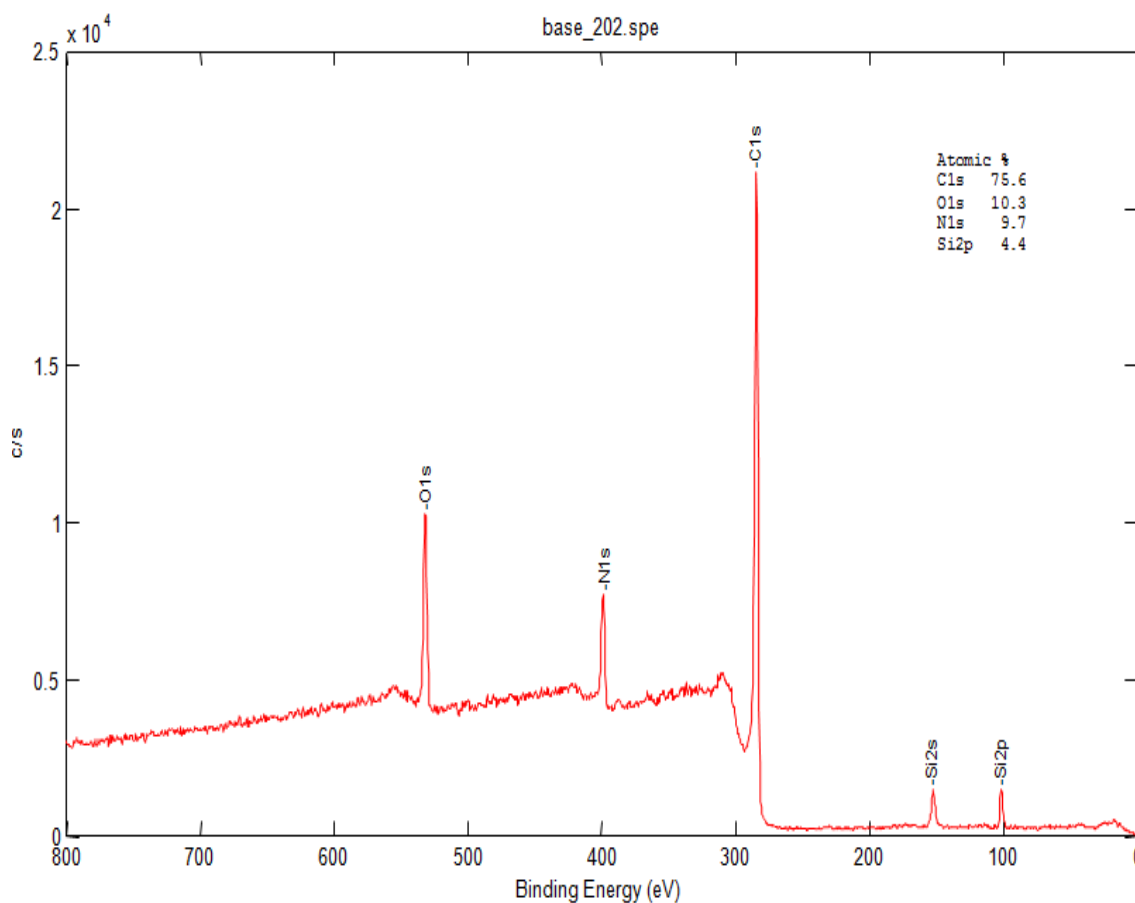
6.2 Výsledky z měření XPS PANI filmů

Graf 3. Znázornění vazebné energie pro PANI-S



Graf 3. zobrazuje závislost koncentrace prvku na vazebné energii pro PANI-S. Procentuální složení je C1s 75,9 %, O1s 16,0 %, N1s 3,9 %, Si2p 3,0 % a Cl2p 1,2 %. Zastoupení odpovídá vzorci PANI (C_6H_5N)_n. Největší procentuální zastoupení zde má C. Cl je zde nejspíše zastoupen jako zbytkové množství po oplachování po polymeraci. Měření probíhalo při 250 W, 45,0° a 187,85 eV a 6,67 min. Poměr C/N je 19, takto vysoký poměr je způsoben naměřenou nízkou koncentrací dusíku.

Graf 4. Znázornění vazebné energie pro PANI-B



Graf 4. zobrazuje závislost koncentrace prvku na vazebné energii pro PANI-B. Procentuální složení je C1s 75,6 %, O1s 10,3 %, N1s 9,7 %, Si2p 4,4 %. Měření při 250,0 W, 45,0°, 187,85 eV a 6,67 min. Poměr C/N je 7,8.

Ve studii Golczak [87] bylo zkoumáno za pomoci XPS, složení povrchu PANI filmů, které byly vytvořeny elektrochemicky při dvou různých potenciálech. Zjistili složení a chemickou vazbu atomů povrchu v tloušťce 5 – 10 nm. Podle velikosti píku zjistili atomovou koncentraci kyslíku, dusíku, uhlíku a chloru. Chlor zde byl kvůli stopovému množství soli (KCl), která byla použita během procesu polymerace. Poměr C/N určuje poměr jednotek v PANI a to je 6 (teoretický vzorec $(C_6H_5N)_n$). V tomto pokusu byl naměřen také větší poměr než je teoretický poměr. Změřili také velké množství kyslíku, který zde byl v důsledku oxidace nebo kvůli přítomnosti povrchové vody. Větší množství uhlohydrátů bylo způsobeno kontaminací vzorku atmosférou. Při srovnání naměřených v této diplomové práci a ve studii Golczak [87] lze říci, že výsledky spolu korespondují, kromě prvku Si, který zde byl naměřen zřejmě v důsledku kontaminace.

6.3 Přerůstání a tvorba biofilmu plísni

Přerůstání a tvorba biofilmu přes polymerní povrchy byly zaznamenávány po dobu 42 dní. Jako živné půdy zde byl v obou případech použit kompletní a nekompletní agar. Způsob vyhodnocení spočíval v tom, že se dané vzorky vyfotily, fotky vzorků byly upraveny na stejnou velikost, a na ně byla vyobrazena mřížka. Mřížka byla nutná pro výpočet procentuálního přerůstání a tvorby biofilmu.

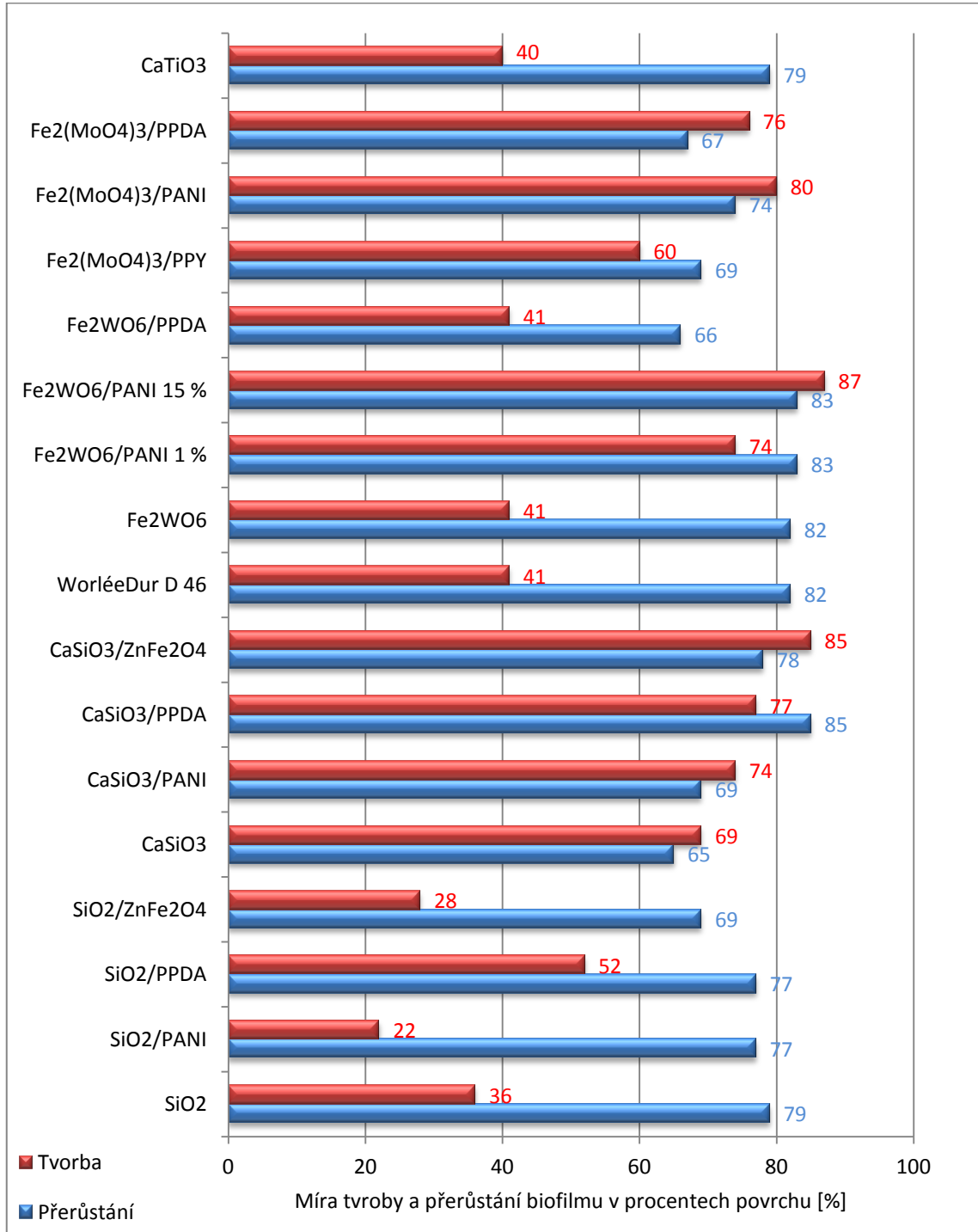
Na následujícím obrázku 12. je zobrazena fotka vzorku s mřížkou, červeným a zeleným čtvercem. Tyto čtverce rozdělují fotku vzorku na tři důležité oblasti. Mřížka slouží pro měření procentuálního zastoupení, výpočtem poměrů zaplněných čtverečků mřížky k nezaplněným. Oblast uvnitř červeného čtverce je pro výpočet tvorby biofilmu, mezi zeleným a červeným čtvercem se jedná o přerůstání, a okolo zeleného čtverce se jedná o biofilm plísňena živné půdě.



