

Studium vlastností nanovláken s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů

Bc. Lucie Bartošová

Diplomová práce
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Lucie Bartošová
Osobní číslo: T19453
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Studijní obor: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Studium vlastností nanovláken s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Charakteristika nanovláken.
2. Aktivní látky esenciálních olejů.
3. Antibakteriální vlastnosti nanovláken.

II. Praktická část

1. Cíl práce.
2. Příprava nanovláken s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů.
3. Antibakteriální vlastnosti nanovláken s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů.
4. Vyhodnocení a zpracování výsledků.
5. Diskuze a formulace závěrů.

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- [1] ALAVI, Mehran a Ali NOKHODCHI. An overview on antimicrobial and wound healing properties of ZnO nanobiofilms, hydrogels, and bionanocomposites based on cellulose, chitosan, and alginate polymers. *Carbohydrate Polymers*. 2020, 227. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115349. ISSN 01448617.
- [2] BERECHET, Mariana Daniela, Carmen GAIDAU, Aleksandra MILETIC, et al. Bioactive Properties of Nanofibres Based on Concentrated Collagen Hydrolysate Loaded with Thyme and Oregano Essential Oils. *Materials*. 2020, 13(7). DOI: 10.3390/ma13071618. ISSN 1996-1944.
- [3] HALL BARRIENTOS, Ivan J., Eleonora PALADINO, Peter SZABÓ, et al. Electrospun collagen-based nanofibres: A sustainable material for improved antibiotic utilisation in tissue engineering applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017, 531(1), 67-79. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.08.071. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517317307780>.
- [4] THORMAR, Halldor, ed. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2011. DOI: 10.1002/9780470976623. ISBN 9780470976623.

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

Datum zadání diplomové práce: 2. ledna 2021
Termín odevzdání diplomové práce: 14. května 2021

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, 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 užít 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: Lucie Bartošová

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo úspěšně připravit PVDF nanovláknennou vrstvu s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů v různém hmotnostním zastoupením a následně sledovat jejich antibakteriální účinky vůči testovaným bakteriím. Teoretická část se věnuje charakterizaci nanovláken, jejich přípravě a možným aplikacím v průmyslu. Kromě toho se zabývá i charakterizací esenciálních olejů, především aktivních látek v nich obsažených, které jim udávají charakteristické vlastnosti, jako je antibakteriální aktivita nebo antioxidační účinek. V experimentální části je popsána příprava a charakterizace morfologie PVDF nanovláknenných membrán s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů, jedná se o látky eugenol, thymol, cinnamaldehyd, linalool a karvakrol. Jsou zde vyhodnoceny i výsledky antibakteriální aktivity a tvorby biofilmu vůči gramnegativní bakterii *Escherichia coli* a grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus*. Právě PVDF nanovláknna s inkorporovaným thymolem vykazovala výborné výsledky, kdy bylo u nich potvrzeno potlačení tvorby biofilmu obou testovaných bakteriálních kmenů.

Klíčová slova: nanovláknna, PVDF, aktivní látky esenciálních olejů, antibakteriální aktivita

ABSTRACT

The aim of the diploma thesis was to successfully prepare a PVDF nanofiber structure with incorporated active substances of essential oils in various weight proportions and monitoring their antibacterial effects against the tested bacteria. The theoretical part discusses the characterization of nanofibers, their preparation and possible application in industry. In addition, discusses the characterization of essential oils, mainly the active substances contained in them, giving them characteristic properties such as antibacterial activity or antioxidant effect. The experimental part describes the preparation and characterization of the morphology of PVDF nanofiber membranes with incorporated active substances of essential oils, such as eugenol, thymol, cinnamaldehyde, linalool and carvacrol. The results of antibacterial activity and biofilm formation against the gram-negative bacteria *Escherichia coli* and the gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* are also evaluated here. It was PVDF nanofibers with incorporated thymol that demonstrated excellent results, when the suppression of biofilm formation of both tested bacterial strains was confirmed.

Keywords: nanofibers, PVDF, active substances of essential oils, antibacterial activity

Touto cestou bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce Ing. Pavlu Plevovi Ph.D. za rady a velkou trpělivost při tvorbě této práce. Velké díky i patří paní doktorce Petře Peer z Ústavu hydrodynamiky AV ČR, která mě s velkým nadšením zasvětila do světa nanomateriálů. Za cenné rady, velkou ochotu a zapůjčení křemenných kyvet bych také chtěla poděkovat Ing. Janě Sedlařikové Ph.D. Poděkování patří také i paním laborantkám Bc. Veronice Kučabové a Ing. Olze Vlčkové, které mi vždy velmi ochotně poradily v laboratoři. Nemůžu opomenout svou rodinu, která mi byla oporou a dodávala mi sílu při zpracování diplomové práce.

OBSAH

ÚVOD	9
CÍL PRÁCE	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 NANOVLÁKNA	12
1.1 CHARAKTERIZACE NANOVLÁKEN.....	13
1.1.1 Zobrazovací optické metody.....	14
1.1.2 Rtuťová porozimetrie.....	15
1.1.3 BET měření povrchové plochy.....	15
1.1.4 Měření kontaktního úhlu.....	15
1.2 POLYMERY VHODNÉ NA PŘÍPRAVU NANOVLÁKEN.....	15
1.2.1 Přírodní polymery.....	16
1.2.2 Syntetické polymery.....	16
1.2.3 Funkční a kompozitní nanovlákná.....	17
1.3 PŘÍPRAVA NANOVLÁKEN.....	17
1.3.1 Metody založené na mechanické síle.....	18
1.3.2 Elektrostatické zvlákňování (electrospinning).....	19
1.3.3 Parametry elektrostatického zvlákňování.....	23
2 APLIKACE PVDF NANOVLÁKEN	26
2.1 ÚPRAVA VODY.....	26
2.1.1 Mikrofiltrace (MF).....	26
2.1.2 Ultrafiltrace (UF).....	27
2.1.3 Membránový bioreaktor (MBR).....	27
2.2 PROCES MEMBRÁNOVÉHO STYKAČE.....	27
2.2.1 Absorpce kyselých plynů.....	28
2.2.2 Desorpce kyselých plynů.....	29
2.2.3 Odstranění znečišťujících látek z vody.....	29
2.3 OBNOVA BIOPALIV PERVAPORACÍ.....	29
3 ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	30
3.1 CHARAKTERIZACE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	30
3.1.1 Chemické složení.....	30
3.1.2 Vlastnosti esenciálních olejů.....	32
3.1.3 Antibakteriální účinky.....	33
3.2 PRODUKCE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	34
3.2.1 Lisování.....	34
3.2.2 Destilace.....	35
3.2.3 Extrakce.....	36
3.3 AKTIVNÍ LÁTKY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	37
3.3.1 Thymol.....	37

3.3.2	Cinnamaldehyd	38
3.3.3	Karvakrol.....	38
3.3.4	Linalool	39
3.3.5	Eugenol	40
II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	41
4	ZAŘÍZENÍ A MATERIÁL	42
4.1	PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	42
4.2	CHEMIKÁLIE.....	44
4.3	BAKTERIÁLNÍ KMENY.....	44
4.4	ŽIVNÁ MÉDIA	44
5	METODIKA PRÁCE.....	46
5.1	POLYMERNÍ FILMY	46
5.1.1	Příprava polymerních roztoků.....	46
5.1.2	Charakterizace morfologie polymerních filmů pomocí SEM.....	47
5.1.3	Antibakteriální aktivita.....	47
5.2	NANOVLÁKNA.....	48
5.2.1	Příprava nanovláknenných membrán.....	48
5.2.2	Charakterizace morfologie nanovláken pomocí SEM	49
5.2.3	Antibakteriální aktivita.....	49
5.2.4	Sledování tvorby biofilmu na nanovláknenných membránách.....	50
5.2.5	Ověření inkorporace aktivních látek (UV/VIS spektrometrie).....	50
6	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	51
6.1	POLYMERNÍ FILMY	51
6.1.1	Charakterizace morfologie pomocí SEM.....	52
6.1.2	Antibakteriální aktivita – disková difúzní metoda	54
6.2	NANOVLÁKNA.....	57
6.2.1	Charakterizace morfologie pomocí SEM.....	57
6.2.2	Antibakteriální aktivita.....	61
6.2.3	Sledování tvorby biofilmu na nanovláknenných membránách.....	63
6.2.4	Ověření inkorporace aktivních látek (UV/VIS spektrometrie).....	67
7	ZÁVĚR.....	69
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	70
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	81
	SEZNAM OBRÁZKŮ	83
	SEZNAM TABULEK.....	84

ÚVOD

Nanomateriály za poslední desetiletí rostou na popularitě v mnoha průmyslových odvětvích díky svým rozměrům, které jim udávají specifické vlastnosti jako je velká povrchová reaktivita. Velký rozmach mezi nanomateriály zažívají právě nanovlákná, jejichž rozměry se pohybují pod 1 μm . Různorodá distribuce rozměrů a nahodilé uspořádání vláken jim definuje jejich porézní strukturu (Ramakrishna, 2005).

Nejpoužívanější metodou pro výrobu nanovláken je elektrostatické zvlákňování, díky kterému lze dosáhnout různých rozměrů vláken, které se pohybují od 100 až do 1000 nm. Tento proces je založen na překonání povrchového napětí polymerního roztoku aplikovaným vysokým napětím, čímž dojde k jeho nestabilitě a tvorbě tzv. Taylorových kuželů. Z těchto kuželů jsou emitovány nabitě paprsky polymerního roztoku, které se bičujícím pohybem začínou přibližovat k opačné elektrodě (kolektoru). V průběhu tohoto pohybu dochází k postupnému odpařování rozpouštědla a vzniku tuhých vláken, které dopadají na kolektor. Celý proces zvlákňování je však ovlivněn mnoha faktory, které ovlivňují výslednou morfologii nanovláken (koncentrace polymerního roztoku, povrchové napětí, vodivost, procesní parametry, teplota, vlhkost prostředí, a další) (Yalcinkaya, 2019; Okutan *et al.*, 2014; Tucker *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2010).

Inkorporováním dalších látek do nanovláknenné struktury lze docílit vzniku nových funkčních vlastností (antibakteriální vlastnosti). Právě u aktivních látek esenciální olejů je deklarována jejich antibakteriální aktivita vůči gramnegativním i grampozitivním bakteriím (Svamy *et al.*, 2016). Tyto antibakteriální vlastnosti by se daly využít v mnoha aplikacích nanovláknenných membrán, např. při filtraci vody, jako vnitřní součást obalových materiálů kosmetických produktů nebo součást obvazových materiálů na rány. Jednotlivé aplikace, se však odvíjí od samotného polymeru použitého na jejich výrobu, může se jednat o biopolymery nebo syntetické polymery (Kenry *et al.*, 2017).

CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo pomocí elektrostatického zvlákňování připravit PVDF nanovláknenné membrány s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů (thymol, eugenol, linalool, karvakrol a cinnamaldehyd) o různém hmotnostním zastoupení a poté byla u nich pozorována jejich antibakteriální aktivita vůči bakteriím *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

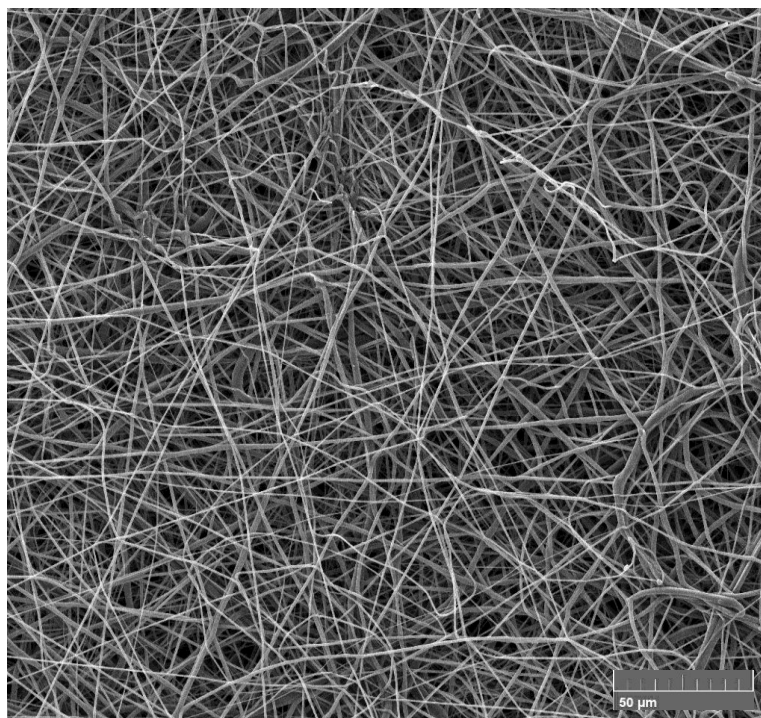
Dílčí cíle práce byly:

- příprava polymerních filmů se zabudovanými aktivními látkami a zhodnocení jejich antibakteriální aktivity;
- příprava nanovláken s inkorporovanými aktivními látkami;
- charakterizace morfologie připravených nanovláken;
- posouzení antibakteriální aktivity a tvorby biofilmu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 NANOVLÁKNA

V posledních letech došlo ve světě k velkému rozvoji nanomateriálů, jež zahrnují širokou škálu zajímavých materiálů s vynikajícími fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Mezi tyto materiály patří nanočástice, kvantové tečky, nanodráty, nanotrubičky, nanorody a nanovlákná (Obrázek 1) (Kenry *et al.*, 2017). Věda zabývající se těmito materiály, nebo strukturami a zařízeními v nanoměřítku se nazývá nanotechnologie. Hlavním kritériem pro klasifikaci nanomateriálů je jejich rozměr, kdy právě jeden z rozměrů je 100 nm nebo méně. (Ramakrishna, 2005) Avšak komerční sektor umožnil širší flexibilitu tohoto kritéria, kdy nanomateriály mohou nabývat rozměrů až do 1 μm (Pisignano, 2013).



Obrázek 1 Nanovláknenná vrstva připravena elektrostatickým zvlákňováním, upraveno dle Peer *et al.* (2020)

Mezi nanomateriály s největším potencionálním využitím patří nanovlákná (Obrázek 1), jež navzdory své popularitě v posledních letech stále představují relativně novou třídu materiálů (Širc *et al.*, 2012). Z pohledu akademického by tyto materiály měly být exaktně klasifikovány jako submikronová vlákna, nýbrž komerčně známé jsou pod termínem nanovlákná (Ramakrishna, 2005). Nanovlákná, přesněji tedy submikronová vlákna, s definovanými rozměry vláken pod 1 μm , mohou být vyrobena z různých materiálů, jako jsou polymery přírodního nebo syntetického původu, materiálů na bázi uhlíku, polovodičů nebo kompozitních materiálů (Tan *et al.*, 2005). Důležitými charakteristickými rysy pro

výrobu a aplikaci nanovláken je chemické složení, mechanické vlastnosti, tepelné chování, hydrofilita či hydrofobicita (Širc *et al.*, 2012). Disponují pozoruhodnými vlastnostmi, mezi které se řadí výjimečně vysoký poměr povrchu k objemu, vysoká pórovitost a morfologie. Právě tyto vlastnosti hrají klíčovou roli v pokročilých aplikacích nanovláken v různých vědeckých odvětvích jako je biomedicínské inženýrství, zdravotnictví, životní prostředí a další jiné (Kenry *et al.*, 2017).

1.1 Charakterizace nanovláken

Důležitým aspektem pro aplikaci nanomateriálů je charakterizování jejich fyzikálních a chemických vlastností. Tyto vlastnosti lze detekovat pomocí různých metod (Širc *et al.*, 2012).

Fyzikální vlastnosti nanomateriálů k posouzení:

- povrchová topografie/morfologie;
- distribuce rozměrů vláken;
- struktura, zahrnující krystalinitu a přítomnost deformací;
- rozpustnost;
- mechanické vlastnosti.

Chemické vlastnosti k posouzení:

- strukturní vzorec/molekulární struktura;
- složení nanomateriálu (včetně stupně čistoty, známých nečistot nebo přísad);
- fázová identita;
- povrchová chemie (složení, náboj, napětí, reaktivní místa, fyzikální struktura, fotokatalytické vlastnosti, zeta potenciál);
- hydrofilita/lipofilita.

Nanovláknena připravená z většiny semikrystalických polymerů mají určité strukturní uspořádání. Během technologického procesu výroby nanovláken část řetězců krystalizuje do formy lamel, složené z malých krystalů, a zbytek je tvořen amorfní fází. Díky přítomnosti prodlužovacích a smykových sil jsou tyto lamely uspořádány do fibril nebo vláček. Smykové síly mají vliv na zarovnání vláken podél osy. Povrch nanovláken je složen

z orientované vrstevnaté roviny souběžné s osou nanovlákná, která se snaží dosáhnout určitého stupně uspořádání (charakteristické je nahodilé uspořádání řetězců vláken). Většina připravených vláken je proto ve formě netkaných textilií (Gugulothu *et al.*, 2019; Nemati *et al.*, 2019).

Ve většině aplikací jsou nanovlákná během své životnosti vystavena mechanickému namáhání a napětí z okolního prostředí. Taková napětí mohou způsobit trvalou deformaci nebo dokonce destrukci nanovláken. Proto je důležité charakterizování mechanických vlastností jednotlivých nanovláken pomocí různých technik pro mechanickou charakterizaci nanovláken, jako je tahová zkouška, ohybová zkouška a vtlačení provedené v nanoměřítku (Tan *et al.*, 2006).

Právě lamelární a amorfni části řetězců vláken ovlivňují jejich pevnost a modul pružnosti. Ke změnám může docházet v průběhu elektrostatického zvlákňování, kdy dochází především ke změnám v krystalitě a molekulárním uspořádání. Amorfni fáze určuje elastické vlastnosti a krystalická fáze udává stabilitu vláken (Tan *et al.*, 2006).

1.1.1 Zobrazovací optické metody

Zobrazovací metody jsou dnes široce používány pro hodnocení struktury a představují podstatnou součást charakterizace většiny materiálů, včetně nanovláken. Skupina zobrazovacích metod zahrnuje zejména optickou mikroskopii ve viditelném rozsahu, skenovací elektronovou mikroskopii (SEM), transmisní elektronovou mikroskopii (TEM) a mikroskopii atomových sil (AFM) (Naraghi *et al.*, 2007). Velkou výhodou zobrazovacích metod je, že struktura může být přímo vizualizována na různých místech nanovláknenného vzorku. Získané obrázky proto poskytují užitečné informace k porovnání místních struktur v celém vzorku. Navzdory výše uvedeným výhodám však zobrazovací techniky neposkytují definované číselné hodnoty umožňující kvantitativní srovnání mezi různými nanovláknennými materiály (Širc *et al.*, 2012).

Výstup elektronové mikroskopie je výsledkem interakce vzorku s elektronovým paprskem. Na tuto interakci má vliv mnoho faktorů, jako je elektronová energie, hustota vzorku, atomový počet prvků a samozřejmě topografie povrchu vzorku. Pružné a nepružné interakce elektronů s atomy vzorku generují sekundární elektrony, Augerovy a zpětně odražené elektrony, kontinuum a charakteristické rentgenové paprsky. Aby se zabránilo odpudivé reakci elektronového paprsku, je povrch vzorku obvykle pokryt tenkou vodivou vrstvou zlata. Jak bylo uvedeno výše, zobrazovací metody umožňují přímou vizualizaci

pozorovaných nanostruktur. Z tohoto pohledu je SEM užitečnou metodou pro vyhodnocení základních morfologických charakteristik připravených nanovláken (průměr vlákna) a navíc umožňuje odhalit různé deformace v nanovláčkových strukturách vznikající při elektrostatickém zvlákňování při konkrétní koncentraci polymeru (Širc *et al.*, 2012; Hang *et al.*, 2011).

1.1.2 Rtuťová porozimetrie

Metoda je založena na vlastnosti rtuti, která nezvlhčuje povrch pevných materiálů. Během měření je vzorek umístěn do vakuované cely a rtuť je následně přenesena do cely se vzorkem (Rutletge *et al.*, 2009). Poté se aplikuje takový tlak, aby došlo k proniknutí rtuti do pórů vzorku. Během měření je zaznamenáván vyvinutý tlak a vniknutý objem rtuti do póru nanomateriálu. Ve výsledku se získá křivka, ze které lze odečíst parametry popisující strukturu pórů vzorku nanomateriálu (Širc *et al.*, 2012; Rutletge *et al.*, 2009).

1.1.3 BET měření povrchové plochy

Technika pojmenovaná podle jejích vynálezců Brunauera, Emmetta a Tellera (BET) je nejčastější metodou pro stanovení měrného povrchu porézních materiálů. Měření je založeno na fyzikální adsorpci plynu na povrchu vzorku (Zhang *et al.*, 2006). Množství plynu lze definovat Langmuirovou izotermou za předpokladu jedné vrstvy molekul plynu na homogenním povrchu, které nejsou vzájemně ovlivněny (Širc *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2008).

1.1.4 Měření kontaktního úhlu

Kromě morfologie a mechanických vlastností je důležitým rysem nanomateriálů jejich chemické složení. Při vývoji nového materiálu je kritickým krokem optimalizace jeho povrchových vlastností s ohledem na jeho konkrétní aplikaci. Hydrofilní či hydrofobní charakter povrchu podstatně ovlivňuje interakce mezi syntetickým povrchem a jinou proměnnou. K určení stupně hydrofility daného povrchu je nejrozšířenější metoda měření kontaktního úhlu. Metoda se provádí technikou přisedlé kapky nebo přilínající bubliny ve statickém nebo dynamickém režimu (Širc *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2008).

1.2 Polymery vhodné na přípravu nanovláken

Více než 100 různých typů organických polymerů, včetně přírodních i syntetických polymerů, bylo úspěšně prozkoumáno pro přímou výrobu nanovláken (Xue *et al.*, 2019).

Syntetické polymery obecně poskytují vysokou flexibilitu při syntéze, zpracování a modifikaci a jsou nákladově efektivnější než přírodní. Důležité je, že jejich mechanické vlastnosti lze snadno upravit (Nemati *et al.*, 2019).

1.2.1 Přírodní polymery

Mezi zajímavé přírodní biopolymery používané k výrobě biologických materiálů patří, celulóza, chitin, chitosan, škrob, fibrinogen, kyselina hyaluronová a další jiné. Velmi často se využívají jako lešení (scaffolds) v tkáňovém inženýrství kvůli své biokompatibilitě a biofunkčnosti (Nemati *et al.*, 2019).

Nedostatky u syntetických polymerů lze právě překonat přírodními biopolymery, zejména díky jejich biologické rozložitelnosti a biokompatibilitě. Vykazují efektivní filtrační výkon a mikrobiální odolnost, díky čemuž jsou vhodnou alternativou pro filtraci vzduchu na biologické bázi ke stávajícím filtrům odvozeným od syntetických polymerů. Přírodní biopolymery se také velmi často spojují se syntetickými polymery kvůli zlepšení celkové účinnosti (Shanmugan *et al.*, 2021).

