

Účinky bylinných výtažků v polysacharidových nosičích

Bc. Sára Jakubkovičová

Diplomová práce
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Sára Jakubkovičová**
Osobní číslo: **T21507**
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Účinky bylinných výtažků v polysacharidových nosičích**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část:

V teoretické části zpracujte rešerši věnovanou výtažkům z bylin, které jsou známé svými blahodárnými účinky na pokožku (např. z rodu *Hypericum*, *Calendula*, *Matricaria*).

Věnujte se jejich složení a vlastnostem.

Zaměřte se na možnosti jejich inkorporace do vhodných nosičů.

II. Praktická část:

V praktické části připravte biopolymerní nosiče na bázi polysacharidů modifikujte je prostřednictvím vybraných bylinných výtažků.

Vyhodnoťte vliv inkorporace na vlastnosti připravených systémů.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Sarmiento, B. Neves, J. Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: Delivery, Targeting and Polymer Therapeutics. John Wiley & Sons, Ltd. 2012, ISBN: 978-0-470-97832-0 584.
- [2] Günes, S., Tihminlioglu, F. Hypericum perforatum incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017, 102, 933-943.
- [3] Mutlu, B., Erci, F., Çakir Koç, R. Production of alginate films containing Hypericum perforatum extract as an antibacterial and antioxidant wound dressing material. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 2022, 1.
- [4] Silva, A. R., Taofiq, O. a kol. Hypericum genus cosmeceutical application – A decade comprehensive review on its multifunctional biological properties. *Industrial Crops and Products* 2021, 159, 113053.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Jana Sedlaříková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **1. února 2023**
Termín odevzdání diplomové práce: **12. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehotský, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce se věnuje charakteristice vybraných přírodních polysacharidů, konkrétně jejich chemickému složení, vlastnostem, ale také jejich potenciálu pro přípravu nosných systémů a využití v různých aplikačních oblastech. V závěru teoretické části jsou charakterizovány vybrané léčivé rostliny, které mohou být inkorporovány do těchto přírodních polysacharidů.

Praktická část je zaměřena na přípravu a charakterizaci biopolymerních chitosanových a alginátových filmů obsahujících bylinné výtažky, konkrétně třezalkový olej, měsíčekový olej a měsíčekový extrakt. U těchto filmů byly studovány mechanické, povrchové, strukturní, antibakteriální a antioxidační vlastnosti.

Klíčová slova: alginát, bylinné výtažky, chitosan, mechanické vlastnosti, měsíček, nosný systém, polysacharid.

ABSTRACT

The theoretical part of the thesis is devoted to the characteristics of selected natural polysaccharides, such as their chemical composition, properties, but also their potential for preparation of carrier systems and use in various fields of application. At the end of the theoretical part, selected medicinal plants that can be incorporated into these natural polysaccharides are characterized.

The practical part is focused on the preparation and characterization of biopolymeric chitosan and alginate films containing herbal extracts, specifically *Hypericum perforatum* oil, *Calendula officinalis* oil and *Calendula officinalis* extract. The mechanical, surface, structural, antibacterial and antioxidant properties of these films were studied.

Keywords: alginate, *Calendula officinalis*, carrier system, chitosan, herbal extract, mechanical properties, polysaccharide.

Tímto bych chtěla poděkovat především vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Janě Sedlaříkové, Ph.D za cenné rady, které mi poskytla během psaní práce, ale také za její velkou ochotu, vstřícnost a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat panu Ing. Pavlu Plevovi, Ph.D. a Ing. Lucii Bartošové za jejich pomoc při mikrobiologických zkouškách.

V neposlední řadě chci poděkovat mé rodině a příteli za obrovskou podporu během celého studia.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 PŘÍRODNÍ POLYSACHARIDY	11
1.1 KLASIFIKACE POLYSACHARIDŮ	11
1.2 VYUŽITÍ POLYSACHARIDŮ	12
1.3 CHITOSAN	12
1.3.1 Chemická struktura	13
1.3.2 Výroba.....	13
1.3.3 Vlastnosti.....	14
1.3.4 Formy nosičů na bázi chitosanu.....	15
1.4 ALGINÁT	16
1.4.1 Chemická struktura	17
1.4.2 Výroba.....	17
1.4.3 Vlastnosti.....	17
1.4.4 Formy nosičů na bázi alginátu	18
1.5 CELULÓZA.....	20
1.5.1 Chemická struktura	20
1.5.2 Výroba.....	21
1.5.3 Vlastnosti.....	21
1.5.4 Formy nosičů na bázi celulózy.....	22
2 LÉČIVÉ ROSTLINY.....	24
2.1 TŘEZALKA TEČKOVANÁ	24
2.1.1 Chemické složení	25
2.1.2 Využití.....	26
2.2 MĚSÍČEK LÉKAŘSKÝ.....	26
2.2.1 Chemické složení	27
2.2.2 Využití.....	28
2.3 HEŘMÁNEK PRAVÝ.....	29
2.3.1 Chemické složení	29
2.3.2 Využití.....	30
2.4 ALOE VERA	30
2.4.1 Chemické složení	31
2.4.2 Využití.....	32
3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
4 CÍLE PRÁCE	36
5 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE.....	37

5.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	37
5.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE	37
6	METODIKA	39
6.1	PŘÍPRAVA FILMŮ NA BÁZI CHITOSANU	39
6.2	PŘÍPRAVA FILMŮ NA BÁZI ALGINÁTU SODNÉHO	39
6.3	PŘÍPRAVA FILMŮ S BYLINNÝMI VÝTAŽKY	39
6.4	OPTICKÉ VLASTNOSTI FILMŮ	40
6.5	MECHANICKÉ VLASTNOSTI.....	41
6.6	SMÁČIVOST	41
6.7	OBSAH VLHKOSTI (MC)	42
6.8	ROZPUSTNOST VE VODĚ (S).....	43
6.9	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	43
6.10	ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA.....	44
6.11	FTIR ANALÝZA	44
7	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	45
7.1	VIZUÁLNÍ HODNOCENÍ FILMŮ	45
7.2	OPTICKÉ VLASTNOSTI FILMŮ	47
7.3	TLOUŠŤKA FILMŮ	48
7.4	MECHANICKÉ VLASTNOSTI.....	49
7.5	SMÁČIVOST	53
7.6	OBSAH VLHKOSTI (MC)	57
7.7	ROZPUSTNOST VE VODĚ (S).....	58
7.8	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	59
7.9	ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA.....	61
7.10	FTIR ANALÝZA	63
	ZÁVĚR	68
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	70
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	86
	SEZNAM OBRÁZKŮ	87
	SEZNAM TABULEK.....	89

ÚVOD

Přírodní polysacharidy přitahují v posledních letech značnou pozornost a jsou vnímány jako jedny z nejslibnějších materiálů díky svým vynikajícím vlastnostem, jako je snadná dostupnost, netoxičita, biokompatibilita, biologická odbouratelnost a vysoký potenciál ke strukturální modifikovatelnosti. Vzhledem k tomu nacházejí tyto materiály uplatnění v řadě oblastí jako je biomedicína, farmacie nebo také kosmetika a potravinářství.

Léčivé rostliny se využívají již od starověku k léčbě nemocí nebo také ke zlepšení zdraví a celkové pohody. V současné době jsou také oblíbenou alternativou syntetických léčivých přípravků. Výtažky z těchto rostlin obsahují řadu fytochemikálií prospěšných pro naše zdraví. Některé z nich vykazují např. antimikrobiální, antioxidační, nebo antivirotické účinky, díky nimž mohou být aplikovány v medicíně, např. pro podporu hojení ran, ekzémů, popálenin a při léčbě kožních onemocnění. Také je lze využít v kosmetickém průmyslu, jako součást mýdel, šampónů nebo masek.

Předložená diplomová práce se věnuje problematice biodegradabilních nosičů vhodných pro inkorporaci přírodních aktivních látek na rostlinné bázi. Teoretická část je zaměřena na klasifikaci a využití přírodních polysacharidů, konkrétně na chitosan, alginát a celulózu jako vhodné nosné systémy pro výše zmíněné aplikační oblasti. Dále jsou zde charakterizovány léčivé rostliny, které mohou být inkorporovány do biopolymerních nosičů, za účelem zlepšení jejich funkčních vlastností. Experimentální část diplomové práce je zaměřena na přípravu chitosanových a alginátových filmů, do nichž byly inkorporovány aktivní směsi třezalkového, měsíčkového oleje a měsíčkového extraktu. Výsledné polymerní systémy byly charakterizovány s důrazem na mechanické, povrchové vlastnosti a rozpustnost. V neposlední řadě byl sledován vliv inkorporace aktivní směsi na antibakteriální vlastnosti a antioxidační aktivitu.

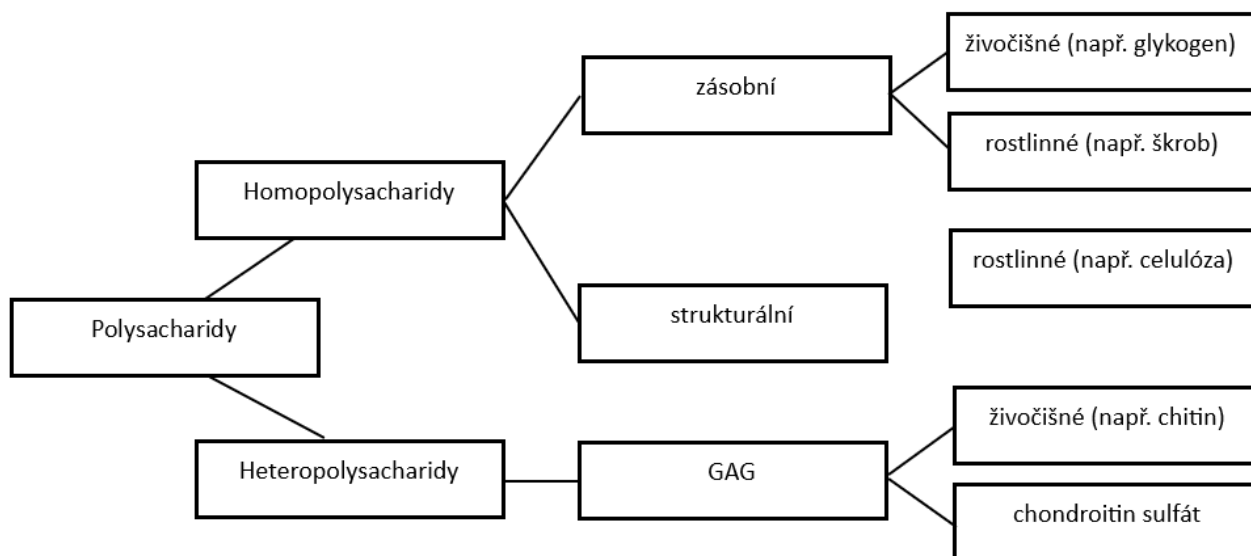
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PŘÍRODNÍ POLYSACHARIDY

Polysacharidy jsou makromolekulární homopolymery nebo kopolymery pocházející z rostlin, zvířat, mikroorganismů a řas. Polysacharidy jsou nejen významnými energetickými zdroji v organismech, ale především slouží jako složka buněčných membrán, která se podílí na jejich životních funkcích. Polysacharidy vykazují různé biologické účinky, jako je například schopnost regulace imunity, protinádorová aktivita, regulace střevní flóry, antioxidační vlastnosti atd. Biologická aktivita polysacharidů úzce souvisí s jejich chemickou strukturou, která obsahuje mnoho funkčních skupin, jako jsou hydroxylové, amino a karboxylové skupiny [1, s. 711-712]

1.1 Klasifikace polysacharidů

Polysacharidy lze klasifikovat podle chemické struktury, tj. podle toho, zda obsažené monosacharidy jsou vázány navzájem glykosidickými vazbami, nebo jsou kovalentně vázány k jiným molekulám, jako jsou peptidy, aminokyseliny a lipidy. Struktury tvořené stejným typem monosacharidových jednotek se nazývají homopolysacharidy, zatímco heteropolysacharidy jsou složeny z různých typů monosacharidů. Významnými zástupci heteropolysacharidů jsou glykosaminoglykany (GAG), jako je heparin, hyaluronan nebo chondroitin sulfát. Polysacharidy lze dále kategorizovat podle typů jejich monosacharidových složek, délek řetězců, způsobu větvení, dále podle náboje, a to na záporně (např. alginát, heparin, kyselina hyaluronová a pektin) a kladně nabitě polysacharidy (např. chitin, chitosan). Mezi běžné neutrální polysacharidy patří např. škrob, celulóza. Podle funkce lze polysacharidy klasifikovat na zásobní, jako je škrob, nebo strukturní, které poskytují fyzikální strukturu a stabilitu, kam patří například celulóza. Polysacharidy lze také klasifikovat podle zdroje na rostlinné (celulóza, škrob, pektin), živočišné (glykogen, kyselina hyaluronová, heparin), pocházející z řas (alginát, karagenan, spirulan) a mikrobiální (Obr. 1) [2, s. 2361], [3, s. 2].



Obrázek 1 Klasifikace polysacharidů [upraveno dle 2, s. 2361]

1.2 Využití polysacharidů

Polysacharidy nacházejí široké uplatnění v mnoha oblastech průmyslu, a to zejména díky nízkým zpracovatelským nákladům, biokompatibilitě, biologické rozložitelnosti, netoxicitě a rozpustnosti ve vodě. Výhodou je také strukturní variabilita polysacharidů a snadná modifikovatelnost molekul prostřednictvím procesů, jako jsou sulfatace, fosforylace a karboxymethylace. Uvedené vlastnosti činí tyto biomateriály velmi atraktivní pro biomedicínské a farmaceutické aplikace. Polysacharidy lze využít jako perspektivní alternativy syntetických a biologicky neodbouratelných polymerů pro výrobu nosičů pro dodávání léčiv a jiných aktivních látek [3, s. 2], [4, s. 711].

Polysacharidové polymery běžně používané pro přípravu nosných systémů zahrnují celulózu, chitosan, škrob, alginát, kyselinu hyaluronovou, pullulan, gaurovou gumu, xanthanovou gumu a glykosaminoglykany. Co se týká forem, patří v současné době mezi nejpoužívanější typy nosiče na bázi nanočástic, kapslí, hydrogelů a vezikul [5, s. 2]. V dalších kapitolách budou blíže charakterizovány vybrané polysacharidy, zejména s ohledem na typy využití v experimentální části diplomové práce.

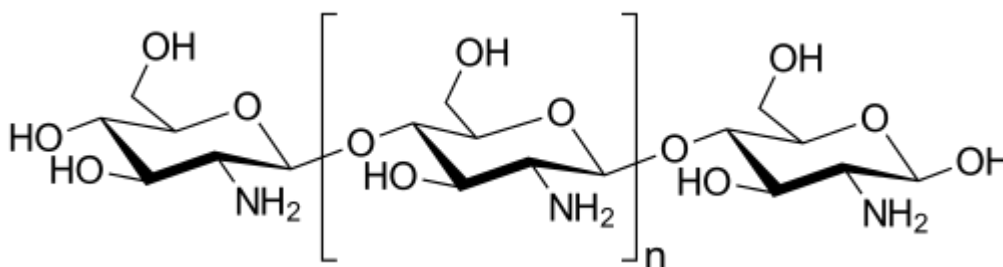
1.3 Chitosan

Chitosan je lineární kationický polysacharid nacházející se v exoskeletech korýšů a hmyzu, který je po celulóze druhým nejrozšířenějším biopolymerem na Zemi [6, s. 2], [7, s. 7]. Díky svým jedinečným vlastnostem, jako je biodegradabilita, biokompatibilita, biologická aktivita a schopnost tvořit komplexy s anionickými polyelektrolyty, je chitosan široce

využíván v potravinářském a kosmetickém průmyslu, stejně jako v biomedicíně, v oblasti tkáňového inženýrství a farmaceutickém průmyslu.

1.3.1 Chemická struktura

Molekula chitosanu se skládá z N-acetyl-D-glukosaminových jednotek spojených β -(1,4)-glykosidovými vazbami (Obr. 2). Chitosan má velké množství aktivních skupin a nachází se ve třech různých krystalových modifikacích α -, β - a γ -. Krystalová struktura, aktivní skupina, stupeň deacetylace a molekulová hmotnost jsou klíčové faktory ovlivňující fyzikálně-chemické vlastnosti chitosanu [8, s. 1], [9, s. 2].



Obrázek 2 Chemická struktura chitosanu [8, s. 2]

1.3.2 Výroba

Chitosan se komerčně vyrábí z chitinu za alkalických podmínek úplnou nebo částečnou deacetylací. Každý rok se přirozeně vyrobí asi 10^{10} – 10^{12} tun chitinu, což z tohoto biopolymeru činí levný a snadno dostupný zdroj pro výrobu chitosanu. Zároveň vzniká ročně velké množství odpadů spojených s průmyslem zpracování mořských plodů, jejichž likvidace představuje zásadní problém mnoha zpracovatelských závodů. Řešením může být právě výroba chitosanu, která vede ke zvýšení environmentální udržitelnosti. Získaný produkt je navíc rozložitelný a netoxický, takže je obecně šetrný k životnímu prostředí [10, s. 3].

Charakteristický tradiční výrobní proces chitosanu, využívající jako surovinu exoskelety korýšů, obvykle zahrnuje tři základní fáze: deproteinizaci, demineralizaci a deacetylaci, zatímco proces průmyslové výroby zahrnuje před deacetylací ještě čtvrtý krok odbarvení (bělení), za účelem odstranění pigmentů a barevných složek [11, s. 1].

1.3.3 Vlastnosti

Vlastnosti chitosanu jsou významně ovlivněny stupněm deacetylce, který se pohybuje nejčastěji v rozmezí 60 až 100 %, přičemž čistý 100 %ně deacetylovaný produkt se přirozeně nevyskytuje. Stupeň deacetylce komerčně dostupného chitosanu a molekulová hmotnost závisí na surovinách a výrobním procesu. Stupeň deacetylce chitosanu mimo jiné určuje jeho rozpustnost, krystalinitu, úroveň biodegradace atd.

Chitosan je nerozpustný ve vodě, alkalických roztocích, zředěné kyselině sírové, zředěných roztocích kyseliny fosforečné ani ve většině organických roztoků. Je rozpustný v některých roztocích anorganických kyselin (např. zředěná kyselina chlorovodíková a kyselina dusičná) a ve většině roztoků organických kyselin. Kromě stupně deacetylce má na rozpustnost chitosanu vliv i molární hmotnost, typ rozpouštědla, iontová síla a teplota.

Mezi výhodné charakteristiky chitosanu se řadí:

- Biokompatibilita: chitosan je obzvláště atraktivním kandidátem pro hemostatické obvazy a materiály pro tkáňové inženýrství, protože je téměř imunogenní pro lidské tkáně a buňky, a nezpůsobuje alergické reakce po implantaci do živých organismů.
- Biodegradabilita: chitosan je snadno biologicky odbouratelný a absorbovatelný ve fyziologickém prostředí, jelikož má tendenci k hydrolýze na glukosaminy, které mohou být absorbovány tělem nebo vyloučeny metabolickými procesy, aniž by se hromadily v těle.
- Antibakteriální vlastnosti: aminoskupiny na glukosaminu mají významné antibakteriální vlastnosti a bakteriostatická aktivita chitosanu je obvykle ovlivněna různými faktory včetně molekulové hmotnosti, stupně deacetylce, a případnými chemickými modifikacemi struktury biopolymeru.
- Hemostáza: chitosan vykazuje v neutrálním a kyselém prostředí kladný náboj, díky čemuž je schopen se navázat prostřednictvím elektrostatických interakcí na negativně nabitě membrány červených krvinek, což podporuje jejich koagulaci a zvyšuje adhezi krevních destiček pro dosažení hemostázy.
- Podpora hojení ran: chitosan je schopen efektivně uvolňovat N-acetyl- β -D-aminoglukózu a spustit tak proliferaci fibroblastů. Monomery chitosanu mohou také urychlit řádné ukládání kolagenu a stimulovat zvýšení přirozené syntézy kyseliny hyaluronové v místě rány [12, s. 2].

1.3.4 Formy nosičů na bázi chitosanu

Chitosan může být zpracován do různých aplikačních forem, jako jsou filmy, membrány, hydrogely nebo částice [13, s. 2].

Hydrogely

Hydrogely jsou polymerní zesíťované materiály, které díky své nerozpustnosti ve vodě mohou absorbovat z vnějšího prostředí velké množství kapaliny a jsou široce využívány ve farmaceutickém průmyslu. Podle způsobu jejich přípravy je lze rozdělit na chemicky a fyzikálně zesíťované hydrogely. Chitosanové hydrogely mohou být díky jejich biokompatibilitě, biologické rozložitelnosti a významné enkapsulační účinnosti použity jako nosiče pro podávání léků, které jsou následně uvolňovány na požadované místo určení [14, s.1], [15, s. 1].

Filmy

Filmy na bázi chitosanu, které se běžně připravují metodou odlévání a následným sušením při mírných teplotách, mohou být udržitelnou ekologicky příznivější alternativou k systémům na bázi syntetických polymerů. Za účelem snížení tuhosti a zlepšení mechanických vlastností chitosanových filmů se přidávají změkčovadla, které zajišťují snížení třecích sil mezi polymerními řetězci. Filmy lze také modifikovat prostřednictvím různých antioxidačních nebo antimikrobiálních látek a následně je využít jako aktivní obaly potravin [16, s. 1], [17, s. 312].

Částice

Částice na bázi chitosanu mají typicky kladný povrchový náboj a mukoadhezivní vlastnosti, tudíž mohou přilnout na povrch sliznice. Díky tomu jsou využívány jako biokompatibilní systémy pro dodávání léčiv. Částice na bázi chitosanu lze aplikovat jako nosiče léků pro léčbu rakoviny, gastrointestinálních a plicních onemocnění, nebo očních infekcí [18, s. 1].

Nanovláknenné membrány

Nanovláknenné membrány jsou díky svým atraktivním vlastnostem žádaným materiálem v biomedicínských aplikacích, a to například jako obvazy na rány. Díky svému vysokému specifickému povrchu a porozitě mohou adsorbovat exsudáty z rány, malé póry jsou navíc odolné proti průniku mikroorganismů. Nanovláknenné membrány vykazují strukturální podobnost s extracelulární matrix, což je výhodné pro buněčnou adhezi, proliferaci a diferenciaci [19, s. 492].

3D scaffoldy

3D tisk je rychle se rozvíjející technologie, která zahrnuje postupné nanášení tenkých vrstev stejných nebo různých materiálů pomocí automatizovaného procesu, což vede k vytvoření kompletního trojrozměrného objektu. 3D technologie využívá počítačová data, jako je počítačově podporovaný design (CAD), počítačovou tomografii a zobrazování magnetickou rezonancí ke konstrukci 3D strukturálních objektů. Významné uplatnění tato technologie nachází zejména v regenerativní medicíně, konkrétně v kostním tkáňovém inženýrství [20, s. 1926-1928].

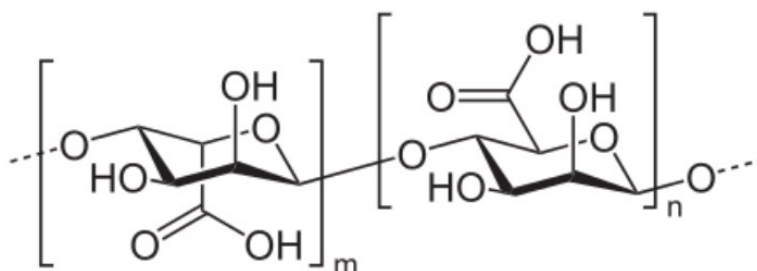
1.4 Alginát

Alginát je přírodní anionický polysacharid, který se přirozeně vyskytuje v buněčné stěně řas a bakteriálních pouzdrech *Azotobacter* sp. a *Pseudomonas* sp. Přítomnost alginátu v buněčných stěnách hnědých řas jim poskytuje pružnost, pevnost a chrání je před možným poškozením, když jsou řasy vystaveny silným proudům mořské vody. V případě bakterií má alginát ochrannou funkci, napomáhá tvorbě biofilmu a podporuje bakteriální adhezi a kolonizaci. Vzhledem ke schopnosti alginátu tvořit hydrogel je tento polysacharid významně využíván jako stabilizátor, zahušřovadlo, gelační činidlo a emulgátor. Větší produkce alginátu byla zaznamenána po udělení patentu ve 30. letech 20. století, a to z hnědých řas (*Phaeophyceae* sp.), jako jsou *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* a *Macrocystis pyrifera* [21, s. 281].

Alginát je obecně uznáván jako bezpečný, je netoxický, neantigenní, uspokojivě biokompatibilní a dostatečně biologicky odbouratelný. Díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem se alginát používá pro širokou škálu technických aplikací, jako potahový materiál v textilním průmyslu nebo jako dezintegrační činidlo pro tablety. Alginát se také běžně vyskytuje v kosmetickém, farmaceutickém, lékařském a potravinářském průmyslu jako zahušřovadlo a stabilizátor [22, s. 1].