Obrázek 12. Zobrazení mřížky a ohraničujících čtverců (zelený a červený čtverec) pro určení přerůstání a tvorby biofilmu

6.3.1 Polymerní nátěry

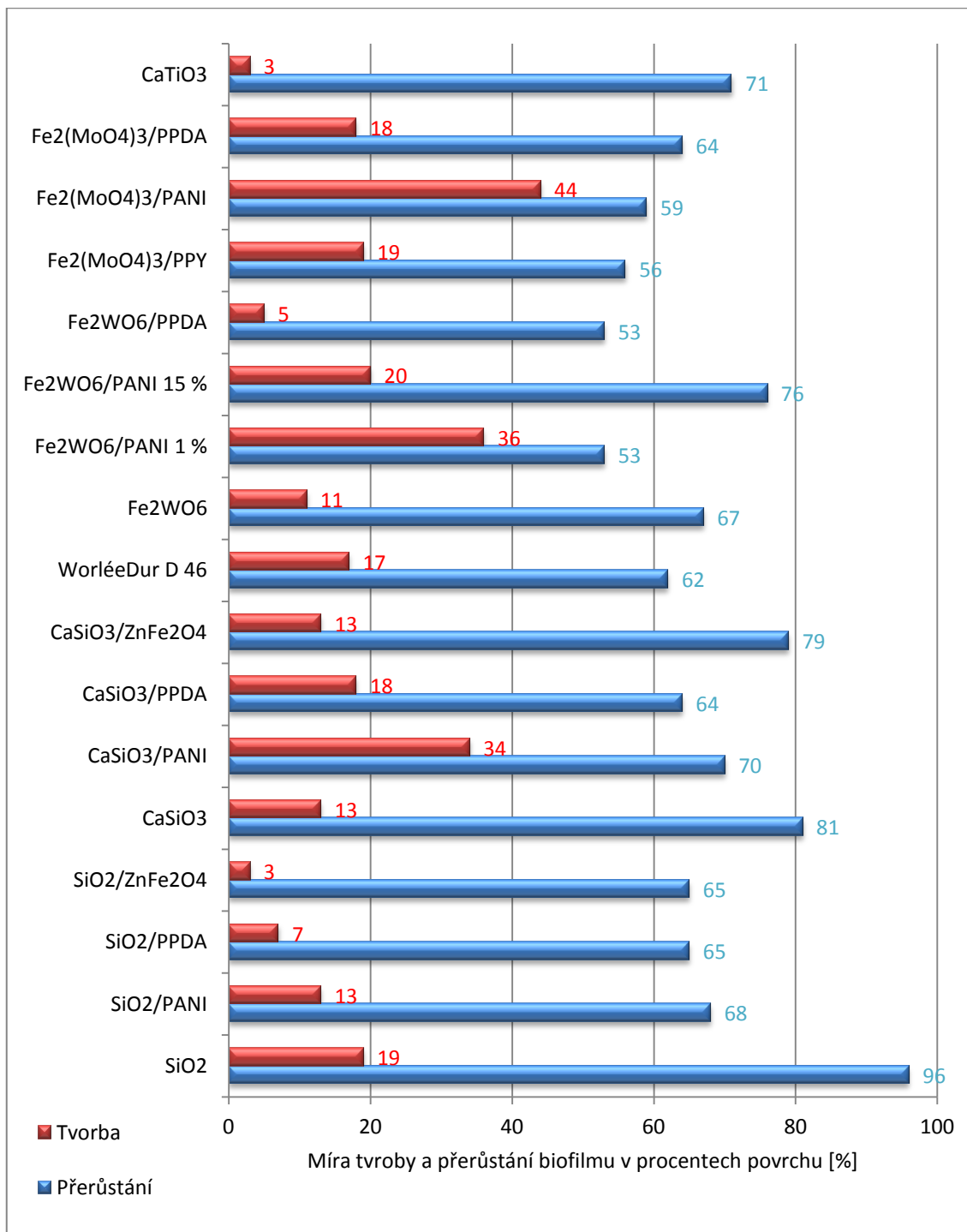
Graf 5. Zobrazuje přerůstání a tvorbu biofilmu směsné kultury plísní na vzorcích na nekompletním agaru po 42 dnech



Poznámka: Červeně je značená tvorba biofilmu a modře přerůstání biofilmem.

Na grafu 5. jsou znázorněny hodnoty tvorby a přerůstání biofilmu na povrchu polymerních nátěrů, které byly kultivovány na nekompletním agaru. V 11 případech ze 17 je procentuální míra přerůstání biofilmem vyšší než tvorba biofilmu. Což jsou tři vzorky obsahujících CaSiO_3 (kromě CaSiO_3 s PPDA) a Fe_2WO_6 /PANI při OKP = 15 %, $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ /PANI a $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ / PPDA. Největší míra procentuálního přerůstání je u vzorku CaSiO_3 /PPDA (85 %) a nejmenší u CaSiO_3 (65 %). Největší procentuální míra tvorby biofilmu je u vzorku Fe_2WO_6 /PANI při OKP = 15 % (87 %) a nejmenší SiO_2 /PANI (22 %). Největší procentuální rozdíl mezi tvorbou a přerůstáním biofilmu byl u vzorku SiO_2 /PANI (rozdíl hodnot je 55 %), a nejmenší rozdíl byl u vzorku CaSiO_3 a Fe_2WO_6 /PANI při OKP = 15 % (rozdíly hodnot jsou 4 %). Povrchy obsahující SiO_2 mají nejnižší tvorbu biofilmu, v případě přerůstání tomu tak není. Nízkou míru tvorby biofilmu mají vzorek WorléeDur (41 %), SiO_2 (36 %), CaTiO_3 (40 %), SiO_2 / ZnFe_2O_4 (28 %), Fe_2WO_6 (41 %) a Fe_2WO_6 / PPDA (41 %). Ostatní vzorky mají tvorbu biofilmu více než 50 %. Míru přerůstání mají všechny vzorky nad 65 %. V případě přerůstání biofilmu je v rámci pigmentu nejnižší procentuální zastoupení u vzorků s pigmentem $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$, a nejvyšší procentuální zastoupení je u vzorků s pigmentem CaTiO_3 , Fe_2WO_6 a samotné pryskyřice.

Graf 6. Zobrazuje přerůstání a tvorbu biofilmu směsné kultury plísní na vzorcích na kompletním agaru po 42 dnech



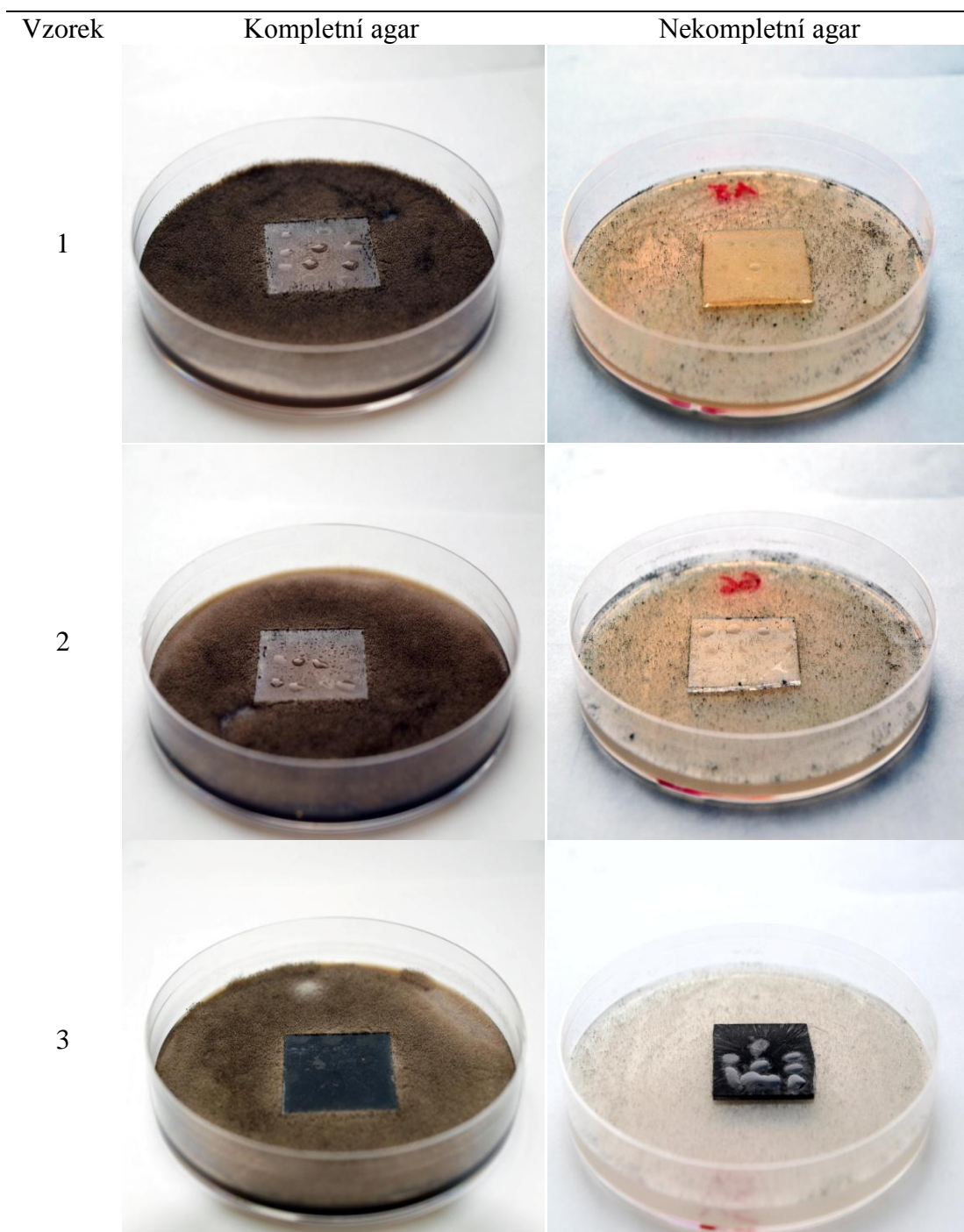
Poznámka: Červeně je značená tvorba biofilmu a modře přerůstání biofilmem.