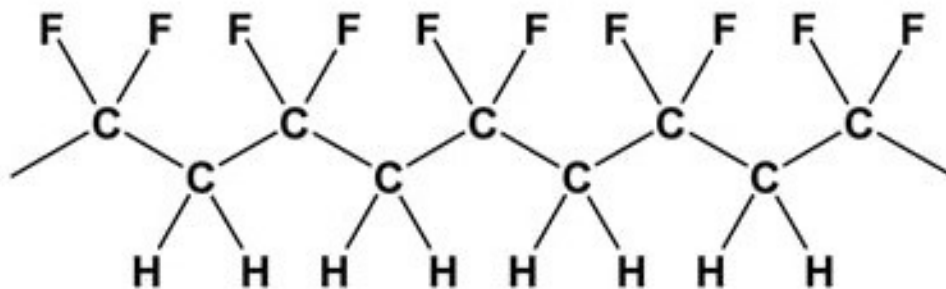
1.2.2 Syntetické polymery

Hlavními výhodami syntetických polymerů je jejich zvláknitelnost, vynikající mechanická integrita a hospodárnost. Velké množství biokompatibilních a biologicky odbouratelných syntetických polymerů jako je polykaprolakton (PCL), kyselina polymléčná (PLA), kyselina polyglykolová (PGA), polyethylenoxid (PEO), polyvinylalkohol (PVA) jsou ve formě nanovláken využívány pro aplikace v oboru tkáňového inženýrství. PCL je slibný a často používaný biologicky odbouratelný syntetický materiál s vysokou pevností v tahu díky svým odlišným reologickým a viskoelastickým vlastnostem, což z něj činí vhodného kandidáta pro aplikace, kde je důležitá mechanická pevnost (Nemati *et al.*, 2019).

Další syntetické polymery, jako je polystyren (PS) a polyvinylchlorid (PVC), se elektrostaticky zvláknují na nanovlákná pro komerční aplikace související s ochranou životního prostředí. Jiné typy funkčních polymerů, jako je polyvinylidenfluorid (PVDF), byly také elektrostaticky zvláknovány do nanovláken pro hojně uplatnění v životním prostředí (Xue *et al.*, 2019).

PVDF je semikrystalický polymer, ve kterém se opakuje monomer $-(\text{CH}_2\text{-CF}_2)_n-$ (Cauda *et al.*, 2015). Je jedním z nejoblíbenějších polymerů používaných v membránovém průmyslu a aplikacích díky svým specifickým vlastnostem, včetně vysoké chemické odolnosti, dobré

tepelné stabilitě, vynikající zpracovatelnosti, hydrofobnosti a mimořádnými mechanickými vlastnostmi. Ovšem je náchylný ke znečištění organickými látkami, bakteriálními kontaminacemi, s čímž je spojené ucpávání a blokováním pórů a tvorba vrstvy nečistot (Shen *et al.*, 2017).



Obrázek 2 Molekulová struktura PVDF, upraveno dle Eisenmenger *et al.* (1999)

PVDF je rozpustný v některých běžných rozpouštědlech, jako je dimethylformamid (DMF), ale není jej možné rozpustit ve vodě (hydrofobní charakter), proto jeho membrány nacházejí uplatnění například při filtraci vody (Kang *et al.*, 2014)

1.2.3 Funkční a kompozitní nanovlákná

K překonání omezení jednosložkových systémů lze použít směsi polymerů. Tato strategie může vytvořit nová lešení pro tkáňové inženýrství, která mají optimální mechanické a biologické vlastnosti. Syntetické polymery obecně poskytují vysokou mechanickou pevnost a přírodní polymery na povrchu nebo uvnitř lešení umožňují interakce pro rozpoznávání buněk, které jsou životně důležité pro chování a zlepšování buněk (Nemati *et al.*, 2019).

Je prokázáno, že kombinace nanovláken a nanočástic maximalizuje funkci nanočástic, kdy nanovlákná poskytují podporu pro nanočástice, kdy dochází ke zvýšení povrchu nanočástic a kontaktní plochy. Další výhodou těchto kompozitů (nanočástic a nanovláken) je, že snižují sekundární znečištění způsobené čistými nanočásticemi, protože tyto nanočástice se uvolňují do životního prostředí a je obtížné je odstranit (Lou *et al.*, 2020).

1.3 Příprava nanovláken

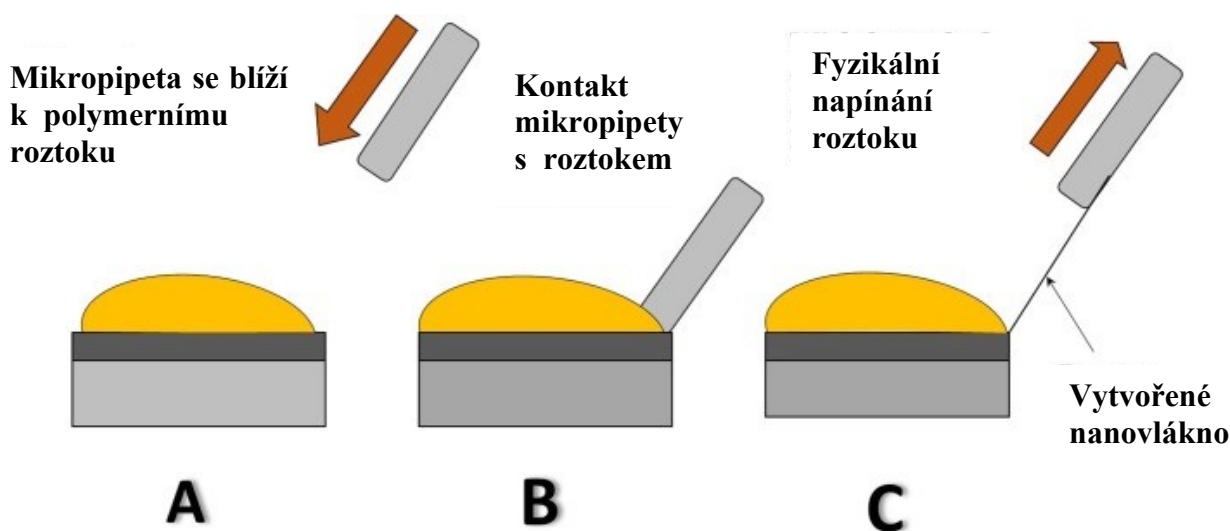
Polymerní nanovlákná se stávají důležitými materiály v řadě aplikací díky jedinečným vlastnostem (velký povrch, vysoká pórovitost, vynikající mechanické, elektrické a chemické vlastnosti), které si získaly zvýšenou pozornost v průběhu času. Velký

potenciál nanovláken se podílel na rozvoji jejich technologických procesů výroby. Právě metody výroby nanovláken by se daly rozdělit do dvou skupin, konkrétně metodám elektrostatického zvlákňování využívající elektrostatickou sílu k tvorbě vláken a metodám ne-elektrostatického zvlákňování využívající mechanickou sílu (fyzikální dloužení, fázové dělení a jiné). Parametry nanovláken a náklady výroby jsou důležitými faktory, které je třeba brát v úvahu při výběru správného technologického procesu výroby nanovláken (Alghoraibi *et al.*, 2018).

1.3.1 Metody založené na mechanické síle

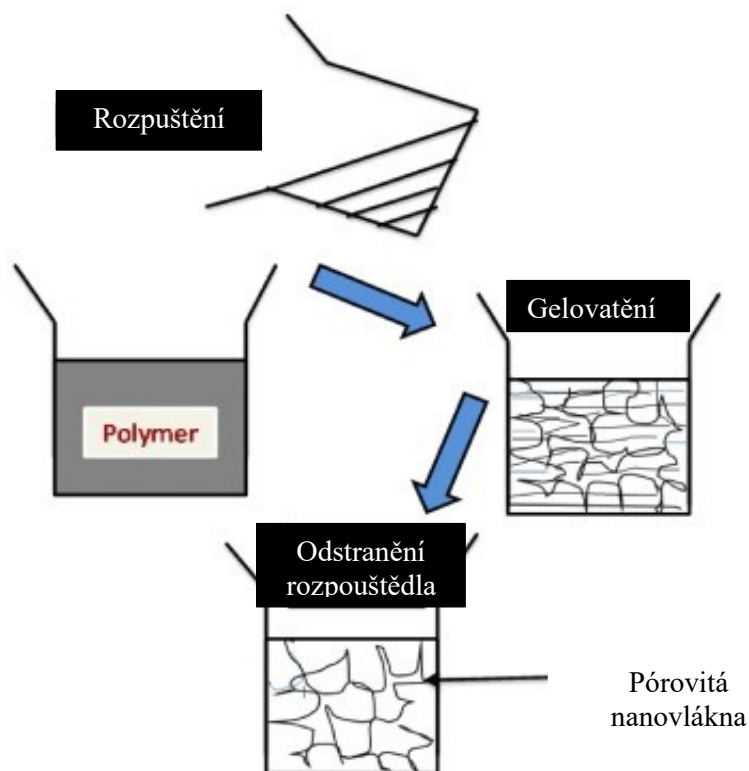
Nanovláknna se vyrábí různými metodami, které mohou využívat elektrostatických nebo mechanických sil. Metody ne-elektrostatického zvlákňování jsou založeny na principu vzniku vláken mechanickou silou (Alghoraibi *et al.*, 2018). Mezi tyto metody zvlákňování patří například fyzikální dloužení (drawing), fázová separace (phase separation), syntéza za pomoci šablon (template syntethesis) a samosestavování (self-assembly) (Waqas *et al.*, 2020).

Metoda fyzikálního dloužení (drawing) je velmi pomalý proces, jelikož se vytváří jednotlivá vlákna postupně (Obrázek 3), kdy dochází k napínání polymerního roztoku za pomoci mikropipety. Polymerní roztok, avšak musí vykazovat definované viskoelastické vlastnosti. Nanovláknna dosahují rozměrů do 100 nm (Ramakrishna, 2005).



Obrázek 3 Jednotlivé kroky výroby nanovláken pomocí fyzikálního dloužení, upraveno dle Patil *et al.* (2017)

Proces fázové separace je rozdělen do pěti kroků (Obrázek 4): rozpuštění polymeru, gelovatění polymeru, extrakce rozpouštědla, zmrazení a lyofilizace. U tohoto procesu stejně jako u fyzikálního dloužení nelze rozměry vláken ovlivňovat a průměry vláken se pohybují také do 100 nm (Waqas *et al.*, 2020).



Obrázek 4 Proces fázové separace, upraveno dle Patil *et al.* (2017)

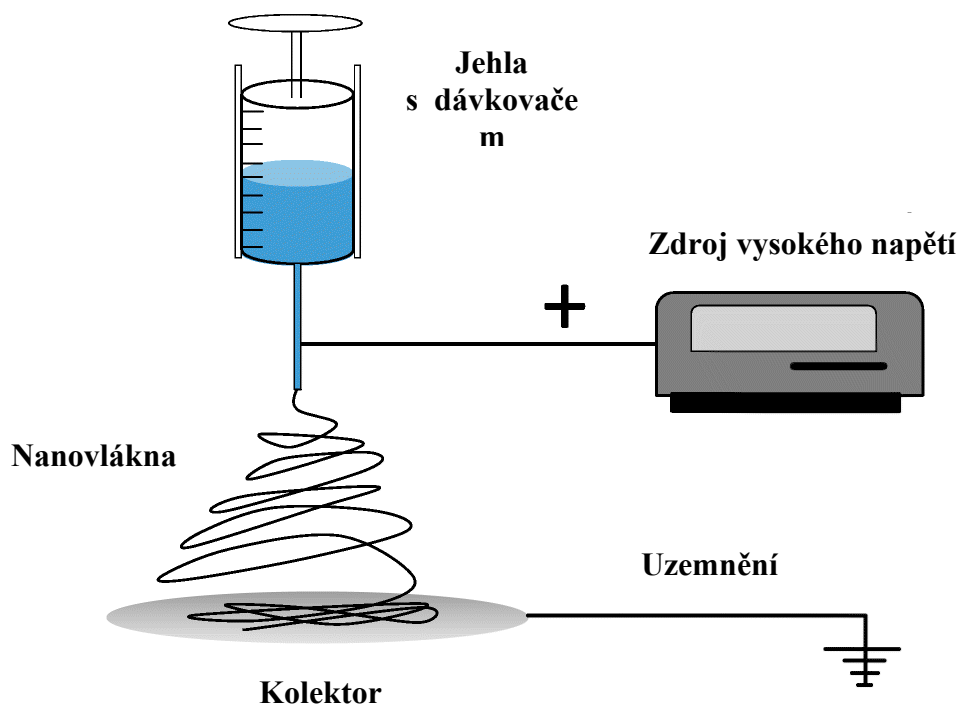
Všechny tyto zmíněné technologie lze připravit pouze v laboratorním měřítku a nelze očekávat rozmanitost průměrů a délek vláken jako u elektrostatického zvlákňování. Kladou se podmínky i na samotný polymer, který musí mít definované vlastnosti potřebné k jednotlivým technologickým procesům výroby (Waqas *et al.*, 2020).

1.3.2 Elektrostatické zvlákňování (electrospinning)

Mezi nejvíce prozkoumanou metodou výroby nanovláken patří elektrostatické zvlákňování, které pro výrobu nanovláken využívá z pozoruhodného rozsahu organických i anorganických materiálů (Luo *et al.*, 2012). Kromě toho, že se jedná o jednu z nejvíce prozkoumaných metod, řadí se také mezi nejvíce používanou metodu, jelikož se jedná o značně jednoduchý proces výroby, který je přizpůsobivý, hospodárný a univerzální (Zhao *et al.*, 2016)

Proces elektrostatického zvlákňování je založen na formování elektrostatickými silami polymerních roztoků či tavenin. Metoda je využívána pro výrobu nanovláken z přírodních nebo syntetických polymerů, kdy průměry vláken dosahují rozměrů od desítek nanometrů až po mikrometry (Tucker *et al.*, 2012). Elektrostatické zvlákňování v zásadě vyžaduje polymerní roztok nebo taveninu a elektrické pole, kdy princip celé technologie je založen na použití dvou elektrod (Obrázek 5). První elektroda (kladně nabitá) je spojena s polymerním roztokem či taveninou a je k ní přiveden zdroj vysokého elektrického napětí. Protilehlá elektroda, též nazývaná kolektor, je opačně nabitá nebo uzemněná (Yalcinkaya, 2019). Při překonání povrchového napětí polymerního roztoku generovaným elektrostatickým polem, dochází v jeho důsledku na povrchu polymerního roztoku k tvorbě kužele známého jako Taylorův kužel (Zhao *et al.*, 2016). Ze špičky Taylorova kužele polymerní roztok v podobě paprsku prochází procesem nestability a dloužení, což umožňuje zmenšení průměru polymerního vlákna (Waqas *et al.*, 2020). Tento paprsek se pohybuje směrem ke kolektoru, kdy je u něj pozorován bičující pohyb nebo štěpení. Během bičujícího pohybu dochází k napínání a ohýbání elektricky nabitého paprsku. Na druhou stranu, pokud dojde ke štěpení, dochází ke vzniku více vláken z paprsku polymerního roztoku (Yalcinkaya, 2019). Rozpouštědlo, které se používá k rozpuštění polymeru, se v průběhu pohybu paprsku odpaří a polymerní vlákno ztuhne. Odpařování rozpouštědla závisí na vzdálenosti mezi elektrodami, tlaku par roztoku a teplotě vnitřní komory. Stabilní podmínky prostředí jsou důležité při získávání kvalitních nanovláken (Waqas *et al.*, 2020). Tuhá polymerní vlákna se následně ukládají na uzemněný kolektor ve formě vrstvy, též nazývaných netkaná textilie (Zhao *et al.*, 2016).

Elektrostatické zvlákňování polymerního roztoku si s sebou přináší mnoho omezení a nevýhod. Vyznačuje se nízkou produktivitou a využíváním toxického rozpouštědla, které není šetrné k životnímu prostředí (Zhao *et al.*, 2016). Ačkoliv proces elektrostatického zvlákňování taveniny není poznamenáno výše zmíněnými nevýhodami, nachází se u něj řada obtíží spojená s tvorbou jemných vláken, vyšší viskozitou roztaveného polymeru a problémy s elektrickým výbojem spojeným s aplikací vysokého napětí na polymerní taveninu (Nayak *et al.*, 2011). Proto tedy došlo k vývoji nových technik při elektrostatickém zvlákňování polymerního roztoku za účelem zvýšení produktivity. Základní princip k dosažení vyšší produktivity v elektrostatickém zvlákňování je založen na zvýšení počtu paprsků přijetím různých technik, včetně vzniku více paprsků z jedné jehly, z více jehel a systému bez jehly (Zhao *et al.*, 2016)



Obrázek 5 Elektrostatické zvlákňování (systém SNE), upraveno dle Koenig *et al.* (2019)

V systému elektrostatického zvlákňování z jedné jehly (SNE – Single needle electrospinning) je polymerní roztok uložen uvnitř kovové jehly (Obrázek 5), která je připojena ke zdroji vysokého napětí, který může dosahovat až několik desítek kilovoltů (kV) (Yalcinkaya, 2019). Ke konstantnímu plnění polymerního roztoku do hrotu jehly je využíváno dávkovací zařízení, z jehož pomocí je polymerní roztok vytlačován skrz elektricky nabitou kovovou jehlu (Tucker *et al.*, 2012). Více paprsků lze získat z jedné jehly rozštěpením primárního paprsku polymeru na sekundární dílčí paprsky na jeho cestě ke kolektoru (Alghoraibi *et al.*, 2018). Ke štěpení dochází za určitých podmínek, kdy proudy kapalin interagují s velkými axiálními elektrickými poli. Ačkoli mechanismus štěpení paprsků ještě není třeba plně analyzován, experimentální výzkum řízeného štěpení paprsků bude do budoucna fascinující výzvou pro zvýšení produktivity tohoto systému (Nayak *et al.*, 2011).

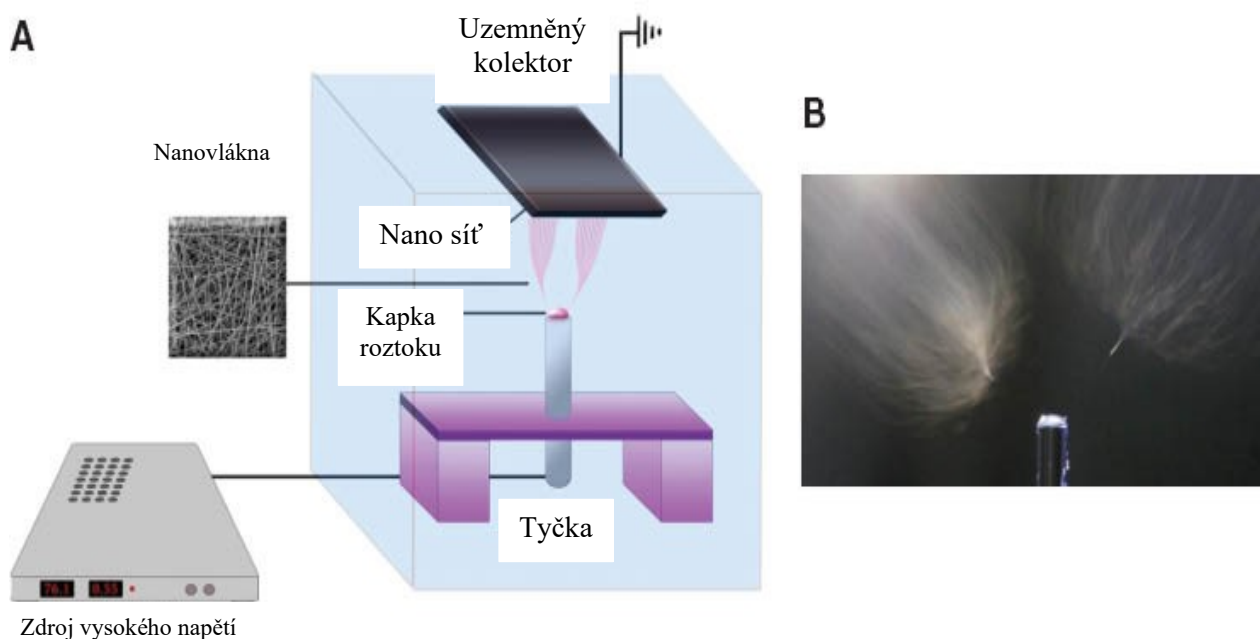
V tomto systému SNE existují různé parametry, které hrají významnou roli v morfologii a produktivitě nanovláken. Tyto parametry lze rozdělit do dvou skupin jako systémové a procesní parametry. Parametry systému zahrnují vlastnosti polymerního roztoku, jako je koncentrace, viskozita, vodivost, povrchové napětí, permitivita a molekulová hmotnost polymeru. Na druhou stranu procesní parametry souvisí s nastavením zařízení a prostředím, jako je vygenerované napětí, vzdálenost mezi elektrodami (špička jehly ke kolektoru),

rychlost podávání roztoku, průměr špičky jehly a okolní podmínky. Každý jeden parametr se podílí na výsledné povrchové morfologii nanovláken (Yalcinkaya, 2019).

Systém elektrostatického zvlákňování z více jehel (MNE – Multiple needle electrospinning) je přímým způsobem, jak zlepšit produktivitu. Jedná se o jednoduchou techniku pro výrobu vláken z polymerů, které nelze snadno rozpustit v běžných rozpouštědlech. Tento systém byl vyvinut k překonání omezeného množství vláken vzniklého pomocí systému SNE (Alghoraibi *et al.*, 2018). Při navrhování systémů MNE jsou důležitými faktory, které je třeba brát v úvahu, konfigurace jehel, počet jehel a rozchod jehel. Jehly mohou být uspořádány v lineární konfiguraci nebo ve dvojrozměrných konfiguracích (kruhová, čtvercová, aj.) (Nayak *et al.*, 2011).

Jednou z hlavních nevýhod této metody je silný odpor mezi paprsky, což může mít za následek snížení produkce vláken (Alghoraibi *et al.*, 2018). Také dochází k nerovnoměrnému rozložení elektrického pole na hrotu jehly v různých polohách, ucpávání jehel, problémy s nestabilitou a nerovnoměrné ukládání vláken také patří mezi některá z klíčových omezení MNE systémů (Nayak *et al.*, 2011).

Systém elektrostatického zvlákňování bez jehly (NLES – Needleless electrospinning) je založen na produkci nanovláken z přímo otevřeného povrchu kapaliny polymerního roztoku (Jirsák, 2005). Tento systém NLES se vyznačuje značnou rychlostí při produkci nanovláken díky vzniku četných polymerních paprsků z volné plochy povrchu kapaliny na tyčce (Obrázek 6) nebo z válce, právě když je intenzita aplikovaného elektrického pole nad prahovým napětím (Nayak *et al.*, 2011). Iniciací polymerního paprsku v NLES systému je samoorganizovaný proces probíhající na povrchu volné kapaliny a není vyvoláván kapilárními silami jako u systému SNE (Partheniadis *et al.*, 2020). Rychlost produkce elektrostatického zvlákňování v systému NLES lze významně zrychlit se zvýšením koncentrace polymerního roztoku a aplikovaného napětí (Zhao *et al.*, 2016).