1.4.1 Chemická struktura

Chemická struktura alginátu (Obr. 3) je tvořena 1,4-vázanými zbytky kyseliny β -D-manuronové (M) a 1,4 α -L-guluronové (G), které jsou uspořádány do nepravidelných bloků v různých poměrech GG, MG a MM. Složení a sekvence zbytků G a M závisí na typu přírodních zdrojů použitých k extrakci alginátu. Algináty s vysokým obsahem G jednotek tvoří tužší hydrogel, zatímco algináty s vysokým obsahem M bloků tvoří hydrogel měkčí a elastický [21, s. 281], [23, s. 33], [24, s. 453].



Obrázek 3 Chemická struktura alginátu [26, s. 16]

1.4.2 Výroba

Prvním krokem při výrobě alginátu je iontová výměna s protony, ošetřením rozemleté řasové tkáně 0,1–0,2 M minerální kyselinou. Ve druhém kroku se kyselina alginová převede do roztoku neutralizací alkálií, jako je uhličitan sodný nebo hydroxid sodný, za vzniku ve vodě rozpustného alginátu sodného. V další fázi probíhají separační postupy, jako je prosévání, flotace, centrifugace a filtrace k odstranění částic řas. Následně se rozpustný alginát sodný vysráží přímo alkoholem, chloridem vápenatým nebo minerální kyselinou, a nakonec se suší a mele. Kromě alginátu sodného se vyrábějí další rozpustné algináty, jako jsou draselné a amonné [26, s. 808].

1.4.3 Vlastnosti

Molekulová hmotnost alginátu se obecně pohybuje v rozmezí 32000 – 400000 g/mol, v závislosti na jeho zdrojích, druhu nebo extrakčním procesu. Molekulová hmotnost alginátu může významně ovlivnit jeho gelační vlastnosti, včetně botnání, smršťování, mechanickou tuhost a schopnosti odolávat interferenci monovalentních kationtů. Alginát může ztratit část své biologické aktivity, pokud se molekulová hmotnost sníží, což odpovídajícím způsobem ovlivňuje jeho funkčních vlastnosti. Alginát s vyšší molekulovou hmotností vždy vykazuje

vyšší rychlost gelovatění, výrazně zvýšenou pevnost gelu a lomu a zvýšenou elasticitu a viskozitu ve srovnání s alginátem s nižší molekulovou hmotností [27, s. 3], [28, s. 579], [29, s. 76].

Alginát je rozpustný ve vodě, ale nerozpustný v organických rozpouštědlech. Při rozpouštění alginátu ve vodě se vytváří viskózní sol, jehož objem může po absorpci vody nabobtnat až 10krát. Viskozita roztoku alginátu je ovlivněna především koncentrací a stupněm polymerace [30, s. 620-621].

Rozpustnost alginátu je ovlivněna především čtyřmi parametry:

- distribuce G a M bloků: alginát s vysokým obsahem G jednotek vykazuje obecně vyšší rozpustnost než typ s vyšším obsahem M.
- pH rozpouštědla: alginát je rozpustný v určité oblasti pH, v níž dochází k deprotonizaci skupin karboxylových kyselin.
- iontová síla: rozpustnost alginátu se obecně zvyšuje se zvyšující se iontovou silou systému, která může vést ke smrštění molekulárních řetězců účinkem elektrostatického stínění a následně snížit i viskozitu systému.
- přítomnost vícemocných iontů, jako jsou Ca^{2+} , Ba^{2+} a Sr^{2+} , které mohou způsobit tvorbu gelu. Proto je nutné volit rozpouštědlo bez těchto iontů [28, s. 579], [31, s. 3281].

1.4.4 Formy nosičů na bázi alginátu

V posledních letech byl zaznamenán vývoj různých typů nosných systémů na bázi alginátu, jako jsou nanočástice a mikročástice, kuličky, hydrogely, tablety a filmy [32, s. 4].

Za účelem zlepšení fyzikálních vlastností se alginát často kombinuje s dalšími složkami za vzniku alginátových kompozitů. Tyto mohou vznikat přidáním vhodného přírodního polymeru, jako je kolagen, chitosan a želatina, případně syntetického polymeru, jako je polylaktid a polypyrrol, a také anorganických sloučenin, jako je tetraethylorthosilikát a hydroxyapatit. Byly také studovány možnosti využití jiných typů materiálů, například keramiky, bioskla, anorganických nanočástic a anorganických materiálů na bázi uhlíku. Nosné systémy na bázi alginátu, resp. alginátových kompozitů lze připravit v různých formách v závislosti na specifických požadavcích každé biomedicínské aplikace [33, s. 282-289].

Vlákna

Alginátová vlákna připravená z mořských řas vykazují vysokou hygroskopičnost, vysokou propustnost pro kyslík, dobrou biologickou odbouratelnost a biokompatibilitu a jsou proto široce používána v medicíně (obvazy) a dalších oborech. Obvykle se alginátová vlákna připravují metodou mokrého spřádání, kdy se alginát rozpustí ve vodě a připraví se zvlákňovací roztok o určité koncentraci, který se následně protlačí zvlákňovací tryskou do vhodné koagulační lázně (obvykle roztok CaCl_2), čímž se vytvoří nerozpustná alginátová vlákna.

Alginátová nanovlákna lze získat přímo elektrostatickým zvlákňováním. Výsledné materiály vykazují vysoký specifický povrch a velkou pórovitost, tj. podobné vlastnosti jako extracelulární matrix, což je prospěšné pro podporu proliferace epiteliálních buněk a tvorbu nových tkání. Velikost a charakter nanovláknenných membrán může podporovat hemostázu poškozených tkání, zvyšovat absorpci tekutin, podporovat dodávání léků, buněčné dýchání a vysokou penetraci plynů, a tím předcházet bakteriálním infekcím [34, s. 11].

Perličky

Alginátové perličky lze vyrobit vytlačováním kapky roztoku alginátu do síťovací lázně, a to buď pomocí injekčního vstřikování nebo mikrofluidního systému. V biomedicínských aplikacích se alginátové kuličky většinou používají jako imobilizační médium pro buňky a léčiva, případně je lze využít jako scaffoldy pro regeneraci tkání. Alginát lze modifikovat prostřednictvím inkorporace různých anorganických složek, jako je nano-hydroxylapatit nebo biosklo, přičemž výsledné kompozitní systémy lze využít pro stimulaci buněk osteoblastů, které vytvářejí nanokompozitní strukturu kosti sekrecí kolagenových fibril, na kterých se následně tvoří nové krystaly apatitu [33, s. 282-289].

Hydrogely

Hydrogely na bázi alginátu představují ideální materiály pro krytí ran, které jsou biologicky odbouratelné, vykazují optimální vlastnosti pro prostup vlhkosti, absorpce exsudátu atd. Hydrogel má vysoce zesíťovanou hydrofilní polymerní síť, která botná v přítomnosti vody. Tyto systémy lze kombinovat se syntetickými a přírodními složkami. Alginátové hydrogely se často používají pro urychlení hojení specifických chronických, nekrotických, tlakových a popáleninových ran [35, s. 6].

3D scaffoldy

Biotisk umožňuje přesné nanášení buněk a složek biomateriálu z předem definovaného počítačem generovaného návrhu. Současné technologie biotisku jsou založeny buď na extruzi, kapkovém biotisku (také známém jako inkoustový biotisk), nebo na laserovém mechanismu. Alginátový polymer lze díky jeho biokompatibilitě využít jako složku bioinkoustu [33, s. 282-289].

Filmy

Filmy na bázi alginátu lze získat různými technikami, jako například rozpuštěním alginátu v rozpouštědle s následným odléváním roztoku a odpařováním, nebo také procesem lyofilizace. Metodou odlévání z roztoku lze připravit filmy, které mají optimální hladkost, tloušťku, průhlednost a hodnoty propustnosti světla atd. Tyto filmy nacházejí uplatnění například v medicíně jako obvazy na rány [36, s. 1685].

1.5 Celulóza

Celulóza je nejhojnější biopolymerní sloučenina na světě, která se vyskytuje ve stromech, bavlně, bambusu a dalších rostlinách. Díky bohatým zdrojům, snadné výrobě a minimální environmentální zátěži nachází celulóza rozsáhlé uplatnění v různých průmyslových oblastech, od historicky vyráběného papíru po současnou nanoelektroniku [37, s. 177].

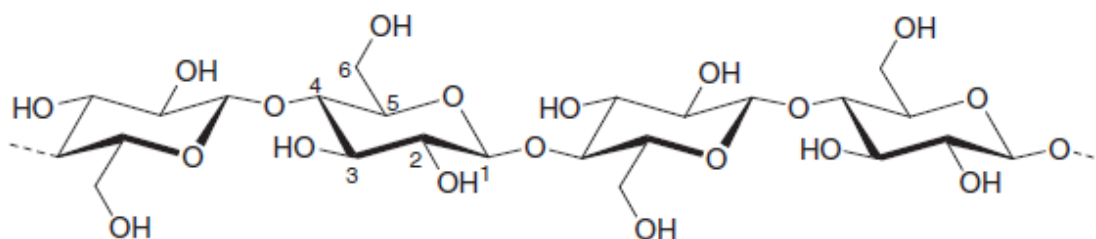
Zdrojem primární celulózy jsou rostliny pro tento účel specificky pěstované, jako je například bavlna pěstovaná na výrobu textilních vláken. Sekundární celulóza pochází z vedlejších produktů pěstování plodin, jako jsou sláma a listy ponechané na poli po sklizni. Terciární celulóza se získává z odpadních zdrojů z odvětví zahrnující stavebnictví, textilní výrobu, čištění odpadních vod a průmyslové zpracování zemědělských produktů, jako je vaření piva, extrakce lipidů z olejnatých plodin a extrakce cukru z cukrových plodin [38, s. 1].

1.5.1 Chemická struktura

Celulóza se skládá z jednotek β -D-glukopyranózy spojených β -1,4 glykosidickými vazbami (Obr. 4). Jedná se o vysoce funkční řetězový polymer, který je přirozeně hydrofilní, nerozpustný ve vodě a většině organických rozpouštědel, chirální a biologicky odbouratelný. Z těchto důvodů má celulóza velký potenciál pro strukturní modifikace. Délka celulóзовého řetězce souvisí s počtem složek anhydroglukózových jednotek (AGU). Molekula celulózy

je složena z krystalických a amorfních částí, kromě toho obsahuje velký počet hydroxylových ($-OH$) skupin (tři na jednotku AGU), které zajišťují intenzivní reciprocitu mezi přilehlými jednotkami, což vede k omezené rozpustnosti molekuly. β -vazba má za následek otočení osy celulózo­vého řetězce o 180° u každé glukó­zové jednotky [39, s. 3], [40, s. 2].

Celulóza může existovat v různých krystalických formách, tj. celulóza I, II, III_I, III_{II}, IV_I a IV_{II}. Celulóza I zahrnuje dva různé alomorfy, I α s triklinickou krystalovou soustavou, se kterou se obvykle setkáváme u bakteriálních a řasových celuló­z, a I β s monoklinickou krystalovou soustavou, obklopující dva paralelní řetězce běžně se vyskytující v rostlinné celulóze [41, s. 3].



Obrázek 4 Chemická struktura celulózy [40, s. 2]

1.5.2 Výroba

V současné době existuje mnoho metod separace celulózy podle druhů rozpouštědel, zejména: iontové kapaliny a hluboce eutektická rozpouštědla pro rozložení celulózy přímo bez vedlejších produktů; organická rozpouštědla kombinovaná s jinými fázemi, jmenovitě dvoufázové systémy rozpouštědel také frakcionace celulózy/organického rozpouštědla na bázi celulózy nebo vaření s aktivním kyslíkem a pevnou zásadou využívající vodu jako rozpouštědlo. Kromě toho existují další metody, jako je parní exploze, zpracování organosolvů, sulfátové rozvlákňování a sulfitové rozvlákňování, které jsou také běžné pro separaci celulózy [42, s. 1-10].

1.5.3 Vlastnosti

Celulóza je nerozpustná ve vodě a většině běžných rozpouštědel; špatná rozpustnost je způsobena především silnými intramolekulárními a intermolekulárními vodíkovými vazbami mezi jednotlivými řetězci. Celulóza je hygroskopický materiál schopný bobtnat ve

vodě, zředěných kyselinách a většinou rozpouštědel. Rozpustnosti lze dosáhnout v koncentrovaných kyselinách, ale za cenu značné degradace glykosidickou hydrolyzou. Chemické reakce celulózy jsou řízeny její polymorfní povahou. Méně uspořádané amorfnní oblasti jsou reaktivnější než uspořádané krystalické oblasti, počáteční chemická reakce probíhá na méně uspořádaném povrchu fibril.

Při vyšší teplotě (>150 °C) celulóza podléhá hydrolyze v zásaditém prostředí a může také nastat oxidace. Mikrobiální degradace probíhá enzymatickým hydrolytickým štěpením β -1,4 glykosidické vazby. Substituované ethery celulózy jsou tomuto působení méně náchylné a jejich relativní stabilita může být podstatně vyšší. Amorfnní celulóza je citlivější k enzymatické hydrolyze než vysoce krystalická celulóza [43, s. 760], [44, s. 151].

1.5.4 Formy nosičů na bázi celulózy

Celulózové nosiče mohou být zpracovány do formy hydrogelů, nanočástic, membrán nebo například filmů.

Hydrogely

V posledních letech je celulóza a její deriváty široce využívána pro syntézu hydrogelů, což zejména pro potravinářský průmysl představuje jednoduchou, atraktivní, a navíc ekologicky příznivou inovativní možnost pro enkapsulaci a transport bioaktivních sloučenin, které jsou tak chráněny před vlivy vnějšího prostředí. Hydrogely na bázi celulózy mohou být využity jako indikátory čerstvosti, které detekují změny pH, chemickou degradaci a mikrobiální růst na základě produkce metabolitů v potravine. Kromě toho jsou hydrogely na bázi celulózy hojně aplikovány do obalů potravin, které zvyšují trvanlivost a kvalitu potravinářských výrobků [45, s. 1].

Nanočástice

Sušení rozprašováním v homogenních nebo oxidovaných roztocích celulózy může být jeden ze způsobů, jak připravit nanočástice na bázi celulózy. Tyto nanočástice mohou být použity jako pevný a zároveň flexibilní obal mikrokapslí, které slouží jako nosiče špatně rozpustných léčiv a/nebo chrání molekuly citlivé na kyslík během skladování.

Filmy

Filmy na bázi celulózy lze získat běžnou filtrací nebo odléváním celulózové suspenze do příslušné formy. Kromě toho lze filmy na bázi celulózy s vyšší porozitou získat také

elektrostatickým zvlákňováním polymerního roztoku, a připravit tak systémy s vysokou enkapsulační účinností a efektem pomalého uvolňování. Tyto filmy nachází uplatnění jako nosiče léčiv ve farmacii [42, s. 1-10].

2 LÉČIVÉ ROSTLINY

Používání léčivých rostlin, bylin a koření má v řadě zemí dlouhou tradici, kdy se využívaly jako léčivé přípravky, ke zlepšení zdraví a pohody, jako koření při vaření, vonné látky nebo aktivní složky kosmetiky. I v současné době je bylinná medicína významnou součástí každodenního života, považovaná za sofistikovanou a racionální metodu pro podpůrnou léčbu nejrůznějších onemocnění, představující slibnou alternativu k syntetickým léčivým přípravkům [46, s. 13], [47, s. 9-69].

2.1 Třezalka tečkovaná

Třezalka tečkovaná (Obr. 5), lat. *Hypericum perforatum*, z čeledi Hypericaceae, roste volně v mnoha zemích, a to nejen v Evropě, ale také západní Asii, severní Africe, na Madeiře a Azorských ostrovech. Mimo to zdomácněla v dalších částech světa, jako například v Severní Americe a Austrálii. Jedná se o cennou rostlinu s širokým spektrem terapeutických účinků, jako jsou protizánětlivé, antimikrobiální, antioxidační, která se již řadu let používá v tradiční medicíně.

V posledních letech se spotřeba produktů získaných z třezalky dramaticky zvýšila a v současnosti je to jedna z nejvíce konzumovaných léčivých rostlin na světě. Rostlina má širokou škálu léčebných aplikací, využívá se pro hojení ran, ekzémů, popálenin, léčbu onemocnění trávicího traktu a psychických poruch [47, s. 9-69], [48, s. 512-516].



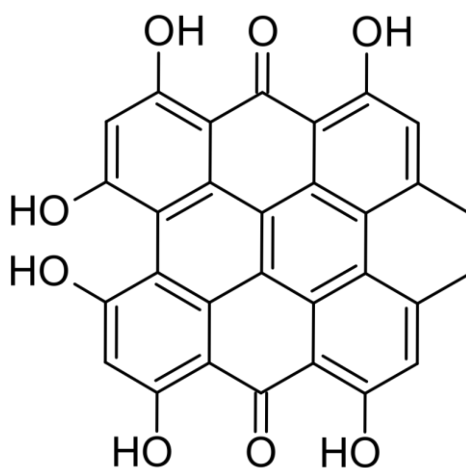
Obrázek 5 Třezalka tečkovaná [49]

2.1.1 Chemické složení

Za výše zmíněné účinky jsou odpovědné složky nacházející se ve struktuře rostliny. Bylo zjištěno, že hyperforin, jedna z hlavních komponent třezalky, vykazuje antibakteriální aktivitu proti methicilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Streptococcus agalactiae* B a *S. pyogenes* A. Další významně zastoupená složka, hypericin, vykazuje inhibiční účinek proti penicilin i methicilin-rezistentnímu *S. aureus* a *S. epidermidis*. Kromě těchto sloučenin se předpokládá, že fenylypropanoidy a fenolové sloučeniny v třezalce jsou účinné při hojení ran tím, že vykazují protizánětlivé a antioxidační účinky [50, s. 129-134].

Hydroalkoholové extrakty nadzemních částí rostliny obsahují spektrum šesti hlavních skupin přírodních produktů, a to naftodianthrony, floriglucinoly, flavonoidy, biflavony, fenylypropany a proanthokyanidiny.

Hlavními složkami první skupiny sloučenin jsou hypericiny (Obr. 6), které patří mezi nejzajímavější sloučeniny v třezalce, jimž je připisováno mnoho farmakologických účinků. Hypericin a pseudohypericin specificky inhibují proteinkinázu C a vykazují antiproliferativní aktivitu proti savčím buňkám. Hypericin je hlavní fotosenzibilizující složka třezalky (způsobující hypericismus) a byl navržen jako fotosenzibilizátor pro fotodynamickou terapii rakoviny. Pseudohypericin nevykazuje žádnou fototoxicitu [48, s. 512-516].



Obrázek 6 Chemická struktura hypericinu [51]

Flavonoidy tvoří hlavní skupinu biologicky aktivních látek třezalky (2-4 %). Dosud identifikované flavonolové aglykony zahrnují kaempferol, luteolin, myricetin a kvercetin. Mezi glykosidy v třezalce obvykle dominuje hyperosid (hyperin) a rutin následovaný

kvercitrinem a isoquercitrinem. Flavonolové glykosidy také vykazují spasmolytickou aktivitu, jsou schopny inhibovat monoaminoxidázu A, což je enzym odpovědný za katabolismus biogenních aminů, a katechol-O-methyltransferázu. Třezalka obsahuje také rutin, který je zodpovědný za antidepresivní aktivitu extraktů z této rostliny [48, s. 512-516].

Biflavony jsou vzácnou skupinou dimerních flavonů, přičemž tři biflavony detekované v třezalce jsou 3', 8''-biapigenin, amentoflavon, 6', 8''-diquercetin. Tyto biflavonoidy se vyskytují výhradně v pupenech a květech. Bylo prokázáno, že amentoflavon má protizánětlivé a analgetické účinky a také se dokáže vázat na mozkové benzodiazepinové receptory s afinitou srovnatelnou s diazepamem [52, s. 129-130].

Fenylpropany se vyskytují hlavně jako estery hydroxyskořicových kyselin, jako je kyselina p-kumarová a kyselina kávová. Z dalších kyselin zde byly detekovány: kyseliny chlorogenová, kávová, p-kumarová, ferulová, isoferulová, gentisová a šikimová kyselina [50, s. 129-134].

Další významnou sloučeninou jsou proanthokyanidiny, jejichž celková koncentrace se pohybuje v rozmezí 2-4 % a jsou známy pro své antioxidační, antivirové a antimikrobiální účinky.

Kromě toho je v třezalce přítomno menší množství taninů, xantonů, esenciálních olejů a aminokyselin [48, s. 512-516].

2.1.2 Využití

V tradiční medicíně byla tato rostlina používána při hematemezi, hemoptýze, metroragii, nepravidelné menstruaci, traumatickém krvácení, žloutence, akutní mastitidě, bolesti v krku, infekci močových cest, otocích a bolestech oka, ale také na vředy, popáleniny, revmatickou artritidu, rány a modřiny.

Třezalka je také aplikována při neurologických problémech, zejména při léčbě deprese, úzkosti a nespavosti, ale také ji lze využít při léčbě infekčních a kožních onemocnění. Synergické účinky hypericinu, isoquercitrinu, rutinu, hyperosidu a epikatechinu vyskytujících se v třezalce mají pozitivní vliv na hojení ran [53, s. 1045], [54, s. 378].

2.2 Měsíček lékařský

Měsíček lékařský (Obr. 7), lat. *Calendula officinalis*, je jednoletá aromatická bylina dorůstající do výšky 1,5 m, nesoucí žluté až oranžové květy. Rostlina patří do čeledi

Asteraceae a je hojně pěstována po celém světě. Květ měsíčku se pro své antimikrobiální vlastnosti používá k léčbě zánětů a kožních ran. Rostlina také vykazuje antiseptické, protirakovinné, antibakteriální, protiplísňové, antivirové vlastnosti [55, s. 77].

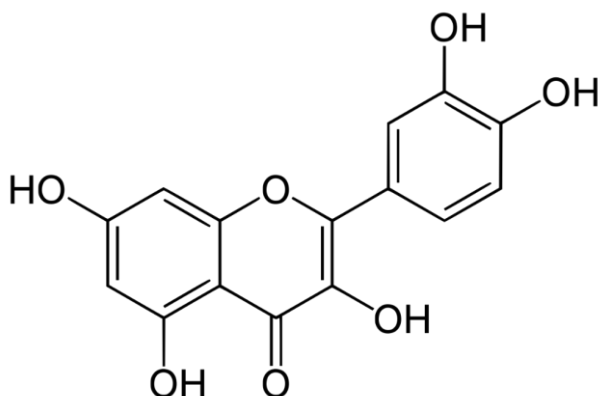


Obrázek 7 Měsíček lékařský [56]

2.2.1 Chemické složení

Z dostupných toxikologických studií vyplývá, že měsíčkové extrakty jsou relativně netoxické, vyvolávají minimální podráždění kůže a žádnou senzibilizaci nebo fototoxicitu. Tyto vlastnosti jsou spojeny s několika třídami sekundárních metabolitů, které jsou přítomny v rostlině, jako jsou alkaloidy, silice, flavonoidy, steroly, karotenoidy, taniny, saponiny, triterpenové alkoholy, polysacharidy, slizy a pryskyřice.

Hlavními fenolickými sloučeninami v měsíčku jsou flavonoidní aglykony, jako je kvercetin (Obr. 8), apigenin a kempferol, a glykosidy, jako je rutin; tyto sloučeniny jsou uznávány pro své antioxidační, analgetické a protizánětlivé vlastnosti. Většina těchto účinků je alespoň částečně způsobena inhibicí intracelulárních signálních drah, které jsou nezbytné pro zánět/hyperalgezi [57, s. 35].



Obrázek 8 Chemická struktura kvercetinu [58]

Měsíček obsahuje vysoký počet karotenoidů, jako je flavoxanthin, lutein, rubixanthin, β -karoten, γ -karoten a lykopen. Je známo, že karotenoidy, které patří do obecné skupiny exogenních neenzymatických bioaktivních složek, jsou považovány za provitamíny, protože mohou být přeměněny na aktivní vitamín A. Mezi karotenoidy je β -karoten nejdůležitější bioaktivní látkou, která může vykazovat synergické účinky s vitamínem E. Lykopen má antioxidační, antimikrobiální a antiproliferativní vlastnosti a lze jej potenciálně využít při léčbě rakoviny prostaty [59, s. 176].