Na grafu 6. jsou znázorněny hodnoty tvorby a přerůstání biofilmu na povrchu polymerních nátěrů, které jsou umístěny na kompletním agaru. Ve všech případech je procentuální míra přerůstání biofilmu vyšší než procentuální míra tvorby biofilmu. Největší procentuální míra přerůstání je u vzorku SiO_2 (96 %) a nejmenší u $\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PANI}$ 1 % a $\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PPDA}$ (oba vzorky 53 %). Největší procentuální míra tvorby biofilmu je u vzorku $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PANI}$ (44 %) a nejmenší u vzorku CaTiO_3 a $\text{SiO}_2/\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ (3 %). Je zde celkově viditelný výrazný rozdíl mezi hodnotami přerůstání a tvorbou biofilmu. Největší procentuální rozdíl mezi tvorbou a přerůstáním biofilmu byl u vzorku SiO_2 (rozdíl hodnot je 77 %), a nejmenší rozdíl byl u vzorku $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{PANI}$ (rozdíl hodnot je 15 %). Lze říci, že tvorba biofilmu je nejnižší v případě vzorků s pigmenty CaTiO_3 a SiO_2 , nejvyšší procentuální tvorba biofilmu byla u $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$. Nejnižší procentuální přerůstání vzorku biofilmem je v případě pigmentu $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$, ale nejvyšší v případě vzorků s pigmenty CaSiO_3 a SiO_2 .

Při srovnání hodnot mezi kompletním a nekompletním agarem, lze říci, že u kompletního agaru převažuje hodnota přerůstání, přičemž některé hodnoty u tvorby biofilmu by při srovnání byly zanedbatelné. Což dokazuje procentuální rozdíl 77 % u SiO_2 . Hodnoty při přerůstání jsou si podobné, průměr u přerůstání na nekompletním agaru je 76 % a u kompletního agaru 68%. Ovšem tvorba biofilmu se výrazně liší, u nekompletního agaru je průměr 58 % a u kompletního pouze 17 %. Z čehož vyplývá, že velmi záleží na typu použité půdy, jako zdroje živin. U nekompletního agaru měly zapotřebí čerpat živiny ze vzorků, u kompletního agaru měly dostatek živin přímo z něj. Největší rozdíl v přerůstání na nekompletním agaru a kompletním agaru byl v případě vzorku $\text{Fe}_2\text{WO}_6/\text{PANI}$ OKP = 1 %, kde je rozdíl 30 % a naopak kdy se jednalo o větší přerůstání v případě kompletního agaru, je rozdíl 17 % u vzorku SiO_2 . V případě tvorby biofilmu je největší rozdíl u vzorku $\text{CaSiO}_3/\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ a to 72 %. Vždy byla zaznamenána větší tvorba na nekompletním agaru než na kompletním agaru. V souvislosti s obsahem pigmentu lze říci, že nejmenší tvorba biofilmu je u vzorků obsahující SiO_2 , v rámci přerůstání je nejnižší procentuální zastoupení u vzorků obsahující $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$. Naopak nejvyšší tvorbu biofilmu je u vzorků obsahující CaSiO_3 a $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$, a největší procentuální přerůstání je u vzorků s CaTiO_3 a samotná pryskyřice WorléeDur D 46. Fotografie polymerních nátěrů pořízených po 42 dnech tvorby a přerůstání biofilmem na kompletním a nekompletním agaru jsou uvedeny níže.

Polymerní nátěry nebyly testovány na tvorbu biofilmu plísní, ale spíše byly testovány spíše fyzikálně-chemické vlastnosti (tvrdost, koroze v různém prostředí, ohybové zkoušky, nárazové zkoušky atd.) [31]. Ve studii Binkauskienė [42] byl zkoumán vliv plísně *A. niger* na korozi materiálu. Bylo zjištěno, že v případě potahovaných materiálů zinkem byla koroze zrychlena, a naopak v případě hliníkového nátěru byla koroze zpomalena, kvůli látkám (různý organickým kyselinám), které plísně tvoří. Fateixa [88] studoval vliv nanokompozitu SiO_2 v kombinaci s Ag_2S na *A. niger*. Tento nanokompozit vykazoval protiplísňovou aktivitu. Ale SiO_2 zde sloužil jako nosič aktivní protiplísňové látky. Lugauskas [89] testoval polymerní materiály obsahující různé přísady a homogenní materiály. Materiály, které obsahovaly různé složky, byly snadněji kolonizovány, než třeba homogenní folie, jelikož plísně měly k dispozici více látek, jež mohly využívat jako zdroj živin. Což lze přirovnat k polymerním nátěrům, které byly na nekompletním agaru. Nedostatek živin z nekompletního agaru si kompenzovaly přísunem živin z polymerních nátěrů.

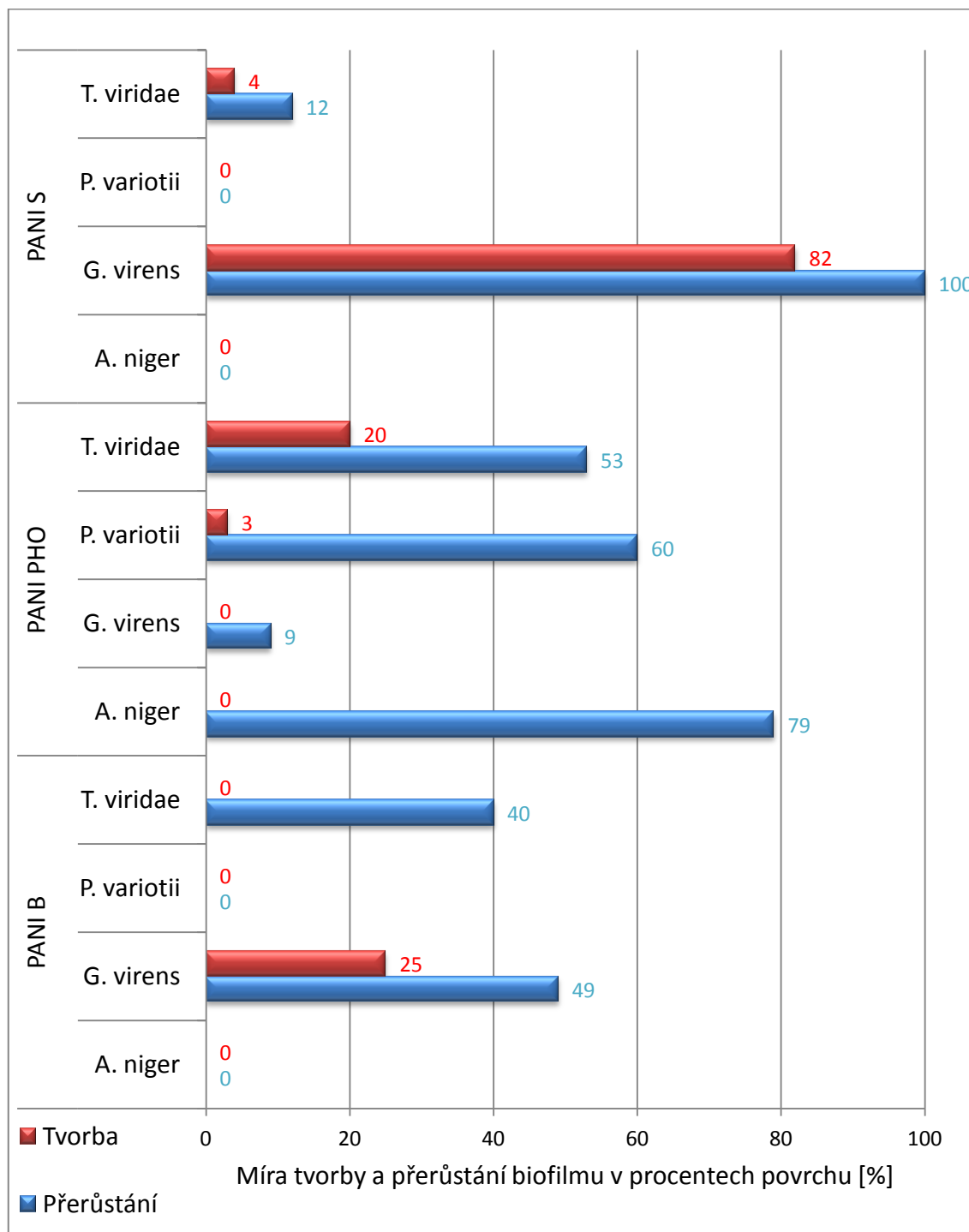
Obrázek 13 Fotografie polymerních nátěrů po 42 dnech na dvou typech agaru



Poznámka: 1. vzorek SiO_2 , 2. $\text{CaSiO}_3/\text{PPDA}$, 3. $\text{PANI}/\text{Fe}_2\text{WO}_6$ OKP = 15 %