Obrázek 6 A – schéma elektrostatického zvlákňování z povrchu roztoku, B – paprsky vytvořených vláken, upraveno dle Cengiz-Çallioglu (2014)

1.3.3 Parametry elektrostatického zvlákňování

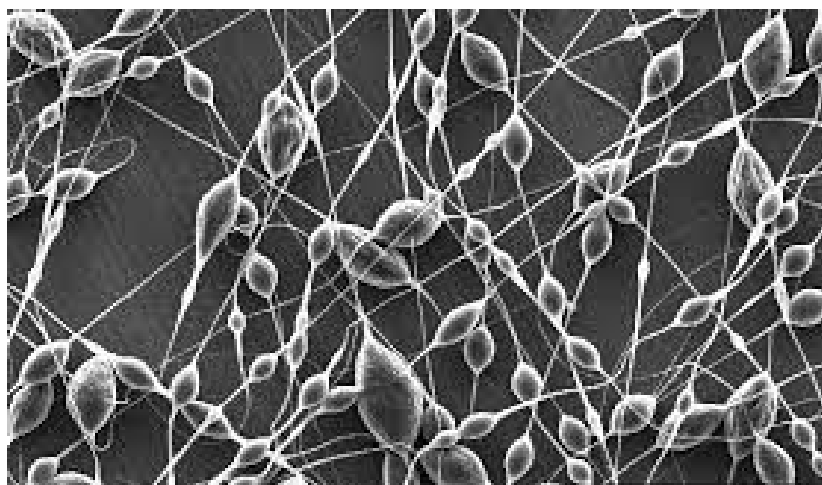
Parametry ovlivňující proces elektrostatického zvlákňování, které se projevují na výsledné struktuře a vlastnostech nanomateriálu, jsou (Okutan *et al.*, 2014; Luo *et al.*, 2010):

- vlastnosti polymerního roztoku – koncentrace, viskozita, elektrická vodivost, povrchové napětí, dielektrické vlastnosti, použité rozpouštědlo, samotný polymer;
- procesní regulovatelné veličiny – aplikované napětí, rychlost proudění kapaliny, vzdálenost elektrod, hydrostatický tlak, elektrický potenciál na elektrodě;
- okolní prostředí – vlhkost vzduchu, teplota vzduchu a proudění vzduchu v komoře

Důležitým faktorem pro elektrostatické zvlákňování je koncentrace polymeru v roztoku, která určuje, zda-li samotný polymerní roztok může být zvlákňován a také hraje důležitou roli v morfologii nanovláken (Bhardwaj *et al.*, 2010). Obecně platí, že zvýšení koncentrace polymeru v roztoku zvyšuje průměr a uniformitu vláken (Deitzel *et al.*, 2001). Proces elektrostatického zvlákňování vyžaduje přenos elektrických nábojů z elektrody na samotný polymerní roztok, proto je pro tvorbu nanovláken nezbytná minimální elektrická vodivost tohoto roztoku. Polymerní roztoky bez aditiv vyznačující se nulovou vodivostí nelze elektrostaticky zvlákňovat na nanovláknna. Elektrická vodivost je ovlivněna polymerem a typem rozpouštědla, koncentrací polymeru a teplotou (Okutan *et al.*, 2014). Povrchové

napětí je opět závislé na složení polymerního roztoku a hraje rozhodující roli v procesu elektrostatického zvlákňování (Bhardwaj *et al.*, 2010). Je to primární síla působící proti aplikovanému napětí během procesu elektrostatického zvlákňování. Povrchové napětí polymerních roztoků se mění s koncentrací, chemickým složením a teplotou (Okutan *et al.*, 2014). Reologické vlastnosti, zejména viskozita, ovlivňují taktéž proces tvorby nanovláken. Roztoky s vysokou viskozitou nelze ze zvlákňovací trysky vysunout, zatímco roztoky s nízkou viskozitou neprodukují vlákna (Bhardwaj *et al.*, 2010). Viskoelastická síla uvnitř paprsku nabitého polymerem je klíčová síla vedoucí k prodloužení paprsku na hrotu Taylorova kužele. Četné studie prokázaly vliv viskozity polymerního roztoku na velikost vlákna a obecně vyšší viskozita znamená větší velikost vlákna a rovnoměrnější tvorbu vláken (Deitzel *et al.*, 2001).

Aplikované napětí je kritickým prvkem při procesu elektrostatického zvlákňování, protože poskytuje povrchový náboj na paprsku a ovlivňuje průměr nanovláken. Obecně platí, že zvyšující se aplikované napětí vede ke snižování průměrů nanovláken s rostoucími elektrostatickými odpuzivými silami na paprsku polymerního roztoku (Okutan *et al.*, 2014). Rychlost přiváděného polymerního roztoku ovlivňuje rychlost proudu a rychlost přenosu roztoku. Proto je žádoucí nižší rychlost přivádění roztoku, aby došlo k odpaření rozpouštědla a získání pevných nanovláken. Avšak velmi nízká rychlost dávkování může tento proces inhibovat. Oproti tomu vysoké rychlosti dávkování vedou ke vzniku koráلكových vláken (Obrázek 7) s velkým průměrem v důsledku nedostupnosti správné doby odpařování rozpouštědla před dosažením kolektoru (Bhardwaj *et al.*, 2010).



Obrázek 7 Tvorba koráلكových vláken při nedokonalém odpařování rozpouštědla, upraveno dle Liu *et al.* (2008)

Elektrostatické zvlákňování ovlivňuje i samotné prostředí, které zahrnuje vlhkost, teplotu a proudění vzduchu. Mezi viskozitou polymerního roztoku a teplotou okolí existuje velmi blízký vztah. Taktéž vlhkost hraje důležitou roli ve zvlákňování, především působí na těkavé rozpouštědlo a ovlivňuje rychlost jeho odpařování (Bhardwaj *et al.*, 2010).

2 APLIKACE PVDF NANOVLÁKEN

Využití nanomateriálů se nachází v mnoha různých průmyslových odvětvích, konkrétně v oblastech výroby a skladování energie, úpravy vody a v oblasti životního prostředí, ve zdravotnictví, v tkáňovém inženýrství a v kosmetickém průmyslu. Důležitým atributem pro aplikaci nanomateriálů v jednotlivých oblastech průmyslu je samotný polymer, který nám definuje chemické a fyzikální vlastnosti vhodné pro budoucí využití (Kenry *et al.*, 2017).

I když nanovlákná vykazují malý průměr a velký povrch, nemají specifickou funkci. Tato funkce jim může být poskytnuta zabudováním léků, nanočástic nebo jiných funkčních materiálů (antibakteriální látky). A právě díky různým formám modifikací se stala nanovlákná v posledních letech velmi populárními v různých odvětvích (Lou *et al.*, 2020).

Existuje řada aplikací PVDF membrán, včetně úpravy vody, kdy se využívá membrán s charakteristickými morfologickými rysy jako je mikrofiltrace (MF), ultrafiltrace (UF), membránového bioreaktoru (MBR) nebo membránové destilace, separace plynů, odstraňování znečišťujících látek z vody (bór, těžké organické sloučeniny a amoniak), regenerace biopaliv, proces iontové výměny a další. Mnoho komerčních membrán na trhu je navíc vyrobeno z PVDF materiálu. Aplikace PVDF membrán jsou však omezeny dvěma hlavními problémy: znečištění při úpravě vody a smáčení PVDF membrán. Zanášení a smáčení snižuje účinnost membrány a snižuje výkon, což následně zvýší provozní náklady, a dokonce způsobí poruchu. Vhodná hydrofilní nebo hydrofobní úprava PVDF membrán je účinná při zlepšování odolnosti proti těmto limitujícím vlivům (Shen *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2014).

2.1 Úprava vody

Úprava vody je dnes hlavní oblastí aplikace PVDF membrán. PVDF membrána se vyznačuje definovanými rozměry pórů, které propouští velmi malé rozměry látek. Principem je separace látek znečišťujících vodu dle jejich rozměrů, jedná se o mikrofiltraci, ultrafiltraci a jiné (Kang *et al.*, 2014).

2.1.1 Mikrofiltrace (MF)

Obecně membrána MF separuje nebo odmítá vpustit částice o velikosti přibližně od 0,05 μm do 1,0 μm a je obvykle k dispozici pro odstraňování prvků a bakterií.

Membrána MF je také účinným způsobem odstraňování nerozpuštěných látek ke snížení zákalu vody (Pendergast *et al.*, 2011).

2.1.2 Ultrafiltrace (UF)

Membrány UF mají rozsah velikostí pórů od 0,01 do 0,1 μm a obvykle se vyznačují mezní hodnotou molekulové hmotnosti. Proces UF se obvykle používá k odstranění virů, emulgovaných olejů, hydroxidů kovů, koloidů, proteinů a dalších materiálů s velkou molekulovou hmotností z vody a jiných roztoků (Kang *et al.*, 2014).

2.1.3 Membránový bioreaktor (MBR)

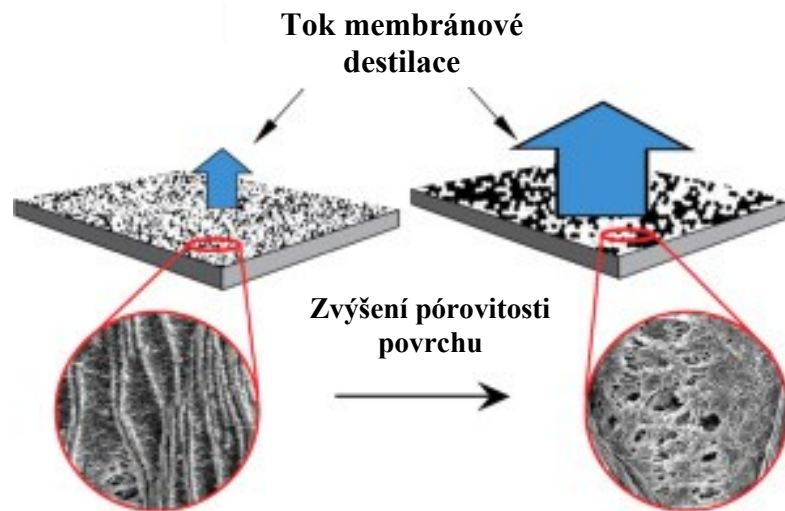
MBR kombinuje konvenční biologické čištění odpadních vod s membránovou separací. Jedná se o atraktivní alternativu ke konvenční úpravě aktivovaným kalem pomocí sekundární sedimentace (Asatekin *et al.*, 2006). Použité typy membrán se liší v závislosti na velikosti kontaminantů, které přicházejí do styku během procesu zpracování. V zásadě jsou membrány používané v MBR typické membrány pro UF nebo MF (Kang *et al.*, 2014).

2.2 Proces membránového stykače

Membránový stykač se používá k identifikaci membránových systémů, které se používají k udržování souvislého kontaktu ve dvou fázích. Na rozdíl od tradiční myšlenky membrán jako média pro provádění separací, membrána díky své selektivitě působí pouze jako bariéra mezi dvěma fázemi zapojenými do procesu membránového stykače. Dochází k přenosu z jedné fáze do druhé pomocí difúze. Vzhledem k vysokým hydrofobním vlastnostem byly PVDF membrány široce studovány pro použití v membránových stykačích, včetně membránové destilace, absorpce a desorpce kyselých plynů a odstraňování znečišťujících látek z vody, jako je bór, těkavé organické sloučeniny (VOC), amoniak atd. (Kang *et al.*, 2014).

Membránová destilace je membránový separační proces používaný k odsolování mořské a brakické vody. V současné době je membránová destilace stále ve stádiích testování a není plně implementována v průmyslu. Je však považována za slibnou technologii pro některé speciální oblasti, jako je odsolování vysoce slaných vod, kombinace se solární energií a odpadním teplem atd. V procesu membránové destilace musí být porézní membrána hydrofobní, což umožňuje průchod pouze molekulám páry, ale ne vodě v kapalném skupenství. Kromě toho by membrána měla mít dobrou tepelnou stabilitu při extrémních teplotách a nízkou tepelnou vodivost, aby se zabránilo tepelným ztrátám přes

membránu. PVDF je dostupný a běžný materiál v současných výzkumech membránové destilace (Kang *et al.*, 2014; Alkhudhiri *et al.*, 2012).



Obrázek 8 Membránová destilace, zvýšení pórovitosti, upraveno dle Nejati *et al.* (2015)

Kromě provozních podmínek je destilační výkon také úzce spojen s charakteristikami PVDF membrán, jako je velikost pórů a pórovitost. Ačkoli jsou pro tok prostupující vodou výhodné velké velikosti pórů a vysoká pórovitost (Obrázek 8), zvýší se také riziko smáčení membrány. Obecně je vhodná velikost pórů přibližně 0,1 až 0,5 μm . Vzhledem k velkým pórům a vysoké pórovitosti jak v objemu, tak na povrchu, membrány často trpí slabými mechanickými vlastnostmi, pokud jde o tuhost v tahu v axiálním i radiálním směru. Během procesu membránové destilace se mechanické vlastnosti dále snižují v důsledku zvýšené provozní teploty (Wang *et al.*, 2012). Slabá mechanická životnost PVDF membrány je jedním z hlavních problémů při dlouhodobém provozu pro udržení stability výkonu (Kang *et al.*, 2014).

2.2.1 Absorpce kyselých plynů

Odstranění kyselých plynů z plynných proudů je základním procesem v průmyslových provozech, např. zachycování CO_2 ze spalování (Ghasem *et al.*, 2012). Ve srovnání s běžnými absorbéry vede membránový stykač ke snížení velikosti, výšky, hmotnosti a kapitálových nákladů. Toky kapaliny a plynu jsou navíc nezávislé, což činí nerušenou

dostupnou povrchovou plochu při vysokých a nízkých rychlostech proudění (Kang *et al.*, 2014; Mosadegh-Sedghi *et al.*, 2014).

2.2.2 Desorpce kyselých plynů

Kromě absorpce kyselých plynů lze membránové stykače také potenciálně použít k desorpci nebo regeneraci kapalných absorbentů. Proces přenosu hmoty v membránových stykačích pro desorpci je podobný postupu pro absorpci, ale směr přenosu hmoty je obrácen z bohatého roztoku na proud plynů. Nižší teplota regenerace v membránových stykačích ve srovnání s běžnými regenerátory umožňuje využití odpadního tepla nebo energie nízké kvality, čímž dramaticky snižuje spotřebu energie regenerace a náklady na zachycení (Kang *et al.*, 2014; Khaisri *et al.*, 2011).

Ve srovnání s procesem absorpce kyselých plynů je desorpce pomocí PVDF membránového stykače relativně novým výzkumným polem. Kromě toho se desorpce kyselých plynů obvykle provádí při relativně vysoké teplotě. Stejně jako u membránového destilačního procesu je slabá mechanická odolnost PVDF membrán se zvýšenými provozními teplotami také problémem, který nelze opomenout (Kang *et al.*, 2014).

2.2.3 Odstranění znečišťujících látek z vody

Těkavé organické sloučeniny (VOC – volatile organic compound) jsou považovány za jednu z hlavních látek znečišťujících životní prostředí. Tyto sloučeniny prokázaly významnou toxicitu vůči lidem, rostlinám i zvířatům. Membránový kontakt je efektivní přístup k odstraňování těchto látek z vody (Kang *et al.*, 2014).

2.3 Obnova biopaliv pervaporací

Rostoucí energetická krize v posledních letech vedla k rozvoji technologií umožňujících nahrazení fosilních paliv obnovitelnou energií. Biopaliva, jako je bioetanol, jsou jednou z nejúspěšnějších alternativ obnovitelných a udržitelných paliv (Wei *et al.*, 2014). Oddělení nebo získání etanolu z fermentovaných suspenzí je klíčovým procesem v této technologii. V posledních letech je pervaporace považována za zajímavý přístup a získala si významnou pozornost (Shao *et al.*, 2007). K dnešnímu dni je polydimethylsiloxan (PDMS) široce používaným membránovým materiálem pro regeneraci etanolu pomocí modelu difúze roztoku. PVDF membrána se v tomto procesu většinou používá jako podpora PDMS za účelem přípravy vícevrstvé kompozitní membrány PDMS / PVDF speciálně pro regeneraci etanolu (Kang *et al.*, 2014; Zhan *et al.*, 2010).

3 ESENCIÁLNÍCH OLEJE

Esenciální oleje (EO), též éterické oleje nebo silice, jsou těkavé, přírodní, komplexní sloučeniny charakterizované silným zápachem, které jsou tvořeny aromatickými rostlinami jako sekundární metabolity (Shaaban, 2020). Mezi důležité rysy EO patří především jejich těkavost, lipofilita, aromaticnost a kapalnost. Jedná se o látky převážně bezbarvé nebo do žluta zbarvené s hustotou nižší nežli voda. Vyznačují se citlivostí na vzduch, světlo či teplo, kdy snadno podléhají oxidaci (Hashemi *et al.*, 2018). Jsou to složité vícesložkové systémy tvořené převážně z terpenů a dalších neterpenových složek (Shaaban, 2020; Bakkali *et al.*, 2008).

Celková kvalita esenciálních olejů je ovlivněna metodami jejich získávání, které bychom mohli rozdělit na tři ústřední technologické procesy. Jedná se o lisování, destilaci (destilace vodní parou, hydrodestilace) a extrakci (enfleuráž, organickými rozpouštědly nebo superkritickým CO₂) (Baser a Buchbauer, 2010).

V současné době je známo přibližně 3000 esenciálních olejů, z nichž 300 je komerčně důležitých zejména pro farmaceutický, agronomický, potravinářský, sanitární, kosmetický a parfémový průmysl. Esenciální oleje nebo některé z jejich složek se používají v parfémoch a kosmetických přípravcích, v hygienických výrobcích, ve stomatologii, v zemědělství, jako konzervanty a přísady do potravin a jako přírodní prostředky. Esenciální oleje se navíc používají při masáží jako směsi s rostlinným olejem nebo v koupelích jako forma aromaterapie (Shaaban, 2020).

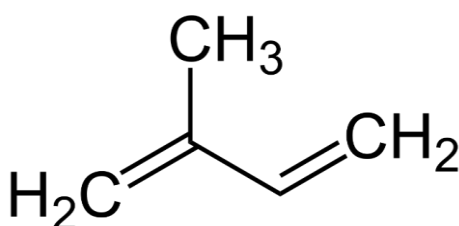
3.1 Charakterizace esenciálních olejů

3.1.1 Chemické složení

Chemické zastoupení EO je velice různorodé, jsou tvořeny více než 20 nízkomolekulárními látkami zastoupeny v různých koncentracích. Konkrétní olej má definované chemické složení, které se pak odráží v jeho vlastnostech. Nejvíce zastoupené látky, majoritní, představují až 70 % EO a udávají tomuto oleji charakteristické vlastnosti (Sharfi-Rad *et al.*, 2017).

Látky tvořící chemické složení EO by se daly rozdělit do 3 skupin, na terpeny, šikimáty a minoritní látky (estery, neterpenoidní uhlovodíky, laktony). Terpeny tvoří nejvýznamnější skupinu látek tvořící EO, vyskytují se převážně v modifikacích monoterpenů a seskviterpenů (Baser a Buchbauer, 2010).

Terpeny patří mezi hlavní složky esenciálních olejů. Jsou známy i pod názvem izoprenoidy, jelikož jsou tvořeny přesmykem jedné či více jednotek izoprenu (2 -metylbuta-1,3 -dien) zobrazené na Obrázku 9 . Terpeny je možné dělit na základě počtu izoprenových jednotek v molekule, kdy jednu jednotku izoprenu obsahují hemiterpeny (C5). Molekuly tvořené dvěma izoprenovými jednotkami se nazývá monoterpeny (C10), které jsou nejvíce ze všech druhů terpenů zastoupeny v EO. A seskviterpeny obsahující tři izoprenové jednotky se vyznačují přítomností patnácti atomů uhlíků (C15). Existují také diterpeny (C20), triterpeny (C30) a tetraterpeny (C40) (Shaaban, 2020; Baser a Buchbauer, 2010).



Obrázek 9 Strukturální vzorec izoprenu,
upraveno dle Baser a Buchbauer (2010)

Monoterpeny jsou považovány za sekundární metabolity rostlin, které jim slouží jako atraktanty nebo obranné látky, které si rostlina nesyntetizuje za účelem zdroje energie nebo jako zásobní látky. Hlavní účel monoterpenů spočívá v zajištění komunikace mezi rostlinami, v ochraně rostliny před vysycháním či napadením škůdci. Taktéž lákají opylující hmyz a zprostředkovávají interakce mezi rostlinou a prostředím. Důležitou roli hrají monoterpeny díky charakteristickým vlastnostem v různých průmyslových odvětvích, jako v potravinářství, kosmetice a farmacii (Shaaban, 2020).

Z chemického hlediska mohou molekuly monoterpenů nabývat acyklických, mono- a bicyklických řetězců. Mezi nejznámější monoterpeny patří geraniol, limonen, menthol a kafr.

Přidáním jedné izoprenové jednotky k monoterpenu vzniknou seskviterpeny. S vyšším počtem uhlíků v řetězci dochází ke zvýšení bodu varu, tudíž seskviterpeny se vyznačují vyšším bodem varu nežli monoterpeny. S vyšším počtem uhlíků v molekule dochází i ke zvýšení molekulové hmotnosti, která má vliv na těkavost sloučeniny (méně těkavé než monoterpeny). Obdobně jako monoterpeny, jejich řetězec může být rozvětvený nebo cyklický. Deriváty seskviterpenů mají typickou vůni silic z listů pačuli, santalového nebo cedrového dřeva (Shaaban, 2020; Baser a Buchbauer, 2010).

Kyselina šikimová je pro rostliny důležitým meziproduktem. Slouží jako prekurzor pro flavonoidy a lignin. Flavonoidy jsou organické sloučeniny, které tvoří podstatnou součást rostlin, jako antioxidanty, barviva a látky vyznačující se ochrannou proti ultrafialovému záření. Lignin je důležitou stavební složkou dřeva zabezpečující dřevnatění jeho buněčných stěn. Proti tomu hraje klíčovou roli jako strukturální materiál rostlin v dřevnatých tkáních. Deriváty kyseliny šikimové mají charakteristický vzorec šestičlenného kruhu s jedním či třemi uhlíkatými substituenty v poloze 1 a kyslíkem v poloze 3, 4 nebo 5 (Baser a Buchbauer, 2010).

Fenylpropanoidy patří mezi složky EO, které lze syntetizovat šikimátovou cestou prostřednictvím fenylalaninu a kyseliny skořicové za působení různých enzymů (transferáz, lyáz, oxidoreduktáz). Mezi významné fenylpropanoidy patří eugenol, vanilín a deriváty kyseliny skořicové (Baser a Buchbauer, 2010).