2.2.2 Využití

Tradičně se květ heřmánku používá pro kulinářské účely, dále při výrobě parfémů a jako přírodní barvivo k barvení tkanin, jako je vlna, bavlna, len, konopí a hedvábí. Výtažek z květů se používal jako perorální lék na spalničky a neštovice, zatímco šťáva z květů se využívala při léčbě nevolnosti, žloutenky, pro hojení ran, vředů, kožních onemocnění, potlačení menstruace a horečky, stejně jako k podpoře pocení a k prevenci hnisání. Rostlinný nálev z heřmánku se používal při anémii a mast se aplikovala na opruzeniny, řezné rány, modřiny a popraskané ruce [55, s. 77].

Květ měsíčku bývá v současnosti často součástí produktů péče o pleť, jelikož napomáhá procesu regenerace buněk, hojení ran, snižuje zánět, zklidňuje a zjemňuje pokožku. Lze jej také využít při onemocněních trávicího traktu, gynekologických problémech, očních onemocněních, poraněních kůže a některých popáleninách. Měsíčkový olej se stále používá v lékařství jako protinádorový prostředek a prostředek na hojení ran. V bylinkářství se měsíček v suspenzi nebo v tinktuře používá lokálně k léčbě akné, snížení zánětu, kontrole krvácení a zklidnění podrážděné tkáně. Měsíček působí také jako prostředek na trávení. Nálev nebo tinktura z květů užívaná vnitřně je prospěšná při léčbě kvasinkových infekcí a průjmů. Nálev z měsíčku má také příznivé účinky při léčbě včelího bodnutí, očních zánětů,

vředů a abscesů, křečových žil, ekzémů a jako kloktadlo při vředech v ústech nebo k úlevě od bolesti zubů. Zlepšuje cirkulaci krve a lymfatických tekutin a napomáhá vylučování toxinů z těla [60, s. 184], [61, s. 149].

2.3 Heřmánek pravý

Heřmánek pravý (Obr. 9), lat. *Matricaria chamomilla*, patří do čeledi hvězdnicovitých je jednou z nejrozšířenějších léčivých rostlin. Jedná se o jednoletou bylinu, která roste na všech typech půd a je odolná vůči chladu. Má dlouhou historii použití v přírodní medicíně, která sahá až do starověkého Řecka a Říma. Heřmánek je aplikován v různých komerčně dostupných formách, jako je čaj, nálev nebo kapsle. U heřmánku byla prokázána široká škála farmakologických účinků včetně antimikrobiálních, protizánětlivých, antioxidačních, antispasmodických, antivirových, protikřečových, sedativních a antiseptických vlastností [62, s. 128].

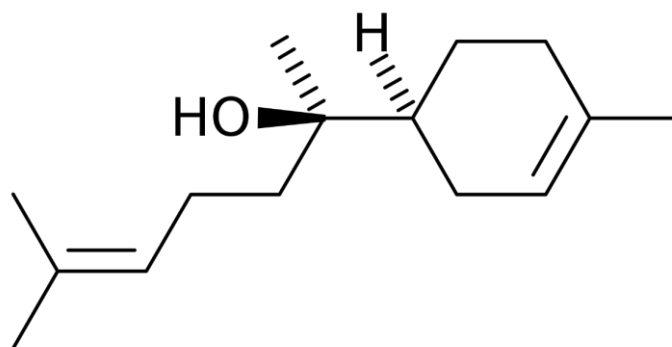


Obrázek 9 Heřmánek pravý [63]

2.3.1 Chemické složení

V heřmánku bylo identifikováno více než 120 složek. Nejvýznamnější skupinou jsou terpenoidy, přičemž nejdůležitějšími sloučeninami jsou bisabolol (Obr. 10) a jeho oxidy A a B, bisabolon oxid A, chamazulen a β -farnesen. Toto složení je ovlivněno několika faktory, jako je geografická oblast a prostředí, kultivary rostliny a genetické faktory. Chemické složení esenciálních olejů závisí i na dalších parametrech souvisejících s technikami sušení, extrakčními metodami a použitím suspenzí jako biohnojiv.

V extraktech z heřmánku dominují fenolické sloučeniny, včetně fenolových kyselin, flavonoidů a kumarinů [64, s. 2-31].



Obrázek 10 Chemická struktura bisabololu [65]

2.3.2 Využití

Heřmánek nachází nejvýznamnější aplikace v lékařství, a to díky antialergickým, antispasmodickým, anxiolytickým, protizánětlivým, antimikrobiálním, neuroprotektivním, antioxidačním, protirakovinným a hepatoprotektivním vlastnostem.

Heřmánkový čaj se také používá v tradiční domácí medicíně k léčbě žaludečních poruch, bolestí těla a ke snížení stresu. Esenciální olej má význam jako terapeutická a aromatická složka koupelových mýdel, šamponů a dalších přípravků pro péči o vlasy. Kromě toho se v potravinářském průmyslu používá výtažek z heřmánku, esenciální olej a suché květy ke zvýraznění chuti a barvy potravinářských produktů [66, s. 1].

Heřmánek lze také použít jako doplňkové krmivo, antimykotikum v zemědělství, povrchově aktivní látku při regeneraci oleji a jako antikoroziční činidlo. Esenciální oleje nebo extrakty z heřmánku lze zapouzdřit do různých nanočástic, například na bázi oxidu křemičitého, stříbra, chitosanu nebo alginátových mikrokapslí. Tato inkorporace umožňuje zlepšit jejich vlastnosti, jako jsou protirakovinné, antiparazitické, katalytické, antibakteriální a antifungální, a také může zlepšit jejich použití jako potravinářských aditiv [64, s. 2-31].

2.4 Aloe vera

Aloe vera (Obr. 11) je tropická a subtropická rostlina, která se po staletí pěstuje pro své léčivé a terapeutické vlastnosti. Patří do čeledi Aloaceae a je nejznámější z rodu Aloe, který má přes 500 druhů a pochází ze severní Afriky. Žlutý latex a čirý gel (sliz) produkovaný

velkými parenchymatickými buňkami v listu jsou dva hlavní zdroje tekutiny v aloe vera. Aloe vera vykazuje řadu biologických vlastností, včetně protizánětlivých, antioxidačních, imunitních, antibakteriálních, antivirových, antifungálních a vlastnosti stimulující růst buněk [67, s. 1574].

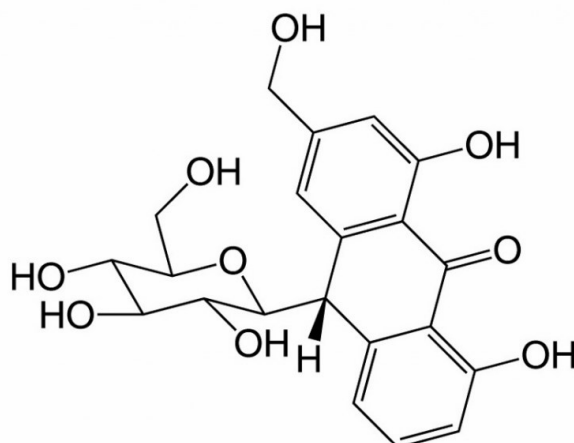


Obrázek 11 Aloe vera [68]

2.4.1 Chemické složení

Aloe vera má vysoký obsah vody v rozmezí od 99 % do 99,5 %. Zbývajících 0,5–1,0 % pevného materiálu, slizu nebo gelu, obsahuje několik stovek potenciálně aktivních sloučenin, včetně vitamínů, minerálů, enzymů, mono- a polysacharidů, fenolových sloučenin, organických kyselin, taninů, sterolů, saponinů, glukomananu, acemannanu, lipidy, cholesterol a kyselinu gamolenovou [69, s. 2].

Hlavními fytochemikáliemi jsou antrachinony, naftalenony, polysacharidy, proteiny, enzymy a organické kyseliny atd. Mezi nimi jsou antrachinony hlavními bioaktivními sloučeninami přítomnými v hořce žlutém latexu listu aloe vera, z nichž nejhojněji je zastoupen aloin A (Obr. 12). Dalšími antrachinony jsou deriváty hydroxyanthracenu, aloe-emodin a emodin. Z polysacharidů jsou nejvíce zastoupené typy glukóza a manóza. Kromě toho jsou v aloe vera také přítomny další bioaktivní fytochemikálie, jako je aloe lektin (protein), chromony (aloesin, umbeliferon a esculetin), celulóza, kataláza a superoxiddismutáza [70, s. 3].



Obrázek 12 Chemická struktura aloinu A [71]

2.4.2 Využití

Aloe vera vykazuje řadu atraktivních léčivých, farmaceutických a funkčních vlastností. Může být součástí potravin, funkční kosmetiky nebo různých typů léků. Anthrachinony obsažené v aloe vera vykazují silné projímavé účinky. Výtažky z aloe s vysokým obsahem těchto látek se používají v tradiční bylinné medicíně nebo doplňcích stravy ke zlepšení funkce střev.

Gel z aloe vera se používá jako aktivní složka v různých oblastech. Patří mezi ně kosmetika (např. mýdla, šampony, kondicionéry, pleťové vody, masky, tónovací krémy, dezinfekční prostředky na ruce, opalovací krémy, odličovače, gely vyživující pokožku, exfoliátory, hydratační krémy, gely na holení, zubní gely, balzámy na rty, deodoranty), funkční aditiva v potravinách (např. produkty pro podporu imunity, sportovní výživové doplňky, sportovní nápoje s elektrolyty), nápoje (např. džusy, čaje, projímavé nápoje, ovocné smoothies, energetické nápoje), zdravotnické přípravky (vitamíny z aloe, veterinární léčiva a léčivé přípravky) a další (čisticí prostředky na podlahy, prostředky na čištění nádobí, pesticidy atd.) [69, s. 2], [72, s. 1000].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Na základě literární rešerše lze konstatovat, že přírodní polymery ve formě nosičů aktivních látek jsou současné době hojně používané a oblíbené systémy, které nacházejí uplatnění v celé řadě praktických aplikací, zejména pak v medicínské oblasti. Rostlinné výtažky nabízejí široké spektrum terapeutických účinků, které lze právě využít v kombinaci s biopolymerními nosiči, například pro procesy hojení ran. Řada bylinných extraktů vykazuje antioxidační účinky, což představuje významný potenciál pro kosmetické aplikace.

Aloui a kol. [73] připravili alginátový film s obsahem glycerolu jako plastifikátoru, do něhož byl inkorporován extrakt z galských ořechů. Přídavek tohoto rostlinného extraktu vedl ke zlepšení mechanických vlastností alginátových filmů, došlo ke snížení jejich propustnosti pro vodní páru a zvýšily se bariérové vlastnosti proti ultrafialovému i viditelnému světlu bez výrazného vlivu na tepelnou stabilitu. Navíc přídavek extraktu z ořechů příznivě podpořil schopnost pohlcovat volné radikály a také byla prokázána významná antibakteriální aktivita proti dvěma nejběžnějším patogenním bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Připravený alginátový kompozitní film tak představuje slibný bioaktivní obalový materiál účinný proti oxidaci lipidů a mikrobiálnímu znehodnocení, což může významně přispět k prodloužení trvanlivosti a zachování bezpečnosti potravin.

Celá řada studií se zabývá využitím přírodních polymerů v oblasti zdravotnictví. Kharat a kol. [74] se ve své studii zabývali přípravou nanovláken na bázi chitosanu a polyethylenoxidu metodou elektrostatického zvláknování, přičemž do polymerní matrice byl inkorporován extrakt z měsíčku lékařského. In vivo studie na potkanech prokázala výjimečný potenciál připravených nanovláknenných systémů pro hojení ran, díky zlepšení syntézy kolagenu, remodelaci tkáně a reepitelizaci v oblasti rány. Navíc inkorporací extraktu z měsíčku lékařského do nanovláken došlo k navýšení jejich antibakteriální aktivity proti *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*.

Genesi a kol. [75] připravili chitosanové filmy s obsahem aloe vera nebo copaiba oleoresinu, případně jejich směsi, které studovali jako potenciální obvazy na rány. Vzorek obsahující směs oleje copaiba a aloe vera prokázal sníženou životaschopnost buněk, což dokazuje význam studia interakcí mezi dvěma bioaktivními látkami. Na druhou stranu obvazy obsahující buď pouze 0,5 % oleje copaiba nebo pouze 0,5 % aloe vera nevykazovaly cytotoxicitu, ale zvýšenou buněčnou proliferaci. Navíc testy buněčné adheze ukázaly, že žádný z filmů neadheroval k fibroblastům, což je výhoda pro obvazy, které je nutno po

aplikaci odstranit, což výrazně snižuje traumatizaci tkáně. *In vivo* testy bylo prováděny na dospělých myších po dobu 14 dní. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u filmu s obsahem oleje copaiba (0,5 %), který vykazoval úplné uzavření rány za jedenáct dní, tj. o dva dny dříve než komerční obvazy a jiné filmy. Chitosanový film obsahující 0,5 % copaiba oleje by proto mohl být vhodným kandidátem pro použití ve formě obvazových materiálů ve zdravotnictví.

Chitosanové filmy s obsahem oleje z třezalky tečkované byly jako potenciální systémy pro hojení ran studovány autory Güneş a kol. [76]. Připravené filmy vykazovaly antimikrobiální aktivitu vůči testovaným mikroorganismům *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Vzhledem k vyšší propustnosti filmů s obsahem 0,25 % a 0,50 % oleje jsou tyto filmy vhodné pro zajištění přiměřené úrovně vlhkosti v oblasti rány. Studované filmy vykazovaly vysokou úroveň botnání, což lze využít u středně až silně exsudujících ran. Kromě toho test biokompatibility na fibroblastových buňkách ukázal, že filmy nejsou cytotoxické. Na základě výsledků autoři konstatovali, že chitosanové filmy s obsahem oleje z třezalky tečkované by mohly být použity jako potenciální obvazový biomateriál pro podporu hojení ran.

Bioaktivní filmy na bázi chitosanu s obsahem citronové trávy byly studovány autory Gaspar a kol. [77], pro potenciální aplikace v produktech pečujících o pleť. Vyšší koncentrace extraktu z citronové trávy zlepšila hydrofobicitu chitosanového filmu, snížila propustnost pro vodní páry a jeho rozpustnost ve vodě, což může mít příznivý účinek pro zajištění hydratace pleti. Film s obsahem 1,5 % citronové trávy také vykazoval významnou schopnost inaktivovat reaktivní intracelulární formy kyslíku. Připravené filmy tedy prokázaly perspektivu pro využití ve formě pleťových masek s antioxidační a antimikrobiální aktivitou, jako prevence proti předčasnému stárnutí pleti.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

- příprava polymerních filmů na bázi polysacharidů s obsahem vybraných bylinných výtažků (měsíčkový, třezalkový)
- charakterizace polymerních filmů (mechanické, povrchové vlastnosti, rozpustnost)
- sledování vlivu inkorporace aktivní směsi na antibakteriální vlastnosti a antioxidační aktivitu

5 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

5.1 Použité chemikálie

Destilovaná voda

Nízkomolekulární chitosan (Sigma-Aldrich)

Alginát sodný (Sigma-Aldrich)

Ethylalkohol (96 %)

Glycerol bezvodý p.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)

2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH), 0,1 mM EtOH roztok

Třezalkový olej BIO (NATURE-STORE)

Měsíčkový olej (KOSURO)

Měsíčkový CO₂ extrakt (NATURE-STORE)

Mueller-Hinton agar

Mikroorganismy *Escherichia coli* (CCM 3954) a *Staphylococcus aureus* (CCM 3953)

5.2 Použité přístroje

Optický tenziometr Attension Theta, Biolin Scientific

Analytické váhy Sartorius Basic 110 S

Texturometr AMETEK TA1 from Lloyd Instruments

Kolorimetr HunterLab UltraScan Pro D65

FTIR spektrofotometr Nicolet 6700, Thermo Scientific

Mikropipety Eppendorf reaserch plus

Digitální mikrometr, Schut Geometrical Metrology

Sušárna Memmert ULM 400

Magnetická míchačka Heidolph MR Hei-Standard

Vortex V-1 plus, Biosan

Exsikátor (Mg(NO₃)₂·6H₂O)

ULTRA TURRAX, T25 digital, T25

Třepačka (Heathrow Scientific)

Automatická pipeta

Petriho misky PS

Běžné laboratorní sklo

6 METODIKA

6.1 Příprava filmů na bázi chitosanu

Do kádinky byl navážen 1 g nízkomolekulárního chitosanu (CH), následně byl přidán 1%ní roztok kyseliny octové a směs se nechala míchat po dobu 24 hodin na magnetickém míchadle při laboratorní teplotě. Poté byla směs převedena do odměrné baňky a doplněna roztokem kyseliny octové tak, aby výsledná koncentrace chitosanu byla 1 hm. %. Připravený roztok byl následně odléván do Petriho misek (25 ml) a vložen do sušárny na dobu 24 h při teplotě 35 °C.

6.2 Příprava filmů na bázi alginátu sodného

Do kádinky byl navážen alginát sodný (SA) a doplněn destilovanou vodou tak, aby výsledná koncentrace byla 1 hm. %. Směs se nechala míchat po dobu 1 hodiny na magnetickém míchadle (500 rpm) při mírném ohřevu. Poté bylo do roztoku přidáno 0,5 g glycerolu a po homogenizaci byl výsledný roztok odléván do Petriho misek (25 g) a vložen do sušárny na dobu 24 h při teplotě 35 °C.

6.3 Příprava filmů s bylinnými výtažky

Do plastové zkumavky byly navázeny vybrané bylinné výtažky (měsíčkový olej-MO, měsíčkový extrakt-ME nebo třezalkový olej-TO) spolu s Tweenem 80 v poměru 2:1 (3 g : 1,5 g). Po homogenizaci na zařízení Vortex byla tato aktivní směs přidávána do polymerních roztoků na bázi chitosanu/alginátu (viz Tabulka 1). Následně byla celá směs homogenizována na zařízení Ultra Turrax IKA® T-25 (Obr. 13) po dobu 5 minut při 12 000 otáčkách za minutu. Směs byla během míchání chlazena, aby nedocházelo k přehřívání. Výsledné vzorky obsahovaly 0,5; 1 a 2 hm. % aktivní směsi, čemuž odpovídalo označení (př. CH/TO/0,5 značí film na bázi chitosanu s obsahem třezalkového oleje o koncentraci aktivní směsi 0,5 hm. %)

Příprava filmů s obsahem měsíčkového extraktu probíhala obdobným způsobem, s tím rozdílem, že měsíčkový extrakt musel být nejdříve zahřát na vodní lázni, za účelem snížení viskozity a usnadnění homogenizace při další přípravě vzorků. Připravené roztoky biopolymerů s aktivní směsí byly odlity na Petriho misky (25 g) a sušeny při 35 °C po dobu 24 hodin. Filmy byly následně uloženy do exsikátoru při relativní vlhkosti 60 %.

Tabulka 1 Navážky pro přípravu filmů s obsahem aktivní směsi

Množství aktivní směsi [%]	Navážka aktivní směsi [g]	Navážka roztoku CH/SA [g]
0,5	0,125	24,875
1	0,25	24,75
2	0,5	24,5

Pozn.: CH-chitosan, SA-alginát sodný



Obrázek 13 Ultra Turrax IKA® T-25

6.4 Optické vlastnosti filmů

Pro kolorimetrické stanovení byly vybrány vzorky bez obsahu aktivní směsi, s obsahem 2 % aktivní směsi s TO a MO a s 1 % měsíčkovým extraktem ME. Barva vzorků chitosanových a alginátových filmů byla stanovena pomocí kolorimetru HunterLab UltraScan Pro D65 podle normy ASTM D1003. Výsledky byly vyjádřeny pomocí hodnot L, a, b, přičemž tyto hodnoty jsou definovány jako: L černá (-) až bílá (+), a zelená (-) až červená (+), a b modrá (-) až žlutá (+). Každý vzorek filmu byl měřen ve třech různých pozicích. Celkový barevný rozdíl (ΔE) byl vypočten dle rovnice (1):

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0,5} \quad (1)$$

6.5 Mechanické vlastnosti

Mechanické vlastnosti byly hodnoceny u filmů obsahujících 0,5; 1 a 2 % aktivní směsi. Jako kontrolní vzorek sloužil film bez obsahu aktivní směsi. Pro měření byl použit přístroj AMETEK TA1 (Obr. 14) a data byla následně vyhodnocena s využitím softwaru NEXYGENPlus.

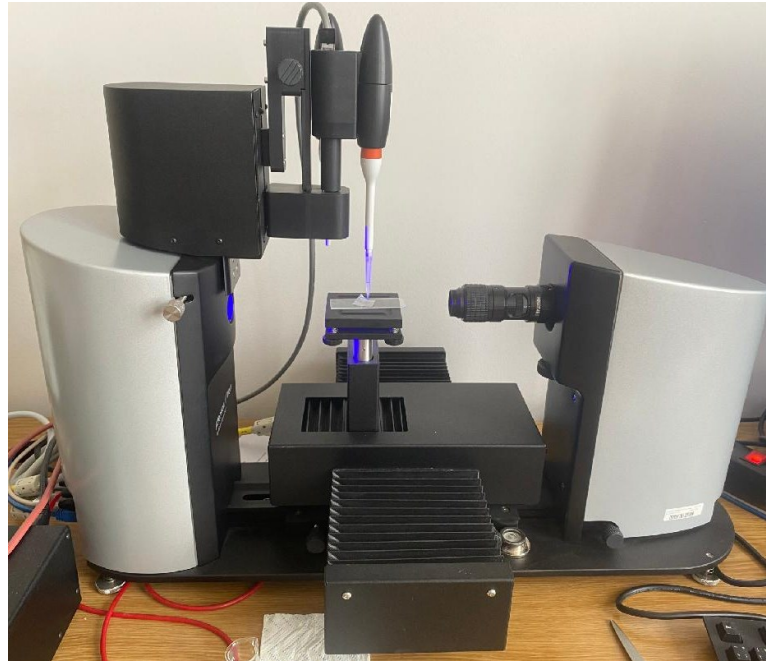
Z alginátových a chitosanových filmů byly vystříženy proužky o rozměrech 1x6 cm. Tyto proužky byly poté pomocí oboustranné lepicí pásky uchyceny mezi čelisti přístroje tak, aby pracovní plocha činila cca 1x4 cm. Následně byla u jednotlivých filmů hodnocena pevnost v tahu v MPa a procento celkového přetržení. Výsledky byly hodnoceny jako průměry ze tří měření.



Obrázek 14 Tahová zkouška

6.6 Smáčivost

Povrchové vlastnosti filmů byly analyzovány pomocí metody přisedlé kapky. Filmy bez a s obsahem aktivní směsi byly nastříhány na čtverečky a následně umístěny na podložní stolek optického tenziometru Attension Theta (Obr. 15). Pomocí automatické pipety byla na povrch filmu nadávkována kapka destilované vody (3 μ l). S využitím softwaru OneAttension byly zpracovány naměřené hodnoty a také poskytnut obrazový záznam z průběhu měření. Výsledné hodnoty kontaktního úhlu pro jednotlivá měření byla odečítána v rozmezí 5. až 6. sekundy. Hodnota kontaktního úhlu byla měřena pro každý vzorek 3x.



Obrázek 15 Měření kontaktního úhlu

6.7 Obsah vlhkosti (MC)

Pro stanovení vlhkosti filmu byly vybrány filmy bez obsahu aktivní směsi, s obsahem 2 % aktivní směsi a také s 1 % měsíčkovým extraktem. Vzorky filmů o rozměrech 2x2 cm byly vloženy do váženky a zváženy. Následně byly vzorky sušeny v sušárně při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Ze zjištěných hmotností bylo vypočítáno procento obsahu vlhkosti podle rovnice (2):

$$MC (\%) = \left(\frac{M_0 - M_d}{M_0} \right) \cdot 100 \quad (2)$$

Kde:

M_0 – je počáteční hmotnost vzorku [g]

M_d – je hmotnost vzorku po vysušení [g]

Výsledné hodnoty byly průměrem ze dvou stanovení.

6.8 Rozpustnost ve vodě (S)

Vzorky vysušené při 105 °C do konstantní hmotnosti (M_i) byly následně ponořeny do 20 ml destilované vody a třepány při laboratorní teplotě. Po 24 hodinách byly nerozpuštěné části vzorků vyjmuty a sušeny do konstantní hmotnosti (M_f) při 105 °C.

Rozpustnost byla stanovena podle rovnice (3):

$$S (\%) = \left(\frac{M_i - M_f}{M_i} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

Kde:

M_i – je počáteční hmotnost vzorku před vložením na třepačku [g]

M_f – je hmotnost vzorku po třepání a vysušení [g]

6.9 Antioxidační aktivita

Pro stanovení antioxidační aktivity byly použity vzorky s obsahem 0,5; 1 a 2 % aktivní směsi. Vzorky filmů byly nastříhány na čtverečky o rozměrech cca 1 cm² a následně zváženy, tak aby jejich hmotnost činila okolo 0,01 g. Následně byla vzorky vloženy do skleněné vialky s uzávěrem. Ke vzorkům byly pomocí mikropipety napipetovány 2 μl 0,1 mM ethanolického roztoku DPPH a tyto vzorky byly poté inkubovány po dobu 30 minut při teplotě 70 °C. Následně bylo na spektrofotometru Jasco V-750 (Obr. 16) provedeno měření absorbance při vlnové délce 517 nm proti ethanolu. Výsledky byly hodnoceny jako průměr ze dvou měření.