6.3.2 PANI filmy

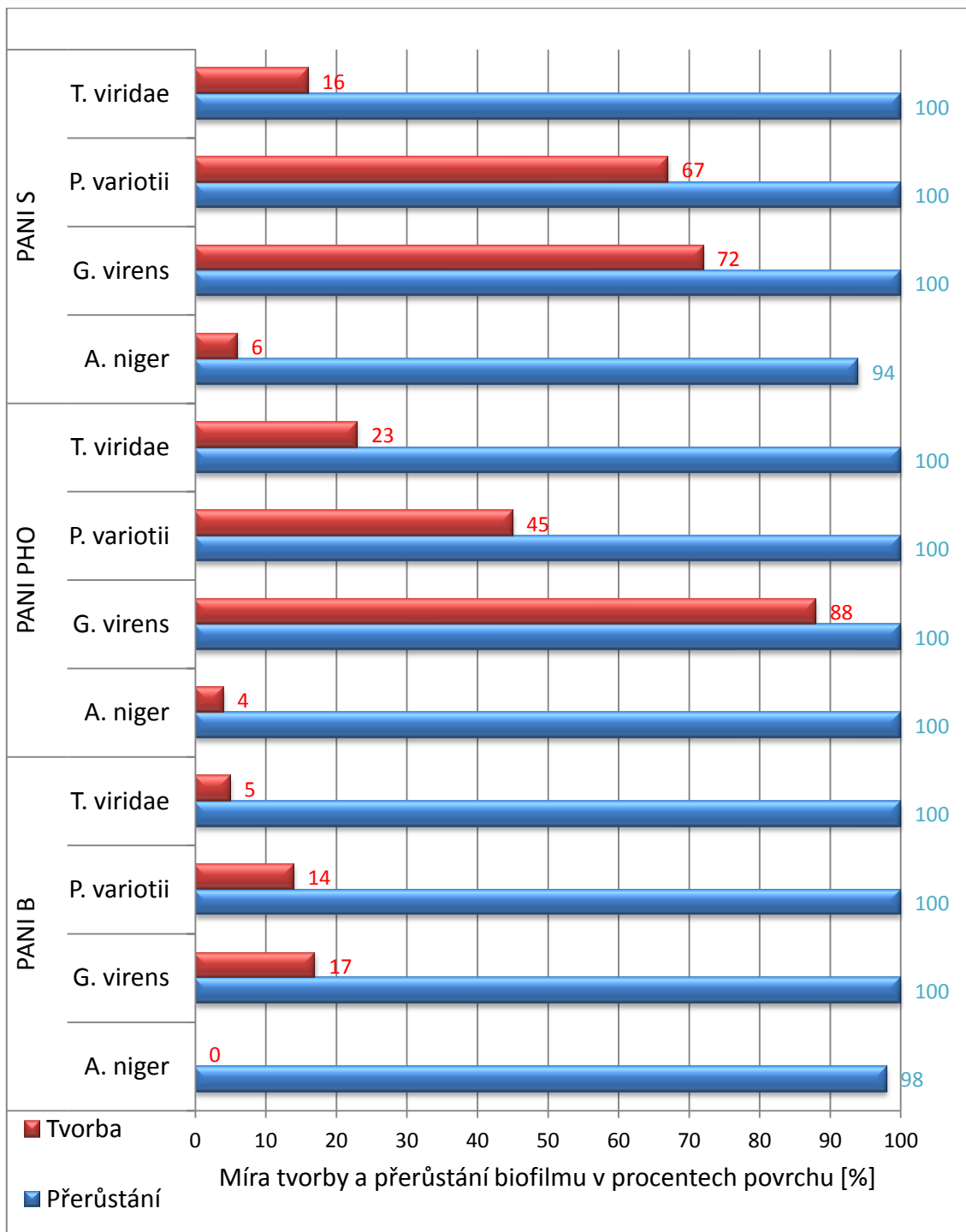
Graf 7. Zobrazuje míru přerůstání a tvorby biofilmu v procentech povrchu na nekompletním agaru po 42 dnech



Poznámka: Červeně je značená tvorba biofilmu a modře přerůstání biofilmem.

Graf 7. zobrazuje tři různé typy použitých materiálů (PANI-S, PANI-B a PANI-PHO) se čtyřmi různými plísněmi (*A. niger*, *G. virens*, *P. variotii* a *T. viride*) na nekompletním agaru. V případě PANI-B s *A. niger* a *P. variotii*, PANI-S s *A. niger* a *P. variotii* nedochází k přerůstání ani k tvorbě biofilmu. Největší procentuální míra přerůstání je u vzorku PANI-S s *G. virens* kde se jedná o 100 % přerůstání biofilmem, a tvorba biofilmu v tomto případě je také nejvyšší a dosahuje až 82 %. Nejnižší naměřené přerůstání má vzorek PANI-PHO *G. virens* s 9 %. Nejnižší tvorba biofilmu na povrchu je u PANI-PHO s *P. variotii* (3 %) a také PANI-S *T. viride* (4 %). V případě PANI-B *T. viride* dochází k přerůstání biofilmu až za vyznačenou vnější oblast, ale jedná se pouze o přerůstání, nikoliv tvorbu biofilmu, proto byl narostlý biofilm zahrnut pro výpočet pouze pro přerůstání. U PANI-PHO se vyskytuje přerůstání u všech čtyř druhů plísní, i když v případě *G. virens* se jedná pouze o 9 %. Přitom v případě PANI-S a PANI-B má tento druh plísně největší míru přerůstání. Největší vliv na povrch PANI-S měly okolní podmínky, došlo zde totiž ke změně oxidačního stavu, při kterém nastává i barevná změna, kdy ze zelené barvy PANI-S se stala tmavě modrá PANI-B. U jednoho ze dvou vzorků PANI-PHO s *A. niger* nastal problém již při nanášení suspenze, kdy i při jemném dotyku vatovou tyčinkou se suspenzí plísně, docházelo k narušení souvislé vrstvy filmu a uvolňování kyseliny do okolí vzorku - agaru. Na tomto typu agaru dávaly plísně přednost přerůstání než tvorbě biofilmu na povrchu vzorku.

Graf 8. Zobrazuje míru přerůstání a tvorby biofilmu v procentech povrchu na kompletním agaru po 42 dnech



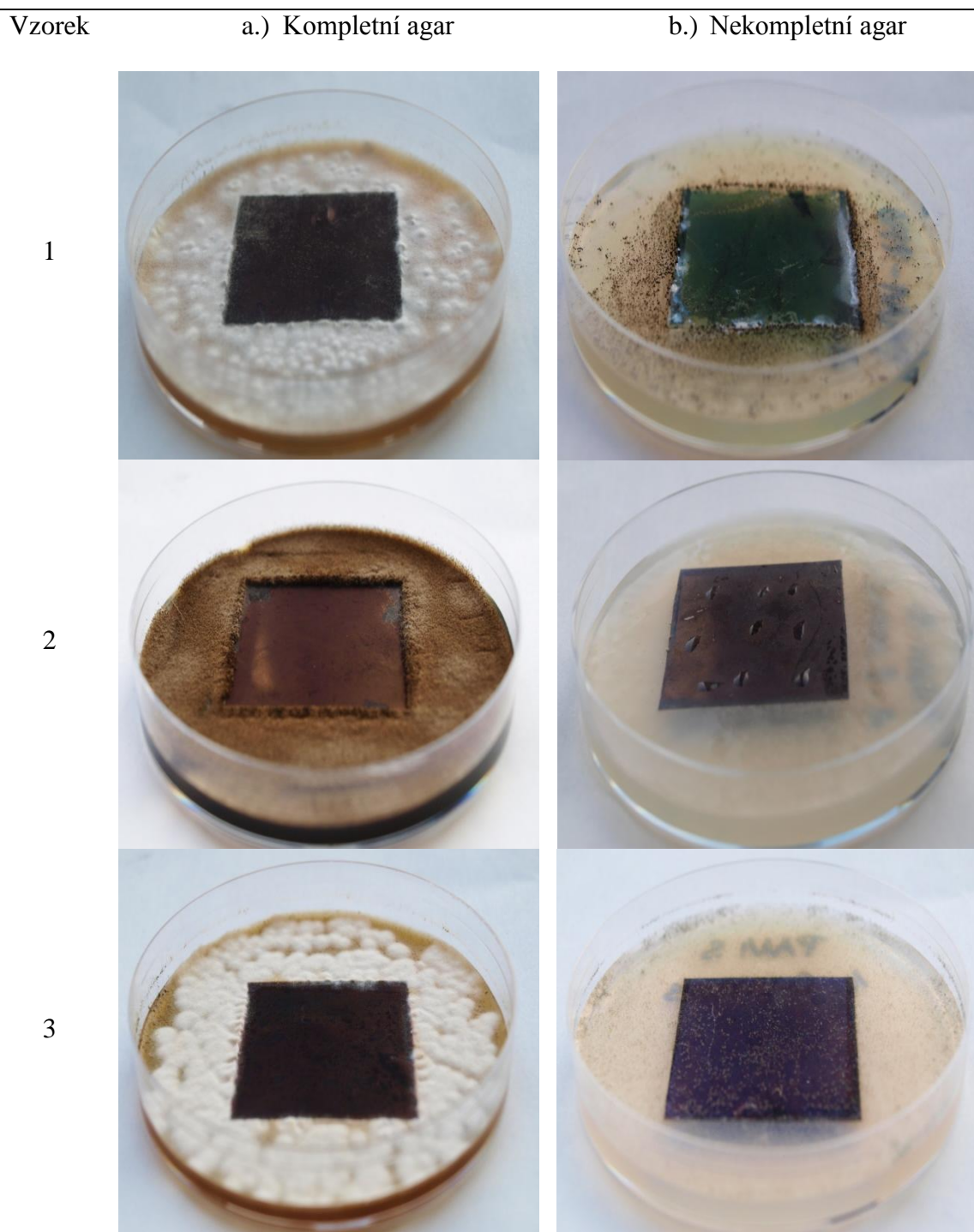
Poznámka: Červeně je značená tvorba biofilmu a modře přerůstání biofilmem.