Esenciální oleje jsou tvořeny mnoha látkami zastoupeny v různých koncentracích. Látky vyskytující se ve stopovém množství např. neterpenoidní uhlovodíky, mezi něž patří aldehydy a alkoholy s krátkým řetězcem, tvoří doprovodné složky EO. Tyto látky vznikají metabolickou přeměnou, převážně jako metabolity u degradace fosfolipidů a mastných kyselin. Dalšími doprovodnými látkami vyskytující se v EO jsou cyklické estery kyseliny mléčné (laktony) nebo jiné estery, isothiokyanáty a sloučeniny obsahující ve své struktuře dusík nebo síru (Shaaban, 2020).

3.1.2 Vlastnosti esenciálních olejů

Díky rozmanitému složení se EO pyšní řadou biologických účinků, zejména se jedná o antimikrobiální, antioxidační, antiseptické, analgetické a narkotické účinky.

Omezené množství EO mají velký potenciál jakožto antimikrobiálních látek, které účinně působí proti některým kmenům bakterií, plísním a virům. Antimikrobiální aktivita esenciálního oleje se odvíjí především od jeho chemického složení, přítomnosti různých alkoholů, aldehydů fenolů a terpenů. Právě díky rozmanitému složení EO a přítomnosti různých látek s možným antimikrobiálním účinkem mohou tyto oleje působit proti širokému spektru mikroorganismů, jelikož mezi těmito látkami může docházet k synergickému účinku. Díky těmto vlastnostem mohou být využívány jako konzervační látky v kosmetickém nebo potravinářském průmyslu (Chouhan *et al.*, 2017; Swamy *et al.*, 2016).

Mnoho EO má antioxidační vlastnosti a použití EO jako přírodních antioxidantů je oblastí rostoucího zájmu, protože u některých syntetických antioxidantů (BHA, BHT), existuje podezření, že jsou potenciálně škodlivé pro lidské zdraví. Přidáním EO do potravin nebo kosmetických produktů, buď přímým mícháním, nebo v aktivním obalu, může představovat platnou alternativu k zabránění autooxidace a prodloužení trvanlivosti produktu (Amorati *et al.*, 2013).

3.1.3 Antibakteriální účinky

V současnosti je k léčbě bakteriálních onemocnění k dispozici mnoho antibiotik. Avšak zvýšená rezistence vůči těmto léčivým přípravkům vedla ke zvýšené závažnosti onemocnění způsobených bakteriálními patogeny. Nízká imunita hostitele a schopnost bakterií vyvinout rezistenci na antibiotika související s tvorbou biofilmu, zvýšily mortalitu u lidí. Kromě toho může použití několika antibakteriálních látek ve vyšších dávkách způsobit u lidí toxicitu. To přimělo vědce k prozkoumání možných alternativ proti bakteriálním kmenům. V tomto ohledu jsou rostlinné esenciální oleje a jejich hlavní chemické složky potenciálními kandidáty jako antibakteriální látky (Svamy *et al.*, 2016).

Mechanismus antimikrobiálního účinku EO se projevují narušením integrity a funkce buněčné membrány mikroorganismů. Dochází k expanzi a změně ve fluiditě membrány, tedy ke zvýšení tekutosti, což vede k narušení celkové membránové integrity. Toto narušení má vliv na prostupnost nízkomolekulárních látek, mezi které patří vodík, draslík a sodík. Díky úniku těchto látek dojde ke snížení membránového potenciálu, čímž se naruší iontový gradient mezi vnitřním a vnějším prostředím buňky. Takováto modifikace v buňce může mít vážný vliv i na další buněčné orgány. Některé terpeny přítomné v EO s funkčními skupinami mohou také reagovat s integrovanými enzymy v buněčné membráně (enzymy dýchacích cest), které se podílí na deaktivaci a přerušení životně důležité funkce buněk (Svamy *et al.*, 2016; Dreger *et al.*, 2013).

Grampozitivní bakterie jsou převážně citlivější na EO nežli gramnegativní bakterie. Je to zapříčiněno rozdílnou stavbou buněčné stěny u grampozitivních bakterií. Stavba buněčné membrány gramnegativních bakterií je značně složitější, poskytuje tedy zvýšenou toleranci k hydrofobním antimikrobiálním sloučeninám vyskytujících se v EO. Je to důsledkem velkého obsahu lipopolysacharidů obsažených v buněčné stěně, ty vytvářejí bariéru pro makromolekuly a hydrofobní látky (EO). Oproti tomu buněčná stěna grampozitivních

bakterií je převážně složena s peptidoglykanu, který není zdaleka tak hustý, aby dokázal tolerovat antimikrobiálními sloučeninám (Amorati *et al.*, 2013).

Rostlinné produkty a bioaktivní sloučeniny mohou být novým zdrojem antivirotik, protože přírodní produkty mají ve své podstatě vysokou chemickou rozmanitost. Virové nemoci jsou stále významným problémem pro lidské zdraví po celém světě. Hlavní předností esenciálních olejů je inhibice virové aktivity již během počátku virové infekce, jelikož potlačují syntézu virových proteinů a zastavují proces genové exprese viru. EO mají významný potenciál jako jedna z možných alternativ k syntetickým antivirotikům (Svamy *et al.*, 2016).

Esenciální oleje mají schopnost snížit virulenci pozastavením replikace viru během fáze před adsorpcí viru na hostitelskou buňku. Mechanismus působení esenciálního oleje na viry je dán přímými virucidními účinky, kdy denaturují strukturní proteiny viru. Za látky podílející se na antivirových účincích jsou zejména flavonoidy a fenolické látky, kdy tyto látky reagují s proteinovým obalem viru, čímž zabrání vazbě viru na hostitelské buňce. (Wei *et al.*, 2010).

Antiseptické vlastnosti u EO nejsou ničím neobvyklým, právě díky svým širokospektrálním účinkům vůči bakteriím. Z EO lze vyrobit velmi účinné antiseptické roztoky k dezinfekci kožních ran, hojivé koupeli nebo kloktání. Pomocí tohoto roztoku dochází k odstranění nežádoucích patogenů z povrchu pokožky (Sarmiento-Neto *et al.*, 2016).

Antioxidanty patří mezi organické látky, které minimalizují aktivitu volných radikálů, a tím snižují pravděpodobnost jejich vzniku nebo je modifikují na méně reaktivní nebo nereaktivní formu. Díky tomu omezují procesy oxidačního poškození. Tato aktivita není u EO překvapující s ohledem na přítomnost fenolických látek, které jsou známé svými antioxidačními účinky (Amorati *et al.*, 2013).

3.2 Produkce esenciálních olejů

Jak již bylo řečeno, kvalita EO se odvíjí od procesů jejich získávání. Tyto metody získávání EO by se daly rozdělit na tři technologické procesy: lisování, destilaci a extrakci.

3.2.1 Lisování

Lisování patří mezi metody získávání silic za studena, kdy nedochází k přímému zahřívání částí rostlin. Tento postup získávání je typický pro citrusové plody s vysokým obsahem silic, např. citrón, pomeranč a bergamot. Působením vysokého tlaku dochází k mechanickému narušení kůry (přítomnost olejových buněk) a poté následuje samovolné

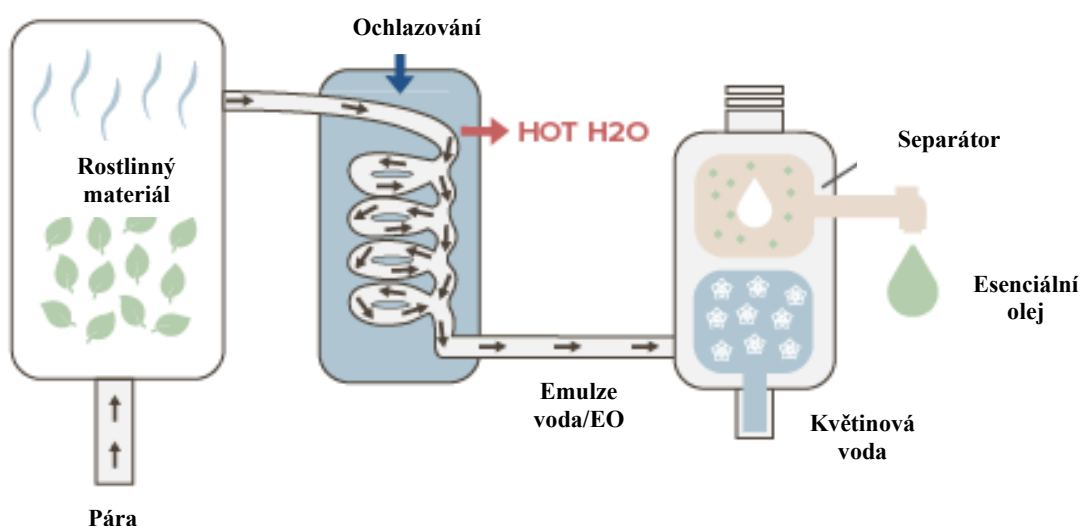
vytékání oleje, který je odplaven vodou. Výsledná emulze voda / olej se pomocí odstředivé síly rozdělí na centrifuze. Lisovat lze i celé plody citrusů, avšak velkou překážkou je kyselost šťávy, která zhoršuje kvalitu výsledného esenciálního oleje (Tongnuanchan *et al.*, 2014; Baser a Buchbauer, 2010).

Silice z citrusů obsahují velké zastoupení terpenů, a díky tomu jsou velmi náchylné k oxidaci. Oxidaci lze předejít pomocí hermetického uzavření ve skleněné nádobě, která je před naplněním promyta proudem kapalného dusíku (Baser a Buchbauer, 2010).

3.2.2 Destilace

Většina EO se získává destilací, i přes to, že jedná o nejméně úspornou metodu. Na druhou stranu lze pomocí destilace získat oleje velmi vysoké kvality. Rostlinný materiál bývá často před samotnou destilací rozmělněn, aby se dosáhlo vysoké výtěžnosti. Metoda nabízí zpracování velkého množství materiálu najednou, což patří mezi její pozitiva spolu s nízkou námahou (Tongnuanchan *et al.*, 2014; Baser a Buchbauer, 2010).

Destilace vodní parou je založena na prostupu horké páry přes dno kotle (mřížky), kde je uložen rostlinný materiál. Obohacená vodní pára o uvolněné silice prochází spirálovým chladičem, kde se ochlazuje a vzniká kondenzát zachycený v zásobníku, ve kterém po ustálení kondenzátu dochází k rozdělení vodné fáze od silice (Obrázek 10). Silici lze poté snadno oddělit od vodné fáze (Tongnuanchan *et al.*, 2014; Baser a Buchbauer, 2010).



Obrázek 10 Schéma destilace vodní parou, upraveno dle King (2020)

Hydrodestilace se řadí mezi poměrně jednoduché metody získávání EO, ale oproti jiným metodám má velkou výhodu, jelikož nedochází k tepelné degradaci výsledné silice. Princip metody spočívá v povaření rostlinného materiálu ve vodě, kdy EO obsažený v olejových buňkách difunduje přes buněčnou stěnu do vody. Poté se EO odpařuje a odvádí proudem vodní páry. Po zkondenzování destilátu dojde k separaci oleje od vodné fáze na základě rozdílných hustot (Baser a Buchbauer, 2010).

3.2.3 Extrakce

Mezi další metodu získávání EO patří extrakce, a to buď extrakce pomocí organických rozpouštědel (hexan, benzín), nebo extrakci pomocí superkritického oxidu uhličitého. Zvláštním případem extrakce je enfleuráž, kdy dochází k extrakci květů do tuku za studena (Tongnuanchan *et al.*, 2014).

Superkritická fluidní extrakce patří mezi alternativní extrakční postupy díky úpravám teplotních a tlakových podmínek extrakčního média. Extrakty získané organickými rozpouštědly mohou obsahovat zbytky těchto rozpouštědel, které se podílí na kontaminaci konečného produktu. Právě extrakcí pomocí oxidu uhličitého, lze dosáhnout čistého produktu bez extrakčního média (Zermane *et al.*, 2010; Marongiu *et al.*, 2001).

Použití CO₂ jako superkritického rozpouštědla lze při konkrétních kritických parametrech (teplota 31,06 °C a tlak 73,82 bar), kdy vykazuje netoxické vlastnosti, nehořlavost a chemickou stabilitu (Zermane *et al.*, 2010). Jedná se o fyzikální proces, kdy CO₂ v superkritickém stavu (kapalný stav) je uchováván pod zvýšeným tlakem v bezprostřední blízkosti rostlinného materiálu. Jakmile dojde ke snížení tlaku, změní se stav CO₂ z kapalného na páru, která se odpaří a výsledným produktem je vysoce kvalitní čistá silice. Tento postup se vyznačuje nutností speciálního vybavení, který má následně dopad na finální cenu silice (Tongnuanchan *et al.*, 2014; Zermane *et al.*, 2010).

Enfleuráž patří mezi jednu z nejstarších metod k izolaci aromatických látek. Metoda je velmi časově, fyzicky i ekonomicky náročná. Pomocí enfleuráže se vyrábí především luxusní silice např. z květů růží, jasmínu nebo pomerančových květů.

Proces spočívá v maceraci (výluhu) výchozího rostlinného materiálu v tuku nebo oleji za studena. Na natažené plátno ukotvené v dřevěném rámu je z části nanesen tuk (senzorycky neutrální), na který jsou rovnoměrně rozvrstveny čerstvé květy. Jednotlivé rámy jsou naskládány na sebe, což vytvoří hermeticky uzavřený systém. Po uplynutí 24 hodin jsou květy vyměněny za čerstvé. Výsledný tuk obohacený o silice se extrahuje alkoholem, kdy

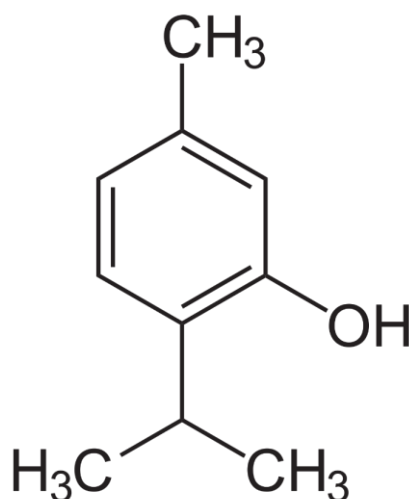
se za následného vymražení a filtrace získá tzv. laváž. Z laváže se následně oddestiluje rozpouštědlo za vzniku výsledného produktu tzv. absolutní silice (Baser a Buchbauer, 2010).

3.3 Aktivní látky esenciálních olejů

Esenciální oleje jsou typické svou biologickou aktivitou, včetně antioxidačních, protirakovinných a antimikrobiálních vlastností. Tyto vlastnosti jsou dány především chemickým složením, které je velmi pestré (Seow *et al.*, 2014). EO jsou hojně zastoupeny terpeny, které tvoří jejich majoritní složení a vymezují jim právě jejich biologickou aktivitu. Tyto látky bychom tedy mohly nazvat aktivními látkami EO, které mohou vzájemně interagovat a tím zvyšovat svou biologickou účinnost. Mezi tyto látky se řadí například thymol, karvakrol, eugenol nebo deriváty kyseliny skořicové (Shaaban, 2020).

3.3.1 Thymol

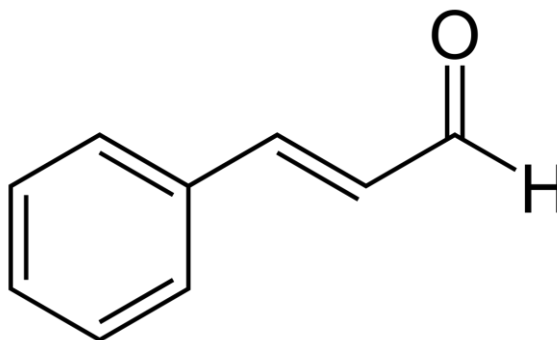
Thymol, též 2-isopropyl-5-methylfenol (Obrázek 11), je monoterpenový fenol. Jedná se o bezbarvou krystalickou sloučeninu s charakteristickým zápachem. Vyznačuje se dobrou rozpustností v alkoholu a jiných organických rozpouštědlech, ale omezenou rozpustností ve vodě (Kowalczyk *et al.*, 2020). Thymol je hlavní účinná složka odpovědná za aktivitu esenciálního oleje tymiánu, má antiseptické, antibakteriální, antifungální, antivirové, antioxidační a sedativní vlastnosti (Šegvić *et al.*, 2007).



Obrázek 11 Strukturní vzorec thymolu,
upraveno dle Thorman (2011)

3.3.2 Cinnamaldehyd

Cinnamaldehyd, (2E)-3-fenylprop-2-enal (Obrázek 12), je organická sloučenina, která určuje skořici její chuť a vůni. Jedná se o nažloutlou viskózní olejovitou kapalinu s různorodou biologickou aktivitou (antimikrobiální účinek). Přesněji se hovoří o trans-cinnamaldehydu, což je jediný přirozeně se vyskytující izomer. Cinnamaldehyd se přirozeně vyskytuje v kůře skořicovníku ceylonského a dalších druzích skořicovníků. (Lee *et al.*, 2020)

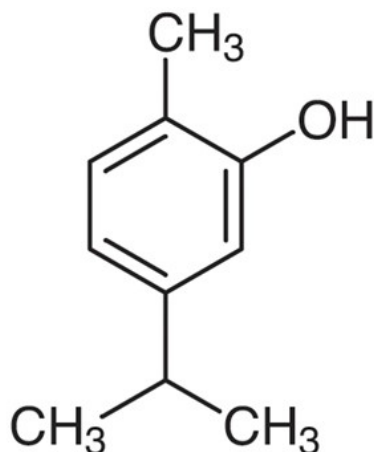


Obrázek 12 Strukturní vzorec cinnamaldehydu (trans),
upraveno dle Thorman (2011)

3.3.3 Karvakrol

Karvakrol, 5-isopropyl-2-methylfenol (Obrázek 13), je fenolický monoterpenoid vyskytující se v EO z oregana, tymiánu, pepře a dalších rostlin. Jedná se o čirou až nažloutlou kapalinu se širokou škálou bioaktivit, mezi které patří antimikrobiální, antioxidační a protinádorová aktivita. Karvakrol inhibuje růst některých kmenů bakterií, např. *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* nebo *Salmonella* (Sharifi-Rad *et al.*, 2018).

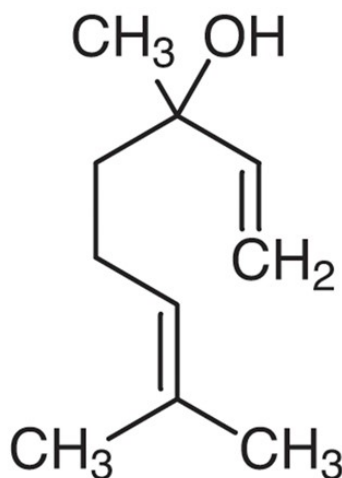
Antimikrobiální aktivita karvakrolu je vyšší než u jiných těkavých sloučenin přítomných v EO v důsledku přítomnosti volné hydroxylové skupiny. Karvakrol má také vysokou antioxidační aktivitu a byl úspěšně používán, hlavně v souvislosti s thymolem, jako dietní rostlinné aditivum ke zlepšení antioxidačního stavu zvířat (Sharifi-Rad *et al.*, 2018).



Obrázek 13 Strukturální vzorec karvakrolu,
upraveno dle Thorman (2011)

3.3.4 Linalool

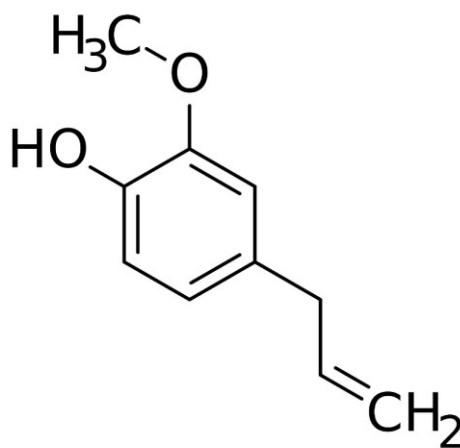
Linalool, též 3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol (Obrázek 14), je nocyklický monoterpénoid, který se běžně extrahuje z levandule, růže, bazalky, tymiánu a jiných rostlin a bylin. Přítomen je téměř ve všech esenciálních olejích v různých koncentracích. Jedná se bezbarvou, jemně nažloutlou kapalinou s jemnou květinovou vůní, která je široce používána v kosmetice, stejně jako ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu. Na základě předchozích studií má linalool anticholesterolový a antibakteriální účinek (Cho *et al.*, 2011). Ačkoliv se uvádí mnoho studií zkoumající antibakteriální aktivitu esenciálních olejů bohatých na linalool, existuje jen málo studií o antibakteriálním účinku samotného linaloolu (Liu *et al.*, 2020).



Obrázek 14 Strukturální vzorec linaloolu,
upraveno dle Thorman (2011)

3.3.5 Eugenol

Eugenol, 2-methoxy-4-(prop-2-en-1-yl)fenol (Obrázek 15), je organická sloučenina patřící mezi fenylnaoidy. Jedná se o bezbarvou až světle nažloutlou olejovitou kapalinu získanou z EO z hřebíčku, skořice nebo bobkového listu. Obdobně jako ostatní výše zmíněné aktivní látky je dobře rozpustný v organických rozpouštědlech, ale omezeně rozpustný ve vodě. Jedná se o funkční složku mnoha produktů ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu v omezených koncentracích. Jeho deriváty se používají v medicíně jako lokální antiseptikum a anestetikum. Jeho biologické aktivity zahrnují antimikrobiální, protizánětlivé, analgetické a antioxidační vlastnosti (Mohammadi *et al.*, 2017).



Obrázek 15 Strukturní vzorec eugenolu,
upraveno dle Thorman (2011)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 ZAŘÍZENÍ A MATERIÁL

4.1 Přístroje a pomůcky

Biohazard box EUROFLOW (Schoeller Instruments, ČR)

Autokláv Systec 2540 EL (Systec, Linden, Německo)

Biologický termostat Memmert INE 600 (Memmert, Schwabach, Německo)

Analytické váhy (KERN, Česká republika)

Denzitometr (Erba Lachema, Česká republika)

Vortex IKA MS3 basic (IKA, Německo)

Zařízení pro elektrostatické zvlákňování, systém NLES, zdroj vysokého napětí (Spellman SL70PN150, Hauppauge, New York, USA), tyčka z uhlíkové oceli (průměr 10 mm) a nepohyblivý železný kolektor (nejedná se o certifikované zařízení, sestaven originál, Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v . v . i .)