Z naměřených hodnot absorbance byl následně počítán úbytek absorbance dle rovnice (4):

$$\text{úbytek absorbance } (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (4)$$

Kde:

A_0 – hodnoty absorbance pracovního roztoku DPPH

A_1 – hodnoty absorbance testovaných vzorků



Obrázek 16 Spektrofotometr Jasco V-750 pro stanovení antioxidační aktivity

6.10 Antibakteriální aktivita

Stanovení antibakteriální aktivity probíhalo na vybraných vzorcích s obsahem 2 % aktivní směsi a s obsahem 1 % měsíčkového extraktu pomocí diskové difúzní metody. Do plastové zkumavky bylo připraveno 10 ml suspenze inokula příslušného mikroorganismu (*Echerichia Coli*, *Staphylococcus aureus*) o zákalu 0,5 McFarlanda, rozmícháním klíčkou ve fyziologickém roztoku a následně pomocí přístroje Vortex. Tato suspenze byla následně naočkována pomocí mikropipety na Petriho misku s Muller-Hilton agarem v množství 1 ml. Z vybraných filmů byly vyseknuty disky o průměru 9 mm a následně byly na povrch každé půdy umístěny sterilní pinzetou dva disky. Misky byly poté kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Potenciální antibakteriální aktivita byla vyhodnocena prostřednictvím změření průměru inhibičních zón okolo jednotlivých disků.

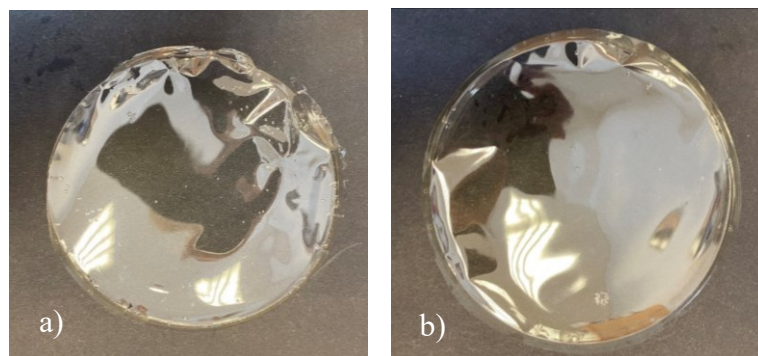
6.11 FTIR analýza

Pro analýzu struktury vybraných chitosanových a alginátových filmů byla využita infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR). Filmy byly analyzovány na přístroji Nicolet 6700 při rozlišení 2 cm⁻¹ v rozsahu od 4000 do 400 cm⁻¹. Získaná data byla zpracována a vyhodnocena pomocí softwaru OMNIC Paradigm

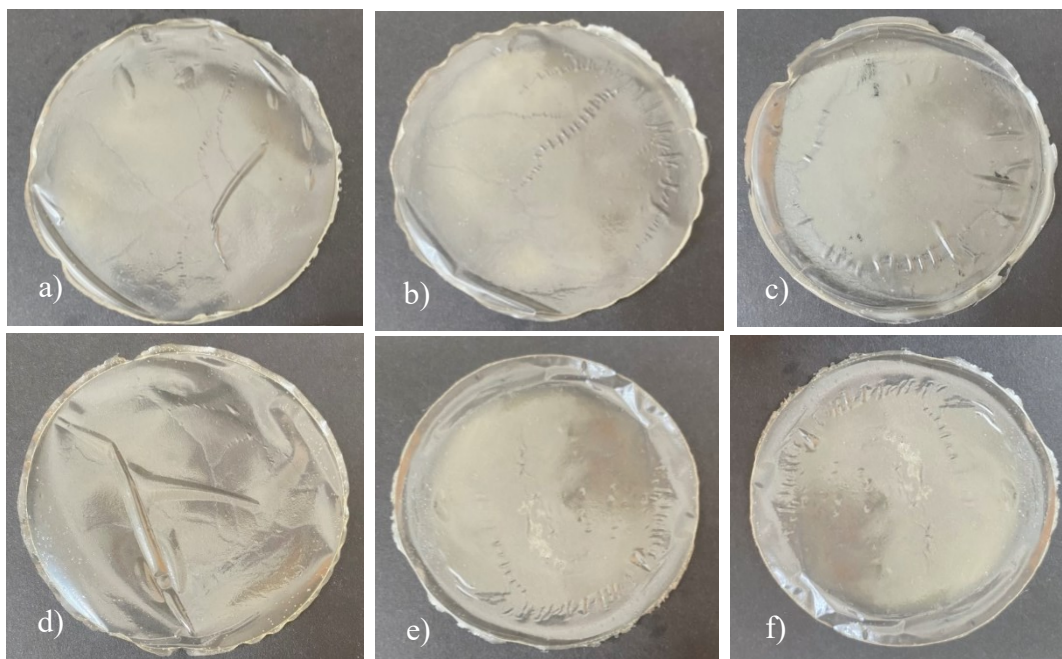
7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Vizuální hodnocení filmů

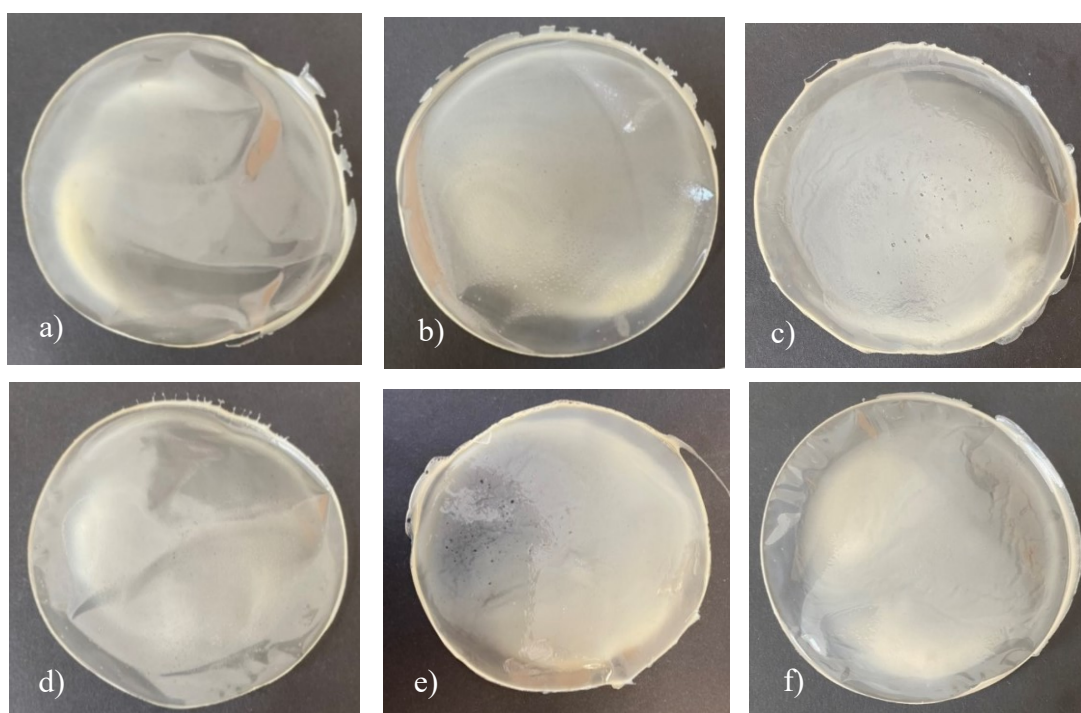
Vzorky filmů byly po přípravě nejdříve zhodnoceny vizuálně. Jak lze vidět z Obr. 17, filmy bez obsahu oleje byly homogenní, průhledné a lesklé. Jak chitosanové, tak alginátové filmy s přídavkem měsíčkového i třezalkového oleje byly neprůhledné, s nažloutlým nádechem (Obr. 18 a 19). Se zvyšující se koncentrací aktivní směsi byl zákal intenzivnější a filmy byly také křehčí, což ztěžovalo manipulaci během některých zkoušek. Filmy s vyšší koncentrací aktivní směsi prokazovaly jistou úroveň nehomogenity, na povrchu filmu se objevovalo ojínění, v důsledku uvolnění aktivní látky z polymerní matrice. Obecně filmy na bázi chitosanu byly pevnější než filmy na bázi alginátu.



Obr. 17 Vzhled filmů bez obsahu aktivní směsi a) SA b) CH

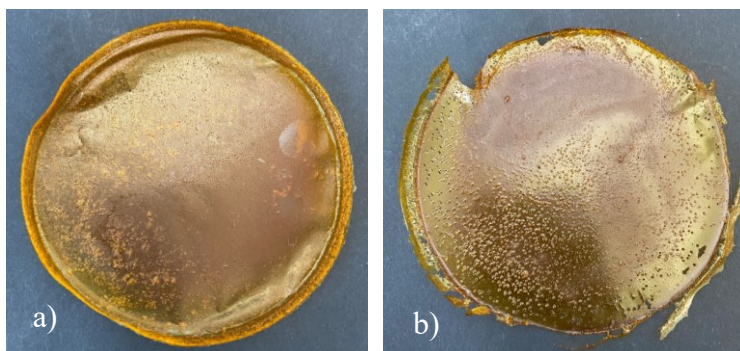


Obr. 18 Vzhled alginátových filmů s obsahem aktivní směsi a) SA/TO/0,5 b) SA/TO/1 c) SA/TO/2 d) SA/MO/0,5 e) SA/MO/1 f) SA/MO/2



Obr. 19 Vzhled chitosanových filmů s obsahem aktivní směsi a) CH/TO/0,5 b) CH/TO/1 c) CH/TO/2 d) CH/MO/0,5 e) CH/MO/1 f) CH/MO/2

Filmy s obsahem měsíčkového extraktu (Obr. 20) byly neprůhledné se sytě žlutou až oranžovou barvou. Vzorčky vykazovaly horší homogenitu, s patrnými nerozpuštěnými podíly a bublinkami, film na bázi alginátu byl navíc velmi křehký, s vysokou tendencí k přetržení a deformacím. Z toho důvodu nebylo možné provést všechny zkoušky na vzorcích filmů s vyšším obsahem měsíčkového extraktu.



Obrázek 20 Vzhled filmů s obsahem měsíčkového extraktu a) CH/ME/1
b) SA/ME/1

7.2 Optické vlastnosti filmů

Barevný charakter filmů a obalů je významným faktorem pro hodnocení obecného vzhledu a atraktivity pro spotřebitele. Optické vlastnosti připravených polysacharidových filmů byly silně ovlivněny inkorporací bylinných výtažků. V případě alginátových (Tab. 2) i chitosanových (Tab. 3) filmů došlo k postupnému zvyšování barevného rozdílu se zvyšující se koncentrací aktivní směsi, přičemž největší změny lze pozorovat u vzorků s měsíčkovým extraktem, což je v souladu s vizuálním pozorováním (Obr. 20). V případě chitosanových vzorků s obsahem třezalkového a měsíčkového oleje je barevný rozdíl více intenzivní než u alginátových protějšků. U obou polymerů došlo vlivem inkorporace aktivních směsí k poklesu parametru L^* , což indikuje snížení jasu filmů. Výrazný posun parametrů a^* i b^* z nízkých do vysokých hodnot v případě vzorků s měsíčkovým extraktem dokazuje signifikantní barevnou změnu filmů na intenzivní žlutou až oranžovou.

Na základě změny parametru ΔE lze potvrdit, že filmy modifikované rostlinnými výtažky byly méně průhledné a tmavší, což bylo patrné již z vizuálního hodnocení (Obr. 18 až 20). Je známo, že tmavší filmy a obaly lze využít například v potravinářství pro ochranu a prodloužení doby životnosti balených produktů, snížením přímého světelného záření a tím i zpomalení oxidačních procesů lipidických složek [78].

Podobně ve studii [78] byly prokázány barevné změny biopolymerních alginátových filmů s extraktem ze slupky purpurové cibule, a to ze 7 pro kontrolní vzorek na 74 pro film s obsahem 30 obj. % extraktu. Ve studii [79] byly hodnoceny barevné změny methylcelulósových filmů s obsahem extraktu ze slupky hřebíčkovce šabrejového. Bylo pozorováno silné zvýšení celkového barevného rozdílu z 0,44 pro kontrolní vzorek až na 94 pro film s obsahem 50 obj. % extraktu. Také zde došlo ke snížení průhlednosti u všech studovaných koncentrací ve srovnání s kontrolními filmy. Nogueira a kol. [80] připravovali filmy z fazolové mouky obsahující extrakt ze semene euterpe brazilské. Vzorky s přídavkem 5 a 10 obj. % extraktu byly neprůhledné a měly tmavší barvu v porovnání s kontrolními filmy.

Tabulka 2 Barevné charakteristiky alginátových filmů

Vzorek	ΔE	L^*	a^*	b^*
SA	4,92	89,78	-0,38	2,15
SA//TO/1	9,46	86,55	-0,56	3,76
SA/TO/2	10,95	85,61	-0,25	4,19
SA/MO/1	6,11	87,74	-0,49	3,65
SA/MO/2	13,18	83,92	-0,23	4,83
SA/ME/1	121,60	69,14	18,36	111,57
SA/ME/2	158,36	64,53	26,88	107,89

Tabulka 3 Barevné charakteristiky chitosanových filmů

Vzorek	ΔE	L^*	a^*	b^*
CH	5,01	89,41	-0,26	2,01
CH/TO/1	16,78	81,03	0,18	5,6
CH/TO/2	17,35	80,73	0,36	5,74
CH/MO/1	11,37	82,4	0,22	4,93
CH/MO/2	15,21	82,03	0,15	5,08
CH/ME/1	115,39	71,92	23,31	117,63
CH/ME/2	155,76	60,26	23,24	100,75

7.3 Tloušťka filmů

V rámci hodnocení mechanických vlastností byla u všech filmů také změřena jejich tloušťka. Z Tabulky 4 je patrné, že nejnižší hodnoty byly získány pro kontrolní filmy (SA 0,05 a CH 0,03 mm). Se zvyšující se koncentrací aktivní směsi se postupně zvyšovala i tloušťka filmů, kdy největší hodnotu (0,115 mm) vykazoval film s obsahem 2 hm. % MO.

Zvýšení tloušťky chitosanových filmů pozorovali také autoři studie [81], a to po přídavku mangového extraktu. Konkrétně u vzorku s obsahem 5 hm. % mangového extraktu byl

zaznamenán největší nárůst tloušťky (o 46 %) ve srovnání s kontrolou. Stejný trend byl prokázán ve studii [82], kde připravovali alginátové filmy s obsahem extraktu z listů yerba maté. Tloušťka filmů se pohybovala od 0,045 mm pro kontrolní vzorek, což je srovnatelná hodnota s naším měřením, do 0,068 mm pro film s obsahem 25 obj. % extraktu. Tento fakt lze vysvětlit navýšením koncentrace celkových pevných látek v polymerním filmu po přidání aktivní látky, což je doprovázeno právě zvýšením tloušťky.

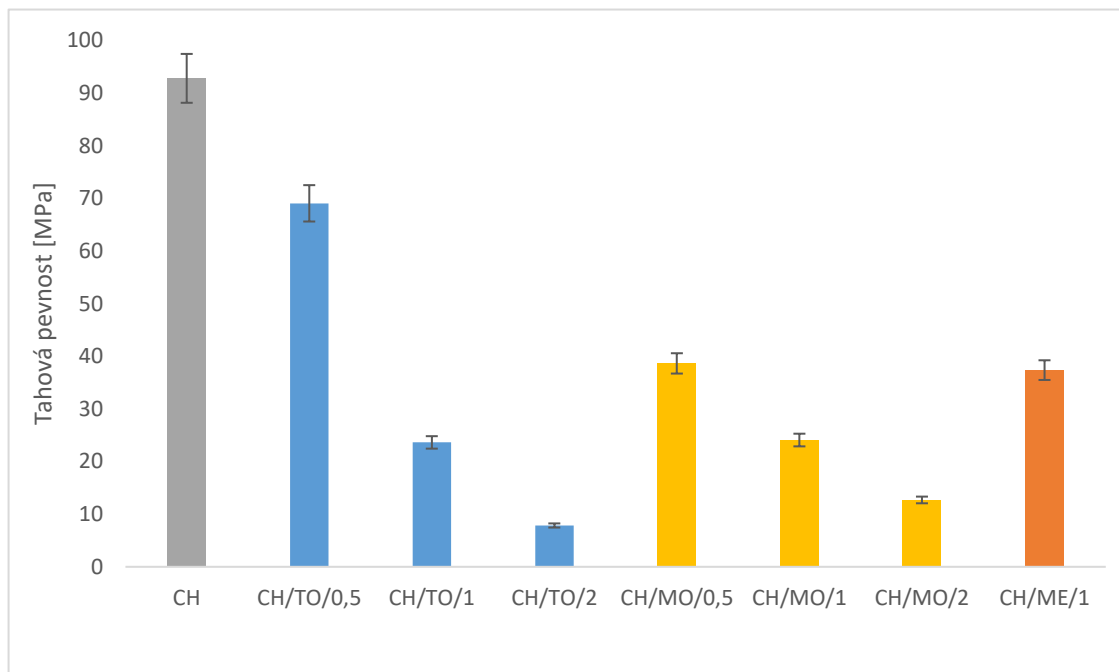
Tabulka 4 Tloušťka alginátových a chitosanových filmů

Vzorek	Tloušťka [mm]	Vzorek	Tloušťka [mm]
SA	0,048 ± 0,003	CH	0,030 ± 0,005
SA/TO/0,5	0,063 ± 0,003	CH/TO/0,5	0,0263 ± 0,001
SA/TO/1	0,078 ± 0,010	CH/TO/1	0,077 ± 0,008
SA/TO/2	0,090 ± 0,003	CH/TO/2	0,110 ± 0,011
SA/MO/0,5	0,060 ± 0,004	CH/MO/0,5	0,056 ± 0,004
SA/MO/1	0,078 ± 0,003	CH/MO/1	0,064 ± 0,005
SA/MO/2	0,115 ± 0,001	CH/MO/2	0,063 ± 0,004
SA/ME/1	0,070 ± 0,006	CH/ME/1	0,065 ± 0,004

7.4 Mechanické vlastnosti

Tahová pevnost je jedním z nejdůležitějších parametrů hodnocených v rámci mechanických vlastností a vypovídá o maximálním napětí, kterému je vzorek schopen odolat při tahové zkoušce. Obecně platí, že inkorporací aditiv do polymerní matrice, vyjma síťovacích činidel, dochází ke snížení tahové pevnosti. Tento trend se potvrdil i u našich chitosanových vzorků (Obr. 21), kdy přidavek aktivní směsi vedl ke snížení hodnot pevnosti v tahu oproti referenčnímu vzorku (93 MPa). Nejvýraznější pokles (na hodnotu 8 MPa) byl zaznamenán u filmů s obsahem aktivní směsi třezalkového oleje o nejvyšší sledované koncentraci 2 hm. %. V případě vzorků se stejným obsahem směsi měsíčkového oleje byla výsledná hodnota pevnosti 13 MPa. Srovnáme-li vzorky s 1 hm. % měsíčkového oleje a extraktu, byla pevnost druhého zmíněného filmu o něco vyšší (rozdíl činil asi 35 %). Tahová pevnost filmů s obsahem měsíčkového extraktu byla měřena pouze u filmu s obsahem 1 hm. % aktivní směsi, jelikož při vyšších koncentracích byl film nehomogenní a velice křehký, což ztěžovalo přípravu pracovních vzorků požadovaných rozměrů.

Podobně ve studii [76] bylo zaznamenáno po inkorporaci 0,25 %, 0,5 %, 1 % a 1,5 obj. % třezalkového oleje do chitosanových filmů snížení pevnosti v tahu, a to až o 68 % ze 44,6 MPa na 14,8 MPa pro 1,5 obj. % koncentraci třezalkového oleje.



Obrázek 21 Tahová pevnost chitosanových filmů

Pevnost v tahu filmů na bázi chitosanu je přímo úměrná molekulové hmotnosti a stupni deacetylce. Dalšími faktory, které mohou významně ovlivnit mechanické a bariérové vlastnosti polymerních filmů, jsou teplota sušení a relativní vlhkost. Pevnost v tahu chitosanových filmů vyrobených odléváním z roztoku kyseliny octové se během skladování při pokojové teplotě zvyšuje. Tyto změny lze popsat prostřednictvím časově závislých konformačních změn molekul chitosanu a snížením volného objemu polymeru. Mechanické vlastnosti chitosanových filmů lze výrazně ovlivnit přidáním změkčovadel, jako je glycerol, nebo kyselina gallová [83], [84].

V závislosti na typu a koncentraci přidaných aditiv, ať už zmíněných plastifikátorů, nebo aktivních molekul mohou chitosanové filmy vykazovat velký rozptyl hodnot pevnosti v tahu. Tento fakt byl potvrzen autory studie [85], kteří zkoumali mechanické vlastnosti chitosanových filmů v závislosti na množství přidaného glycerolu. Pevnost v tahu se s rostoucí koncentrací glycerolu výrazně snižovala, a to z původních 122,62 MPa na 32,69 MPa. Naopak prodloužení při přetržení se zvýšilo, z 13,6 na 45,6 %.

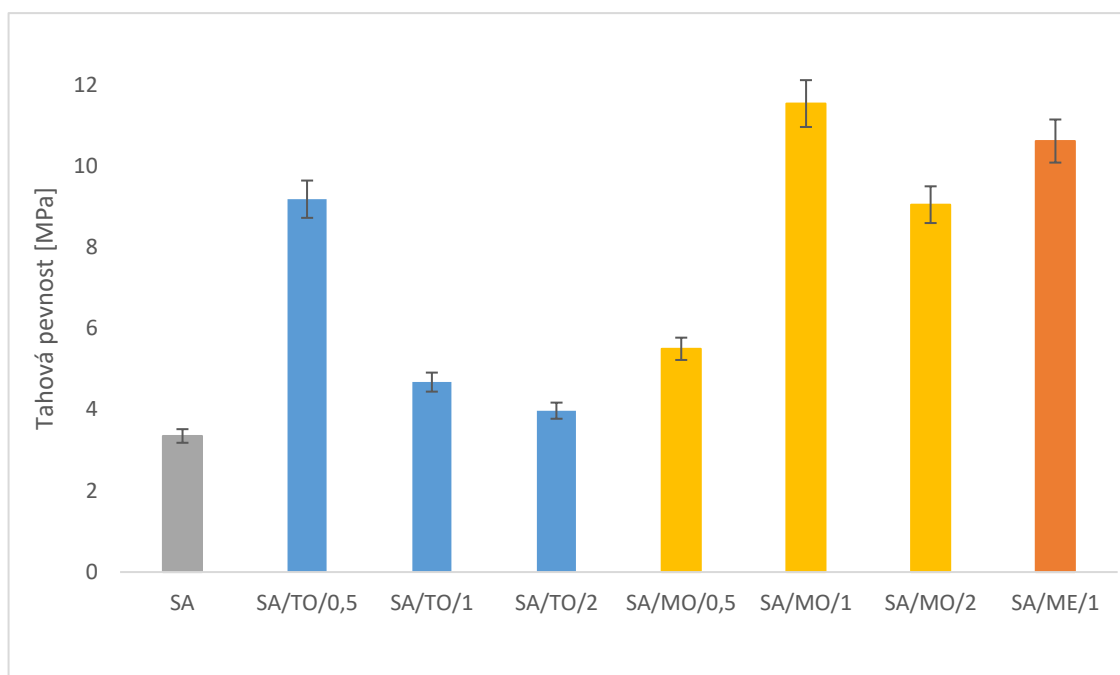
Přídavek esenciálních olejů může vést ke vzniku různých specifických interakcí mezi olejovými složkami a polymerní maticí. V některých případech může dojít ke snížení

pevnosti v tahu v důsledku snížení kohezních sil v polymerním materiálu. Esenciální oleje jako hydrofobní sloučeniny mohou také způsobit vytvoření heterogenní sítě a nespojitě mikrostruktury, v důsledku přeskupení polymerních řetězců, což může vyvolat pokles mechanické odolnosti. Zároveň lze esenciální oleje využít jako plastifikátory, které fungují prostřednictvím snížení intermolekulárních sil podél polymerních řetězců chitosanu, čímž se zvýší flexibilita, pohyblivost řetězců a následně i prodloužení při přetržení. Taktéž může dojít k vytvoření stabilnější a hustší polymerní sítě v důsledku interakcí mezi extraktem a chitosanem prostřednictvím elektrostatických interakcí a vodíkových vazeb, což potenciálně vede ke zvýšení pevnosti v tahu [86].