Graf 8. zobrazuje tři různé typy použitých materiálů (PANI-S, PANI-B a PANI-PHO) se čtyřmi různými plísněmi (*A. niger*, *G. virens*, *P. variotii* a *T. viride*) na kompletním agaru. Dochází zde, skoro ve všech případech k 100 % přerůstání povrchu biofilmem. U vzorku PANI-PHO dochází ve všech případech k 100 % přerůstání biofilmu, u PANI-B a PANI-S je přerůstání ve skoro ve všech případech 100 % kromě plísně *A. niger*, kde se ale jedná o 98 % a 94 % přerůstání. Největší tvorba biofilmu byla u vzorku PANI-PHO *G. virens* (88 %), nejnižší tvorba biofilmu je v případě použité plísně *A. niger* na všech třech typech povrchů (PANI-B 0 %, PANI-PHO 4 % a PANI-S 6 %) a u PANI-B *T. viride* 5 %. U vzorku PANI-B dochází k velkému přerůstání biofilmem, ovšem tvorba biofilmu je minimální, zde je také pozorován největší rozdíl mezi přerůstáním a tvorbou biofilmu. U PANI-PHO je tvorba biofilmu největší v případě *G. virens* (88 %) a poté *P. variotii* (45 %), je tomu tak i v případě PANI-S největší tvorba biofilmu je *G. virens* (72%) a poté *P. variotii* (67 %). Celkově tedy lze říci, že *G. virens* nejvíce tvoří biofilm, následně *P. variotii*, poté *T. viride* a nejméně tvoří biofilm *A. niger*. Jako v případě nekompletního agaru i zde došlo ke změně oxidačního stavu, kdy ze zeleného PANI-S se za působení okolních podmínek stala tmavě modrý PANI-B.

Při srovnání hodnot PANI-B, PANI-S a PANI-PHO na nekompletním a kompletním agaru, které jsou zobrazené v grafu 7. a 8., lze říci, že celkově vyššího přerůstání bylo dosaženo v případě kompletního agaru, a to celkově i v případě tvorby biofilmu na povrchu vzorků (kromě vzorků PANI-B *G. virens* a PANI-S *G. virens*). Z výsledků měření na nekompletním agaru vyplývá, že živiny z nekompletního agaru nebyly dostačující pro přerůstání všech plísní, a povrch vzorků nevyužívaly jako zdroj živin, kromě tvorby biofilmu na PANI-B *G. virens* (25 %), PANI-PHO *T. viride* (20 %) a PANI-S *G. virens* (82 %). Lze tedy říci, že zkoumané plísně potřebovaly pro přerůstání a tvorbu biofilmu živiny z kompletního agaru. Nejmenší přerůstání a tvorba biofilmu bylo v případě povrchu PANI-B a to na nekompletním i kompletním agaru. A největší tvorba a přerůstání bylo u vzorku PANI-PHO. Jak již bylo zmíněno výše, PANI-S se na nekompletním i kompletním podkladu změnila po působení vnějšího okolí na PANI-B. Fotografie PANI filmů jsou uvedeny níže. PANI ve vztahu k plísnovému biofilmu byl již studován v mé bakalářské práci [44]. Byla studována PANI-S a její upravená forma v plazmě, za použití 7 různých plísní. A bylo potvrzeno, že nejvíce tvořily biofilm plísně *G. virens* a *P. variotii*. Podle studie [42], která testovala *A. niger* na PANI, byla expozice PANI již po 7 dnech

hodnocena 4,5 bodů z 5. Ve studii Lugauskas [89] byly měřeny různé polymerní materiály, a největší expozice materiálů biofilmem byla v případě plísně *A. niger* a *T. viride*.

Obrázek 14 Fotografie PANI filmů po 42 dnech na dvou typech agaru



Poznámka: 1 a.) PANI-PHO *G. virens* b.) PANI-PHO *A. niger*; 2 a.) PANI-B *A. niger* b.) PANI-B *P. variotii*; 3 a.) PANI-S *T. Viride* b.) PANI-S *G. virens*

6.4 Tvorba bakteriálního biofilmu

Tabulka 8. Výsledný počet buněk bakterií

Vzorek	Počet buněk	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SiO ₂	5,76 x10 ⁵	1,37 x10 ⁶
SiO ₂ /PANI	4,07 x10 ⁷	5,11 x10 ⁷
SiO ₂ /PPDA	1,96 x10 ⁶	3,84 x10 ⁶
SiO ₂ /ZnFe ₂ O ₄	9,23 x10 ⁵	2,32 x10 ⁶
CaSiO ₃	6,36 x10 ⁵	1,12 x10 ⁶
CaSiO ₃ /PANI	5,35 x10 ⁵	1,02 x10 ⁶
CaSiO ₃ /PPDA	5,31 x10 ⁵	1,06 x10 ⁶
CaSiO ₃ /ZnFe ₂ O ₄	1,44 x10 ⁶	4,91 x10 ⁵
WorléeDur D 46	5,54 x10 ⁵	2,35 x10 ⁶
Fe ₂ WO ₆	8,77 x10 ⁵	1,96 x10 ⁶
Fe ₂ WO ₆ /PANI (OKP =1 %)	4,42 x10 ⁵	1,62 x10 ⁶
Fe ₂ WO ₆ /PANI (OKP =15 %)	6,01 x10 ⁵	5,17 x10 ⁵
Fe ₂ WO ₆ /PPDA	4,30 x10 ⁵	3,69 x10 ⁵
Fe ₂ (MoO ₄) ₃ /PPY	7,72 x10 ⁵	1,50 x10 ⁵
Fe ₂ (MoO ₄) ₃ /PANI	3,51 x10 ⁵	4,98 x10 ⁵
Fe ₂ (MoO ₄) ₃ /PPDA	3,47 x10 ⁵	4,23 x10 ⁵
CaTiO ₃	3,53 x10 ⁵	6,77 x10 ⁵

Poznámka: PANI - polyanilin, PPY - polypyrrol, PPDA - poly(*p*-phenylenediamin), OKP - objemová koncentrace pigmentu.

Tvorba bakteriálního biofilmu byla zkoumána na 17 površích (o velikosti 28,3 mm²) polymerních nátěrů ve dvou opakováních. Testovány byly grampozitivní bakterie *Bacillus cereus* CCM 2010 (*B. cereus*) a gramnegativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 (*P. aeruginosa*). Výsledný počet buněk bakterií je zaznamenán v tabulce 8.

Největší počet buněk bakterie *B. cereus* je na povrchu SiO₂/PANI 4,07x10⁷ a nejmenší na povrchu Fe₂(MoO₄)₃/PPDA 3,47x10⁵. V případě bakterie *P. aeruginosa* největší počet buněk je na SiO₂/PANI 5,11x10⁷ a nejmenší počet je u vzorku Fe₂(MoO₄)₃/PPY 1,50x10⁵. Největší počet buněk je v obou případech na vzorku SiO₂/PANI a to řádově 10⁷ a ostatní buňky jsou 10⁵ - 10⁶. Celkově vzorky obsahující SiO₂ mají největší počet buněk. Nejmenší počet buněk bakterie *B. cereus* byl na vzorcích obsahujících CaTiO₃ a Fe₂(MoO₄)₃ a u bakterie *P. aeruginosa* na povrchu WorléeDur D 46 a Fe₂(MoO₄)₃. Celkově byl počet buněk větší u *P. aeruginosa* než u *B. cereus*. Jak bylo uvedeno výše, polymerní nátěry byly testovány jinými metodami, než je tvorba biofilmu či přerůstání biofilmem. Ale byly studovány Sainitya [90] ve vztahu k biofilmu některé látky z polymerních nátěrů, buď samostatně, nebo v kombinaci s jinou látkou. Např. wollastonit byl testován v kombinaci s chitosanem a karboxymethylcelulózou, sice se jednalo o osteoblasty, ale z výsledků vyplývá, že je biokompatibilní. Z čehož lze usoudit, že by neměl být nijak toxický a tak by neměl mít výrazný vliv na tvorbu biofilmu. Ovšem v případě využití wollastonite jako nosiče pro oxid titaničitý, má tato kombinace antibakteriální účinky podle Lara [91]. Také diatomit je využíván jako nosič látek, ve studii Shen [92] byl využíván jako nosič pro AgO a dosáhlo se vysokého antibakteriálního účinku. Nebo ve studii Zhang [93] kdy se v případě použití diatomitu s Ag zvýšila inhibiční zóna proti bakteriím 2x až 3x. Ma [94] testoval kompozit grafenu/(ZnFe₂O₄)/PANI, který vykazoval vysoké antibakteriální účinky proti *S. aureus* a *E. coli*. Samostatně byl testován PPY ve studii Zare [95], kde měl střední až dobrý antibakteriální účinek proti *P. aeruginosa*. Kombinace PPY, chitosanu a graftu ve studii Cabuk [96] měla větší antibakteriální účinek než samotné látky, ale tato kombinace nevykazovala proti *P. aeruginosa* protiplísňové vlastnosti. Podle Dhivya [97] má PANI jistou antibakteriální aktivitu proti Z výsledku studii lze usoudit, že kromě testovaných VP, které vykazovaly určitou bakteriální aktivitu, použité přísady byly využity spíše jako nosiče pro antibakteriální látku, než že by byly využity přímo jako antibakteriální látka.

ZÁVĚR

Mikroorganismy ulpívající na povrchu a posléze vytvářející biofilm, způsobují závažné problémy, jelikož mikroorganismy v biofilmu jsou odolnější oproti jejich planktonní formě. Proto se hledá řešení ve využití antimikrobiálních povrchů, které by zabránily přilnutí mikroorganismů nebo by je při kontaktu s nimi zahubily. Cílem této práce bylo zjistit, jaký vztah mají mikroorganismy k polymerním povrchům a rozšířit znalosti o adhezi.

Na polymerních nátěrech byla studována gramnegativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa*, která vykazovala vyšší tvorbu biofilmu než grampozitivní bakterie *Bacillus cereus*. U obou bakterií byla nejvyšší tvorba biofilmu v případě SiO_2 obsahující PANI, naměřené hodnoty se od ostatních lišily v některých případech až o dva řády. Celkově vzorky obsahující SiO_2 dosahovaly nejvyšších hodnot. Mezi dalšími polymerními nátěry nebyl pozorován výrazný rozdíl, ani referenční vzorek nevykazoval výrazně jiné výsledky. Řádově byly počty buněk v rozsahu 10^5 - 10^6 na ploše $28,3 \text{ mm}^2$, u SiO_2 obsahující PANI byla hodnota 10^7 .