Skenovací elektronový mikroskop (SEM) TESCAN VEGA 3 (Tescan, Česká republika)

Magnetronový rozprašovací přístroj QUORUM Q150R ES (Quorum, Anglie)

UV/VIS spektrofotometr photoLab® 6600 UV-VIS (WTW, Německo)

Fluorescenční mikroskop OLYMPUS DP73 (Olympus Corporation, Německo)

Magnetická míchačka (Heidolph, Švabach, Švýcarsko)

Křemenná kyveta 10 mm (Hellma Analytics, Německo)

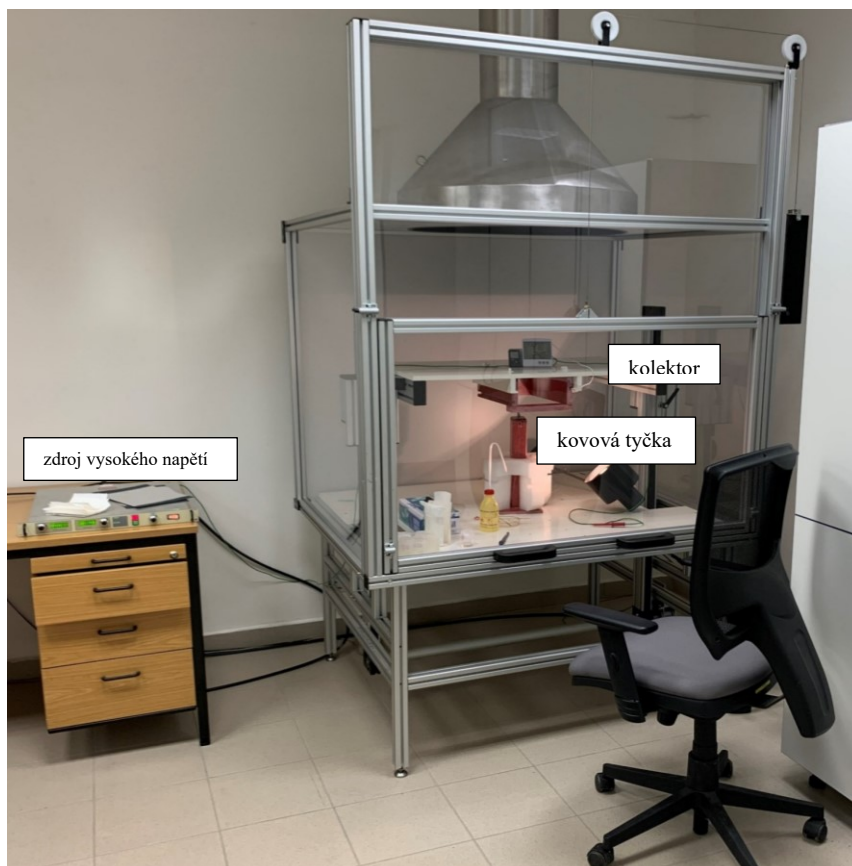
Automatické pipety (Biohit, Švýcarsko)

Petriho misky (plastové i skleněné)

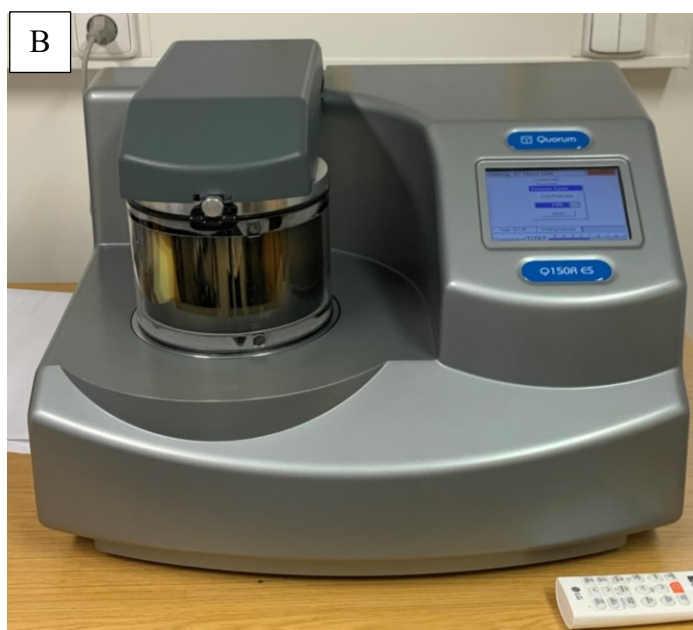
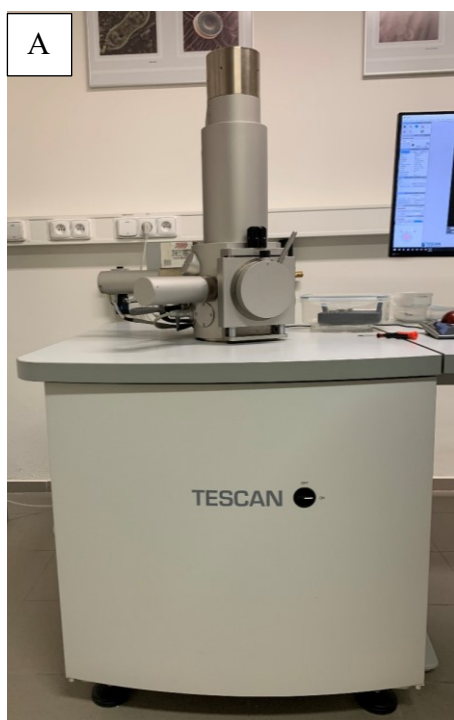
Bakteriologické kličky

Laboratorní sklo (kádinky, odměrné válce, skleněné a plastové zkumavky, odměrné baňky)

Kladivo a ocelové vykrajovátko na disky o průměru 9 mm



Obrázek 16 Zařízení pro elektrostatické zvlákňování (Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v . v . i .); (vlastní zdroj)



Obrázek 17 Přístroje pro zobrazení morfologie nanovláken a filmů, A – skenovací elektronový mikroskop TESCAN VEGA3, B – magnetronový rozprašovací přístroj QUORUM (vlastní zdroj)

4.2 Chemikálie

Polyvinylidenfluorid (PVDF), Kynar® PVDF (Arkema, Colombes, Francie)

Dimethylformamid (DMF; VWR Chemicals, Francie)

Thymol (Sigma-Aldrich, USA)

Cinnamaldehyd; trans-Cinnamaldehyde (Sigma-Aldrich, USA)

Karvakrol; Carvacrol (Sigma-Aldrich, USA)

Linalool (Sigma-Aldrich, USA)

Eugenol (Sigma-Aldrich, USA)

Sacharóza (Himedia, Bombaj, Indie)

Barviva na fluorescenční mikroskopii SYTO® 9 (Invitrogen™, Carlsbad, Kalifornie)

4.3 Bakteriální kmeny

Bakteriální kmeny pocházejí z České sbírky mikroorganismů (CCM):

- *Escherichia coli* CCM 3954
- *Staphylococcus aureus* CCM 3593

4.4 Živná média

Mueller Hinton bujón (MH; Himedia, Bombaj, Indie)

Agar, typ I (Himedia, Bombaj, Indie)

Bujón mozkosrdcové infúze (BHI; Brain Heart Infusion Broth, Hiedia, Bombaj, Indie)

Složení MH bujónu:

- Hovězího extraktu.....2,0 g
- Kaseinový hydrolyzát.....17,5 g
- Kukuřičný škrob1,5 g
- Destilovaná vodado 1000 ml

Složení MH agaru:

- Hovězího extraktu.....2,0 g
- Kaseinový hydrolyzát.....17,5 g
- Kukuřičný škrob.....1,5 g
- Agar, Typ I.....17,0 g
- Destilovaná vodado 1000 ml

Složení BHI bujónu s 5 % w /w sacharózou:

- Výtažek z telecího mozku.....7,5 g
- Výtažek z hovězího srdce10,0 g
- Pepton10,0 g
- Glukóza2,0 g
- NaCl5,0 g
- Na₂HPO₄.....2,5 g
- Sacharóza50 g
- Destilovaná voda.....do 1000 ml

5 METODIKA PRÁCE

V experimentální části byly nejdříve připraveny polymerní filmy s různými koncentracemi aktivních látek esenciálních olejů (EO) k posouzení antibakteriálních účinků na grampozitivní a gramnegativní bakterie. Jednotlivé koncentrace aktivních látek s nejlepšími inhibičními výsledky v polymerním roztoku byly poté zvlákněny pomocí elektrostatického zvláknování v systému NLES.

5.1 Polymerní filmy

5.1.1 Příprava polymerních roztoků

Na přípravu polymerních roztoků byl použit 23% w/w polymer PVDF, který byl rozpuštěn v organickém rozpouštědle DMF za pomoci magnetického míchadla (250 rpm, 40 °C, 15 min). Následně k homogennímu čirému viskóznímu roztoku byly kvantitativně přidány navážky aktivních látek esenciálních olejů (thymol - Thy, karvakrol - Kar, linalool - Lin, cinnamaldehyd - Cin a eugenol - Eug) o hmotnostních koncentracích 1, 3 a 5 % a po dobu 10 minut byly promíchávány na magnetickém míchadle (250 rpm, 25 °C). Celkově bylo připraveno 5 g výsledného polymerního roztoku, který byl převeden do skleněných Petriho misek (průměr 60 mm). Jednotlivé teoretické navážky polymeru, rozpouštědla a aktivních látek EO jsou zaznamenány v Tabulce 1.

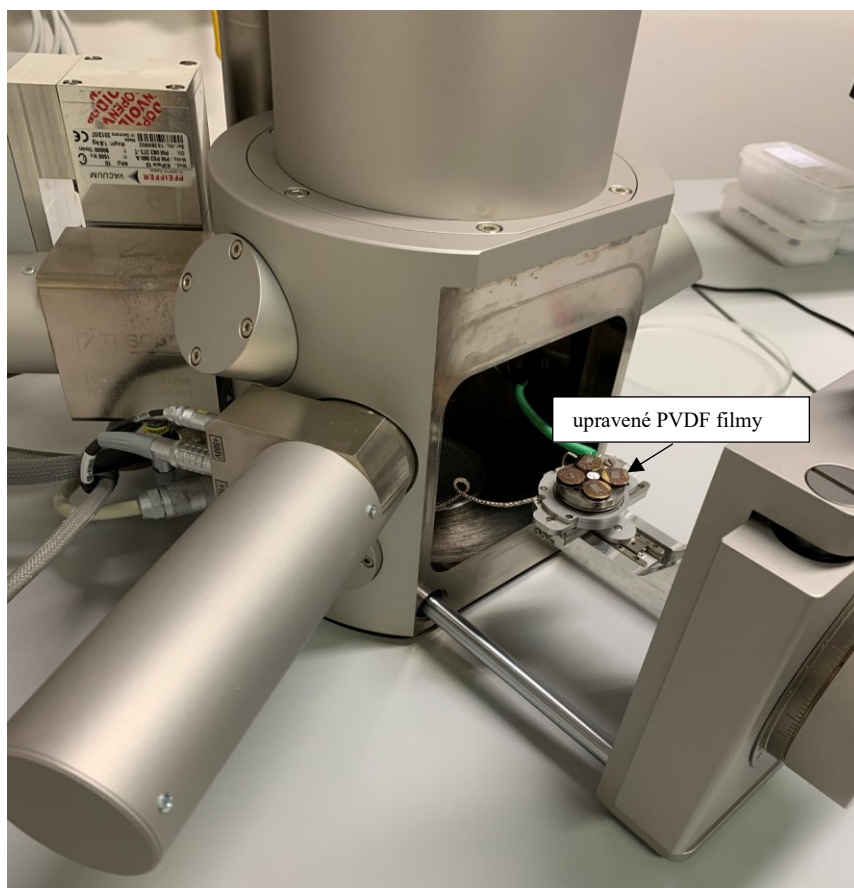
Tabulka 1 Teoretické navážky jednotlivých látek pro přípravu polymerních filmů

23% w/w PVDF [g]	DMF [g]	Aktivní látky EO		
		1 % w/w [g]	3 % w/w [g]	5 % w/w [g]
1,1500	3,8500	x	x	x
1,1385	3,8155	0,0500	x	x
1,1155	3,7345	x	0,1500	x
1,0925	3,6575	x	x	0,2500

Otevřené Petriho misky s polymerními roztoky byly uloženy po dobu 24 hodin v digestoři, kdy došlo k postupnému odpařování rozpouštědla a vzniku pevného bílého polymerního filmu.

5.1.2 Charakterizace morfologie polymerních filmů pomocí SEM

Pro charakterizaci struktury filmů byly připraveny vzorky polymerních filmů s vodivou vrstvou zlata pomocí magnetronového rozprašovací přístroje QUORUM Q150R ES, viz Obr. 17. Následně tyto vzorky byly vloženy do skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) TESCAN VEGA 3 .



Obrázek 18 Vzorky PVDF filmů s vodivou vrstvou vložené do SEM
(vlastní zdroj)

5.1.3 Antibakteriální aktivita

Antibakteriální aktivita připravených polymerních filmů byla testována na bakteriích *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* pomocí diskové difúzní metody. Nejdříve byly připraveny disky polymerních filmů o průměru 9 mm. Z 24hodinových bakteriálních kultur (*E. coli* a *S. aureus*) byly připraveny bakteriální suspenze o zákalu 0,5 McFarland ve fyziologickém roztoku. Bakteriální suspenze byla v přebytku (1 ml) napipetována na celý povrch MH agaru. Přebytká suspenze byla odpipetována a na takto zaočkovanou Petriho misku byly vloženy přichystané disky z polymerních filmů. Petriho misky byly inkubovány při 37 °C po dobu 24 hodin v termostatu. Poté byly vyhodnoceny inhibiční

zóny. Tato metoda se zopakovala po 3 a 6 měsících od prvního experimentu, vždy ve třech opakováních.

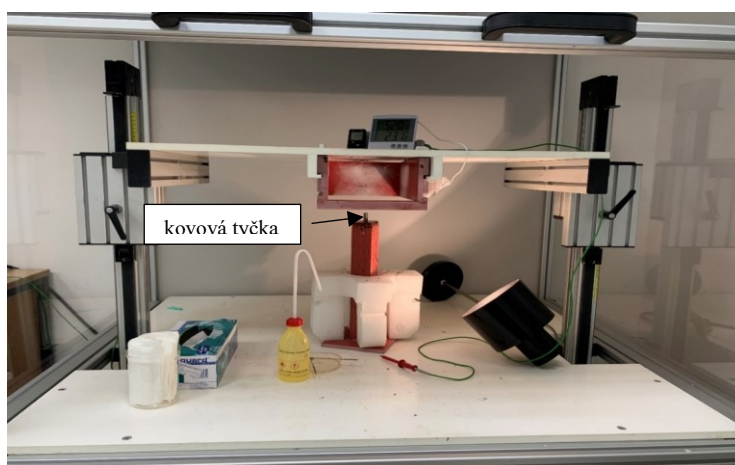
5.2 Nanovlákná

Příprava a sledování antibakteriálních vlastností nanovláknenných membrán byla navázána na výsledky již zmíněných vlastností polymerních filmů. Z výsledků diskové difúzní metody polymerních filmů byly vybrány takové koncentrace aktivních látek esenciálních olejů, které vykazovaly efektivní inhibici na použité bakterie, a ty následně byly vybrány pro přípravu nanovláknenných membrán.

Postup přípravy nanovláknenných membrán je stejný jako příprava polymerních roztoků v kapitole 5.1.1. Byly připraveny polymerní roztoky s hm. koncentracemi 1, 3 a 5 % všech zmíněných aktivních látek esenciálních olejů.

5.2.1 Příprava nanovláknenných membrán

Bylo provedeno elektrostatické zvlákňování za účelem výroby nanovláknenných membrán z roztoku PVDF o hm. koncentraci 23 % s koncentracemi aktivních látek esenciálních olejů (thymol, eugenol, linalool, karvakrol, cinnamaldehyd) 1, 3 a 5 % w/w. Nanovláknenné vrstvy byly připraveny na laboratorním zařízení (Obrázek 19), které se skládalo ze zdroje vysokého napětí, kovové tyčky o průměru 10 mm a nepohyblivého plochého uzemněného kolektoru. Dle předchozích studií Zelenková *et al.*, (2020) byly PVDF roztoky zvlákňovány ve vzdálenosti 150 mm a 18 kV za definovaných podmínek prostředí (teplota $24,0 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, relativní vlhkost $48 \% \pm 2 \%$). Na kovovou tyčku byl převeden objem 0,2 ml PVDF roztoku, který byl následně podroben elektrostatickému zvlákňování po dobu 4 minut.



Obrázek 19 Detail zařízení pro elektrostatické zvlákňování



Obrázek 20 PVDF (23% w /w) nanovláknenná vrstva
(vlastní zdroj)

5.2.2 Charakterizace morfologie nanovláken pomocí SEM

Vzorky nanovláken byly obdobně upraveny jako PVDF filmy popsané v kapitole 5.1.2 pro zobrazení na skenovacím elektronovém mikroskopu (SEM). Průměry vláken byly následně vyhodnoceny pomocí Adobe Creative Suite software (CS5, Adobe Systems Inc., CA, USA).

5.2.3 Antibakteriální aktivita

Antibakteriální aktivita připravených polymerních filmů byla testována na bakteriích *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Byla provedena disková difúzní metoda a následně fluorescenční mikroskopie.

Postup pro diskovou difúzní metodu pro připravená PVDF nanovláknena s inkorporovanými aktivními látkami je totožný jako postup popsaný v kapitole 5.1.3. Tato metoda se zopakovala po 3 a 6 měsících od prvního experimentu, vždy ve třech opakováních.

Disky nanovláken z diskové difúzní metody byly následně sledovány fluorescenční mikroskopií. Disky byly důkladně opláchnuty destilovanou vodou, poté byly nabarveny roztokem složeného z 1 ml destilované vody, 1,5 μ l barviva A obsahujícího 1,67 mM SYTO® 9 a 1,67 mM propidium jodidu v DMSO rozpouštědle (Invitrogen™, Carlsbad, Kalifornie) a 1,5 μ l barviva B obsahujícího 1,67 mM SYTO® 9 a 18,3 mM propidium jodidu v DMSO rozpouštědle (Invitrogen™, Carlsbad, Kalifornie) na několik sekund. Následně byly vzorky pozorovány pod fluorescenčním mikroskopem, kde byla vyhodnocována vitalita bakteriálních buněk testovaných bakteriálních kmenů.

5.2.4 Sledování tvorby biofilmu na nanovláčkových membránách

Tvorba biofilmu byla testována ve skleněných zkumavkách s 3 ml bujónu BHI + 5 % w/w sacharózou, 60 μ l bakteriální suspenze o zákalu 0,5 McFarland a diskem PVDF nanovláčková inkubovaných při teplotě 37 °C po dobu 72 hodin (paralelně byly testovány na tvorbu biofilmu 2 disky stejného vzorku nanovláčků). Po inkubaci byly vzorky nanovláčků důkladně opláchnuty od planktonických buněk, jedna sada vzorků byla podrobena fluorescenčnímu mikroskopu a druhá sada skenovacímu elektronovému mikroskopu (SEM). Postupy pro jednotlivé metody jsou popsány v kapitolách 5.1.2 a 5.2.3.

5.2.5 Ověření inkorporace aktivních látek (UV/VIS spektrometrie)

Po srovnání výsledků diskové difúzní metody PVDF filmů a PVDF nanovláčků byly tyto materiály podrobeny UV/VIS spektrometrii pro stanovení poměru inkorporovaných aktivních látek esenciálních olejů v nanovláčcích po procesu elektrostatického zvláčkování vůči filmům.

Nejdříve byla stanovena absorpční maxima pro 1 % w/w roztoky čistých aktivních látek EO rozpuštěných v DMF proti blanku (DMF). Následně byly naváženy na analytických vahách vzorky PVDF filmů a nanovláčků o hmotnosti ($0,0041 \pm 0,0002$) g, které byly kvantitativně převedeny do 5 ml odměrné baňky, doplněny rozpouštědlem DMF po rysku a ponechány 15 minut stát při laboratorní teplotě (25 ± 3) °C. U jednotlivých vzorků byla stanovena absorbance při definované vlnové délce aktivních látek EO proti blanku (DMF). Pro každý vzorek byly paralelně stanoveny 3 hodnoty absorbance. Následně byly vyhodnoceny poměry absorbancí PVDF nanovláčků proti PVDF filmům se stejnou hmotnostní koncentrací aktivní látky EO.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Polymerní filmy

Podle výše zmíněné metodiky (kapitola 5.1.1) byly připraveny polymerní filmy z 23% w/w PVDF s různými koncentracemi (1, 3 a 5 % w/w) aktivních látek esenciálních olejů, jako thymol, eugenol, karvakrol, linalool a cinnamaldehyd. Celkový souhrn všech připravených polymerních filmů je sepsán v Tabulce 2.

Tabulka 2 Připravené druhy vzorků polymerních filmů

Vzorek	Polymerní filmy (w/w)
1	23% PVDF
2	23% PVDF + 1 % linalool
3	23% PVDF + 3 % linalool
4	23% PVDF + 5 % linalool
5	23% PVDF + 1 % eugenol
6	23% PVDF + 3 % eugenol
7	23% PVDF + 5 % eugenol
8	23% PVDF + 1 % thymol
9	23% PVDF + 3 % thymol
10	23% PVDF + 5 % thymol
11	23% PVDF + 1 % karvakrol
12	23% PVDF + 3 % karvakrol
13	23% PVDF + 5 % karvakrol
14	23% PVDF + 1 % cinnamaldehyd
15	23% PVDF + 3 % cinnamaldehyd
16	23% PVDF + 5 % cinnamaldehyd

Dohromady bylo připraveno 16 různých polymerních filmů, které až na výjimky byly zbarvené do bíla. Vyšší hmotnostní zastoupení linaloolu, karvakrolu a cinnamaldehydu zbarvovaly výsledný polymerní film do světle žluté barvy. Všechny vzorky filmů byly zcela neprůhledné a ohebné. Aktivní látky EO zabudované do polymerních filmů byly senzory detekovatelné.