Opačný trend lze pozorovat v případě alginátových filmů s bylinnými výtažky, kde ve všech případech došlo ke zvýšení pevnosti tahu oproti referenčnímu vzorku (Obr. 22), tj. byla získána kompaktnější struktura filmu. Překvapivě největší tahovou pevnost (12 MPa) vykazoval film s obsahem 1 hm. % aktivní směsi měsíčkového oleje a Tweenu 80. Co se týče třezalkového oleje, největší tahovou pevnost (9 MPa) prokázal vzorek s obsahem 0,5 hm. % aktivní směsi.

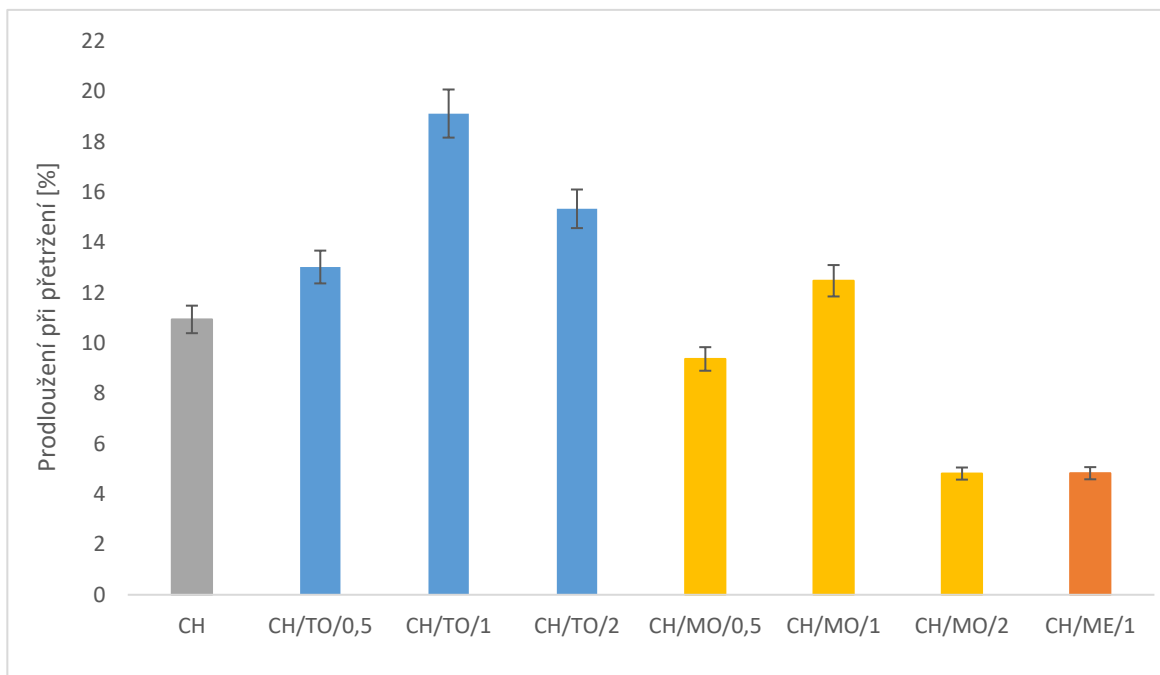
Podobný trend byl prokázán ve studii [87], kde byl studován vliv inkorporace různých koncentrací vodných a ethanolických extraktů z listů guava do alginátových filmů. Pevnost v tahu modifikovaných vzorků se oproti referenčnímu filmu zvýšila, přičemž tato změna byla mnohem výraznější v případě ethanolických extraktů. Zároveň zde došlo k postupnému snižování tahové pevnosti se zvyšující se koncentrací jak vodného, tak i ethanolického extraktu. Podobně tomu bylo i v případě našeho alginátového filmu s obsahem třezalkového oleje (Obr. 22).

Podobně jako u chitosanu, i u alginátových filmů hraje důležitou roli teplota sušení, relativní vlhkost a přídavek změkčovadel. Například ve studii [88] byl zkoumán vliv glycerolu a sorbitolu na mechanické vlastnosti alginátových filmů, přičemž s rostoucí koncentrací těchto složek byl pozorován obecný trend snížení pevnosti v tahu a zvýšení prodloužení při přetržení.

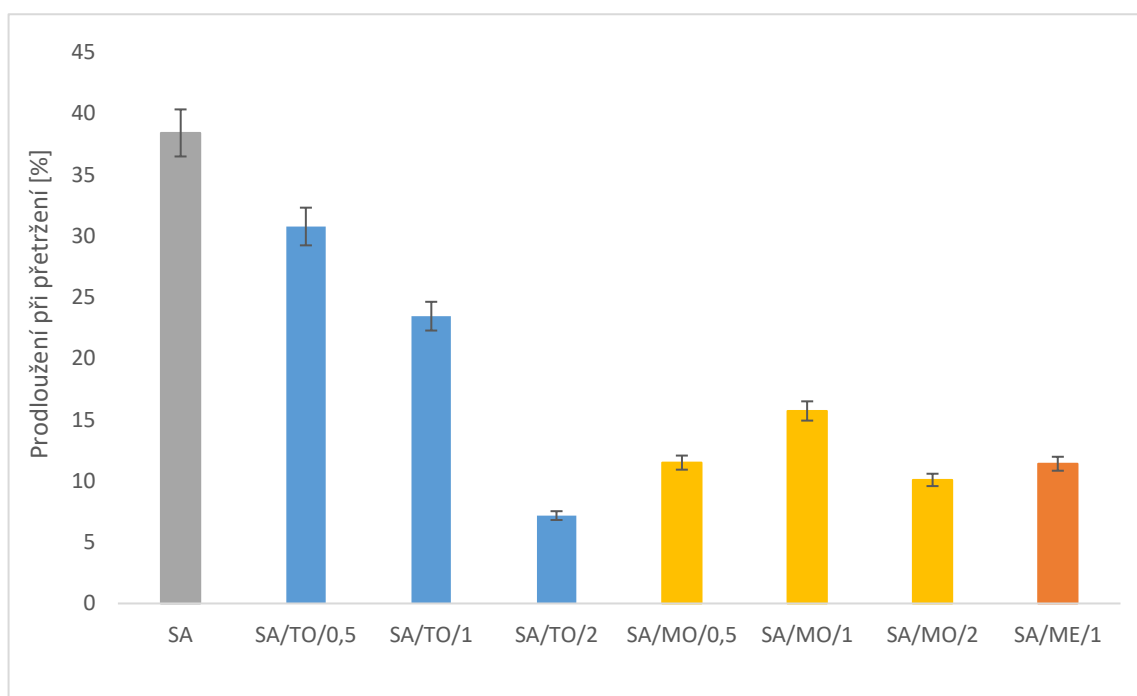


Obrázek 22 Tahová pevnost alginátových filmů

Další hodnocenou charakteristikou v rámci mechanických vlastností bylo prodloužení při přetržení, které vypovídá o míře elasticity vzorku. Jak lze vidět na Obr. 23, po přidavku směsi s třezalkovým olejem dochází k mírnému nárůstu hodnot prodloužení při přetržení chitosanových filmů ve srovnání s kontrolním vzorkem, a to až o 43 % v případě vzorku CH/TO/1. Opačný jev byl pozorován u filmů s obsahem měsíčku. Nejnižších hodnot prodloužení při přetržení bylo dosaženo u filmu s obsahem směsi 1 hm. % extraktu a 2 hm. % oleje (okolo 4,8 %). Ve studii [76] došlo inkorporací třezalkového oleje nejprve k postupnému zvyšování prodloužení při přetržení, které ale opět klesalo od 1 % koncentrace. V našem případě je podobný trend patrný u vzorků s obsahem měsíčkového oleje. V případě alginátových filmů (Obr. 24) dochází k postupnému snižování elasticity s rostoucí koncentrací aktivní směsi. Nejvýraznější pokles (na 7 %) lze sledovat u vzorku s obsahem třezalkového oleje SA/TO/2. Tento postupně snižující se trend, konkrétně z 88 % pro kontrolní vzorek na 5 % pro alginátový film s obsahem 30 % etanolického rostlinného extraktu z listů guava byl také pozorován ve studii [87].



Obrázek 23 Prodloužení při přetržení chitosanových filmů



Obrázek 24 Prodloužení při přetržení alginátových filmů

7.5 Smáčivost

Smáčivost povrchů patří mezi důležité parametry, které ovlivňují vlastnosti biomateriálů, mezi něž patří absorpce vody, bioadheze a buněčné interakce. Kontaktní úhel poskytuje informaci o hydrofilitě testovaného materiálu, což je jedna z nejdůležitějších vlastností

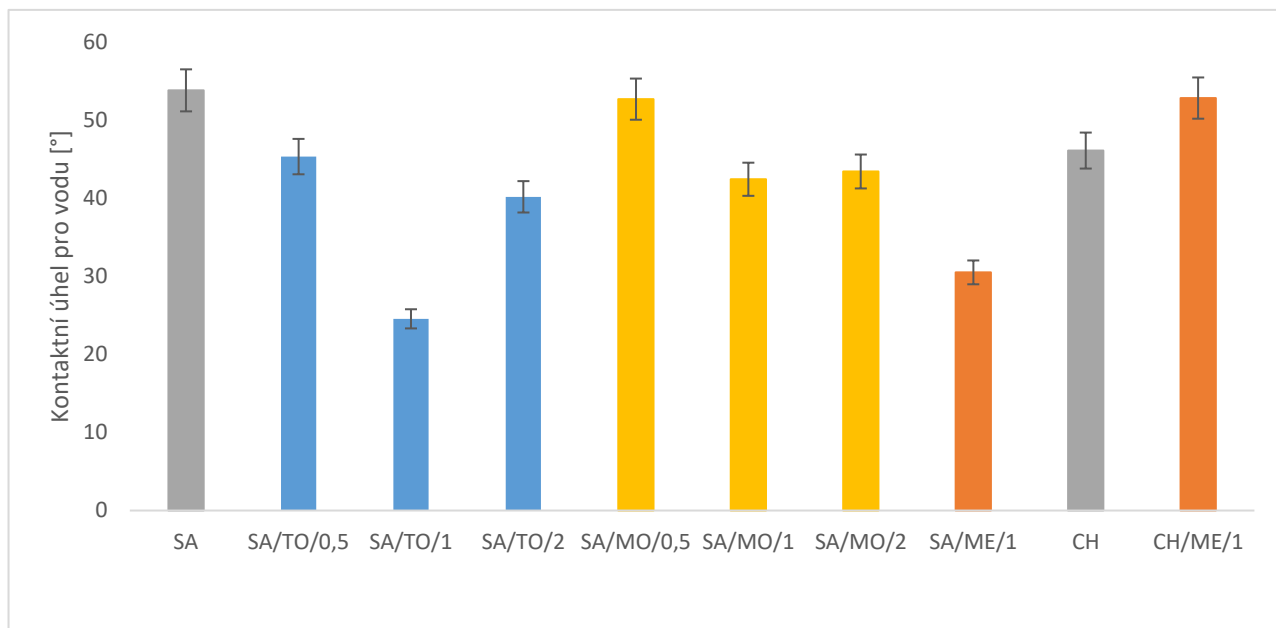
ovlivňujících cytokompatibilitu biomateriálů. Je totiž známo, že buňky lépe adherují a následně se množí na hydrofilních površích v porovnání se substráty hydrofobními.

Kontrolní chitosanový film vykazoval úhel smáčení 46° , což je srovnatelná hodnota, jako v dalších studiích, kde autoři využili techniku odlévání z roztoku chitosanu pro přípravu antimikrobiálních systémů [89], [90]. Chitosanové filmy s přidavkem aktivních směsí vykazovaly silnou hydrofilitu a hodnoty kontaktního úhlu se pohybovaly do 10° , což mohlo být způsobeno interakcí chitosanu s bylinnými výtažky. Navíc během sledovaného časového intervalu došlo k velmi rychlému kompletnímu rozprostření kapky, doprovázenému botnáním chitosanového substrátu, což znemožnilo kontaktní úhel proměřit. Výjimku představoval chitosanový film s obsahem 1 hm. % měsíčkového extraktu (CH/ME/1), u nějž byla naměřena hodnota 53° , tedy srovnatelná s referenčním vzorkem (Obr. 25). Výsledky ostatních chitosanových vzorků zde nejsou z uvedeného důvodu zahrnuty.

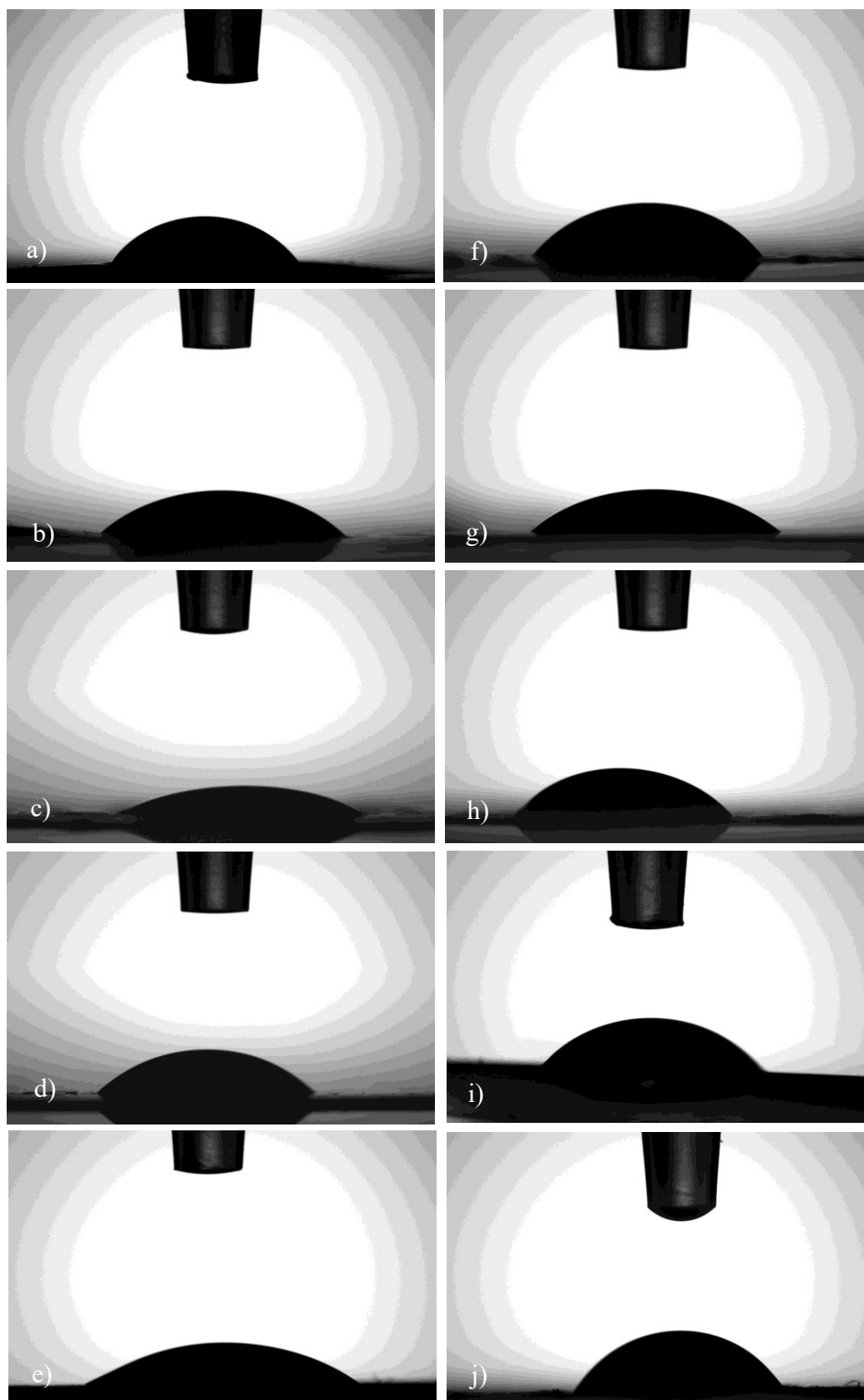
Z Obrázku 25 je patrné, že inkorporací aktivní směsi na bázi bylinných výtažků a Tweenu 80 došlo ke snížení úhlu smáčení. Nejvýraznější pokles oproti kontrolnímu vzorku, a to snížení hodnot z 54° na 25° , byl zaznamenán u vzorku SA/TO/1. Přídavek aktivní směsi s měsíčkovým olejem měl na smáčivost menší vliv, u vzorku s obsahem 0,5 hm. % nedošlo téměř k žádné změně oproti kontrolnímu alginátovému filmu. Výsledky měření smáčivosti dokládají i fotografie nanesených kapek snímané mezi 5. a 6. sekundou měření (Obr. 26).

Snížení kontaktního úhlu bylo také pozorováno ve studii [91], kde autoři připravili a charakterizovali filmy na bázi alginátu s obsahem 0 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, a 2,0 % extraktu kyprej vrbice. Kontaktní úhel se postupně snižoval z 49° pro kontrolní vzorek bez obsahu extraktu až na hodnotu 17° pro film s obsahem 2 % extraktu. Je známo, že alginát sodný patří mezi hydrofilní polymery, tzn., že lze očekávat úhly smáčení pod 90° . Přídavek rostlinných výtažků zde spíše podporuje hydrofilitu daného povrchu, takže nedochází k zásadnější interakci s polymerní maticí alginátu.

Hydrofilita filmů na bázi alginátu sodného, želatiny a nanočástic stříbra byla potvrzena ve studii [92], kdy výsledky ukázaly, že kontaktní úhly pro vodu u všech testovaných vzorků byly menší než 90° . Přídavek želatiny, resp. kombinace želatiny a stříbra, způsobil pokles úhlu smáčení ze 46° (pro kontrolní vzorek) na 40° .



Obrázek 25 Hodnoty kontaktního úhlu polysacharidových filmů



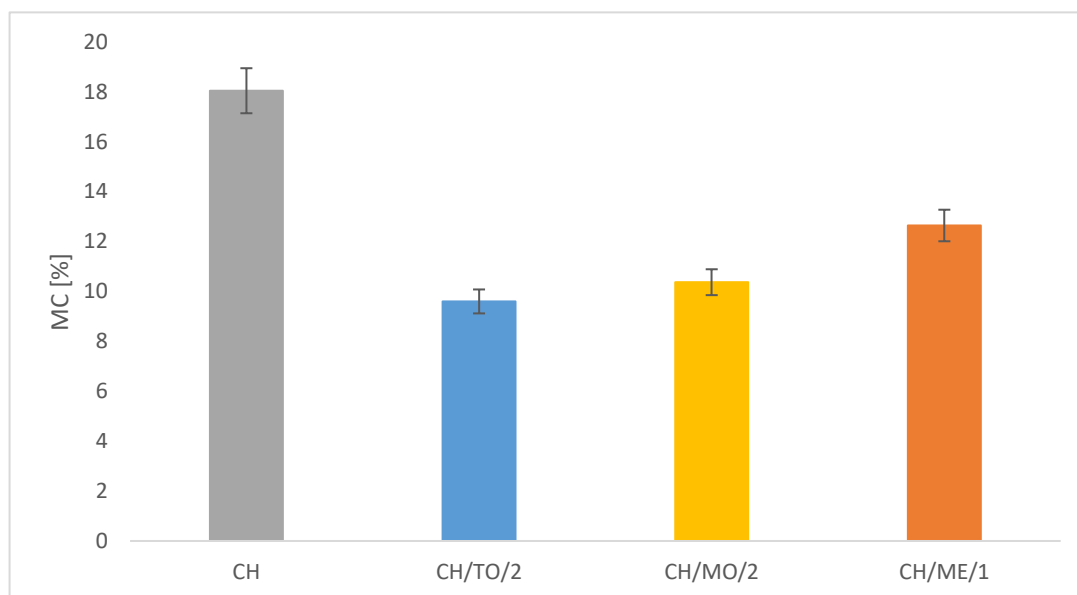
Obrázek 26 Metoda přisedlé kapky na vzorcích polysacharidových filmů a) SA b) SA/TO/0,5 c) SA/TO/1 d) SA/TO/2 e) SA/MO/0,5 f) SA/MO/1 g) SA/MO/2 h) SA/ME/1 i) CH j) CH/ME/1

7.6 Obsah vlhkosti (MC)

Obsah vlhkosti je důležitý parametr indikující u daného materiálu bariérové vlastnosti vůči vlhkosti a kapacitu pro vázání vody. Pro stanovení vlhkosti filmů byly použity pouze filmy s obsahem 2 hm. % aktivní směsi a s obsahem měsíčkového extraktu. Množství vody přítomné ve vzorcích může poskytnout informace o hydrofilitě filmů.

U chitosanových filmů (Obr. 27) lze pozorovat snížení vlhkosti oproti kontrolnímu vzorku, přičemž nejnižší hodnotu vykazoval film s obsahem 2 hm. % TO (9,6 %), což je o 47 % méně v porovnání s kontrolním vzorkem. Filmy s obsahem měsíčkového oleje a extraktu vykazovaly mírně zvýšené hodnoty vlhkosti ve srovnání s filmy s obsahem třezalkového oleje, kdy film s obsahem ME měl nejvyšší obsah vlhkosti (12,6 %) ze všech tří modifikovaných filmů.

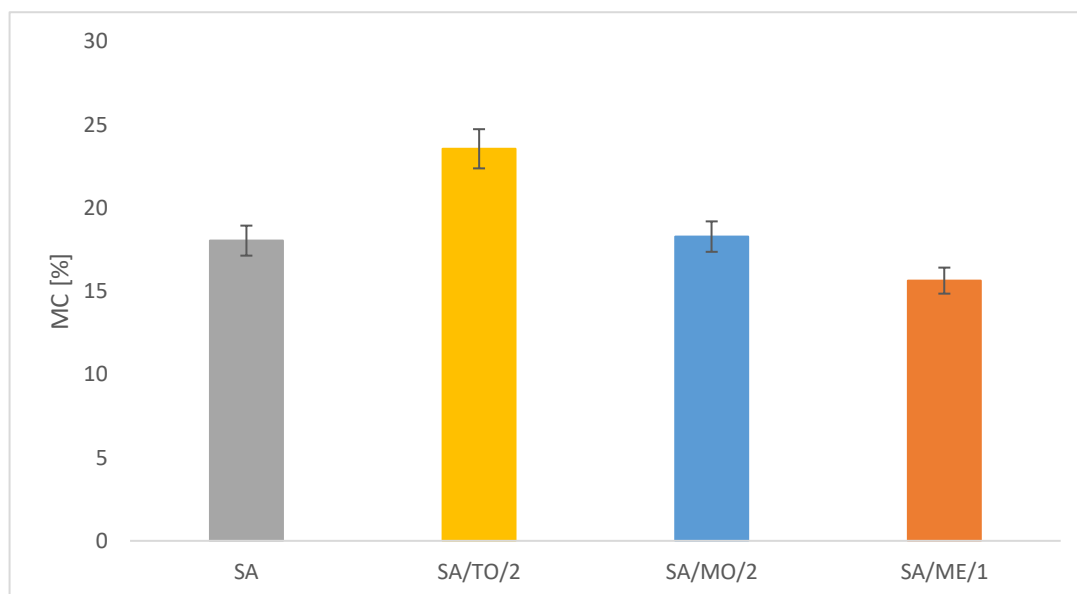
Nazurah a kol. [93] připravovali filmy na bázi chitosanu s obsahem olejem z listů kari. Zde také došlo významnému snížení vlhkosti o 17,47-20,10 % ve srovnání s filmem čistého chitosanu, když bylo do formulace přidáno 0,5 obj. % oleje z listů kari. Další zvýšení koncentrace oleje na 1,5 obj. % snížilo hodnotu vlhkosti až na 40,65 %.



Obrázek 27 Vlhkost chitosanových filmů

V případě alginátových filmů (Obr. 28) se vlhkost příliš neliší od kontrolního vzorku, hodnoty se pohybují od cca 16 do 24 %. Nejvyšší hodnota byla naměřena u alginátového filmu s obsahem třezalkového oleje, kde došlo ke zvýšení vlhkosti o 23 % oproti kontrolnímu vzorku.

Alginátové filmy s obsahem různých esenciálních olejů byly předmětem studie autorů Mahcene a kol. [94]. Obsah vlhkosti ve filmech s inkorporovanými esenciálními oleji byl nižší v porovnání s kontrolním filmem a hodnoty se pohybovaly od 33 do 38 %. Změny obsahu vlhkosti ve filmech mohou nastat v důsledku změn hydrofility, což může následně ovlivnit propustnost pro vodu. Úroveň vlhkosti může být ovlivněna také podmínkami sušení, kdy delší doby schnutí mohou vést ke zdrsnění povrchu filmu.