U biofilmu plísní na polymerních nátěrech byl pozorován rozdíl v míře přerůstání a tvorby biofilmu na povrchu. Vyšší míra přerůstání byla dosažena u kompletního agaru, i když nebyl zaznamenán výrazný rozdíl. Ale byl zaznamenán výrazný rozdíl v míře tvorby biofilmu, vyšší tvorba biofilmu byla překvapivě zjištěna v případě nekompletního agaru. Což by mohlo být způsobeno tím, že vytvářely spíše dlouhé hyfy, kterými se snažily najít živiny. Mycélium tak vytvářelo řídký porost. V případě kompletního agaru měly plísně dostatek živin, nemusely je vyhledávat, takže dávaly přednost sporulaci. V souvislosti s obsahem pigmentu lze říci, že nejmenší tvorba biofilmu je u vzorků obsahující SiO_2 , v rámci přerůstání je nejnižší procentuální zastoupení u vzorků obsahující $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$. Naopak nejvyšší tvorbu biofilmu je u vzorků obsahující CaSiO_3 a $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$, a největší procentuální přerůstání je u vzorků s CaTiO_3 a samotná pryskyřice WorléeDur D 46.

Celkově vyšší míry přerůstání biofilmem i tvorby biofilmu na povrchu PANI vzorků bylo dosaženo na kompletním agaru. Z měření na nekompletním agaru vyplývá, že živiny nebyly dostačující a nezískaly je ani z testovaných vzorků. Nejmenší přerůstání a tvorba biofilmu bylo v případě povrchu PANI-B a to na nekompletním i kompletním agaru. Zatímco největší tvorba a přerůstání bylo zjištěno u vzorku PANI-PHO. Jak již bylo zmíněno výše, PANI-S se na nekompletním i kompletním podkladu změnila, po působení vnějšího okolí na PANI-B. Nejvíce tvořily biofilm plísně *G. virens* a *P. variotii*.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] REDELMAN, C. V. et al. Discovering Biofilms: Inquiry-Based Activities for the Classroom. *BioOne*. 2012, r. 74, č. 5, s. 305–309. DOI: 10.1525/abt.2012.74.5.4.
- [2] OTTER, J. A. et al. Surface-attached cells, biofilms and biocide susceptibility: implications for hospital cleaning and disinfection. *Journal of Hospital Infection*. 2015, r. 89, č. 1, s. 16–27. DOI: 10.1016/j.jhin.2014.09.008.
- [3] COAD, B. R. et al. Biomaterials surfaces capable of resisting fungal attachment and biofilm formation. *Biotechnology Advances*. 2014, r. 32, č. 2, s. 296–307. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.10.015.
- [4] SCHINDLER, J. Mikrobiální biofilm. Jak žijí bakterie v přirozeném prostředí? *Vesmír*. 2001, r. 80, č. 4, s. 203–206. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/mikrobialni-biofilm>
- [5] BAYOUDH, S. et al. Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering*. 2006, r. 26, č. 2–3, s. 300–305. DOI: 10.1016/j.msec.2005.10.045.
- [6] HARDING, M. W. et al. Can filamentous fungi form biofilms? *Trends in Microbiology*. 2009, r. 17, č. 11, s. 475–480. DOI: 10.1016/j.tim.2009.08.007.
- [7] GOLABI, M. et al. Tunable conjugated polymers for bacterial differentiation. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016, r. 222, s. 839–848. DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.033.
- [8] PRIEGNITZ, B. E. et al. The role of initial spore adhesion in pellet and biofilm formation in *Aspergillus niger*. *Fungal Genetics and Biology*. 2012, r. 49, č. 1, s. 30–38. DOI: 10.1016/j.fgb.2011.12.002.
- [9] RAVIKUMAR, T. et al. Surface-Active Antifungal Polyquaternary Amine. *Bio-macromolecules*. 2006, r. 7, č. 10, s. 2762–2769. DOI: 10.1021/bm060476w.
- [10] PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*. 2004, r. 22, č. 3, s. 189–259. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2003.09.005.
- [11] RULÍK, M. a V. HOLÁ. Mikrobiální biofilmy: 1. Všudypřítomný a přitom málo známý fenomén. *Živa*. 2012, č. 3, s. 104–106. Dostupné z: <http://ziva.avcr.cz/2012-3/mikrobialni-biofilmy-1-vsudypritomny-a-pritom-malo-znamy-fenomen.html>

- [12] RAMAGE, G. et al. Strength in numbers: antifungal strategies against fungal biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2014, r. 43, č. 2, s. 114–120. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2013.10.023.
- [13] BATONI, G. et al. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2016, r. 1858, č. 5, s. 1044–1060. DOI: 10.1016/j.bbamem.2015.10.013.
- [14] SIQUEIRA, V. M. a N. LIMA. Biofilm Formation by Filamentous Fungi Recovered from a Water systém. *Hindawi: Journal of Mycology*. 2013, r. 2013, s. 1–9. DOI: 10.1155/2013/152941
- [15] SAWHNEY, R. A V. BERRY. Bacterial biofilm formation, pathogenicity, diagnostics and control: An overview. *Indian Journal of Medical Sciences*. 2009, r. 63, č. 7, s. 313–321. DOI: 10.4103/0019-5359.55113
- [16] GARRETT, T. R. et al. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*. 2008, r. 18, č. 9, s. 1049–1056. DOI: 10.1016/j.pnsc.2008.04.001
- [17] HOLÁ, V. Mikrobiální biofilmy 3. Biofilmová společenstva lidského těla a biofilmové infekce. *Živa*. 2012, r. 2012, č. 6, s. 271 Dostupné z: <http://ziva.avcr.cz/2012-6/mikrobialni-biofilmy-3-biofilmova-spolecenstva-lidskeho-tela-a-biofilmove-infekce.html>
- [18] HENEBERG, P. Biofilm - Dr. Jekyll anebo Mr. Hyde? Třípól: Medicína a přírodověda. 2008, č. 141. Dostupné z: <http://www.3pol.cz/cz/rubriky/medicina-a-prirodoveda/843-biofilm-dr-jekyll-anebo-mr-hyde>
- [19] PAVITHRA, D. a M. DOBLE. Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants-issues and prevention. *BIOMEDICAL MATERIALS*. 2008, r. 3, s. 1–13. DOI: 10.1088/1748-6041/3/3/034003.
- [20] QAZI, T. H. et al. Tissue engineering of electrically responsive tissues using polyaniline based polymers: A review. *Biomaterials*. 2014, r. 35, č. 33, s. 9068–9086. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.07.020.
- [21] DONLAN, R. M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*. 2002, r. 8, č. 9, s. 881–890. DOI: 10.3201/eid0809.020063
- [22] TSIBOUKLIS, J. et al. Inhibiting bacterial adhesion onto surfaces: the non-stick coating approach. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 2000, r. 20, č. 2, s. 91–96. DOI: 10.1016/S0143-7496(99)00034-2

- [23] BALINT, R. et al. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 2014, r. 10, č. 6, s. 2341–2353. DOI: 10.1016/j.actbio.2014.02.015.
- [24] STEJSKAL, J. Polyanilin: Vodivý polymer. Dostupné z: <http://archiv.otevrena-veda.cz/users/Image/default/C1Kurzy/NH2006pdf/16.pdf>
- [25] GUIMARD, N. K. et al. Conducting polymers in biomedical engineering. *Progress in Polymer Science*. 2007, r. 32, č. 8–9, s. 876–921. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012.
- [26] BHADRA, S. et al. Progress in preparation, processing and applications of polyaniline. *Progress in Polymer Science*. 2009, r. 34, č. 8, s. 783–810. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2009.04.003.
- [27] HUMPOLÍČEK, P. et al. Proliferace buněk na vodivém polymeru, polyanilinu. Laboratorní přístroje a postupy. *Chem. listy* 106. 2012, s. 380–383. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_05_380-383.pdf
- [28] STEJSKAL, J.. Polymers of phenylenediamines. *Progress in Polymer Science*. 2015, r. 41, s. 1–31. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2014.10.007.
- [29] ATES, M. A review study of (bio)sensor systems based on conducting polymers. *Materials Science and Engineering C*. 2013, r. 33, č. 4, s. 1853–1859. DOI: 10.1016/j.msec.2013.01.035.
- [30] WANG, L. X. et al. Preparation, properties and applications of polypyrroles. *Reactive and Functional Polymers*. 2001, r. 47, č. 2, s. 125–139. DOI: 10.1016/S1381-5148(00)00079-1.
- [31] KALEDOVÁ, A. et al. Anticorrosion efficiency of zinc-filled epoxy coatings containing conducting polymers and pigments. *Progress in Organic Coatings*. 2015, r. 78, s. 1–20. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2014.10.009.
- [32] TABAČIAROVÁ, J. et al. Study of polypyrrole aging by XPS, FTIR and conductivity measurements. *Polymer Degradation and Stability*. 2015, r. 120, s. 392–401. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2015.07.021.
- [33] SIGMA-ALDRICH: A Part of Merck. *Polypyrrole*. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/polypyrrole123453060481011?lang=en&ion=CZ>