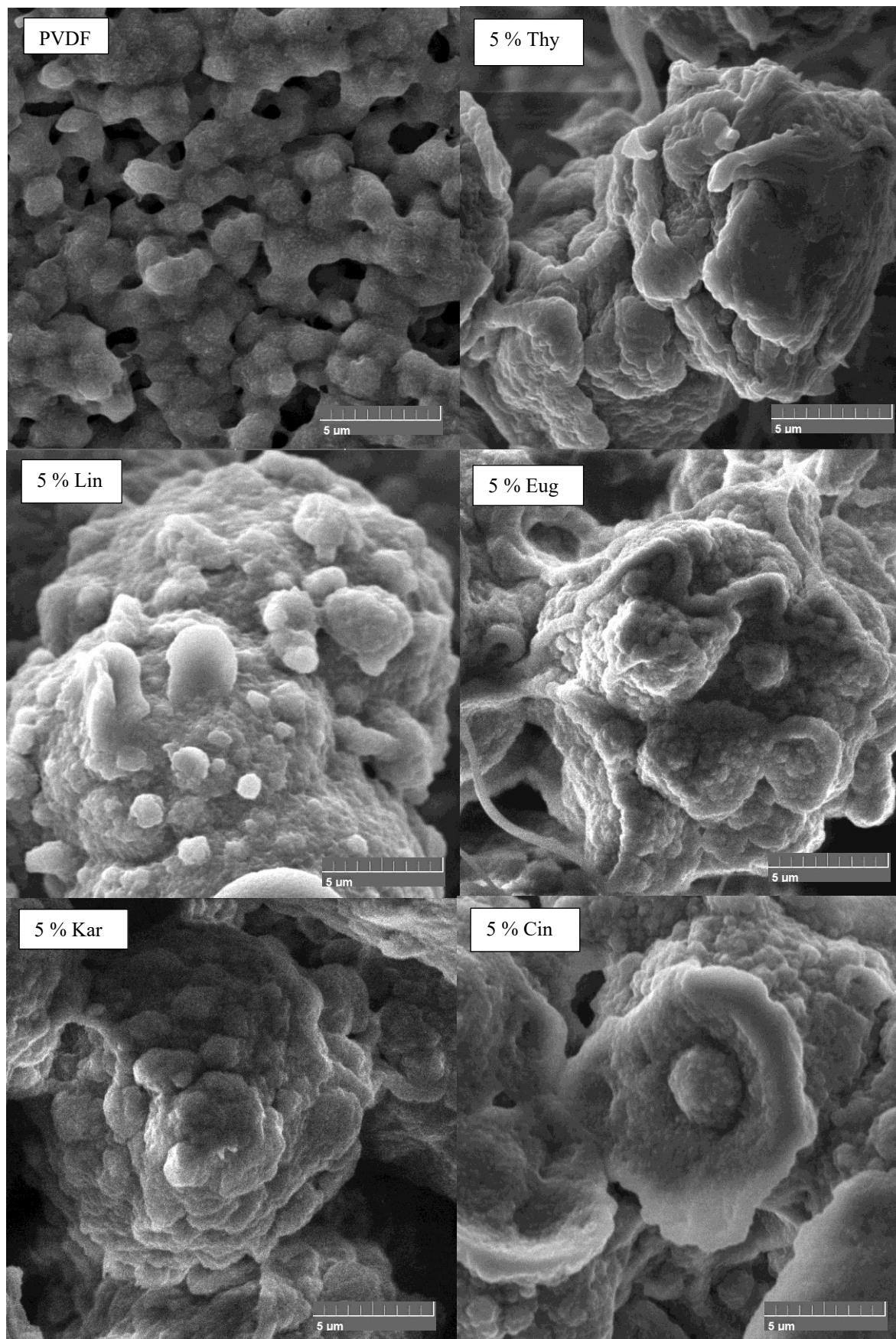
U vzorků filmů byla detekována morfologie pomocí skenovacího elektronového mikroskopu.

6.1.1 Charakterizace morfologie pomocí SEM

U všech 16 připravených polymerních filmů byla sledována jejich struktura v mikroměřítku pomocí SEM. Jelikož filmy byly tvořeny semikrystalickým polymerem PVDF, lze očekávat přítomnost polykrystalů ve struktuře filmů, též zvaných sférolity. Sférolity jsou tvořeny lamelami vycházející ze společného centra, odkud se rozrůstají do všech směrů. Rozměry sférolitů jsou různorodé, pohybují se od několika mikrometrů až do milimetrů a jsou ovlivněny vnějšími i vnitřními faktory. Jednotlivé sférolity vyrůstající z oddělených center se vzájemně dotýkají. Sférolity nelze spatřit pouhým okem, nýbrž za pomoci mikroskopu. Typické pro sférolity je tvar tzv. maltéžského kříže.

Byly zaznamenány snímky jednotlivých vzorků PVDF filmů s různými koncentracemi aktivních látek EO. Film tvořený čistým PVDF (Obrázek 21) byl tvořen sférolity hustě spojenými, kde se jen velmi zřídka objevovala volná místa mezi jednotlivými polykrystalami. Rozměry sférolitů tvořící film, nabývají hodnot v řádů jednotek mikrometrů. Oproti tomu filmy se zabudovanými aktivními látkami EO byly tvořeny sférolity mnohonásobně většími nežli u čistého filmu (Obrázek 21). Čím vyšší koncentrace aktivní látky byla obsažena v polymerním filmu, tím větší rozměry byly zaznamenány u sférolitů. Na Obrázku 21 jsou znázorněny snímky pro 5 % w/w thymolu, eugenolu, linaloolu, cinnamaldehydu a karvakrolu. Rozměry sférolitů u 5 % w/w aktivních látek dosahují hodnot v řádů několika desítek mikrometrů. Sférolity u jednotlivých látek vykazují odlišnou agregaci polykrystalů, mezi kterými se vyskytují větší prázdná místa než u čistého filmu. Mayeen *et al.* (2019) uvádí ve své práci, že zabudováním viskózní tekuté aktivní látky do semikrystalického polymeru dochází k nerovnoměrnému seskupování těchto polykrystalů. Na agregaci a velikost může mít také vliv rozdílné odpařování rozpouštědla při tuhnutí filmu, jelikož použité látky v experimentu se vyznačují těkavými vlastnostmi a mohou tento proces odpařování urychlovat nebo zpomalovat. Celkově se při přidání aditiv do polymerního roztoku změní struktura filmu.

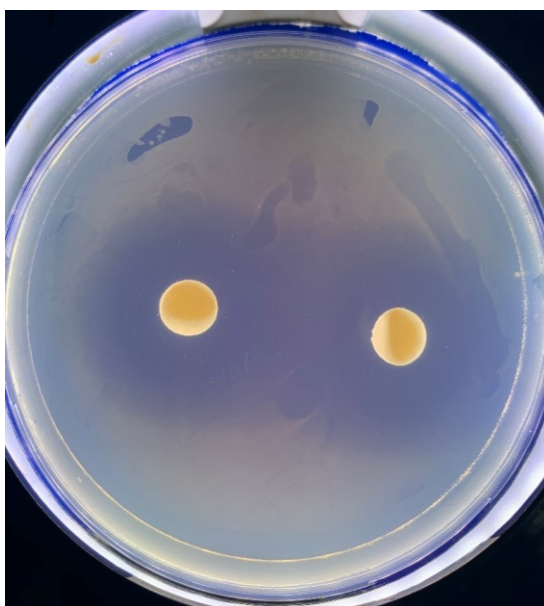
Na proces tvorby sférolitů a jejich specifík má velký vliv právě teplota a vlhkost prostředí, kdy hraje důležitou roli pro tvorbu hustého filmu bez meziprostorů. Tým vědců Li *et al.* (2013) definovali tyto hodnoty právě pro PVDF filmy, kdy při vlhkosti 25 % a teplotě blízké se 50 °C dosahují filmy požadovaných vlastností. Oproti tomu v našem experimentu nebyly definovány specifické podmínky na proces odpařování, jelikož struktura polymerních filmů zde nehrála důležitou roli. Z připravených filmů se následně vysekaly disky o průměru 90 mm a byla testována jejich antimikrobiální aktivita.



Obrázek 21 SEM polymerních filmů s inkorporovanou aktivní látkou EO – cinnamaldehyd, karvakrol, thymol, eugenol, linalool; (5 % w /w)

6.1.2 Antibakteriální aktivita – disková difúzní metoda

Po prozkoumání morfologie připravených filmů, byla u nich testována jejich antibakteriální aktivita. Schopnost antibakteriálního účinku je filmům dána právě zabudovanými aktivními látkami EO, které disponují těmito vlastnostmi. Citlivost k polymerním filmům s aktivními látkami zastoupených v různých koncentracích byla testována na gramnegativní bakterii *Escherichia coli* (*E. coli*) a grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Antibakteriální účinek byl posouzen pomocí diskové difúzní metody, kdy na zaočkované živné médium byl vložen disk polymerního filmu (Obrázek 22) a po inkubaci byla pozorována inhibiční zóna, která naznačuje inhibici růstu bakterie v přítomnosti daného filmu.



Obrázek 22 Inhibiční zóny *E. coli* u filmu se zabudovaným 5 % w/w karvakrolem

V Tabulce 3 jsou zaznamenány střední hodnoty inhibičních zón pro *E. coli* zaznamenané v různých časových intervalech, po 3 a 6 měsících od prvního testování. Aktivní látky EO jsou těkavé, a tudíž se předpokládalo, že v průběhu skladování může dojít k postupnému odpařování, čímž by došlo ke snížení antibakteriální aktivity filmu. Toto tvrzení bylo prokázáno jako pravdivé, viz Tabulka 3. Ve všech případech došlo v průběhu času ke snížení antibakteriálního účinku vůči *E. coli*, čímž se potvrdila teorie odpařování aktivní látky z filmů. U nižších koncentrací aktivních látek ve filmu došlo po 6 měsících z velké části k odpaření aktivní látky a nebyla pozorována inhibice, jedná se o filmy s 1 % w/w cinnamaldehydem, 1 % w/w karvakrolem a všemi vzorky se zabudovaným linalolem.

Tabulka 3 Střední hodnoty inhibičních zón v průběhu času pro *E. coli*, průměr disku 9 mm

<i>E. coli</i>			
Aktivní látka w/w	Inhibiční zóna včetně průměru disku 9 mm [mm]		
	Okamžitě	Po 3 měsících	Po 6 měsících
1 % Cin	14,2 ± 0,2	9,7 ± 0,3	9,0
3 % Cin	25,0 ± 0,5	24,5 ± 0,6	13,8 ± 0,6
5 % Cin	35,7 ± 0,3	35,7 ± 0,4	27,0 ± 0,6
1 % Thy	9,0	9,0	9,0
3 % Thy	24,5 ± 0,3	24,0 ± 0,6	14,8 ± 0,4
5 % Thy	41,7 ± 0,7	40,7 ± 0,6	35,8 ± 0,5
1 % Eug	9,0	9,0	9,0
3 % Eug	24,5 ± 0,3	21,7 ± 0,3	18,5 ± 0,6
5 % Eug	34,7 ± 0,3	25,8 ± 0,2	24,7 ± 0,3
1 % Kar	12,0 ± 0,6	9,0	9,0
3 % Kar	21,2 ± 0,4	19,7 ± 0,3	10,3 ± 0,3
5 % Kar	34,3 ± 0,3	33,7 ± 0,8	25,8 ± 0,6
1 % Lin	9,0	9,0	9,0
3 % Lin	9,7 ± 0,3	9,0	9,0
5 % Lin	11,8 ± 0,2	9,0	9,0

Z hodnot v tabulce (Tabulka 3) lze vyčíst důležité informace v rámci antibakteriální aktivity polymerních filmů a stability aktivních látek v nich zabudovaných. Až na výjimky, došlo k viditelnému potlačení růstu bakterie v přítomnosti připravených polymerních filmů. Nejvyšší citlivost *E. coli* vykazovala polymernímu filmu s aktivními látkami s nevyšším hmotnostním zastoupením (5 % w/w). Jednalo se o 5 % w/w thymol, cinnamaldehyd, eugenol a karvakrol, kdy právě thymol a karvakrol vykazoval nejvyšší antibakteriální účinek ze všech testovaných polymerních filmů. Tento závěr se shodoval s výsledky Helandera *et al.* (1998), kteří zjistili, že *E. coli* byla nejvíce inhibována právě aktivními látkami EO karvakrolem a thymolem. Friedman *et al.* (2002) uvádějí také, že karvakrol vykazoval oproti thymolu vyšší potlačení růstu gramnegativní bakterie, kdy v našem experimentu byl prokázán opak.

U některých vzorků nebyla pozorována inhibiční zóna, jednalo se především o filmy s nejnižším zastoupením aktivní látky EO (1 % w/w), týkalo se to 1 % w/w thymolu, eugenolu a linaloolu.

Citlivost vůči polymerním filmům s aktivními látkami byla posuzována i pro grampozitivní bakterii *S. aureus*. Z odborných článků zabývajících se antibakteriálními účinky aktivních látek EO vyplývá, že grampozitivní bakterie trpí vyšší citlivostí k těmto látkám než-li gramnegativní bakterie (Orchard *et al.*, 2017).

V Tabulce 4 jsou zaznamenány střední hodnoty inhibičních zón pro *S. aureus* opět testovaných v různých časových intervalech. Opět lze z jednotlivých výsledků konstatovat, že dochází v průběhu času ke snížení antibakteriální aktivity, tudíž dochází k odpařování aktivní látky z polymerního filmu. Po 6 měsících všechny polymerní filmy s 1 % w/w aktivními látkami netvořily inhibiční zóny okolo disku.

Tabulka 4 Střední hodnoty inhibičních zón v průběhu času pro *S. aureus*, průměr disku 9 mm

<i>S. aureus</i>			
Aktivní látka w/w	Inhibiční zóna včetně průměru disku 9 mm [mm]		
	Ihned	Po 3 měsících	Po 6 měsících
1 % Cin	13,6 ± 0,5	9,6 ± 0,3	9,0
3 % Cin	30,2 ± 0,5	25,0 ± 0,4	13,2 ± 0,3
5 % Cin	31,6 ± 0,3	30,0 ± 0,4	30,2 ± 0,5
1 % Thy	9,0	9,0	9,0
3 % Thy	31,6 ± 0,3	25,6 ± 0,5	15,4 ± 0,3
5 % Thy	40,8 ± 0,5	40,4 ± 0,3	34,8 ± 0,6
1 % Eug	9,0	9,0	9,0
3 % Eug	10,2 ± 0,3	9,6 ± 0,3	10,2 ± 0,6
5 % Eug	16,2 ± 0,5	12,6 ± 0,3	12,8 ± 0,9
1 % Kar	15,4 ± 0,3	9,0	9,0
3 % Kar	24,4 ± 0,3	20,0 ± 0,4	12,6 ± 0,3
5 % Kar	37,2 ± 0,3	35,4 ± 0,5	27,4 ± 0,5
1 % Lin	9,0	9,0	9,0
3 % Lin	9,8 ± 0,3	9,0	9,0
5 % Lin	10,2 ± 0,3	9,0	9,0

V Tabulce 4 jsou zaznamenány změny inhibice v různých časových intervalech. Nejvyšší citlivost vykazovala bakterie *S. aureus* k filmům s nejvíce hmotnostně zastoupenými látkami, jednalo se především o 5 % w/w thymol, cinnamaldehyd a karvakrol. Kdy právě polymerní film s 5 % w/w thymolem ze všech měl na *S. aureus* nejlepší výsledky inhibice. výsledků lze také konstatovat, že 1 % látky mají velmi malý nebo žádný antibakteriální efekt.

Při posuzování citlivosti k polymerním filmům obou testovaných bakterií, lze tvrdit, že právě grampozitivní bakterie *S. aureus* vykazovala nižší citlivost k testovaným filmům nežli gramnegativní bakterie *E. coli*. Největší rozdíly lze pozorovat u aktivní látky eugenol, kdy i nejvyšší hmotnostní zastoupení (5 % w/w) ve filmu u *S. aureus* nevykazovala takových hodnot jako u *E. coli*. U gramnegativní bakterie byla pozorována 2krát větší inhibiční zóna nežli u grampozitivní bakterie. U ostatních vzorků byly pozorovány poměrně shodné výsledky inhibice. Obě testované bakterie byly nejvíce citlivé k polymernímu filmu s 5 % w/w thymolem, *E. coli* následně vykazovala vysokou citlivost k filmu s 5 % w/w cinnamaldehyden, oproti tomu *S. aureus* k filmu s 5 % w/w karvakrolem.

Z odborných článků zabývajících se antibakteriálními účinky aktivních látek EO vyplývá, že gramnegativní bakterie trpí vyšší citlivostí k těmto látkám nežli grampozitivní bakterie (Romeo *et al.*, 2008), to bylo potvrzeno i v našem experimentu. Byly také pozorovány výborné výsledky inhibice vůči testovaným bakteriím vůči thymolu, kdy již u 1,5 % w/w byly pozorovány jeho antibakteriální účinky (Ibrahim *et al.*, 2016). V našem případě u 1 % w/w thymolu nebyla zaznamenána inhibice. Esenciální oleje s vysokým zastoupením linaloolu deklarují citlivost vůči grampozitivním a gramnegativním bakteriím, avšak existuje velmi málo studií zabývajících se antibakteriální účinky čistého linaloolu (Liu *et al.*, 2020).

Jelikož byla jednoznačně prokázána inhibice polymerních filmů výsledky vůči testovaným bakteriím, byly zvlákněny všechny vzorky (Tabulka 2). Charakterizace a antibakteriální vlastnosti zvlákněných vzorků jsou popsány v kapitole 6.2.

6.2 Nanovláknna

Posouzením citlivosti testovaných bakterií vůči připraveným filmům (Tabulka 3), byly znovu připraveny všechny polymerní roztoky, které byly následně zvlákněny. Podařilo se zvláknit všechny roztoky, i ty co obsahovaly nejvyšší hmotnostní zastoupení aktivní látky EO. Následně tato nanovláknna byla pod skenovacím elektronovým mikroskopem pozorována.

6.2.1 Charakterizace morfologie pomocí SEM

Všechny zvlákněné vzorky (Tabulka 3) byly pozorovány v mikroměřítku pomocí SEM, kde byly hodnoceny průměry nanovláken a přítomnost deformací na vláčkách, které by

byly způsobeny právě inkorporovanými aktivními látkami EO během procesu elektrostatického zvlákňování.

Tabulka 5 Střední hodnoty průměrů připravených PVDF nanovláken

23% PVDF +	EO w /w [%]	d [nm]
Thymol	1	770 ± 30
	3	900 ± 60
	5	590 ± 40
Karvakrol	1	600 ± 40
	3	610 ± 40
	5	640 ± 30
Cinnamaldehyd	1	700 ± 60
	3	570 ± 30
	5	600 ± 30
Linalool	1	710 ± 40
	3	700 ± 60
	5	650 ± 30
Eugenol	1	800 ± 50
	3	570 ± 30
	5	890 ± 50
Kontrola	-	850 ± 50

Z jednotlivých snímků byly následně pomocí photoshopu určeny průměry jednotlivých vláken, tyto hodnoty jsou sepsány v Tabulce 5. Střední hodnota průměru PVDF nanovlákná by stanovena na (850 ± 50) nm, tato hodnota stále spadá do kritéria pro hodnocení těchto vláken jako nanovláken. Oproti tomu nanovlákná s inkorporovanými aktivními látkami nabývala menších průměrů vláken než-li čistá PVDF nanovlákná, nabývaly hodnot od 500 do 900 nm s ohledem na aktivní látku a její těkavost. Právě menší průměry vláček mohly být způsobeny polymerními roztoky s aktivními látkami, které dosahovaly rozdílných viskózních vlastností než čistý roztok PVDF, byly tekutější. Jak bylo popsáno v teoretické části, na celý proces elektrostatického zvlákňování má vliv mnoho parametrů, mezi které mimo jiné patří i viskozita polymerního roztoku, která ovlivňuje morfologii nanovláken. Kromě užších průměrů vláken u PVDF nanovláken s inkorporovanými aktivními látkami EO, byly ve struktuře pozorovány i různé deformace těchto vláken, na které měly vliv právě zabudované těkavé látky, kdy k těmto odchylkám mohlo dojít při odpařování rozpouštědla spolu s aktivními látkami. Vliv odpařování rozpouštědla na konečnou morfologii byl pozorován i u polymerních filmů. Z naměřených hodnot

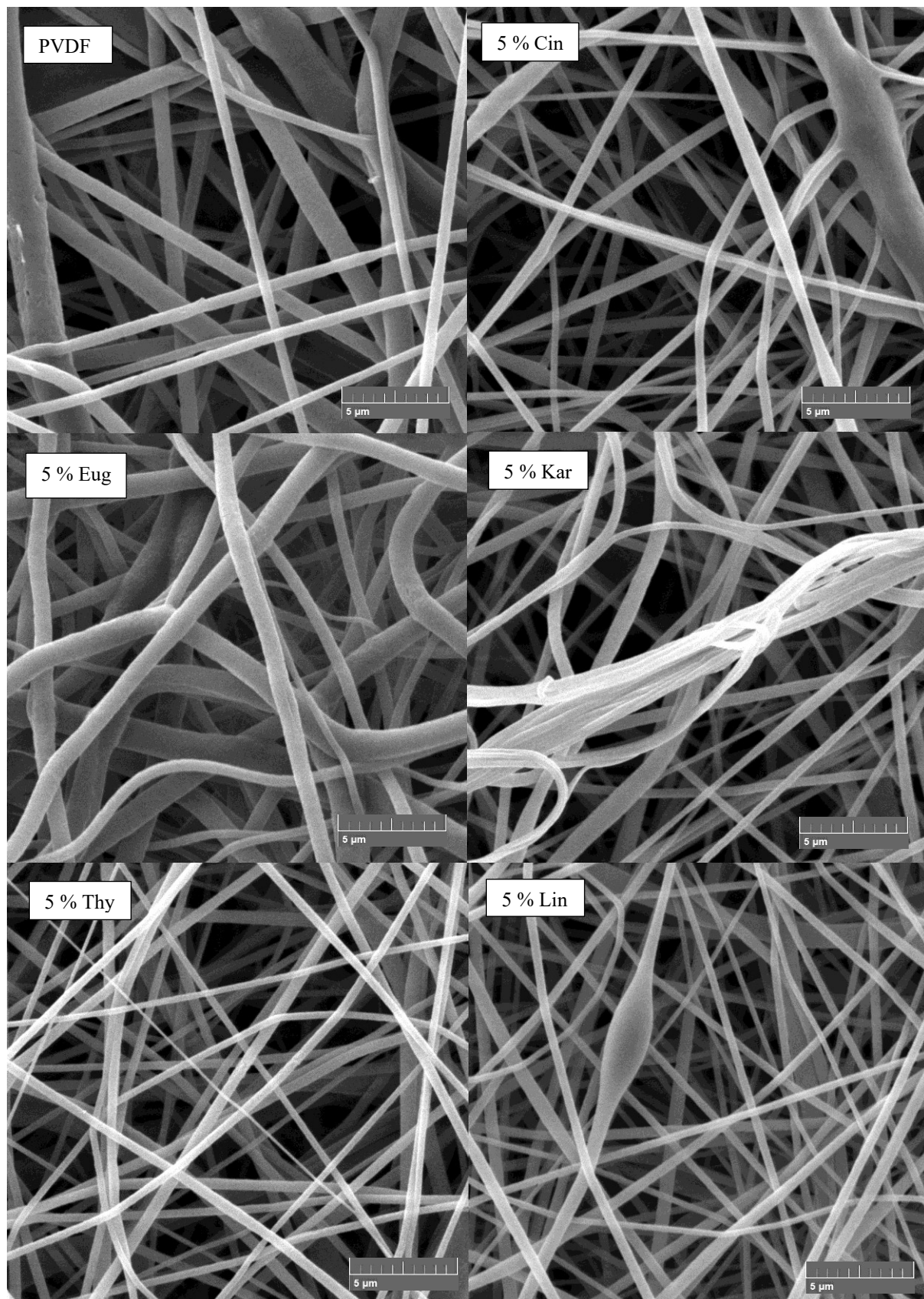
(Tabulka 5) lze konstatovat, že neplatí přímá úměra průměrů nanovláken s inkorporovanými látkami na hmotnostním zastoupením aktivní látky zabudované v nanovlákech, tzn. že neplatí tvrzení, že látky s nejnižší hmotnostní koncentrací nabývají nejmenších průměrů nanovláken, hodnoty průměrů nanovláken jsou velmi proměnlivé v důsledku různých faktorů ovlivňujících strukturu nanovláken při procesu zvlákňování.