Obrázek 28 Vlhkost alginátových filmů

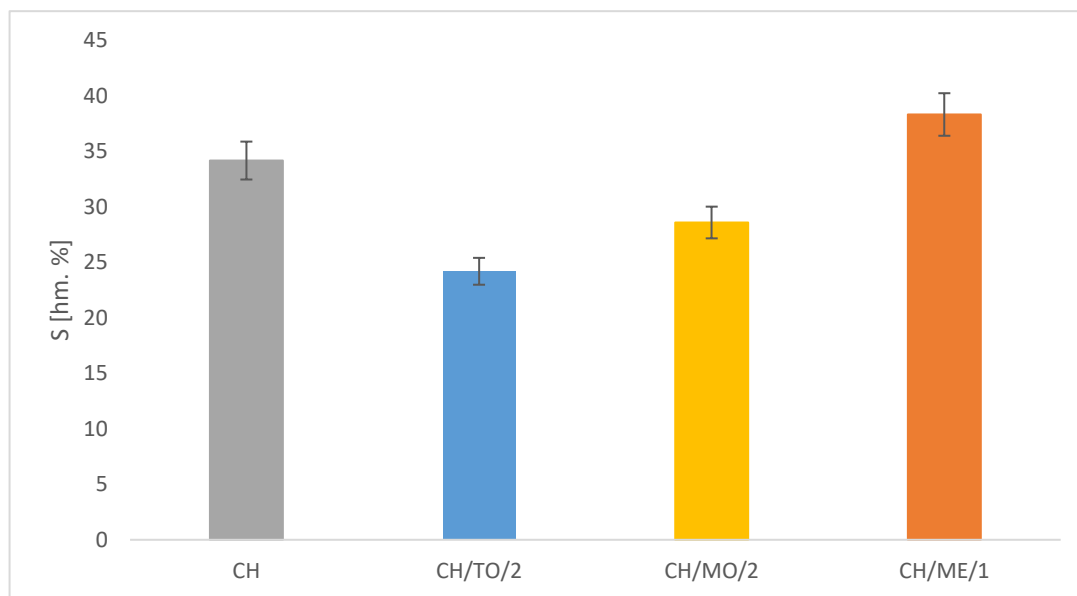
7.7 Rozpustnost ve vodě (S)

Rozpustnost filmů bylo možné vyhodnotit pouze pro chitosanové filmy, jelikož alginátové vzorky byly po třepání ve vodě zcela rozpuštěny, tudíž je nebylo možné zvážit.

Chitosanové filmy (Obr. 29) s obsahem třezalkového a měsíčkového oleje vykazovaly mírné snížení rozpustnosti o 29 % pro TO a o 16 % pro MO oproti kontrolnímu vzorku. Poměrně překvapivý výsledek byl zaznamenán v případě měsíčkového extraktu, kdy došlo ke zvýšení rozpustnosti filmu o 11 % v porovnání s kontrolním vzorkem.

Autoři Ojagh a kol. [89] studovali filmy na bázi chitosanu s esenciálním olejem ze skořice, u nichž také pozorovali snížení rozpustnosti ve vodě o 41 %, resp. 55 % u filmů s obsahem 1,5 a 2 obj. % skořicového oleje. Tento jev je způsoben síťovacími účinky složek skořicového oleje, tudíž vznikají filmy se sníženou afinitou k vodě.

Abdollahi a kol. [95] se také zabývali přípravou chitosanových filmů, do nichž inkorporovali esenciální olej z rozmarýnu. Zde také došlo oproti kontrolnímu filmu ke snížení rozpustnosti se zvyšující se koncentrací rozmarýnového oleje. Chitosanový film obsahující 1,5 obj. % rozmarýnového oleje vykazoval snížení rozpustnosti o 25 % oproti kontrolnímu vzorku.



Obrázek 29 Rozpustnost chitosanových filmů

7.8 Antioxidační aktivita

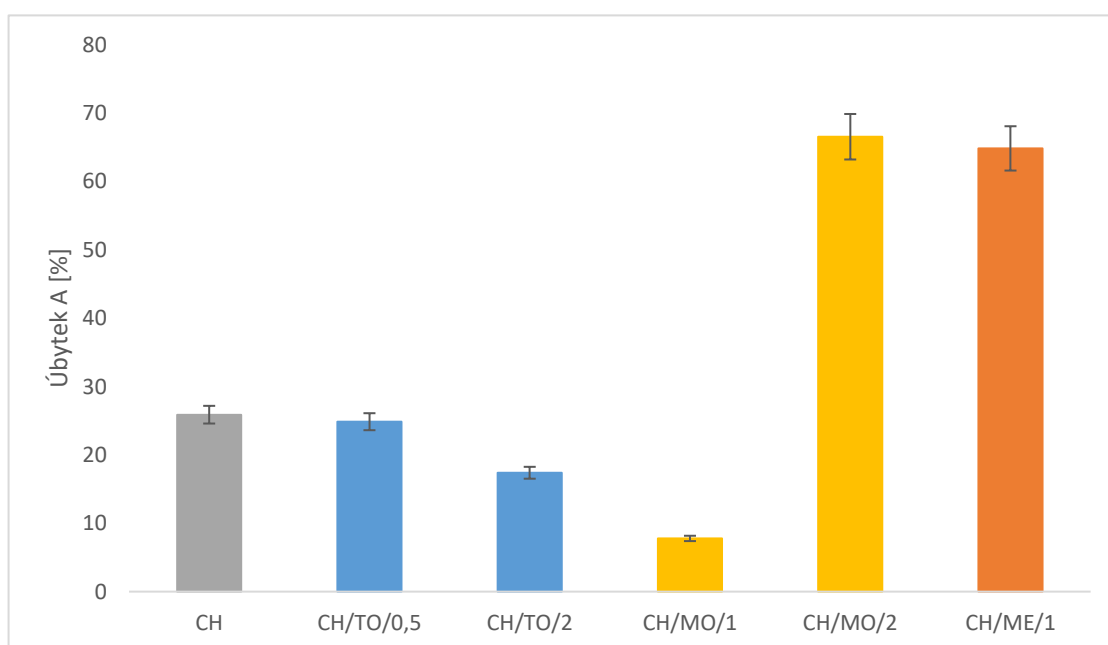
Stanovení antioxidační aktivity je založeno na potenciálu volných radikálů DPPH neutralizovat antioxidanty obsažené ve vzorcích. To se poté projeví změnou barevné intenzity fialově zbarveného roztoku DPPH, což lze detekovat spektrofotometricky.

Výsledky měření antioxidační aktivity chitosanových filmů lze vidět na Obr. 30, přičemž byly zaznamenány poměrně výrazné rozdíly mezi jednotlivými aktivními látkami. Inkorporací aktivní směsi s třezalkovým olejem do chitosanového filmu bylo dosaženo úbytku měřené absorbance v rozsahu 17 až 25 %, tedy podobných hodnot jako v případě kontrolního chitosanového vzorku. Překvapivě nejvyšší hodnota byla zaznamenána u nejnižší studované koncentrace třezalkového oleje (vzorek SA/TO/0,5), zatímco vzorek s obsahem 1 hm. % TO nevykazoval v tomto měření žádnou antioxidační aktivitu. Je známo, že třezalka obsahuje řadu fytochemikálií (např. hypericin, hyperforin), odpovědných za antioxidační vlastnosti, avšak konkrétní obsah aktivních látek v třezalkovém oleji je závislý na mnoha parametrech jako např. místo a způsob pěstování samotné rostliny nebo způsob získávání oleje [96]. Dalším faktorem, který může výrazně ovlivnit výsledné antioxidační účinky, je homogenita, která mohla hrát klíčovou roli

v případě námi připravených vzorků filmů. Lze ovšem obecně konstatovat, že testované koncentrace třezalkového oleje nijak významně schopnost redukovat aktivitu volných radikálů neovlivnily, v porovnání s referenčním chitosanovým filmem.

Nejvýraznější úbytek absorbance (okolo 65 %) byl pozorován u chitosanových filmů s obsahem aktivní směsi s měsíčkovým olejem v koncentraci 2 hm. % a měsíčkovým extraktem o koncentraci 1 hm. %. Stejně jako třezalka, tak i měsíček obsahuje řadu fytochemikálií s antioxidačními vlastnostmi, jako jsou polyfenoly a flavonoidy [74].

Antioxidační aktivita byla studována i v práci [97] na vzorcích chitosanu s různými koncentracemi extraktu z listů fíkovníků smokvoně. Zatímco kontrolní vzorek vykazoval úbytek absorbance 11 %, antioxidační aktivita modifikovaných vzorků vzrostla až na 49 % pro film s obsahem 6 % extraktu.

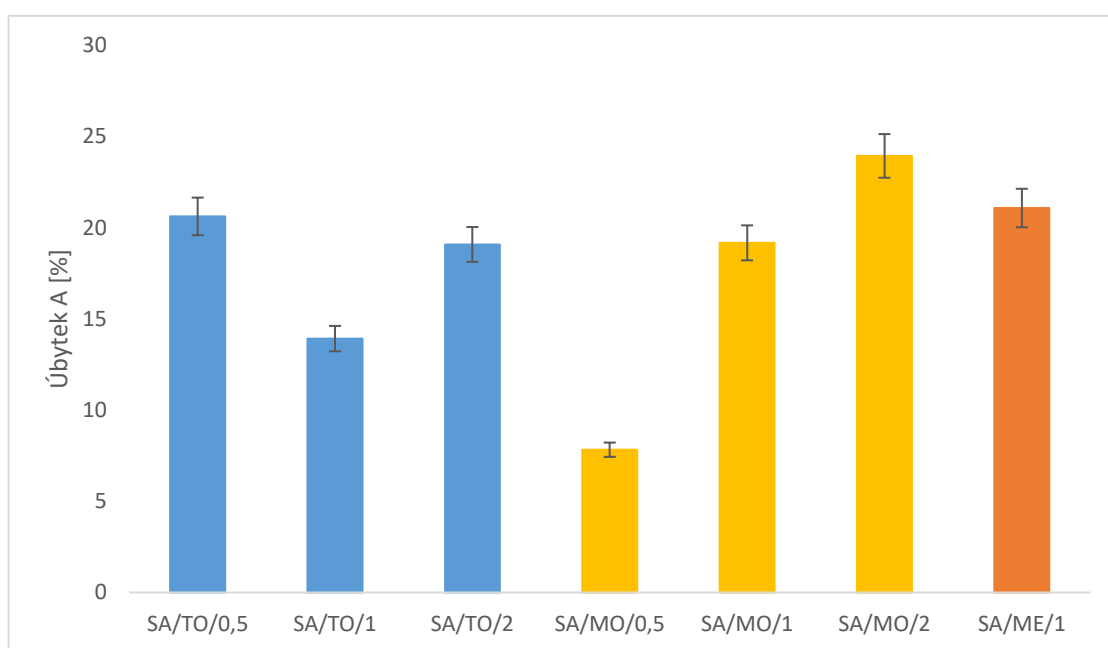


Obrázek 30 Úbytek absorbance chitosanových filmů

Co se týče alginátových filmů (Obr. 31), kontrolní vzorek nevykazoval žádnou antioxidační aktivitu. Podobně jako u vzorků chitosanu, lze pozorovat postupné zvyšování antioxidační aktivity s rostoucí koncentrací směsi s MO, zatímco u vzorků s třezalkou nebyl prokázán jednotný trend v závislosti na koncentraci. Nejvyšší hodnotu úbytku absorbance (24 %) vykazoval alginátový film s obsahem měsíčkového oleje SA/MO/2. U vzorků SA/MO/2 a SA/ME/1 byly pozorovány podobné antioxidační účinky, jako u filmů na bázi chitosanu (Obr. 30). Filmy s obsahem TO vykazovaly o něco nižší hodnoty úbytku absorbance v porovnání s filmy s obsahem MO stejných koncentrací, ovšem obecně mezi jednotlivými

alginátovými vzorky nejsou patrné významnější rozdíly, jako tomu bylo u filmů na bázi chitosanu (Obr. 30). Lze konstatovat, že u chitosanových filmů se mohl v kombinaci s rostlinnými výtažky z měsíčku projevit jistý synergický účinek, vzhledem k tomu, že již samotný kontrolní vzorek prokázal určitou aktivitu.

Podobné výsledky byly získány ve studii [98], v níž připravovali alginátový film s 10, 20 a 40 obj. % extraktu z klitorie ternatské. Zatímco referenční film bez obsahu extraktu nevykazoval žádné antioxidační účinky, se zvyšující se koncentrací extraktu došlo k postupnému zvyšování antioxidační aktivity.



Obrázek 31 Úbytek absorbance alginátových filmů

7.9 Antibakteriální aktivita

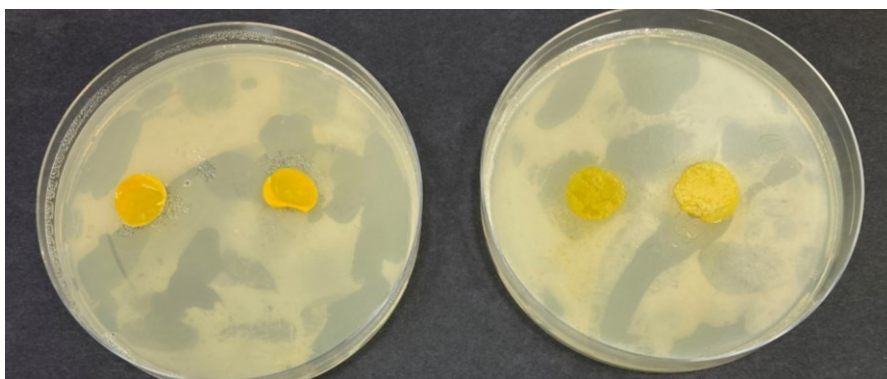
Antibakteriální aktivita připravených vzorků byla hodnocena pomocí agar difúzního testu. Je známo, že chitosan vykazuje určité antibakteriální vlastnosti, což je nejčastěji přikládáno elektrostatickým interakcím mezi tímto kladně nabitým polymerem a záporně nabitými složkami v mikrobiální buněčné stěně. Následně dochází ke zvýšené permeabilitě buněčné membrány a úniku intracelulárních složek, což nakonec vede k buněčné smrti. Antibakteriální vlastnosti jsou ovšem ovlivněny řadou faktorů, jako je koncentrace, případně forma, v jaké je chitosan aplikován [99]. Autoři Azevedo a kol. [100] zjistili, že chitosanové povlaky připravené odléváním z 1,5 %ního roztoku kyseliny octové nevykazovaly téměř žádnou antimikrobiální aktivitu, což lze vysvětlit zpomalenou difúzí agarovým médiem, čímž dochází pouze k inhibici mikroorganismů, které jsou v přímém kontaktu s aktivními

místy chitosanové struktury. Stejný jev byl pozorován autory práce [101], kteří se zabývali studiem chitosanových filmů s obsahem propolisového extraktu.

Alginátové filmy samy o sobě nevykazují antibakteriální aktivitu, což bylo potvrzeno ve studii [102], v níž autoři charakterizovali alginátové filmy s obsahem oleje z oregana. Inhibiční zóny nebyly pozorovány ani u jedné ze čtyř vybraných bakterií (*Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*).

Efstratiou [103] pozoroval antimikrobiální vlastnosti methanolových a ethanolových extraktů měsíčku lékařského. Výsledky diskové difúzní metody ukázaly, že testované extrakty z okvětních lístků měsíčku měly srovnatelné antibakteriální účinky proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Methanolový extrakt vykazoval větší inhibici proti většině bakterií než extrakt z ethanolu (kromě *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecalis*). Také třezalka tečkovaná vykazuje antibakteriální aktivitu proti řadě bakteriálním a plísnovým kmenům, a to zejména díky její hlavní složce, hypoforinu. Dle studie [104] byly prokázány antibakteriální vlastnosti různých extraktů třezalky (v petroletheru, metanolu, chloroformu a ethyl-acetátu) vůči gram-pozitivním bakteriím.

V případě našich filmů nebyly zaznamenány žádné inhibiční zóny okolo vzorků, takže nedocházelo k difuzi aktivní látky do prostředí (vybrané vzorky chitosanu a alginátu lze vidět na Obr. 32). Při provádění experimentu navíc docházelo k botnání a deformaci vyseknutých vzorků filmů, což celý postup značně komplikovalo. Na základě těchto výsledků lze doporučit provést během dalších experimentů ještě jiný typ antibakteriálního testu s vyšší citlivostí detekce, který by mohl napomoci k rozšíření informací o potenciální biologické aktivitě připravených systémů.



Obrázek 32 Vzorky filmů po 24 h inkubaci a) CH/ME/1 b) SA/ME/1 (*Escherichia coli*)

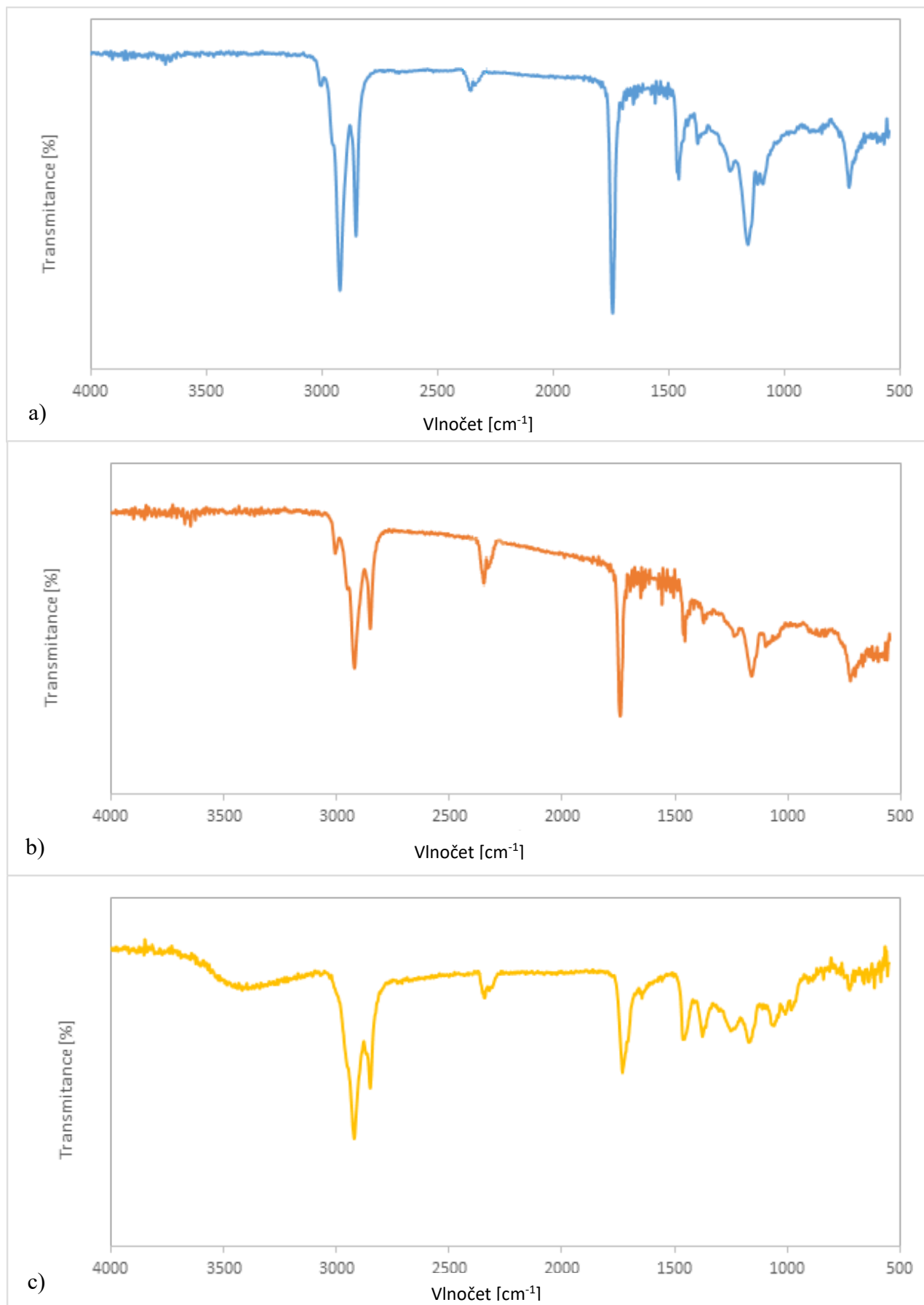
7.10 FTIR analýza

FTIR analýza byla použita k charakterizaci funkčních skupin alginátových a chitosanových filmů s obsahem i bez obsahu aktivní směsi, ale také samotných rostlinných olejů a extraktu.

V případě třezalkového oleje (Obr. 33a) můžeme pozorovat specifické píky spojené s protaženou vibrací C-H vazby (2853 cm^{-1} a 2923 cm^{-1}). Intenzivní pík pozorovaný při 1744 cm^{-1} je spojován s karbonylovými skupinami přítomnými v esterových vazbách. Také píky okolo 1600 cm^{-1} jsou přisuzovány vazbám karbonylové skupiny. Signál střední intenzity okolo 1430 cm^{-1} představuje ohybové vibrace vazby C-H. Pík při přibližně 1060 cm^{-1} odpovídá protaženým vibracím jednoduchých vazeb C–O [105], [106].

Olej z měsíčku (Obr. 33b) vykazoval píky charakteristické pro alkylové a C-H skupiny (2921 cm^{-1}) a také pro etherové vazby (1236 a 1159 cm^{-1}). Úzký pík pozorovaný při 1458 cm^{-1} odpovídá antisymetrickému pásu methylových funkčních skupin. Pík okolo 1743 cm^{-1} je přiřazován karbonylovému protažení organických kyselin a fenolických sloučenin, které jsou hlavními složkami měsíčku. Pík při 1094 cm^{-1} dokazuje přítomnost terpenoidních a flavonových sloučenin [107], [108].

Co se týče měsíčkového extraktu (Obr. 33c), zde lze oproti měsíčkovému oleji pozorovat široký pás při 3421 cm^{-1} , který dokazuje přítomnost protažené vibrace hydroxylových skupin [109].



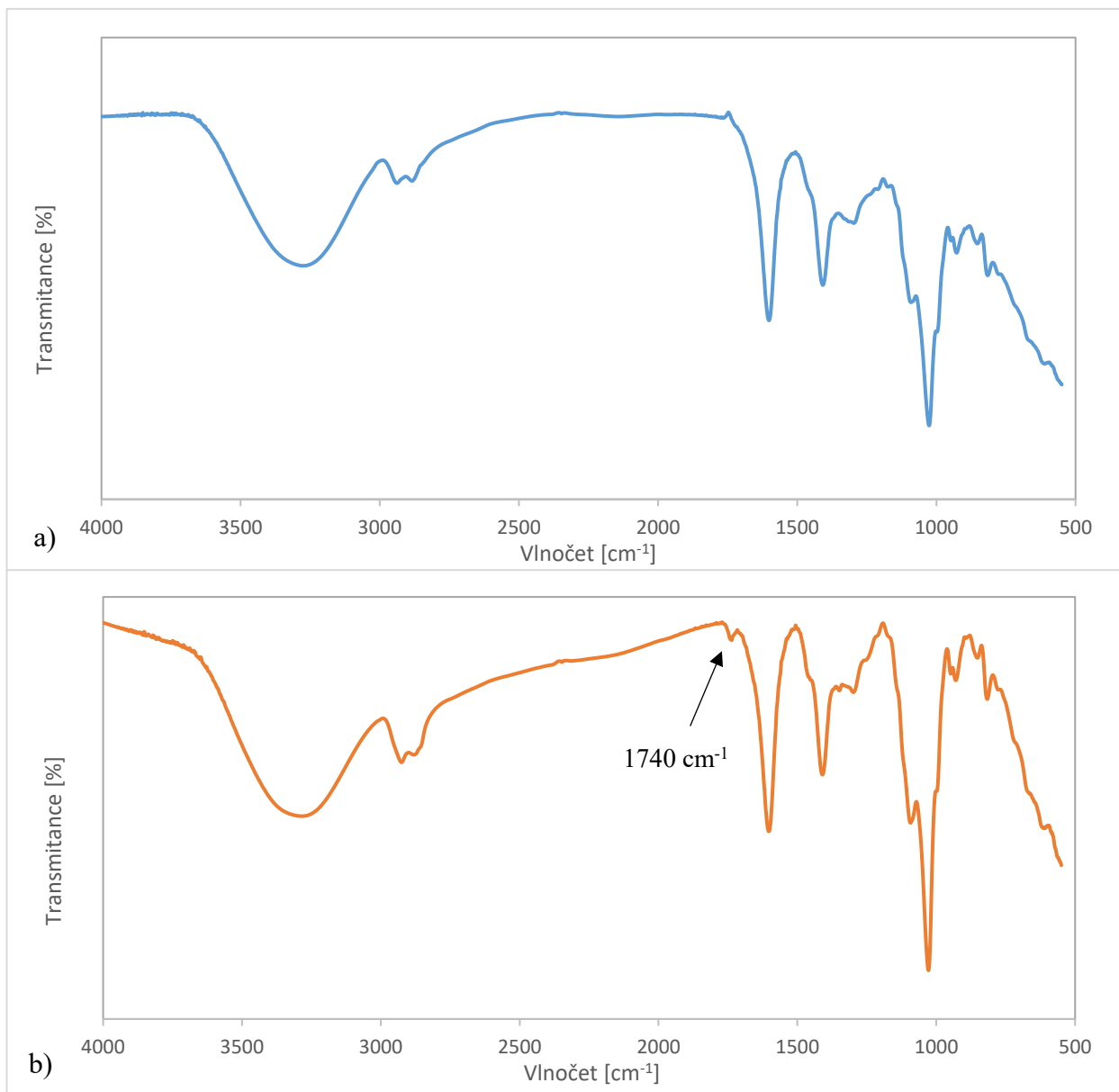
Obrázek 33 FTIR spektra bylinných výtažků a) TO b) MO c) ME

Získaná spektra alginátových a chitosanových filmů jsou znázorněna na Obr. 34 až 35. U kontrolního vzorku alginátu (Obr. 34a) můžeme pozorovat absorpční pásy kolem 1600–1602 cm^{-1} , které reflektují přítomnost asymetrické protažené vibrace karboxylátu (COO^-), která potvrzuje bohaté zastoupení uronové kyseliny v tomto polymeru. Píky okolo 1403–1415 cm^{-1} souvisejí s deformační vibrací C-OH a také s asymetrickou protaženou vibrací skupiny COO^- . Kontrolní vzorek alginátu vykazuje pás 1022–1030 cm^{-1} , který odpovídá vazbám CO a C-O-C. Velký pás pozorovaný při 3277 cm^{-1} může odkazovat na vibraci vazby O-H, zatímco další pás při 2921 cm^{-1} může odkazovat na vibraci vazby C-H. Pík objevující se při 929 cm^{-1} je důkazem přítomnosti kyseliny uronové s protaženou vibrací vazby C-O. Pík při 869 cm^{-1} souvisí s C-H vazbou kyseliny α -l-gulonové a pík při 815 cm^{-1} charakterizuje zbytky kyseliny mannuronové [94].