- [34] GUO, B. et al. Biodegradable and electrically conducting polymers for biomedical applications. *Progress in Polymer Science*. 2013, r. 38, č. 9, s. 1263–1286. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2013.06.003
- [35] HUMPOLÍČEK, P. et al. Biocompatibility of polyaniline. *Synthetic Metals*. 2012, r. 162, č. 7–8, s. 722–727. DOI: 10.1016/j.synthmet.2012.02.024.
- [36] NIKOLAEV, A. G. et al. Modification of anti-bacterial surface properties of textile polymers by vacuum arc ion source implantation. *Applied Surface Science*. 2014, r. 310, s. 51–55. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.04.002
- [37] *Diener electronic: Plasma-Surface-Technology*. ©2015 Diener electronic GmbH + Co. KG. Dostupné z: <http://www.plasma.de/cz/index.html>
- [38] DISPENZA, C. et al. In-situ polymerization of polyaniline in radiation functionalized polypropylene films. *Polymers*. 2015, r. 67, s. 128–138. DOI: 10.1016/j.polymer.2015.04.038
- [39] KOLESKE, J. V. Radiation Curing of Coatings. *ASTM International: Helping our world work better*. 2012. DOI: 10.1520/MNL12258M
- [40] RÅNBY, B. Surface modification and lamination of polymers by photografting. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 1999, r. 19, č. 5, s. 337–343. DOI: 10.1016/S0143-7496(98)00066-9
- [41] PESEK, S. L. et al. Synthesis of bottlebrush copolymers based on poly(dimethylsiloxane) for surface active additives. *Polymer*. 2016, s. 1–10. DOI: 10.1016/j.polymer.2016.01.057
- [42] BINKAUSKIENĖ, E. et al. Effect of *Aspergillus niger* Tiegh. L-10 on the physical and chemical properties of a polyaniline coating in the growth substrate. *Synthetic Metals*. 2009, r. 159 č. 13, s. 1365–1368. DOI: 10.1016/j.synthmet.2009.03.011
- [43] RAMANAVICIUS, A. et al. Synthesis of polypyrrole within the cell wall of yeast by redox-cycling of $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. *Enzyme and Microbial Technology*. 2016, r. 83, s. 40–47. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2015.11.009
- [44] JANŮ, K. *Vazba eukaryotických buněk na modifikovaných površích*. Zlín, 2014, bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.

- [45] ESTIVILL, D. a kol. Biofilm formation by five species of *Candida* on three clinical materials. *Journal of Microbiological Methods*. 2011, r. 86, č. 2, s. 238–242. DOI: 10.1016/j.mimet.2011.05.019.
- [46] NEŠPŮREK, S. et al. Vodivé polymery: Inteligentní materiály pro nové století. *Vesmír*. 2001, r. 80, č. 1, s. 35–38. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/vodive-polymery>
- [47] CUI, X. et al. *In vivo* studies of polypyrrole/peptide coated neural probes. *Biomaterials*. 2003, r. 24, č. 5, s. 777–787. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00415-5
- [48] DI, L. et al. Protein adsorption and peroxidation of rat retinas under stimulation of a neural probe coated with polyaniline. *Acta Biomaterialia*. 2011, r. 7, č. 10, s. 3738–3745. DOI: 10.1016/j.actbio.2011.06.009
- [49] ZHAO, X. et al. Antibacterial and conductive injectable hydrogels based on quaternized chitosan-graft-polyaniline/oxidized dextran for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 2015, r. 26, s. 236–248. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.08.006
- [50] KIM, B. R. et al. Electromagnetic interference shielding characteristics and shielding effectiveness of polyaniline-coated films. *Thin Solid Films*. 2011, r. 519, č. 11, s. 3492–3496. DOI: 10.1016/j.tsf.2011.01.093
- [51] LAKSHMI, K. et al. Microwave absorption, reflection and EMI shielding of PU–PANI composite. *Acta Materialia*. 2009, r. 57, č. 2, s. 371–375. DOI: 10.1016/j.actamat.2008.09.018
- [52] ZHAO, H. et al. Electromagnetic shielding effectiveness and serviceability of the multilayer structured cuprammonium fabric/polypyrrole/copper (CF/PPy/Cu) composite. *Chemical Engineering Journal*. 2016. DOI: 10.1016/j.cej.2016.04.004.
- [53] HÅKANSSON, E. et al. Electromagnetic interference shielding and radiation absorption in thin polypyrrole films. *European Polymer Journal*. 2007, r. 43, č. 1, s. 205–213. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2006.10.001
- [54] ZHANG, X. et al. Fabrication and photovoltaic properties of self-assembled sulfonated polyaniline/TiO₂ nanocomposite ultrathin films. *Materials Chemistry and Physics*. 2007, r. 102, č. 2–3, s. 249–254. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2006.12.013
- [55] KATORE, M. S. et al. Photovoltaic study of chemically engineered nano-titanium oxide loaded polyaniline matrix of architecture ITO/titanium oxide-

- polyaniline/aluminum. *Synthetic Metals*. 2015, r. 209, s. 577–582. DOI: 10.1016/j.synthmet.2015.09.004
- [56] PROKEŠ, J. et al. Polyanilin a polypyrrol: dva představitelé vodivých polymerů. *Chem. listy* 95. 2001, s. 484–492. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2001/08-PDF/484-492.pdf>
- [57] PROKEŠ, P. a A. KALEDOVÁ. Anticorrosion efficiency of coatings containing metallic pigments. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 2007, r. 68, č. 5–6, s. 1083–1086. DOI: 10.1016/j.jpics.2006.11.024.
- [58] VESELÝ, D. et al. Properties of organic coatings depending on chemical composition and structure of pigment particles. *Surface and Coatings Technology*. 2010, r. 204, č. 12–13, s. 2032–2037. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2009.11.005.
- [59] KALEDOVÁ, A. et al. Organic coatings containing polyaniline and inorganic pigments as corrosion inhibitors. *Progress in Organic Coatings*. 2008, r. 62, č. 1, s. 105–116. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2007.10.001.
- [60] KALEDOVÁ, A. et al. Effect of surface treatment of pigment particles with polypyrrole and polyaniline phosphate on their corrosion inhibiting properties in organic coatings. *Progress in Organic Coatings*. 2014, r. 77, č. 9, s. 1465–1483. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2014.04.012.
- [61] KALEDOVÁ, A. et al. Anticorrosion properties of inorganic pigments surface-modified with a polyaniline phosphate layer. *Progress in Organic Coatings*. 2008, r. 63, č. 2, s. 209–221. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2008.06.001.
- [62] BRODINOVÁ, J. et al. Investigation of ferrites properties with polyaniline layer in anticorrosive coatings. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 2007, r. 68, č. 5–6, s. 1091–1095. DOI: 10.1016/j.jpics.2006.11.018.
- [63] AREFINIA, R. et al. Anticorrosion properties of smart coating based on polyaniline nanoparticles/epoxy-ester system. *Progress in Organic Coatings*. 2012, r. 75, č. 4, s. 502–508. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2012.06.003.
- [64] *Surface coatings: Raw materials and their usage*. London: Chapman Hall, 1993, r. 34, č. 4. ISBN 0-412-55210-8.
- [65] MALSHE, V.C. a G. WAGHOO. Weathering characteristics of epoxy-ester paints. *Progress in Organic Coatings*. 2006, r. 56, č. 2–3, s. 131–134. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2006.02.010.

- [66] MÜLLER, B. a S. FISCHER. Epoxy ester resins as corrosion inhibitors for aluminium and zinc pigments. *Corrosion Science*. 2006, r. 48, č. 9, s. 2406–2416. DOI: 10.1016/j.corsci.2005.10.002.
- [67] MLEZIVA, J. a J. ŠŇUPÁREK. *Polymery - výroba, struktura, vlastnosti a použití*. Praha, Sobotáles, 2000. ISBN: 80-85920-72-7.
- [68] NASERI, M. G. et al. Synthesis and characterization of zinc ferrite nanoparticles by a thermal treatment method. *Solid State Communications*. 2011, r. 151, č. 14–15, s. 1031–1035. DOI: 10.1016/j.ssc.2011.04.018.
- [69] PAK, J. J. et al. Synthesis of nanocrystalline Fe–W composite through hydrogen reduction of thermally synthesized iron tungstate, Fe_2WO_6 . *Journal of Alloys and Compounds*. 2009, r. 477, č. 1–2, s. 357–363. DOI: 10.1016/j.jallcom.2008.09.163.
- [70] OUDGHIRI-HASSANI, H. Synthesis, characterization and catalytic performance of iron molybdate $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ nanoparticles. *Catalysis Communications*. 2015, r. 60, s. 19–22. DOI: 10.1016/j.catcom.2014.11.019.
- [71] YASHIMA, M. a R. ALI. Structural phase transition and octahedral tilting in the calcium titanate perovskite CaTiO_3 . *Solid State Ionics*. 2009, r. 180, č. 2–3, s. 120–126. DOI: 10.1016/j.ssi.2008.11.019.
- [72] ALI, R. a M. YASHIMA. Space group and crystal structure of the Perovskite CaTiO_3 from 296 to 1720K. *Journal of Solid State Chemistry*. 2005, r. 178, č. 9, s. 2867–2872. DOI: 10.1016/j.jssc.2005.06.027.
- [73] HAN, Ch. et al. Enhancement of photocatalytic activity of CaTiO_3 through HNO_3 acidification. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2016, r. 322–323, s. 1–9. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2016.02.012.
- [74] KALINA, L. Analýza a mapování povrchů metodou XPS. In: *Chempoint: Vědci pro průmysl a praxi*. Vysoké učení technické v Brně (Fakulta chemická), 2011. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/analyza-a-mapovani-povrchu-metodou-xps>
- [75] 5. STANOVENÍ POVRCHOVÉ ENERGIE OBALOVÝCH MATERIÁLŮ. Dostupné z: www.utb.cz/file/40897_1_1/
- [76] MRKVIČKOVÁ, S. Povrchové úpravy a lepení polymerů. Prezentace z přednášek, akademický rok 2015/2016.