Na Obrázku 23 jsou zobrazeny snímky ze SEM pro PVDF nanovlákná s 5 % w/w aktivními látkami EO a PVDF nanovlákná bez inkorporovaných látek. Na všech snímcích lze pozorovat nahodilé uspořádání vláček v mnoha vrstvách. Průměry vláken u čistého PVDF jsou oproti ostatním viditelně větší, kromě nanovláken s 5 % w/w eugenolem. Struktura čistého PVDF nanovlákná je tvořena řídkou sítí vláken s různou distribucí průměrů jednotlivých vláken.

Nanovlákná s inkorporovanými aktivními látkami EO jsou tvořeny hustější sítí vláken, kde jsou pozorovny i různé deformace na nanovlákech, např. u nanovláken s 5 % w/w linalolem lze pozorovat defekt na jednom z vláken, u 5 % w/w karvakrolu lze zase pozorovat splétání několika vláken dohromady. Nanovlákná s 5 % w/w eugenolem jsou tvořeny velmi hustou sítí vláken s velmi vysokými hodnotami průměrů jednotlivých vláček, u těchto vláken lze pozorovat i vlnitou orientaci jednotlivých vláken.

Distribuce průměrů vláken u PVDF nanovláken s aktivními látkami je velice různorodá (Obrázek 23), lze teda tvrdit, že záleží na mnoha parametrech při zvlákňování, kdy nejdůležitější roli hraje viskozita polymerního roztoku.

Podobných výsledků dosáhly i ve studii kolagenních nanovláken s inkorporovanými esenciálními oleji z tymiánu a oregana, kde byly pozorovány taktéž různé průměry vláken a deformace na nich tvořené (Berechet *et al.*, 2020). Esenciální oleje způsobovaly větší výskyt anomálií v celkové struktuře nanovláken, oproti našim výsledkům, kdy byla do nanovlákná zabudována pouze jedná látka. Větší výskyt těchto anomálií může být přisuzován právě různým složkám, které tvoří esenciální oleje, které se od sebe liší jak ve fyzikálních, tak chemických vlastnostech. V odborném článku Mele *et al.* (2020) zabývajícím se studiem zvlákňování esenciálních olejů (skořicový esenciální olej) do syntetických polymerů (PVA, PEO, PLA) dosahovaly rozměry nanovláken nižších rozměrů, (300 ± 60) nm, než námi experimentálně naměřené hodnoty u PVDF nanovláken.



Obrázek 23 SEM nanovláčkových membrán s inkorporovanými aktivními látkami EO – cinnamaldehyd, thymol, eugenol, linalool, karvakrol; (5 % w /w)

Z toho vyplývá, že velmi záleží na vybraném polymeru pro elektrostatické zvlákňování v rámci celkové morfologie nanovlákněné vrstvy a od toho odvíjejících se požadovaných vlastností.

Po zhodnocení morfologie všech připravených nanovláken, byly tyto nanovlákná podrobeny diskové difúzní metodě ke zhodnocení jejich antibakteriálních vlastností.

6.2.2 Antibakteriální aktivita

U všech 16 vzorků PVDF nanovlákněných membrán byla pozorována inhibice u gramnegativní bakterie *E. coli* a grampozitivní bakterie *S. aureus*.

Obdobně jako u PVDF filmů, byla vyhodnocována přítomnost inhibiční zóny v okolí disku s nanovlákněnou membránou. Samotná PVDF nanovlákná s inkorporovanými látkami EO vykazovala přítomnost těchto látek v nanovlákněch díky senzorickému zhodnocení, avšak přítomnost inhibiční zóny nebyla potvrzena u žádného vzorku nanovláken se zabudovanými aktivními látkami na testovaných bakteriích. Nepřítomnost inhibice může být přisuzována menšímu povrchovému kontaktu nanovláken, než tomu bylo u filmu. Nanovlákná vykazují menší rozměry vláken, které jsou rozmístěny v mnoha vrstvách, tudíž k samotnému kontaktu vlákna s povrchem agaru dojde pouze u malého počtu vláken.

V odborné literatuře bylo docíleno stejných výsledků, kdy po zvlákňování polymerního roztoku nebyla pozorována inhibiční zóna jako tomu bylo u filmů (Berechet *et al.*, 2020; Peer *et al.*, 2020). Oproti tomu v odborné studii autorů Mele *et al.* (2020), byla viditelná inhibice nanovláken se zabudovanými esenciálními oleji (oregano, levandule, thymián) u bakteriích *E. coli* a *S. aureus*, kdy jednotlivé nanovlákněné vrstvy byly zvlákňovány systémem z jehly. Ve studii Liu *et al.* (2019) testující antimikrobiální aktivitu nanovlákněných membrán s inkorporovaným thymiánovým esenciálním olejem, také zaznamenaly pozitivní inhibici vůči testovaným bakteriím.

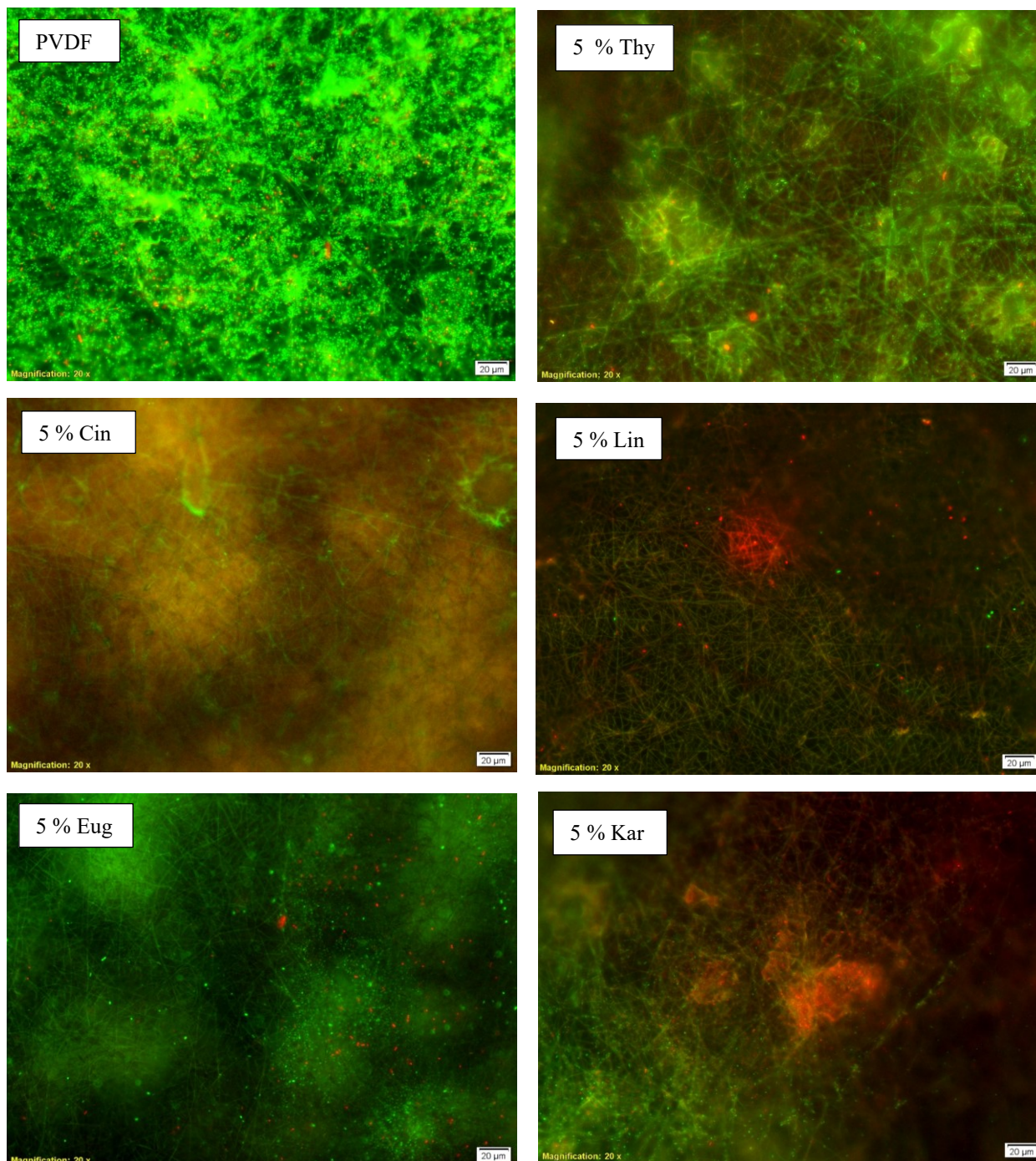
Jelikož nebyla pozorována inhibice v okolí disku, byla provedena fluorescenční mikroskopie u jednotlivých vzorků nanovlákněných membrán k potvrzení přítomnosti citlivosti testovaných bakteriích.

Disky z výše zmíněné metody byly podrobeny fluorescenční mikroskopii, aby se zhodnotila vitalita buněk, které byly v přímém styku s nanovlákněnou membránou. Povrch membrány byl obarven speciálním barvivem, které zbarvovalo mrtvé buňky do červena a živé buňky do zelena.

Na Obrázku 24 jsou zobrazeny snímky z fluorescenčního mikroskopu nánovlákných membrán se zabudovanými aktivními látkami EO, kde byla pozorována životnost bakteriálních buněk *E. coli* na povrchu membrány. Na povrchu PVDF membrány bez aktivní látky bylo pozorováno nespočet živých tyčinkovitých buněk, tudíž bylo potvrzeno to, že samotný polymer PVDF nevykazuje antibakteriální vlastnosti. Ostatní snímky PVDF membrán s již inkorporovanou aktivní látkou naznačují bakteriostatický až baktericidní účinek. Na povrchu membrány tvořené 5 % w/w cinnamaldehydem nebyly pozorovány žádné bakteriální buňky, tudíž lze hovořit o bakteriostatickém účinku membrány, kdy byl potlačen růst bakterie *E. coli*. Ostatní membrány vykazovaly kromě bakteriostatického účinku i baktericidní účinek, kdy byly pozorovány přítomné mrtvé buňky na povrchu membrány, nejvíce mrtvých bakteriálních buněk bylo přítomno na membráně se zabudovaným 5 % w/w linalolem.

Obdobných výsledků bylo dosaženo i u disků z PVDF membrán, které byly v přítomnosti grampozitivní bakterie *S. aureus*. Jediný rozdíl byl v přítomnosti vysokého počtu mrtvých bakteriálních buněk *S. aureus* na povrchu jednotlivých membrán, které se zde vyskytovaly v řádů několika stovek, z toho vyplývá vyšší intenzita baktericidního účinku vůči grampozitivní bakterii (*S. aureus*) než vůči gramnegativní bakterii (*E. coli*).

Dle těchto výsledků byly PVDF membrány dále podrobeny testu zaměřeného na tvorbu biofilmů na povrchu nanovláken.



Obrázek 24 Snímky z fluorescenční mikroskopie PVDF membrán inkorporovanými 5 % w /w aktivními látkami EO pro *E . coli*; (měřítko 20μm)

6.2.3 Sledování tvorby biofilmu na nanovláknenných membránách

Biofilm je seskupení mikrobiálních buněk, které díky vysoké organizaci dokáže přežít v nepříznivých podmínkách. Přítomnost nebo i samotná tvorba biofilmu může mít jak pozitivní, tak negativní vliv, zaleží od okolností. Samotná tvorba biofilmu je závislá na povrchu materiálu (Bartošová, 2019).

Kvůli možné aplikaci PVDF membrán, jakožto filtračního zařízení nebo vnitřní části obalového materiálu kosmetických produktů, bylo provedeno testování na tvorbu biofilmu. Pozitivní přítomnost biofilmu na PVDF membránách by měla negativní vliv pro její budoucí uplatnění. Výskyt biofilmu na membráně při filtraci vody by způsobil ucpaní póru ve struktuře membrány, což by znemožnilo samotné filtrování vody. V obalových materiálech by mohlo dojít ke kontaminaci samotného kosmetického produktu, což by vedlo k nežádoucím účinkům na samotného spotřebitele.

Tvorba biofilmu byla vyhodnocena pomocí snímků ze SEM, kdy při vysoké koncentraci bakteriálních buněk na jednom místě, byla potvrzena pozitivita na jeho přítomnost. Výskyt biofilmu byl pomocí SEM vyhodnocován pouze na PVDF membránách s 5 % w/w inkorporovanými aktivními látkami EO. Na Obrázku 25 jsou zobrazeny jednotlivé snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu pro grampozitivní bakterii *S. aureus*. Na membráně PVDF bez aktivní látky je pozorováno shlukování bakteriálních buněk, což nám naznačuje pozitivní přítomnost na biofilm. Ke stejnému závěru se dospělo i u PVDF membrány s inkorporovaným cinnamaldehydem, kde jsou vidět hustě seskupené buňky *S. aureus*. PVDF membrány s karvakrolem a linalolem též byly vyhodnoceny jako materiály vhodné na tvorbu biofilmu, i když v menší míře než u výše zmíněných membrán. Aktivní látky thymol a eugenol, které byly inkorporovány do PVDF nanovláken, byly vyhodnoceny jako látky, které nepodporují růst biofilmu, jak je patrné z obrázku. V Tabulce 6 je zaznamenána pozitivní nebo negativní tvorba biofilmu *S. aureus* a *E. coli* v přítomnosti PVDF membrán s inkorporovanou aktivní látkou o nejvyšším hmotnostním zastoupením.

Tabulka 6 Tvorba biofilmu *E. coli* a *S. aureus* v přítomnosti PVDF membrán

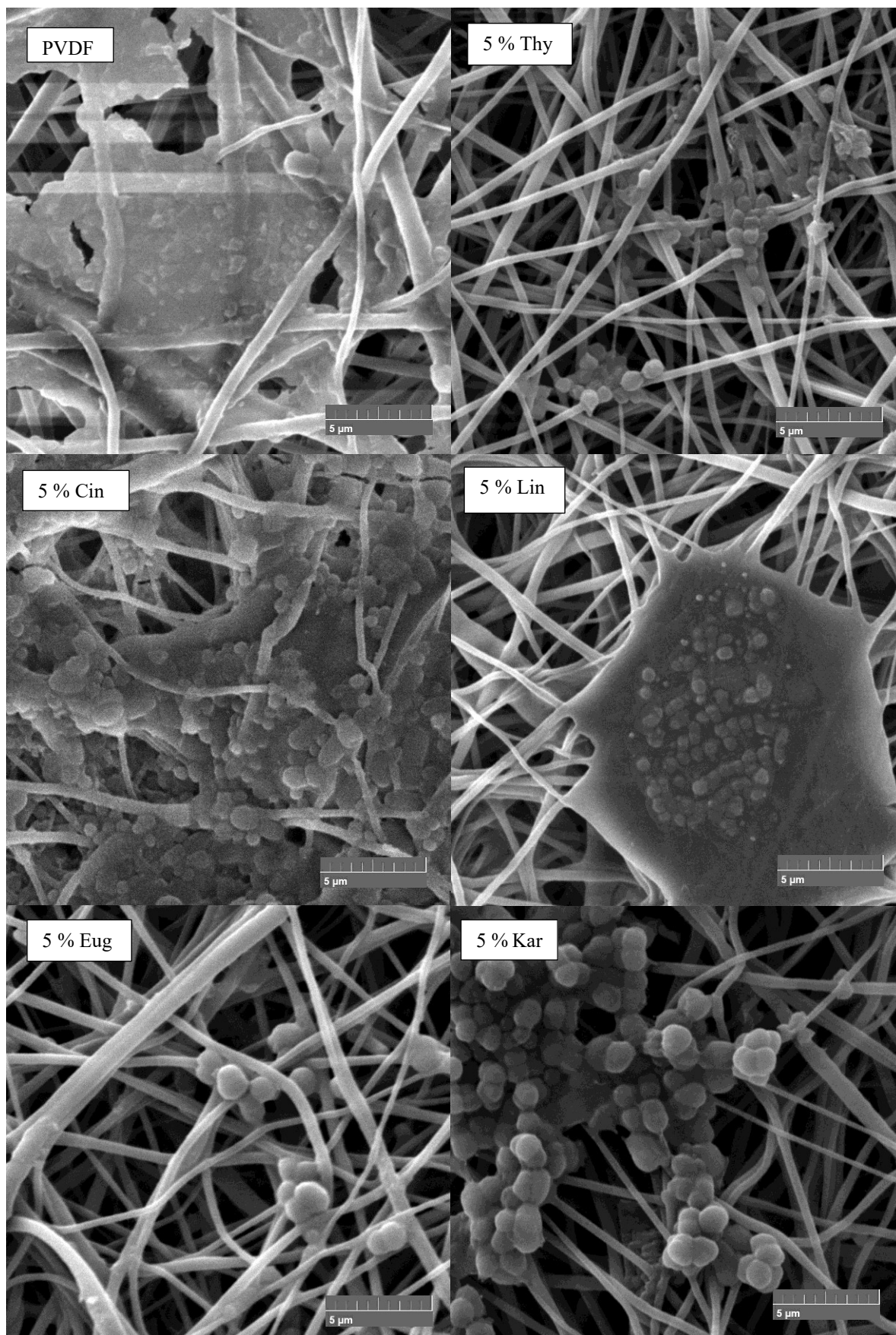
Nanovláknenná membrána	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
PVDF	++	++
PVDF + 5 % Eug	+	-
PVDF + 5 % Lin	+	+
PVDF + 5 % Cin	++	++
PVDF + 5 % Kar	++	+
PVDF + 5 % Thy	-	-

Pozn.: ++ silná tvorba biofilmu, + nízká tvorba biofilmu, - netvoří biofilm

Výsledky na tvorbu biofilmu byly téměř shodné i pro gramnegativní bakterii *E. coli*, lišily se hlavně u pozitivní přítomnost biofilmu na membráně s inkorporovaným eugenolem.

E. coli jakožto silnější producent biofilmu v přítomnosti eugenolu než *S. aureus* byl podpořen vědeckou studií od El-Far *et al.* (2021).

Tým vědců Alvez Carniero *et al.* (2020) studoval chování esenciálních olejů jakožto antimikrobních látek a látek působících proti tvorbě biofilmu bakteriálního kmenu *S. aureus*. Obdobně jako v našem experimentu, esenciální oleje obsahující velké hmotnostní zastoupení aktivní látky thymolu, zabraňovaly tvorbě biofilmu *S. aureus*. Avšak je zapotřebí dalších studií, abychom lépe porozuměli interakcím mezi kroky tvorby biofilmů v přítomnosti EO a jejich jednotlivými zastoupenými složkami.



Obrázek 25 SEM posouzení tvorby biofilmu *S. aureus* na nanovláčkách s aktivními látkami – cinnamaldehyd, thymol, eugenol, linalool, karvakrol; (5 % w /w)

6.2.4 Ověření inkorporace aktivních látek (UV/VIS spektrometrie)

Jelikož disková difúzní metoda PVDF nanovlákných membrán neposkytla úspěšné výsledky jako metoda prováděná na PVDF filmech, byla provedena UV/VIS spektrometrie pro nanovlákná i filmy. Tato metoda byla provedena z důvodu zjištění účinnosti zabudování aktivních látek do nanovláken při procesu elektrostatického zvlákňování. Jelikož aktivní látky vykazují těžké vlastnosti, lze předpokládat, že se v průběhu procesu zvlákňování část aktivní látky odpaří, a to by vedlo k celkovému snížení výsledné hmotnostní koncentrace aktivních látek v nanovlákněch.

V Tabulce 7 jsou zaznamenána stanovovaná absorpční maxima pro jednotlivé aktivní látky EO, střední hodnoty absorpčních pro PVDF nanovlákné membrány a filmy. Z poměru absorpčních nanovláken ku polymerním filmům bylo určeno procentuální zastoupení aktivní látky vyskytující se právě v nanovlákné membráně.

Tabulka 7 Naměřené hodnoty absorpčních a jejich poměr pro PVDF nanovlákná a film

λ	w / w	Af [-]	An [-]	An/Af [%]
302 nm	1 % Cin	1,177	0,024	2,011
	3 % Cin	3,296	0,064	1,932
	5 % Cin	> 3,300	0,204	6,172
290 nm	1 % Thy	0,285	0,010	3,505
	3 % Thy	0,443	0,015	3,459
	5 % Thy	0,686	0,018	2,577
297 nm	1 % Eug	0,289	0,026	9,101
	3 % Eug	0,412	0,044	10,752
	5 % Eug	1,448	0,094	6,470
290 nm	1 % Kar	0,346	0,015	4,432
	3 % Kar	0,524	0,025	4,774
	5 % Kar	0,581	0,055	9,524
282 nm	1 % Lin	0,166	0,012	6,928
	3 % Lin	0,197	0,018	8,968
	5 % Lin	0,284	0,028	9,742

Pozn.: λ – vlnová délka, Af – absorpce polymerních filmů, An – absorpce nanovláken, An/Af – poměr zmíněných absorpčních

Naměřené hodnoty poměrů PVDF nanovláken a filmů se pohybují od 2 až do 10 % v závislosti na aktivní látce a její hmotnostní koncentrace vyskytující se na počátku v polymerním roztoku před procesem elektrostatického zvlákňování. Z těchto hodnot lze

vyvodit závěr, že výsledná koncentrace aktivních látek inkorporovaná pomocí elektrostatického zvlákňování do nanovlákněné membrány, je o 90 až 98 % nižší než koncentrace těchto látek přítomných v PVDF filmech. Tímto experimentem by byly zdůvodněny výsledky antibakteriální aktivity nanovlákněných membrán, které u diskové difúzní metody neposkytly shodné výsledky jako u polymerních filmů, právě v důsledku nižšího zastoupení aktivní látky, které se pohybují v řádů setin procent. Vhodnými úpravami parametrů ovlivňující tyto aspekty (teplota, vlhkost prostředí, aplikované napětí, vzdálenost tyčky od kolektoru a dalších proměnných) by se mohlo docílit k vyšší účinnosti inkorporování aktivních látek do nanovláken (Berechet *et al.*, 2020).

7 ZÁVĚR

Nanomateriály v dnešní době nacházejí velké uplatnění v různých průmyslových odvětvích, právě díky svým specifickým vlastnostem. Jejich průmyslové využití se odvíjí od typu nanomateriálu a samotného polymeru, který je využit na jeho výrobu. Tento experiment se zabýval výrobou nanovlákných membrán z PVDF polymeru, které nachází uplatnění především jako filtrační membrán pro čištění odpadních vod. Nevýhodou membrány je však její opotřebení a ucpávání bakteriemi, které se hromadí na povrchu membrány, čímž zkracují její životnost. Právě inkorporováním dalších látek do membrány, by se těmito nedostatky mohlo předejít.