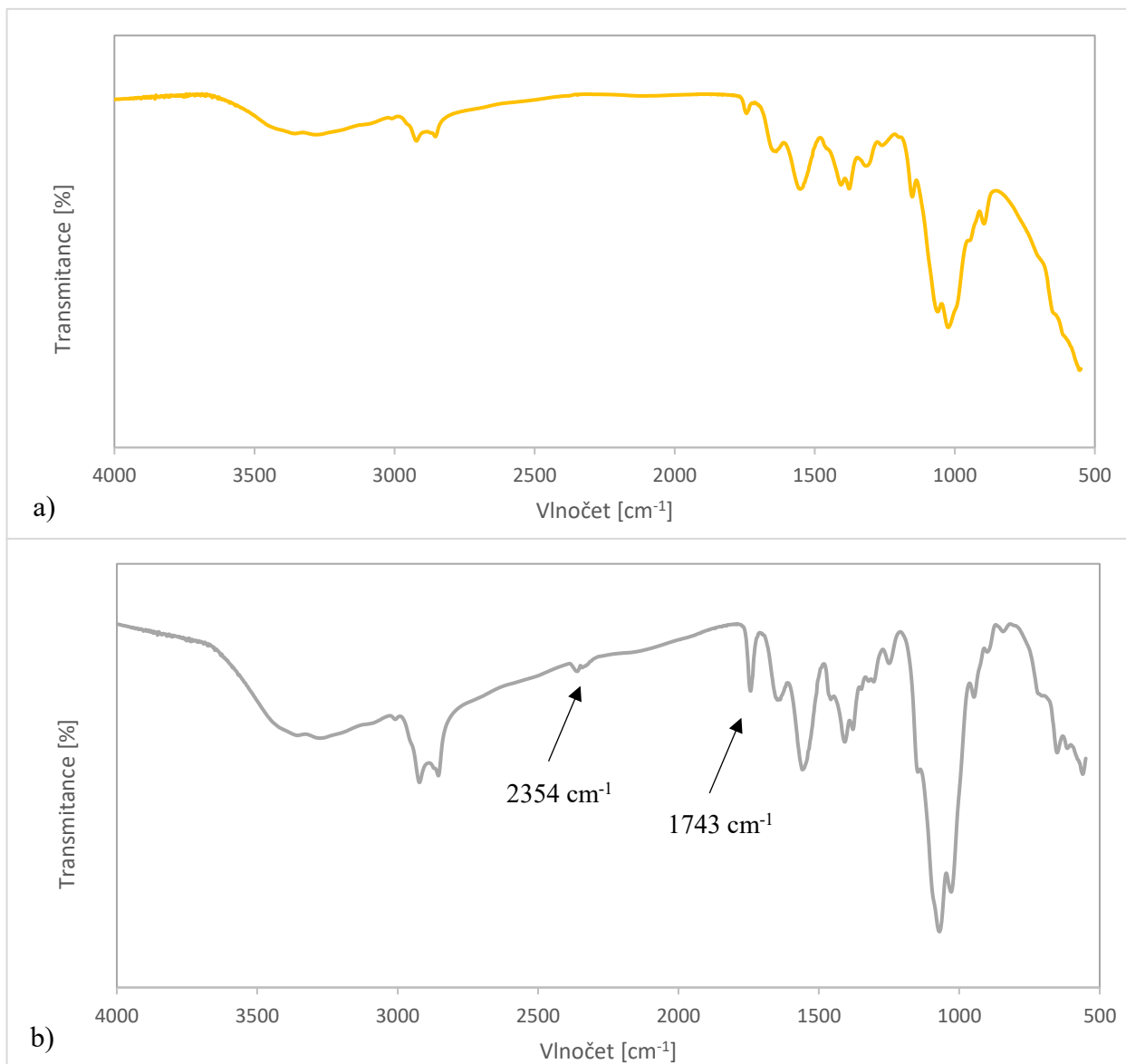
U vzorku alginátu s přidavkem aktivní směsi (Obr. 34b) lze detekovat pík v oblasti 1740 cm^{-1} , který se objevuje i u spektra samotného měsíčkového oleje (Obr. 33b), který by mohl indikovat slabší interakci mezi polymerem a měsíčkovým olejem.

Chitosanový film (Obr. 35a) vykazoval široký pás při 3278 cm^{-1} , což odpovídá protažené vibraci -OH a N-H, stejně jako intramolekulárním vodíkovým můstkům. Polysacharidy vykazují typické absorpční pásy kolem 2921 a 2874 cm^{-1} , které se připisují C-H vazbám. Píky okolo 1645 (amid I) a 1325 cm^{-1} (amid III) dokazují přítomnost N-acetylových zbytků. Třetí charakteristický pík dokazující N-acetylovou vazbu je pík okolo 1550 cm^{-1} . Píky okolo 1407 a 1377 cm^{-1} dokládají přítomnost CH_2 a CH_3 symetrických deformací. Absorpční pík při 1148 cm^{-1} lze přiřadit asymetrickému roztažení můstku C-O-C vazby. Pásky při 1066 a 1029 cm^{-1} značí C-O vazbu [110], [111].

Rovněž u modifikovaného chitosanového filmu (Obr. 35b) můžeme pozorovat slabší interakce mezi polymerem a měsíčkovým olejem, v důsledku vzniku dvou nových píků při 1743 cm^{-1} a 2354 cm^{-1} . Pík okolo 1743 cm^{-1} byl rovněž pozorován autory studie [107] u vzorků karboxymethylcelulósových filmů s obsahem měsíčkového extraktu a autory Rathod a kol. [112], kteří připravovali kolagenové filmy s měsíčkovým extraktem.



Obrázek 34 FTIR spektra vzorků a) SA b) SA/MO/2



Obrázek 35 FTIR spektra vzorků a) CH b) CH/MO/2

ZÁVĚR

Cílem předložené práce byla příprava a charakterizace biopolymerních filmů na bázi polysacharidů, chitosanu nebo alginátu sodného, s obsahem bylinných výtažků (třezalkový, měsíčekový olej a měsíčekový extrakt). U připravených filmů byl hodnocen vliv inkorporace zmíněných rostlinných složek na mechanické, povrchové, antioxidační a antibakteriální vlastnosti. Kromě těchto charakteristik byly u filmů sledovány také barevné změny, jejich rozpustnost a vlhkost.

V rámci experimentální části byly připraveny tři sady vzorků od každého polysacharidu s různou koncentrací třezalkového a měsíčekového oleje, a dvě sady vzorků s rozdílnou koncentrací měsíčekového extraktu. Alginátové filmy s obsahem i bez obsahu aktivní směsi byly oproti chitosanovým filmům obecně velmi křehké, což se také odráželo při hodnocení mechanických vlastností. V případě chitosanových filmů došlo k postupnému snižování tahové pevnosti se zvyšující se koncentrací aktivní směsi, ovšem celkově byla jejich pevnost v tahu výrazně vyšší (nejvyšší získaná hodnota 69 MPa) než u filmů alginátových (nejvyšší dosažená pevnost 12 MPa). U alginátových filmů byl pozorován opačný trend, kdy inkorporací aktivní směsi došlo ve všech případech ke zvýšení tahové pevnosti, tudíž byla získána kompaktnější struktura. Na druhou stranu ale inkorporace aktivní směsi zapříčinila pokles elasticity.

V další části byly hodnoceny povrchové vlastnosti filmů, kdy ve všech případech došlo ke snížení kontaktního úhlu oproti kontrolnímu vzorku. Všechny filmy lze hodnotit jako hydrofilní, jelikož hodnoty kontaktních úhlů se pohybovaly pod 60°. S posuzováním hydrofility souvisí také hodnocení vlhkosti a rozpustnosti filmů. U alginátových filmů nedošlo k výraznějším změnám v obsahu vlhkosti v porovnání s kontrolním vzorkem, ovšem nebylo možno vyhodnotit rozpustnost vzorků, vzhledem k tomu, že při kontaktu s vodou došlo k jejich rozpuštění. V případě chitosanových filmů s obsahem aktivní směsi bylo pozorováno snížení jak vlhkosti, tak i rozpustnosti v porovnání s kontrolním vzorkem.

Mezi další charakteristiky, důležité pro případné praktické aplikace těchto polymerních systémů, patří antibakteriální a antioxidační aktivita. Difúzní diskovou metodou nebyly u žádných z filmů pozorovány inhibiční zóny vůči vybraným bakteriím. Využití jiného typu antibakteriálního testu s vyšší sensitivitou detekce by mohlo doplnit informace o případné biologické aktivitě připravených systémů. Co se týká hodnocení antioxidačních vlastností, byly zde pozorovány výrazné rozdíly mezi jednotlivými aktivními látkami. Kontrolní vzorek

chitosanu vykazoval určitou antioxidační aktivitu a po inkorporaci třezalkového oleje již nedošlo k výrazným změnám. Vyznamný úbytek absorbance (okolo 65 %) byl ovšem pozorován u filmů s obsahem 2 hm. % měsíčkového oleje a 1 hm. % měsíčkového extraktu. Na rozdíl od chitosanového filmu kontrolní vzorek alginátu sodného nevykazoval žádnou antioxidační aktivitu. Ta byla zaznamenána po přidavku aktivních směsí, přičemž nejvyšší hodnoty byly prokázány opět u filmů s přidavkem měsíčkového oleje a extraktu, které byly přesto výrazně nižší, než u jejich chitosanových protějšků.

Poslední část této práce byla věnována hodnocení případných strukturních změn v modifikovaných polymerních nosičích pomocí FTIR spektroskopie. Získaná spektra ukázala, že původní struktura obou použitých polysacharidů byla zachována i po inkorporaci aktivních směsí. Slabší interakci mezi polymerem a měsíčkovým olejem lze předpokládat na základě píku v oblasti 1740 cm^{-1} .

Závěrem lze konstatovat, že inkorporací bylinných výtažků do polymerních nosičů je možno výrazně ovlivnit jejich mechanické, povrchové nebo také antioxidační vlastnosti. Vzorky byly připraveny metodou odlévání z roztoku, což je nenáročná a ekonomicky příznivá technika. Navíc, díky charakteru vybraných polymerů i bylinných výtažků, se jedná o ekologicky šetrné a snadno biologicky odbouratelné alternativy syntetických materiálů, které mohou nalézt uplatnění v řadě aplikačních oblastí.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. GONG, Hexin, Weinan LI, Jialin SUN, Li JIA, Qingxia GUAN, Yuyan GUO a Yanhong WANG. A review on plant polysaccharide based on drug delivery system for construction and application, with emphasis on traditional Chinese medicine polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2022, 211, 711-728 [cit. 2023-03-31]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.05.087
2. MOHAMMED, Aiman Saleh A., Muhammad NAVEED a Norbert JOST. Polysaccharides; Classification, Chemical Properties, and Future Perspective Applications in Fields of Pharmacology and Biological Medicine (A Review of Current Applications and Upcoming Potentialities). *Journal of Polymers and the Environment* [online]. 2021, 29(8), 2359-2371 [cit. 2023-03-31]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-021-02052-2
3. TUDU, Mousumi a Amalesh SAMANTA. Natural polysaccharides: Chemical properties and application in pharmaceutical formulations. *European Polymer Journal* [online]. 2023, 184 [cit. 2023-03-31]. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2022.111801
4. GONG, Hexin, Weinan LI, Jialin SUN, Li JIA, Qingxia GUAN, Yuyan GUO a Yanhong WANG. A review on plant polysaccharide based on drug delivery system for construction and application, with emphasis on traditional Chinese medicine polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2022, 211, 711-728 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.05.087
5. MENG, Qingye, Shuangling ZHONG, Lifeng XU, Jingfei WANG, Zhenqian ZHANG, Yan GAO a Xuejun CUI. Review on design strategies and considerations of polysaccharide-based smart drug delivery systems for cancer therapy. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2022, 279 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2021.119013
6. AL-MAQTARI, Qais Ali, Adel Ali Saeed AL-GHEETHI, Abduljalil D.S. GHALEB, et al., 2022. Fabrication and characterization of chitosan/gelatin films loaded with microcapsules of *Pulicaria jaubertii* extract. *Food Hydrocolloids*

- [online]. 129 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107624
7. DAVIS, SAMUEL P., 2011. Chitosan : manufacture, properties, and usage [online]. 1. New York: Nova Science Publishers [cit. 2023-04-14]. ISBN 978-1-61942-780-8. Dostupné z: <https://www.scribd.com/document/389464169/Chitosan-Manufacture-Properties-and-Usage>
 8. CHEN, Yu, Yong LIU, Qingfeng DONG, Changhua XU, Shanggui DENG, Yongfeng KANG, Min FAN a Li LI, 2023. Application of functionalized chitosan in food: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 235 [cit. 2023-03-20]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.123716
 9. XIANG, Wei, Hui CAO, Hai TAO, Lin JIN, Yue LUO, Fenghua TAO a Ting JIANG, 2023. Applications of chitosan-based biomaterials: From preparation to spinal cord injury neuroprosthetic treatment. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 230 [cit. 2023-03-20]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.123447
 10. WANG, Jianlong a Shuting ZHUANG. Chitosan-based materials: Preparation, modification and application. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2022, 355 [cit. 2023-04-14]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2022.131825
 11. ISSAHAKU, Ibrahim, Isaac K. TETTEH a Antonia Y. TETTEH. Chitosan and chitosan derivatives: Recent advancements in production and applications in environmental remediation. *Environmental Advances* [online]. 2023, 11 [cit. 2023-04-14]. ISSN 26667657. Dostupné z: doi:10.1016/j.envadv.2023.100351
 12. LIU, Zhicheng, Yanzi XU, Huining SU, et al. Chitosan-based hemostatic sponges as new generation hemostatic materials for uncontrolled bleeding emergency: Modification, composition, and applications. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2023, 311 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2023.120780
 13. KESHVARDOOSTCHOKAMI, Mina, Mahyar MAJIDI, Abbasali ZAMANI a Bo LIU. A review on the use of chitosan and chitosan derivatives as the bio-adsorbents for the water treatment: Removal of nitrogen-containing pollutants. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2021, 273 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2021.118625

14. TIAN, Bingren a Jiayue LIU. Smart stimuli-responsive chitosan hydrogel for drug delivery: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2023, 235 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.123902
15. DO, Nga H.N., Quyen T. TRUONG, Phung K. LE a Anh C. HA. Recent developments in chitosan hydrogels carrying natural bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2022, 294 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2022.119726
16. BAJIĆ, Marijan, Tina ROČNIK, Ana OBERLINTNER, Francesca SCOGNAMIGLIO, Uroš NOVAK a Blaž LIKOZAR. Natural plant extracts as active components in chitosan-based films: A comparative study. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2019, 21 [cit. 2023-04-14]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2019.100365
17. LECETA, Itsaso, Pedro GUERRERO, Sara CABEZUDO a Koro de la CABA. Environmental assessment of chitosan-based films. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2013, 41, 312-318 [cit. 2023-04-14]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2012.09.049
18. MOHAMMED, Munawar, Jaweria SYEDA, Kishor WASAN a Ellen WASAN, 2017. An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery. *Pharmaceutics* [online]. 9(4) [cit. 2023-04-22]. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics9040053
19. CAI, Ning, Chao LI, Chao HAN, Xiaogang LUO, Liang SHEN, Yanan XUE a Faquan YU. Tailoring mechanical and antibacterial properties of chitosan/gelatin nanofiber membranes with Fe₃O₄ nanoparticles for potential wound dressing application. *Applied Surface Science* [online]. 2016, 369, 492-500 [cit. 2023-04-22]. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2016.02.053
20. REZAEI, Farnoush Sadat, Fariborz SHARIFIANJAZI, Amirhossein ESMAEILKHANIAN a Ehsan SALEHI. Chitosan films and scaffolds for regenerative medicine applications: A review. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2021, 273 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2021.118631

21. AHMAD RAUS, Raha, Wan Mohd Fazli WAN NAWAWI a Ricca Rahman NASARUDDIN. Alginate and alginate composites for biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2021, 16(3), 280-306 [cit. 2023-04-14]. ISSN 18180876. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajps.2020.10.001
22. BENNACEF, Chanez, Sylvie DESOBRY-BANON, Laurent PROBST a Stéphane DESOBRY. Advances on alginate use for spherification to encapsulate biomolecules. *Food Hydrocolloids* [online]. 2021, 118 [cit. 2023-04-14]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106782
23. YANG, Ji-Sheng, Ying-Jian XIE a Wen HE. Research progress on chemical modification of alginate: A review. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2011, 84(1), 33-39 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.048
24. FU, Shao, Ankur THACKER, Diana M. SPERGER, Riccardo L. BONI, Ira S. BUCKNER, Sachin VELANKAR, Eric J. MUNSON a Lawrence H. BLOCK. Relevance of Rheological Properties of Sodium Alginate in Solution to Calcium Alginate Gel Properties. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2011, 12(2), 453-460 [cit. 2023-04-14]. ISSN 1530-9932. Dostupné z: doi:10.1208/s12249-011-9587-0
25. Vysoké učení technické v Brně [online]. [cit. 14.04.2023]. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=172484
26. DRAGET, K.I. Alginates. In: *Handbook of Hydrocolloids* [online]. Elsevier, 2009, 2009, s. 807-828 [cit. 2023-04-22]. ISBN 9781845694142. Dostupné z: doi:10.1533/9781845695873.807
27. OKOLIE, Chigozie Louis, Beth MASON, Aishwarya MOHAN, Nancy PITTS a Chibuike C. UDENIGWE. Extraction technology impacts on the structure-function relationship between sodium alginate extracts and their in vitro prebiotic activity. *Food Bioscience* [online]. 2020, 37 [cit. 2023-04-14]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2020.100672
28. HU, Chuhuan, Wei LU, Analucia MATA, Katsuyoshi NISHINARI a Yapeng FANG. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2021, 177, 578-588 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.086

29. FERNÁNDEZ FARRÉS, I. a I.T. NORTON. Formation kinetics and rheology of alginate fluid gels produced by in-situ calcium release. *Food Hydrocolloids* [online]. 2014, 40, 76-84 [cit. 2023-04-14]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2014.02.005
30. GUO, Xi, Yan WANG, Yimin QIN, Peili SHEN a Qiang PENG. Structures, properties and application of alginic acid: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, 162, 618-628 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.06.180
31. PAWAR, Siddhesh N. a Kevin J. EDGAR. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials* [online]. 2012, 33(11), 3279-3305 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2012.01.007
32. SPADARI, Cristina de Castro, Luciana B. LOPES a Kelly ISHIDA. Potential Use of Alginate-Based Carriers As Antifungal Delivery System. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2017, 8 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2017.00097
33. AHMAD RAUS, Raha, Wan Mohd Fazli WAN NAWAWI a Ricca Rahman NASARUDDIN. Alginate and alginate composites for biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2021, 16(3), 280-306 [cit. 2023-04-14]. ISSN 18180876. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajps.2020.10.001
34. ZHANG, Hengtong, Junqiu CHENG a Qiang AO. Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. *Marine Drugs* [online]. 2021, 19(5) [cit. 2023-04-15]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md19050264
35. VARAPRASAD, Kokkarachedu, Tippabattini JAYARAMUDU, Vimala KANIKIREDDY, Claudio TORO a Emmanuel Rotimi SADIKU. Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2020, 236 [cit. 2023-04-15]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.116025
36. BARBU, Andreea, Marius ZĂHAN, Neamtu BOGDAN a Mireșan VIOARA, 2020. Trends in alginate-based films and membranes for wound healing. *Romanian Biotechnological Letters* [online]. 25(4), 1681-1689 [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: doi:10.25083/rbl/25.4/1683.1689

37. ZHU, Xiuzhi, Geyuan JIANG, Gang WANG, et al. Cellulose-based functional gels and applications in flexible supercapacitors. *Resources Chemicals and Materials* [online]. 2023, 2(2), 177-188 [cit. 2023-04-23]. ISSN 27724433. Dostupné z: doi:10.1016/j.recm.2023.03.004
38. VERDÍA BARBARÁ, Pedro, Aida ABOUELELA RAFAT, Jason P. HALLETT a Agnieszka BRANDT-TALBOT. Purifying cellulose from major waste streams using ionic liquids and deep eutectic solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* [online]. 2023, 41 [cit. 2023-04-23]. ISSN 24522236. Dostupné z: doi:10.1016/j.cogsc.2023.100783
39. HAN, Zhuorui, Hong ZHU a Jun-Hu CHENG. Structure modification and property improvement of plant cellulose: Based on emerging and sustainable nonthermal processing technologies. *Food Research International* [online]. 2022, 156 [cit. 2023-04-23]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2022.111300
40. POPA, Valentin, ed., 2011. *Polysaccharides in Medicinal and Pharmaceutical Applications*. 1. Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, SY4 4NR, UK: Smithers Rapra. ISBN 978-1-84735-436-5.
41. AZMAN MOHAMMAD TAIB, Mohamad Nurul, Tuan Sherwyn HAMIDON, Zaharaddeen N. GARBA, Djalal TRACHE, Hiroshi UYAMA a M. Hazwan HUSSIN. Recent progress in cellulose-based composites towards flame retardancy applications. *Polymer* [online]. 2022, 244 [cit. 2023-04-23]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2022.124677
42. YAN, Guihua, Binglin CHEN, Xianhai ZENG, Yong SUN, Xing TANG a Lu LIN. Recent advances on sustainable cellulosic materials for pharmaceutical carrier applications. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2020, 244 [cit. 2023-05-02]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.116492
43. KAMEL, S., N. ALI, K. JAHANGIR, S. M. SHAH a A. A. EL-GENDY. Pharmaceutical significance of cellulose: A review. *Express Polymer Letters* [online]. 2008, 2(11), 758-778 [cit. 2023-04-23]. ISSN 1788618X. Dostupné z: doi:10.3144/expresspolymlett.2008.90
44. STEPHEN, Alistar M., Glyn O. PHILLIPS a Peter A. WILLIAMS, ed., 2006. *Food Polysaccharides and Their Applications*. 2. Florida: Taylor & Francis Group. ISBN 0-8247-5922-2.