- [77] MATĚJKA, P. Fotoelektronová spektroskopie ESCA, UPS spektroskopie Augerových elektronů. Dostupné z: <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010359/07-Fotoelektronova-spektroskopie.pdf>
- [78] POLČÁK, J. *Analýza povrchů pevných látek pomocí fotoelektronů - počítačově řízení experimentů*. Brno, dizertační práce, 2010. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=33302
- [79] DENDISOVÁ, M. et al. Ramanova spektrometrie. Úvod - princip Ramanovy spektrometrie. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/RAMAN.pdf>
- [80] REPKA, M. Nové trendy v Ramanově spektrometrii. In: *Chempoint: Vědci pro průmysl a praxi*. Vysoké učení technické v Brně. 2011. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/nove-trendy-v-ramanove-spektrometrii>
- [81] Ramanova Spektroskopie. *Lao, Lasery a Optika*. Dostupné z: <http://www.lao.cz/aplikace-79/mereni-spektralnich-charakteristik-98/ramanova-spektroskopie-216>
- [82] SVOBODA, T. AFM - metoda pro analýzu povrchů ošetřených plazmovým výbojem. In: *Chempoint: Vědci pro průmysl a praxi*. Vysoké učení technické v Brně. 2011. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/afm-metoda-pro-analyzu-povrchu-osetrenych-plazmovym-vybojem>
- [83] JANDA, P. a J. WEBER. Mikroskopie rastrovací sondou: Nové mikroskopické techniky. 1998, r. 77, č. 4, s. 381. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/mikroskopie-rastrovací-sondou>
- [84] PONÍŽIL, P. Nanomateriály a nanotechnologie: Zobrazovací metody v nanotechnologiích. *Ústav fyziky a materiálového inženýrství*. Dostupné z: <http://ufmi.ft.utb.cz/texty/nano/nano4.pdf>
- [85] HUMPOLÍČEK, P. et al. Stem cell differentiation on conducting polyaniline. *RSC Advances*. 2015, r. 5, č. 84, s. 68796–68805. DOI: 10.1039/C5RA12218J
- [86] WYPYCH, G. *Handbook of Polymers*. ChemTec Publishing, Schwitterland, 2012, 680 s. ISBN 978-1-895198-47-8.
- [87] GOLCZAK, S. et al. Comparative XPS surface study of polyaniline thin films. *Solid State Ionics*. 2008, r. 179, č. 39, s. 2234–2239. DOI: 10.1016/j.ssi.2008.08.004.

- [88] FATEIXA, S. et al. Anti-fungal activity of SiO₂/Ag₂S nanocomposites against *Aspergillus niger*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009, r. 74, č. 1, s. 304–308. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2009.07.037
- [89] LUGAUSKAS, A. et al. Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2003, r. 52, č. 4, s. 233–242. DOI: 10.1016/S0964-8305(03)00110-0.
- [90] SAINITYA, R. et al. Scaffolds containing chitosan/carboxymethyl cellulose/mesoporous wollastonite for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015, r. 80, s. 481–488. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.016
- [91] ORTEGA-LARA, W. et al. Antibacterial properties, in vitro bioactivity and cell proliferation of titania–wollastonite composites. *Ceramics International*. 2010, r. 36, č. 2, s. 513–519. DOI: 10.1016/j.ceramint.2009.09.024
- [92] SHEN, W. et al. Divalent silver oxide-diatomite hybrids: Synthesis, characterization and antibacterial activity. *Ceramics International*. 2013, r. 39, č. 5, s. 5013–5024. DOI: 10.1016/j.ceramint.2012.11.099
- [93] ZHANG, N. et al. Metal Fe³⁺ ions assisted synthesis of highly monodisperse Ag/SiO₂ nanohybrids and their antibacterial activity. *Journal of Alloys and Compounds*. 2013, r. 550, s. 209–215. DOI: 10.1016/j.jallcom.2012.09.090
- [94] MA, G. et al. An attractive photocatalytic inorganic antibacterial agent: Preparation and property of graphene/zinc ferrite/polyaniline composites. *Materials Letters*. 2014, r. 131, s. 38–41. DOI: 10.1016/j.matlet.2014.05.145
- [95] ZARE, E. N. et al. Biodegradable polypyrrole/dextrin conductive nanocomposite: Synthesis, characterization, antioxidant and antibacterial activity. *Synthetic Metals*. 2014, r. 187, s. 9–16. DOI: 10.1016/j.synthmet.2013.09.045
- [96] CABUK, M. et al. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of biodegradable conducting polypyrrole-graft-chitosan copolymer. *Applied Surface Science*. 2014, r. 318, s. 168–175. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.02.180
- [97] DHIVYA, C. et al. Antimicrobial activities of nanostructured polyanilines doped with aromatic nitro compounds. *Arabian Journal of Chemistry*. 2015. DOI: 10.1016/j.arabjc.2015.12.005

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

θ	Úhel
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i> CCM 8155
AFM	Mikroskopie atomárních sil
AH	Anilin hydrochlorid
APS	Amonium persulfát
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i> CCM 2010
$(C_6H_5N)_n$	Teoretický vzorec polyanilinu
$CaSiO_3$	Křemičitan vápenatý, wollastonit
$CaTiO_3$	Oxid vápenatotitaničitý, perovskit
Cl	Chlór
Cr^{+6}	Šestimocný chrom
EPS	Extracelulární polymerní látky
ER	Elektromagnetické rušení
$Fe_2(MoO_4)_3$	Molybdenan železitý
Fe_2O_3	Oxid železitý
Fe_2WO_6	Wolframan železitý
$FeSO_4$	Síran železnatý
<i>G. Virens</i>	<i>Gliocladium virens</i> CCM 8042
H	Vodík
H_3PO_4	Kyselina fosforečná
He	Helium
K_2HPO_4	Hydrogenfosforečnan draselný
KCl	Chlorid draselný
<i>l</i>	Vedlejší kvantové číslo
MEBB	Malt Extract Broth Base

MgSO ₄ ·7H ₂ O	Síran hořečnatý heptahdrát
N	Dusík
<i>n</i>	Hlavní kvantové číslo
NaNO ₃	Dusičnan sodný
NH ₃	Amoniak
(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	Peroxodisíran amonný
(NH ₄) ₂ SO ₄	Síran amonný
O	Kyslík
OKP	Objemová koncentrace pigmentu
OWRK	Owens - Wendt - Rabel - Kaelble
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955
<i>P. variotii</i>	<i>Paecilomyces variotii</i> CCM F-398
PANI	Polyanilin
PANI-B	Polyanilinová báze
PANI-PHO	PANI-Báze reprotonovaná kyselinou fosfowolframovou
PANI-S	Polyanilinová sůl
Pb	Olovo
PEDOT	Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)
PPDA	Poly(<i>p</i> -fenylendiamin)
PPY	Polypropylen
Si	Křemík
SiO ₂	Oxid křemičitý, diatomit
<i>T. viride</i>	<i>Trichoderma viride</i> F 486
TiO ₂	Oxid titaničitý
UV	Ultrafialové
V ₂ O ₅	Oxid vanadičný

VP	Vodivé polymery
XPS	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie
Z	Atomové číslo
ZnFe ₂ O ₄	Zinkferit

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Vývojové fáze biofilmu, upraveno dle [11].	17
Obrázek 2. Příklady faktorů ovlivňující adhezi, upraveno dle [19].	20
Obrázek 3. Formy PANI - liší se vodivostí a barevností [20].	22
Obrázek 4. Zobrazení struktury (nalevo) Phenylenediamin para isomer a (napravo) poly(<i>p</i> -phenylenediamin) sůl (a) ireverzibilním procesem deprotonuje na bázi (b) [28].	23
Obrázek 5. Struktura PPY [33]	24
Obrázek 6. Zjednodušené schéma konjugovaného řetězce [23].	25
Obrázek 7. Možnosti modifikaci povrchu, upraveno dle [19].	28
Obrázek 8. Příklady úhlu smáčení a.) dokonalé smáčení, b.) dobré smáčení, c.) dokonalé nesmáčení, d.) Špatné smáčení [76].	40
Obrázek 9. Zobrazení možností interakce elektronů s laserem [81].	41
Obrázek 10. Kontaktního režimu horní obrázek zobrazuje konstantní polohu hrotu (režim a), spodní obrázek zobrazuje konstantní proud (režim b) [84].	43
Obrázek 11. Ukázka povrchově neupraveného (vlevo) pigmentu a povrchově upraveného pigmentu ZnFe ₂ O ₄ polyanilinem fosfátem (vpravo). Obrázky od prof. Ing. Andrey Kalendové, Dr.	50
Obrázek 12. Zobrazení mřížky a ohraničujících čtverců (zelený a červený čtverec) pro určení přerůstání a tvorby biofilmu	59
Obrázek 13 Fotografie polymerních nátěrů po 42 dnech na dvou typech agaru	65
Obrázek 14 Fotografie PANI filmů po 42 dnech na dvou typech agaru	71

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Přehled hodnot vodivosti vybraných vodivých polymerů [23].	21
Tabulka 2. Výhody a nevýhody dvou způsobů polymerace VP [25].	25
Tabulka 3. Složení kompletního agarů	46
Tabulka 4. Složení nekompletního agarů	46
Tabulka 5. Složení masopeptonového agarů	47
Tabulka 6. Složení trypton-sójového bujónu.....	47
Tabulka 7. Souhrnné označení vzorků polymerních nátěrů	48
Tabulka 8. Výsledný počet buněk bakterií	72

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1. Počet publikací (o antibakteriálních a antimykotických povrchích) uvedených ročně v ISI Web of Science databázi ročně v kategorii „ISI materiálová věda: multidisciplinární“ [3].	15
Graf 2. Znázornění hodnot povrchové energie [mJ.m^2] pro polymerní nátěry a PANI-S, PANI-B a PANI-PHO	56
Graf 3. Znázornění vazebné energie pro PANI-S	57
Graf 4. Znázornění vazebné energie pro PANI-B	58
Graf 5. Zobrazuje přerůstání a tvorbu biofilmu směsné kultury plísni na vzorcích na nekompletním agaru po 42 dnech	60
Graf 6. Zobrazuje přerůstání a tvorbu biofilmu směsné kultury plísni na vzorcích na kompletním agaru po 42 dnech	62
Graf 7. Zobrazuje míru přerůstání a tvorby biofilmu v procentech povrchu na nekompletním agaru po 42 dnech	66
Graf 8. Zobrazuje míru přerůstání a tvorby biofilmu v procentech povrchu na kompletním agaru po 42 dnech	68