45. THIVYA, P, S AKALYA a V R SINIJA. A comprehensive review on cellulose-based hydrogel and its potential application in the food industry. *Applied Food Research* [online]. 2022, 2(2) [cit. 2023-05-02]. ISSN 27725022. Dostupné z: doi:10.1016/j.afres.2022.100161
46. NGUYEN, Ly, Lam T. DUONG a Rao S. MENTREDDY. The U.S. import demand for spices and herbs by differentiated sources. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* [online]. 2019, 12, 13-20 [cit. 2023-04-15]. ISSN 22147861. Dostupné z: doi:10.1016/j.jarmap.2018.12.001
47. GURIB-FAKIM, Ameenah. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. 2006, 27(1), 1-93 [cit. 2023-04-22]. ISSN 00982997. Dostupné z: doi:10.1016/j.mam.2005.07.008
48. SADDIQE, Zeb, Ismat NAEEM a Alya MAIMOONA. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2010, 131(3), 511-521 [cit. 2023-04-15]. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2010.07.034
49. Třezalka tečkovaná - královna svatojánské noci | NaturWay. NaturWay - Bylinky a čaje z celého světa [online]. [cit. 15.04.2023]. Dostupné z: <https://www.naturway.cz/rady-postupy/trezalka-teckovana-kralovna-svatojanske-noci>
50. MUTLU, Betül, Fatih ERCI a Rabia ÇAKIR KOÇ. Production of alginate films containing *Hypericum perforatum* extract as an antibacterial and antioxidant wound dressing material. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* [online]. 2022, 37(2), 134-148 [cit. 2023-04-15]. ISSN 0883-9115. Dostupné z: doi:10.1177/08839115211073155
51. Hypericin - Wikipedia. [online]. [cit. 2023-04-15] Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hypericin#/media/File:Hypericin2DACS.svg>
52. NAHRSTEDT, A. a V. BUTTERWECK. Biologically Active and Other Chemical Constituents of the Herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* [online]. 1997, 30(S 2), 129-134 [cit. 2023-04-15]. ISSN 0176-3679. Dostupné z: doi:10.1055/s-2007-979533

53. NOBAKHT, Seyedeh Zahra, Maryam AKABERI, Amir Hooshang MOHAMMADPOUR, Ali Tafazoli MOGHADAM a Seyed Ahmad EMAMI, 2022. *Hypericum perforatum*: Traditional uses, clinical trials, and drug interactions. *Iran J Basic Med Sci* [online]. 2022, 25, 1045-1058 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: doi:10.22038/IJBMS.2022.65112.14338
54. YILMAZOĞLU, Emre, Metin HASDEMİR a Belma HASDEMİR. Recent Studies on Antioxidant, Antimicrobial, and Ethnobotanical Uses of *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry* [online]. 373-394 [cit. 2023-04-23]. ISSN 2149-0120. Dostupné z: doi:10.18596/jotcsa.1024791
55. CHITRAKAR, Bimal, Min ZHANG a Bhesh BHANDARI. Edible flowers with the common name “marigold”: Their therapeutic values and processing. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2019, 89, 76-87 [cit. 2023-04-15]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2019.05.008
56. *Calendula officinalis* 1a [online]. [cit. 2023-04-15]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Calendula_officinalis_1a.JPG
57. GARRIDO-SUÁREZ, Bárbara B., Gabino GARRIDO, Addis Bellma MENÉNDEZ, et al. Topical *Calendula officinalis* L. inhibits inflammatory pain through antioxidant, anti-inflammatory and peripheral opioid mechanisms. *Journal of Integrative Medicine* [online]. 2023, 21(1), 34-46 [cit. 2023-04-15]. ISSN 20954964. Dostupné z: doi:10.1016/j.joim.2022.10.002
58. Quercetin - Wikipedia. [online]. [cit. 2023-04-15] Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Quercetin#/media/File:Quercetin.svg>
59. EFSTRATIOU, Efstratios, Abdullah I. HUSSAIN, Poonam S. NIGAM, John E. MOORE, Muhammad A. AYUB a Juluri R. RAO. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice* [online]. 2012, 18(3), 173-176 [cit. 2023-04-15]. ISSN 17443881. Dostupné z: doi:10.1016/j.ctcp.2012.02.003
60. MISHRA, Arun K., Amrita MISHRA, PRAGYA a Pronobesh CHATTOPADHYAY. Screening of acute and sub-chronic dermal toxicity of *Calendula officinalis* L essential oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*

- [online]. 2018, 98, 184-189 [cit. 2023-04-15]. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1016/j.yrtph.2018.07.027
61. ASHWLAYAN, Vrish Dhvaj, Amrish KUMAR, Mansi VERMA, Vipin Kumar GARG a SK GUPTA. Therapeutic Potential of Calendula officinalis. Pharmacy & Pharmacology International Journal [online]. 2018, 6(2) [cit. 2023-04-15]. ISSN 23796367. Dostupné z: doi:10.15406/ppij.2018.06.00171
62. TOLOUEE, Marziyeh, Soheil ALINEZHAD, Reza SABERI, et al. Effect of Matricaria chamomilla L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of Aspergillus niger van Tieghem. International Journal of Food Microbiology [online]. 2010, 139(3), 127-133 [cit. 2023-04-15]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.032
63. Heřmánek pravý - Bylinky.info. Bylinky - Bylinky.info [online]. [cit. 15.04.2023]. Dostupné z: <https://bylinky.info/hermanek-pravy>
64. EL MIHYAOUI, Amina, Joaquim C. G. ESTEVES DA SILVA, Saoulajan CHARFI, María Emilia CANDELA CASTILLO, Ahmed LAMARTI a Marino B. ARNAO. Chamomile (Matricaria chamomilla L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses. Life [online]. 2022, 12(4) [cit. 2023-04-15]. ISSN 2075-1729. Dostupné z: doi:10.3390/life12040479
65. Bisabolol – Wikipedie. [online]. [cit. 2023-04-15] Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Bisabolol#/media/Soubor:Bisabolol-Line-Structure.svg>
66. CHAUHAN, Ramesh, Sanatsujat SINGH, Vikas KUMAR, Ashok KUMAR, Amit KUMARI, Shalika RATHORE, Rakesh KUMAR a Satbeer SINGH. A Comprehensive Review on Biology, Genetic Improvement, Agro and Process Technology of German Chamomile (Matricaria chamomilla L.). Plants [online]. 2022, 11(1) [cit. 2023-04-15]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants11010029
67. MOHD NIZAM, Nuraina Hanim, Nurul Fazita MOHAMMAD RAWI, Sitti Fatimah MHD RAMLE, Azniwati ABD AZIZ, C.K. ABDULLAH, A. RASHEDI a Mohamad Haafiz MOHAMAD KASSIM. Physical, thermal, mechanical, antimicrobial and physicochemical properties of starch based film containing aloe vera: a review. Journal of Materials Research and Technology [online]. 2021, 15,

- 1572-1589 [cit. 2023-04-23]. ISSN 22387854. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmrt.2021.08.138
68. ALOE VERA (L.) Burm. f. – aloes obecný | BOTANY.cz. BOTANY.cz - Zajímavosti ze světa rostlin [online]. [cit. 09.05.2023]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/aloe-vera/>
69. KIM, Sang-Tae, Peter PRESSMAN, Roger CLEMENS, Allison MOORE, Ryan HAMILTON a A. Wallace HAYES. The absence of genotoxicity of Aloe vera beverages: A review of the literature. Food and Chemical Toxicology [online]. 2023, 174 [cit. 2023-04-23]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2023.113628
70. MAJUMDER, Ranabir, Chandan Kanta DAS a Mahitosh MANDAL. Lead bioactive compounds of Aloe vera as potential anticancer agent. Pharmacological Research [online]. 2019, 148 [cit. 2023-04-23]. ISSN 10436618. Dostupné z: doi:10.1016/j.phrs.2019.104416
71. ALOIN A | P-LAB = Potřeby pro laboratoř, Chemikálie, Life Science, Nábytek. P-LAB = Potřeby pro laboratoř, Chemikálie, Life Science, Nábytek [online]. [cit. 23.04.2023]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/aloin-a>
72. MARTÍNEZ-BURGOS, Walter Jose, Josilene Lima SERRA, Ronald M. MARSIGLIAF, Pedro MONTOYA, Zulma SARMIENTO-VÁSQUEZ, Oranys MARIN, Euler GALLEGGO-CARTAGENA a Carlos D. PATERNINA-ARBOLEDA. Aloe vera: From ancient knowledge to the patent and innovation landscape – A review. South African Journal of Botany [online]. 2022, 147, 993-1006 [cit. 2023-04-23]. ISSN 02546299. Dostupné z: doi:10.1016/j.sajb.2022.02.034
73. ALOUI, Hajer, Aarti R. DESHMUKH, Chanin KHOMLAEM a Beom Soo KIM. Novel composite films based on sodium alginate and gallnut extract with enhanced antioxidant, antimicrobial, barrier and mechanical properties. Food Hydrocolloids [online]. 2021, 113 [cit. 2023-05-06]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106508
74. KHARAT, Zahra, Mehdi AMIRI GOUSHKI, Nazanin SARVIAN, Sedigheh ASAD, Mohammad Mehdi DEGHAN a Mahboubeh KABIRI, 2021. Chitosan/PEO nanofibers containing Calendula officinalis extract: Preparation, characterization, in vitro and in vivo evaluation for wound healing applications. International Journal of

- Pharmaceutics [online]. 609 [cit. 2023-04-15]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2021.121132
75. GENESI, Bianca P., Raquel DE MELO BARBOSA, Patricia SEVERINO, et al. Aloe vera and copaiba oleoresin-loaded chitosan films for wound dressings: microbial permeation, cytotoxicity, and in vivo proof of concept. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2023, 634 [cit. 2023-05-06]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2023.122648
76. GÜNEŞ, Seda a Funda TIHMINLIOĞLU, 2017. Hypericum perforatum incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 102, 933-943 [cit. 2023-01-28]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.080
77. GASPAR, Ana L., Ana B. GASPAR, Luana R.F. CONTINI, et al. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*)-incorporated chitosan bioactive films for potential skincare applications. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2022, 628 [cit. 2023-05-06]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2022.122301
78. SANTOS, Luan Gustavo, Gisele Fernanda Alves SILVA, Bruno Marques GOMES a Vilásia Guimarães MARTINS. A novel sodium alginate active films functionalized with purple onion peel extract (*Allium cepa*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. 2021, 35 [cit. 2023-04-27]. ISSN 18788181. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcab.2021.102096
79. DA SILVA FILIPINI, Gabriel, Viviane Patrícia ROMANI a Vilásia GUIMARÃES MARTINS. Biodegradable and active-intelligent films based on methylcellulose and jambolão (*Syzygium cumini*) skins extract for food packaging. *Food Hydrocolloids* [online]. 2020, 109 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106139
80. NOGUEIRA, Daiane, Natasha Spindola MARASCA, Juliana Machado LATORRES, Jorge Alberto Vieira COSTA a Vilásia Guimarães MARTINS. Effect of an active biodegradable package made from bean flour and açai seed extract on the quality of olive oil. *Polymer Engineering & Science* [online]. 2022, 62(4), 1070-1080 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0032-3888. Dostupné z: doi:10.1002/pen.25907
81. RAMBABU, Krishnamoorthy, Govindan BHARATH, Fawzi BANAT, Pau Loke SHOW a Heriberto Hernández COCOLETZI. Mango leaf extract incorporated

- chitosan antioxidant film for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, 126, 1234-1243 [cit. 2023-05-08]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.196
82. FARIAS, Natália Silva de, Bibiana SILVA, Ana Carolina DE OLIVEIRA COSTA a Carmen Maria Olivera MÜLLER. Alginate based antioxidant films with yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): Characterization and kinetics of phenolic compounds release. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2021, 28 [cit. 2023-05-08]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2020.100548
83. MUJTABA, Muhammad, Rania E. MORSI, Garry KERCH, Maher Z. ELSABEE, Murat KAYA, Jalel LABIDI a Khalid Mahmood KHAWAR. Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, 121, 889-904 [cit. 2023-04-15]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109
84. RUI, Liyun, Minhao XIE, Bing HU, Li ZHOU, Danyang YIN a Xiaoxiong ZENG. A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2017, 173, 473-481 [cit. 2023-04-15]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2017.05.072
85. GADGEY, K. K. a G. S. SHARMA. Investigation of mechanical properties of chitosan based films prepared from narmada riverside crab shells. *International journal of mechanical engineering and technology (IJMET)* [online]. 2020, 11(6) [cit. 2023-04-15]. ISSN 0976-6359. Dostupné z: doi:10.34218/IJMET.11.6.2020.003
86. WANG, Hongxia, Fuyuan DING, Liang MA a Yuhao ZHANG. Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application. *Food Bioscience* [online]. 2021, 40 [cit. 2023-04-15]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2020.100871
87. LUO, You, Haiqing LIU, Shanzhong YANG, Jiarui ZENG a Zhenqiang WU, 2019. Sodium Alginate-Based Green Packaging Films Functionalized by Guava Leaf Extracts and Their Bioactivities. *Materials* [online]. 12(18) [cit. 2023-03-31]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12182923
88. JOST, Verena, Karin KOBSIK, Markus SCHMID a Klaus NOLLER. Influence of plasticiser on the barrier, mechanical and grease resistance properties of alginate cast

- films. Carbohydrate Polymers [online]. 2014, 110, 309-319 [cit. 2023-04-15]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2014.03.096
89. OJAGH, Seyed Mahdi, Masoud REZAEI, Seyed Hadi RAZAVI a Seyed Mohamad Hashem HOSSEINI. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. Food Chemistry [online]. 2010, 122(1), 161-166 [cit. 2023-05-03]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2010.02.033
90. RHIM, Jong-Whan, Seok-In HONG, Hwan-Man PARK a Perry K. W. NG. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry [online]. 2006, 54(16), 5814-5822 [cit. 2023-05-09]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf060658h
91. ENGIN, Mehmet Soner, Fatmanur ZAMAHAY, Selin KALKAN a Mustafa Remzi OTAĞ, 2022. Physical, mechanical, and bioactive properties of edible film based on sodium alginate enriched with *Lythrum salicaria* L. extract. Journal of Food Processing and Preservation [online]. 46(6) [cit. 2023-03-31]. ISSN 0145-8892. Dostupné z: doi:10.1111/jfpp.16620
92. LI, Hui, Wen LI, Jingjing ZHANG, Guoyang XIE, Tengfei XIONG a Hengyi XU. Preparation and characterization of sodium alginate/gelatin/Ag nanocomposite antibacterial film and its application in the preservation of tangerine. Food Packaging and Shelf Life [online]. 2022, 33 [cit. 2023-05-08]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2022.100928
93. NAZURAH, R. Nur Fatin, M.A. NORANIZAN, M.A.R. NOR-KHAIZURA a Z.A. NUR HANANI. The potential of chitosan-based film with curry leaf essential oil as natural insect-repellent food packaging. Food Packaging and Shelf Life [online]. 2022, 34 [cit. 2023-05-03]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2022.100993
94. MAHCENE, Zineb, Aminata KHELIL, Sara HASNI, Perihan Kubra AKMAN, Fatih BOZKURT, Kamilia BIRECH, Mohamed Bilal GOUDJIL a Fatih TORNUK. Development and characterization of sodium alginate based active edible films incorporated with essential oils of some medicinal plants. International Journal of

- Biological Macromolecules [online]. 2020, 145, 124-132 [cit. 2023-04-27]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.12.093
95. ABDOLLAHI, Mehdi, Masoud REZAEI a Gholamali FARZI. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2012, 47(4), 847-853 [cit. 2023-05-03]. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02917.x
96. YÜCEL, Ali, Yüksel KAN, Erdem YESILADA a Onat AKIN. Effect of St.John's wort (*Hypericum perforatum*) oily extract for the care and treatment of pressure sores; a case report. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2017, 196, 236-241 [cit. 2023-04-15]. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2016.12.030
97. YILMAZ, P., E. DEMIRHAN a B. OZBEK. Development of *Ficus carica* Linn leaves extract incorporated chitosan films for active food packaging materials and investigation of their properties. *Food Bioscience* [online]. 2022, 46 [cit. 2023-04-15]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.101542
98. SANTOS, Luan Gustavo, Gisele Fernanda ALVES-SILVA a Vilásia Guimarães MARTINS. Active-intelligent and biodegradable sodium alginate films loaded with *Clitoria ternatea* anthocyanin-rich extract to preserve and monitor food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2022, 220, 866-877 [cit. 2023-04-27]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.08.120
99. ZHANG, Xinhui, Balarabe B. ISMAIL, Huan CHENG, Tony Z. JIN, Mengyan QIAN, Saifanassour Ali ARABI, Donghong LIU a Mingming GUO. Emerging chitosan-essential oil films and coatings for food preservation - A review of advances and applications. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2021, 273 [cit. 2023-04-15]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2021.118616
100. AZEVEDO, Alana Novaes, Paula Ribeiro BUARQUE, Elizângela Mércia Oliveira CRUZ, Arie Fitzgerald BLANK, Péricles Barreto ALVES, Maria Lúcia NUNES a Luciana Cristina Lins de Aquino SANTANA. Response surface methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bacteria. *Food Control* [online]. 2014, 43, 1-9 [cit. 2023-04-15]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2014.02.033

101. SIRIPATRAWAN, Ubonrat a Waranya VITCHAYAKITTI. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids* [online]. 2016, 61, 695-702 [cit. 2023-04-15]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2016.06.001
102. BENAVIDES, Sergio, R. VILLALOBOS-CARVAJAL a J.E. REYES. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering* [online]. 2012, 110(2), 232-239 [cit. 2023-04-15]. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.05.023
103. EFSTRATIOU, Efstratios, Abdullah I. HUSSAIN, Poonam S. NIGAM, John E. MOORE, Muhammad A. AYUB a Juluri R. RAO. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice* [online]. 2012, 18(3), 173-176 [cit. 2023-04-15]. ISSN 17443881. Dostupné z: doi:10.1016/j.ctcp.2012.02.003
104. AVATO, P., F. RAFFO, G. GUGLIELMI, C. VITALI a A. ROSATO. Extracts from St John's wort and their antimicrobial activity. *Phytotherapy Research* [online]. 2004, 18(3), 230-232 [cit. 2023-04-15]. ISSN 0951418X. Dostupné z: doi:10.1002/ptr.1430
105. EĞRI, Özlem a Name ERDEMIR. Production of *Hypericum perforatum* oil-loaded membranes for wound dressing material and in vitro tests. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* [online]. 2019, 47(1), 1404-1415 [cit. 2023-04-27]. ISSN 2169-1401. Dostupné z: doi:10.1080/21691401.2019.1596933
106. JARZĘBSKI, Maciej, Wojciech SMUŁEK, Hanna Maria BARANOWSKA, Łukasz MASEWICZ, Joanna KOBUS-CISOWSKA, Marta LIGAJ a Ewa KACZOREK. Characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and the impact of filtration process on bioactive extracts incorporated into carbohydrate-based hydrogels. *Food Hydrocolloids* [online]. 2020, 104 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2020.105748
107. HUANG, Wen-Hsin, Chia-Yi HUNG, Pao-Chang CHIANG, Hsiang LEE, I-Ting LIN, Pin-Chuang LAI, Ya-Hui CHAN a Sheng-Wei FENG. Physicochemical Characterization, Biocompatibility, and Antibacterial Properties of

- CMC/PVA/Calendula officinalis Films for Biomedical Applications. *Polymers* [online]. 2023, 15(6) [cit. 2023-04-27]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym15061454
108. AYYANAHALLI MATTA, Bharath Kumar, Santhosh KUMAR, Chetan Hasmukh MEHTA, Usha Yogendra NAYAK a Patricia Garcia RODRIGUEZ. Comparative Evaluation of the Effectiveness of a Combination of Absorbable Gelatin Sponge and Calendula officinalis with Absorbable Gelatin Sponge Used Alone as a Hemostatic Agent—An In-Vitro Study. *Dentistry Journal* [online]. 2022, 10(5) [cit. 2023-04-27]. ISSN 2304-6767. Dostupné z: doi:10.3390/dj10050076
109. POURHOJAT, Faegheh, Mahmoodreza SOHRABI, Shahab SHARIATI, Hamid MAHDAVI a Leila ASADPOUR. Evaluation of poly ϵ -caprolactone electrospun nanofibers loaded with Hypericum perforatum extract as a wound dressing. *Research on Chemical Intermediates* [online]. 2017, 43(1), 297-320 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0922-6168. Dostupné z: doi:10.1007/s11164-016-2623-7
110. FERNANDES QUEIROZ, Moacir, Karoline MELO, Diego SABRY, Guilherme SASSAKI a Hugo ROCHA. Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation?. *Marine Drugs* [online]. 2015, 13(1), 141-158 [cit. 2023-04-27]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md13010141
111. SONG, Chao, Hao YU, Min ZHANG, Yanyan YANG a Guren ZHANG. Physicochemical properties and antioxidant activity of chitosan from the blowfly *Chrysomya megacephala* larvae. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2013, 60, 347-354 [cit. 2023-04-27]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.05.039
112. RATHOD, Lalaji, Subhas BHOWMICK, Parul PATEL a Krutika SAWANT. Calendula flower extract loaded collagen film exhibits superior wound healing potential: Preparation, evaluation, in-vitro & in-vivo wound healing study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2022, 72 [cit. 2023-05-06]. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/j.jddst.2022.103363

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AGU	Anhydroglukózová jednotka
Ba ²⁺	Barnatý kation
Ca ²⁺	Vápenatý kation
CaCl ₂	Chlorid vápenatý
CAD	Z angličtiny computer aided design
CH	Chitosan
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
G	Zbytky kyseliny 1,4 α-l-guluronové
GAG	Glykosaminoglykany
M	Zbytky kyseliny β-d-manuronové
ME	Měsíčkový extrakt
MO	Měsíčkový olej
MRSA	Methicillin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
SA	Alginát sodný
Sr ²⁺	Strontnatý kation
TO	Třezalkový olej

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Klasifikace polysacharidů [upraveno dle 2, s. 2361]	12
Obrázek 2 Chemická struktura chitosanu [8, s. 2]	13
Obrázek 3 Chemická struktura alginátu [25, s. 16]	17
Obrázek 4 Chemická struktura celulózy [40, s. 2]	21
Obrázek 5 Třezalka tečkovaná [47]	24
Obrázek 6 Chemická struktura hypericinu [49]	25
Obrázek 7 Měsíček lékařský [54]	27
Obrázek 8 Chemická struktura kvercetinu [56]	28
Obrázek 9 Heřmánek pravý [61]	29
Obrázek 10 Chemická struktura bisabololu [63]	30
Obrázek 11 Aloe vera [66]	31
Obrázek 12 Chemická struktura aloinu A [69]	32
Obrázek 13 Ultra Turrax IKA® T-25	40
Obrázek 14 Tahová zkouška	41
Obrázek 15 Měření kontaktního úhlu	42
Obrázek 16 Spektrofotometr Jasco V-750 pro stanovení antioxidační aktivity	44
Obrázek 17 Vzhled filmů bez obsahu aktivní směsi a) SA b) CH	45
Obrázek 18 Vzhled alginátových filmů s obsahem aktivní směsi a) SA/TO/0,5 b) SA/TO/1 c) SA/TO/2 d) SA/MO/0,5 e) SA/MO/1 f) SA/MO/2	46
Obrázek 19 Vzhled chitosanových filmů s obsahem aktivní směsi a) CH/TO/0,5 b) CH/TO/1 c) CH/TO/2 d) CH/MO/0,5 e) CH/MO/1 f) CH/MO/2	46
Obrázek 20 Vzhled filmů s obsahem měsíčkového extraktu a) CH/ME/1 b) SA/ME/1	47
Obrázek 21 Tahová pevnost chitosanových filmů	50
Obrázek 22 Tahová pevnost alginátových filmů	52
Obrázek 23 Prodloužení při přetržení chitosanových filmů	53
Obrázek 24 Prodloužení při přetržení alginátových filmů	53
Obrázek 25 Hodnoty kontaktního úhlu polysacharidových filmy	55
Obrázek 26 Metoda přisedlé kapky na vzorcích polysacharidových filmů a) SA b) SA/TO/0,5 c) SA/TO/1 d) SA/TO/2 e) SA/MO/0,5 f) SA/MO/1 g) SA/MO/2 h) SA/ME/1 i) CH j) CH/ME/1	56
Obrázek 27 Vlhkost chitosanových filmů	57
Obrázek 28 Vlhkost alginátových filmů	58
Obrázek 29 Rozpustnost chitosanových filmů	59
Obrázek 30 Úbytek absorbance chitosanových filmů	60
Obrázek 31 Úbytek absorbance alginátových filmů	61

Obrázek 32 Vzorky filmů po 24 h inkubaci a) CH/ME/1 b) SA/ME/1 (<i>Escherichia coli</i>)	62
Obrázek 33 FTIR spektra bylinných výtažků a) TO b) MO c) ME.....	64
Obrázek 34 FTIR spektra vzorků a) SA b) SA/MO/2	66
Obrázek 35 FTIR spektra vzorků a) CH b) CH/MO/2	67

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Navážky pro přípravu filmu s obsahem aktivní směsi.....	40
Tabulka 2 Barevné charakteristiky alginátových filmů.....	48
Tabulka 3 Barevné charakteristiky chitosanových filmů	48
Tabulka 4 Tloušťka alginátových a chitosanových filmů	49