V průběhu experimentu se podařilo pomocí elektrostatického zvlákňování z povrchu kapaliny připravit PVDF nanovlákné membrány s inkorporovanými aktivními látkami esenciálních olejů, jednalo se o thymol, eugenol, linalool, karvakrol a cinnamaldehyd s různým hmotnostním zastoupením těchto látek v membráně. Průměr vláken jednotlivých nanovlákných membrán byl velmi různorodý, právě zabudováním aktivních látek EO do nanovláken. Jednotlivá vlákna vykazovala kruhový průřez, nahodilé uspořádání a v některých případech byly pozorovány i defekty ve formě kapiček a shluků vláken.

Připravené vlákné membrány byly poté podrobeny antibakteriálním testům, především diskové difúzní metodě, kdy nebyla pozorována inhibiční zóna okolo disku s nanovláknou. Nebyla však potvrzena viditelná inhibice testovaných bakterií *E. coli* a *S. aureus*. Při pozorování místa styku jednotlivých vláken membrány s agarem pod fluorescenčním mikroskopem byl pozorován bakteriostatický až bakteriocidní účinek membrán s inkorporovanými aktivními látkami s nevyšším hmotnostním zastoupením. Kromě antibakteriální aktivity byla posuzována i detekce tvorby biofilmu na povrchu PVDF membrány. Kdy v případě *S. aureus* nebyla potvrzena tvorba biofilmu u membrán s 5 % w/w eugenolem a thymolem, oproti tomu u gramnegativní bakterie *E. coli* nebyla detekována distribuce biofilmu jen v přítomnosti membrán s 5 % w/w eugenolem.

Pomocí UV/VIS spektrometrie bylo odhaleno, že se v průběhu elektrostatického zvlákňování odpařila s rozpouštědlem i velká část aktivních látek, tudíž jejich výsledná hmotnostní koncentrace byla až o 90 % nižší, než se předpokládalo.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALGHORAIBI, Ibrahim a Sandy ALOMARI. Different Methods for Nanofiber Design and Fabrication. BARHOUM, Ahmed, Mikhael BECHELANY a Abdel MAKHLOUF, ed. *Handbook of Nanofibers* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018, 12. 2. 2018, s. 1 -46 [cit. 2021-4 -25]. ISBN 978-3 -319-42789-8 . Dostupné z : doi:10.1007/978-3 -319-42789-8 _11-2

ALKHUDHIRI, Abdullah, Naif DARWISH a Nidal HILAL. Membrane distillation: A comprehensive review. *Desalination* [online]. 2012, **287**, 2 -18 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 00119164. Dostupné z : doi:10.1016/j .desal.2011.08.027

ALVES CARNEIRO, Victor, Ramaiana SOARES MELO, Antônio MATEUS GOMES PEREIRA, et al. Essential Oils as an Innovative Approach against Biofilm of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*. DINCER, Sadik, Melis SÜMENGEN ÖZDENEFE a Afet ARKUT, ed. *Bacterial Biofilms* [online]. IntechOpen, 2020, 2020-10-7 [cit. 2021-5 -13]. ISBN 978-1 -78985-899-0 . Dostupné z : doi:10.5772/intechopen.91833

AMORATI, Riccardo, Mario C . FOTI a Luca VALGIMIGLI. Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2013, **61**(46), 10835-10847 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 0021-8561. Dostupné z : doi:10.1021/jf403496k

ASATEKIN, Ayse, Adrienne MENNITI, Seoktae KANG, Menachem ELIMELECH, Eberhard MORGENROTH a Anne M . MAYES. Antifouling nanofiltration membranes for membrane bioreactors from self-assembling graft copolymers. *Journal of Membrane Science* [online]. 2006, **285**(1 -2), 81-89 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j .memsci.2006.07.042

BARTOŠOVÁ, Lucie. *Účinnost antimikrobiálních látek používaných v kosmetických přípravcích na biofilm pozitivní bakterie*. Zlín, 2019. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. [cit. 2021-5 -1].

BAŞER, K . H . C a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton, 2010. ISBN 978-1 -4200-6315-8 .

BAKKALI, F ., S . AVERBECK, D . AVERBECK a M . IDAOMAR. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2008, **46**(2), 446-475 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 02786915. Dostupné z : doi:10.1016/j .fct.2007.09.106

BERECHET, Mariana Daniela, Carmen GAIDAU, Aleksandra MILETIC, et al. Bioactive Properties of Nanofibres Based on Concentrated Collagen Hydrolysate Loaded with Thyme and Oregano Essential Oils. *Materials* [online]. 2020, **13**(7) [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1996-1944. Dostupné z : doi:10.3390/ma13071618

BHARDWAJ, Nandana a Subhas C . KUNDU. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances* [online]. 2010, **28**(3), 325-347 [cit. 2021-4 -26]. ISSN 07349750

CAUDA, Valentina, Giancarlo CANAVESE a Stefano STASSI. Nanostructured piezoelectric polymers. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2015, **132**(13), n/a - n/a [cit. 2021-4 -29]. ISSN 00218995. Dostupné z : doi:10.1002/app.41667

CENGİZ-ÇALLIOĞLU, Funda. Dextran nanofiber production by needleless electrospinning process. *E -Polymers* [online]. 2014, **14**(1), 5 -13 [cit. 2021-4 -30]. ISSN 1618-7229. Dostupné z : doi:10.1515/epoly-2013-0021

DEITZEL, J.M , J KLEINMEYER, D HARRIS a N.C BECK TAN. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer* [online]. 2001, **42**(1), 261-272 [cit. 2021-4 -26]. ISSN 00323861. Dostupné z : doi:10.1016/S0032-3861(00)00250-0

DREGER, Mariola a Karolina WIELGUS. Application of essential oils as natural cosmetic preservatives. *Herba Polonica* [online]. 2013, **59**(4), 142-156 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 0018-0599. Dostupné z : doi:10.2478/hepo-2013-0030

EL-FAR, Amira, Safia SAMIR, Eman EL-GEBALY, Nahed Y . TAHA, Ehab M . FAHMY, Tarek M . DIAB a Ahmed EL-SHENAWY. Assessment of eugenol inhibitory effect on biofilm formation and biofilm gene expression in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Egypt. *Infection, Genetics and Evolution* [online]. 2021, **89** [cit. 2021-5 -1]. ISSN 15671348. Dostupné z : doi:10.1016/j .meegid.2021.104722

EISENMENGER, W ., H . SCHMIDT a B . DEHLEN. Space charge and dipoles in polyvinylidene fluoride. *Brazilian Journal of Physics* [online]. 1999, **29**(2) [cit. 2021-5 -12]. ISSN 0103-9733. Dostupné z : doi:10.1590/S0103-97331999000200011

FRIEDMAN, MENDEL, PHILIP R . HENIKA a ROBERT E . MANDRELL. Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of Their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*.

Journal of Food Protection [online]. 2002, **65**(10), 1545-1560 [cit. 2021-5 -13]. ISSN 0362-028X. Dostupné z : doi:10.4315/0362-028X-65.10.1545

GHASEM, Nayef, Mohamed AL-MARZOUQI a Nihmiya ABDUL RAHIM. Effect of polymer extrusion temperature on poly(vinylidene fluoride) hollow fiber membranes: Properties and performance used as gas-liquid membrane contactor for CO₂ absorption. *Separation and Purification Technology* [online]. 2012, **99**, 91-103 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 13835866. Dostupné z : doi:10.1016/j.seppur.2012.07.021

GUGULOTHU, Dalapathi, Ahmed BARHOUM, Syed Muzammil AFZAL, Banoth VENKATESHWARLU a Hassan ULUDAG. Structural Multifunctional Nanofibers and Their Emerging Applications. BARHOUM, Ahmed, Mikhael BECHELANY a Abdel Salam Hamdy MAKHLOUF, ed. *Handbook of Nanofibers* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2019, 8 . 6 . 2019, s . 693-732 [cit. 2021-4 -29]. ISBN 978-3 -319-53654-5 . Dostupné z : doi:10.1007/978-3 -319-53655-2 _16

HANG, Fei, Dun LU, Russell J BAILEY, et al. In situ tensile testing of nanofibers by combining atomic force microscopy and scanning electron microscopy. *Nanotechnology* [online]. 2011, **22**(36) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0957-4484. Dostupné z : doi:10.1088/0957-4484/22/36/365708

HASHEMI, Seyed Mohammad Bagher, Amin Mousavi KHANEGHAH a Anderson de Souza SANT'ANA. *Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications*. Hoboken, New Jersey: John Wiley, 2018. IFT Press series. ISBN 978-111-9149-354.

HELANDER, Ilkka M ., Hanna-Leena ALAKOMI, Kyösti LATVA-KALA, Tiina MATTILA-SANDHOLM, Irene POL, Eddy J . SMID, Leon G . M . GORRIS a Atte VON WRIGHT. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 1998, **46**(9), 3590-3595 [cit. 2021-5 -13]. ISSN 0021-8561. Dostupné z : doi:10.1021/jf980154m

HUANG, Fenlin, Qufu WEI, Yibing CAI a Ning WU. Surface Structures and Contact Angles of Electrospun Poly(vinylidene fluoride) Nanofiber Membranes. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* [online]. 2008, **13**(4), 292-301 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 1023-666X. Dostupné z : doi:10.1080/10236660802190963

CHO, Sung-Yun, Hee-jin JUN, Ji Hae LEE, Yaoyao JIA, Kyoung Heon KIM a Sung-Joon LEE. Linalool reduces the expression of 3 -hydroxy-3 -methylglutaryl CoA reductase via sterol regulatory element binding protein-2 - and ubiquitin-dependent mechanisms. *FEBS*

Letters [online]. 2011, **585**(20), 3289-3296 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 00145793. Dostupné z : doi:10.1016/j .febslet.2011.09.012

CHOUHAN S , Sharma K , Guleria S . Antimicrobial Activity of Some Essential Oils— Present Status and Future Perspectives. *Medicines* [online]. 2017, **4** (3) [cit. 2021-5 -1]. ISSN 2305-6320. Dostupné z : doi:10.3390/medicines4030058

IBRAHIM, Hemmat, Rasha EL SABAGH, Nahla ABOU EL-ROOS a Hend ABD EL FATTAH. Antimicrobial effect of some essential oils on *Staphylococcus aureus* in minced meat. *Benha Veterinary Medical Journal* [online]. 2016, **30**(1), 183-191 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1110-6581. Dostupné z : doi:10.21608/bvmj.2016.31362

JIRSAK, O ., et al., A Method of Nanofibers Production from a Polymer Solution Using Electrostatic Spinning and a Device for Carrying Out the Method, in EP1673493. 2005: Czech Republic.

KANG, Guo-dong a Yi-ming CAO. Application and modification of poly(vinylidene fluoride) (PVDF) membranes – A review. *Journal of Membrane Science* [online]. 2014, **463**, 145-165 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j .memsci.2014.03.055

KENRY a Chwee Teck LIM. Nanofiber technology: current status and emerging developments. *Progress in Polymer Science* [online]. 2017, **70**, 1 -17 [cit. 2021-04-21]. ISSN 00796700. Dostupné z : doi:10.1016/j .progpolymsci.2017.03.002

KHAISRI, Sakarin, David DEMONTIGNY, Paitoon TONTIWACHWUTHIKUL a Ratana JIRARATANANON. CO₂ stripping from monoethanolamine using a membrane contactor. *Journal of Membrane Science* [online]. 2011, **376**(1 -2), 110-118 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j .memsci.2011.04.005

KING, Sabina. IS CBD AN ESSENTIAL OIL. Hempure: The Purest CBD oil from Organically Grown Hemp [online]. Ashland, Oregon, USA: Hempure, 2020 [cit. 2021-5 -11]. Dostupné z : <https://www.hempurecbd.com/...il/>

KOENIG, Kylie, Konrad BEUKENBERG, Fabian LANGENSIEPEN a Gunnar SEIDE. A new prototype melt-electrospinning device for the production of biobased thermoplastic sub-microfibers and nanofibers. *Biomaterials Research* [online]. 2019, **23**(1) [cit. 2021-4 -30]. ISSN 2055-7124. Dostupné z : doi:10.1186/s40824-019-0159-9

KOWALCZYK, Adam, Martyna PRZYCHODNA, Sylwia SOPATA, Agnieszka BODALSKA a Izabela FECKA. Thymol and Thyme Essential Oil—New Insights into Selected Therapeutic Applications. *Molecules* [online]. 2020, **25**(18) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 1420-3049. Dostupné z : doi:10.3390/molecules25184125

LEE, Ji-Eun, Myunghee JUNG, Sung-Chan LEE, Min-Jung HUH, Seon-Mi SEO a Il-Kwon PARK. Antibacterial mode of action of trans-cinnamaldehyde derived from cinnamon bark (*Cinnamomum verum*) essential oil against *Agrobacterium tumefaciens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. 2020, **165** [cit. 2021-5 -1]. ISSN 00483575. Dostupné z : doi:10.1016/j .pestbp.2020.02.012

LI, Mengyuan, Ilias KATSOURAS, Claudia PILIEGO, Gunnar GLASSER, Ingo LIEBERWIRTH, Paul W . M . BLOM a Dago M . DE LEEUW. Controlling the microstructure of poly(vinylidene-fluoride) (PVDF) thin films for microelectronics. *Journal of Materials Chemistry C* [online]. 2013, **1** (46) [cit. 2021-5 -1]. ISSN 2050-7526. Dostupné z : doi:10.1039/c3tc31774a

LIU, Jia-Xu, Wen-Hao DONG, Xiao-Ju MOU, et al. In Situ Electrospun Zein/Thyme Essential Oil-Based Membranes as an Effective Antibacterial Wound Dressing. *ACS Applied Bio Materials* [online]. 2019, **3** (1), 302-307 [cit. 2021-5 -13]. ISSN 2576-6422. Dostupné z : doi:10.1021/acsabm.9b00823

LIU, Yong, Ji-Huan HE, Jian-yong YU a Hong-mei ZENG. Controlling numbers and sizes of beads in electrospun nanofibers. *Polymer International* [online]. 2008, **57**(4), 632-636 [cit. 2021-4 -30]. ISSN 09598103. Dostupné z : doi:10.1002/pi.2387

LIU, Xue, Jiaxin CAI, Haiming CHEN, Qiuping ZHONG, Yaqi HOU, Weijun CHEN a Wenxue CHEN. Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis* [online]. 2020, **141** [cit. 2021-5 -1]. ISSN 08824010. Dostupné z : doi:10.1016/j .micpath.2020.103980

LOU, Lihua, Odia OSEMWEGIE a Seshadri S . RAMKUMAR. Functional Nanofibers and Their Applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research* [online]. 2020, **59**(13), 5439-5455 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0888-5885. Dostupné z : doi:10.1021/acs.iecr.9b07066

LUO, C .J ., M . NANGREJO a M . EDIRISINGHE. A novel method of selecting solvents for polymer electrospinning. *Polymer* [online]. 2010, **51**(7), 1654-1662 [cit. 2021-4 -26]. ISSN 00323861. Dostupné z : doi:10.1016/j .polymer.2010.01.031

LUO, C . J ., Simeon D . STOYANOV, E . STRIDE, E . PELAN a M . EDIRISINGHE. Electrospinning versus fibre production methods: from specifics to technological convergence. *Chemical Society Reviews* [online]. 2012, **41**(13) [cit. 2021-4 -25]. ISSN 0306-0012. Dostupné z : doi:10.1039/c2cs35083a

MARONGIU, Bruno, Silvia PORCEDDA, Giovanna Della PORTA a Ernesto REVERCHON. Extraction and isolation of *Salvia desoleana* and *Mentha spicata* subsp. *insularis* essential oils by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2001, **16**(5), 384-388 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0882-5734. Dostupné z : doi:10.1002/ffj.1021

MAYEEN, Anshida, Kala M . S ., Jayalakshmy M . S ., Sabu THOMAS, Jacob PHILIP, Didier ROUXEL, R . N . BHOWMIK a Nandakumar KALARIKKAL. Flexible and self-standing nickel ferrite–PVDF–TrFE cast films: promising candidates for high-end magnetoelectric applications. *Dalton Transactions* [online]. 2019, **48**(45), 16961-16973 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1477-9226. Dostupné z : doi:10.1039/C9DT02856K

MELE, Elisa. Electrospinning of Essential Oils. *Polymers* [online]. 2020, **12**(4) [cit. 2021-5 -13]. ISSN 2073-4360. Dostupné z : doi:10.3390/polym12040908

MOHAMMADI NEJAD, Solmaz, Hilal ÖZGÜNEŞ a Nursen BAŞARAN. Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2017, **14**(2), 201-206 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1304-530X. Dostupné z : doi:10.4274/tjps.62207

MOSADEGH-SEDGHI, Sanaz, Denis RODRIGUE, Josée BRISSON a Maria C . ILIUTA. Wetting phenomenon in membrane contactors – Causes and prevention. *Journal of Membrane Science* [online]. 2014, **452**, 332-353 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j .memsci.2013.09.055

NARAGHI, Mohammad, Ioannis CHASIOTIS, Harold KAHN, Yongkui WEN a Yuris DZENIS. Novel method for mechanical characterization of polymeric nanofibers. *Review of Scientific Instruments* [online]. 2007, **78**(8) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0034-6748. Dostupné z : doi:10.1063/1 .2771092

NAYAK, Rajkishore, Rajiv PADHYE, Illias Louis KYRATZIS, Yen Bach TRUONG a Lyndon ARNOLD. Recent advances in nanofibre fabrication techniques. *Textile Research Journal* [online]. 2011, **82**(2), 129-147 [cit. 2021-4 -28]. ISSN 0040-5175. Dostupné z : doi:10.1177/0040517511424524

NEJATI, Siamak, Chanhee BOO, Chinedum O. OSUJI a Menachem ELIMELECH. Engineering flat sheet microporous PVDF films for membrane distillation. *Journal of Membrane Science* [online]. 2015, **492**, 355-363 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j .memsci.2015.05.033

NEMATI, Sorour, Se-jeong KIM, Young Min SHIN a Heungsoo SHIN. Current progress in application of polymeric nanofibers to tissue engineering. *Nano Convergence* [online]. 2019, **6** (1) [cit. 2021-4 -26]. ISSN 2196-5404. Dostupné z : doi:10.1186/s40580-019-0209-y

NIU, Haitao, Xungai WANG a Tong LI. Needleless Electrospinning: Developments and Performances. LIN, Tong, ed. *Nanofibers - Production, Properties and Functional Applications* [online]. InTech, 2011, 14. 11. 2011 [cit. 2021-4 -26]. ISBN 978-953-307-420-7 . Dostupné z : doi:10.5772/24999

OKUTAN, Nagihan, Pınar TERZI a Filiz ALTAY. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids* [online]. 2014, **39**, 19-26 [cit. 2021-4 -26]. ISSN 0268005X. Dostupné z : doi:10.1016/j .foodhyd.2013.12.022

ORCHARD, Ané a Sandy VAN VUUREN. Commercial Essential Oils as Potential Antimicrobials to Treat Skin Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [online]. 2017, **2017**, 1 -92 [cit. 2021-5 -13]. ISSN 1741-427X. Dostupné z : doi:10.1155/2017/4517971

PARTHENIADIS, Ioannis, Ioannis NIKOLAKAKIS, Ivo LAIDMÄE a Jyrki HEINÄMÄKI. A Mini-Review: Needleless Electrospinning of Nanofibers for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Processes* [online]. 2020, **8** (6) [cit. 2021-4 -25]. ISSN 2227-9717. Dostupné z : doi:10.3390/pr8060673

PATIL, Jyoti V ., Sawanta S . MALI, Archana S . KAMBLE, Chang K . HONG, Jin H . KIM a Pramod S . PATIL. Electrospinning: A versatile technique for making of 1D growth of nanostructured nanofibers and its applications. *Applied Surface Science* [online]. 2017, **423**, 641-674 [cit. 2021-4 -30]. ISSN 01694332. Dostupné z : doi:10.1016/j .apsusc.2017.06.116

PEER, Petra, Jana SEDLAŘÍKOVÁ, Magda JANALÍKOVÁ, Liliana KUČEROVÁ a Pavel PLEVA. Novel Polyvinyl Butyral/Monoacylglycerol Nanofibrous Membrane with

Antifouling Activity. *Materials* [online]. 2020, **13**(17) [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1996-1944. Dostupné z : doi:10.3390/ma13173662

PENDERGAST, MaryTheresa M . a Eric M.V . HOEK. A review of water treatment membrane nanotechnologies. *Energy & Environmental Science* [online]. 2011, **4** (6) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 1754-5692. Dostupné z : doi:10.1039/c0ee00541j

PISIGNANO, Dario. *Polymer Nanofibers: Building Blocks for Nanotechnology*. United Kingdom: The Royal Society of Chemistry, 2013. ISBN 978-1 -84973-574-2 .

RAMAKRISHNA, Seeram. *An introduction to electrospinning and nanofibers*. New Jersey: World Scientific, c2005. ISBN 981-256-415-2 .

ROMEO, Flora V ., Serena DE LUCA, Amalia PISCOPO a Marco POIANA. Antimicrobial Effect of Some Essential Oils. *Journal of Essential Oil Research* [online]. 2008, **20**(4), 373-379 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1041-2905. Dostupné z : doi:10.1080/10412905.2008.9700034

RUTLEDGE, Gregory C ., Joseph L . LOWERY a Chia-Ling PAI. Characterization by Mercury Porosimetry of Nonwoven Fiber Media with Deformation. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* [online]. 2009, **4** (3) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 1558-9250. Dostupné z : doi:10.1177/155892500900400301

SARMENTO-NETO, José, Lázaro DO NASCIMENTO, Cícero FELIPE a Damião DE SOUSA. Analgesic Potential of Essential Oils. *Molecules* [online]. 2016, **21**(1) [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1420-3049. Dostupné z : doi:10.3390/molecules21010020

SEOW, Yi Xin, Chia Rou YEO, Hui Ling CHUNG a Hyun-Gyun YUK. Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2013, **54**(5), 625-644 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 1040-8398. Dostupné z : doi:10.1080/10408398.2011.599504

SHAABAN, Hamdy. Essential Oil as Antimicrobial Agents: Efficacy, Stability, and Safety Issues for Food Application. SANTANA DE OLIVEIRA, Mozaniel, Wanessa ALMEIDA DA COSTA a Sebastião GOMES SILVA, ed. *Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications* [online]. IntechOpen, 2020, 9 . 9 . 2020 [cit. 2021-4 -29]. ISBN 978-1 -83962-697-5 . Dostupné z : doi:10.5772/intechopen.92305

SHANMUGAM, Vigneshwaran, Karthik BABU, Thomas F . GARRISON, et al. Potential natural polymer-based nanofibres for the development of facemasks in countering viral

outbreaks. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2021, **138**(27) [cit. 2021-4 -30]. ISSN 0021-8995. Dostupné z : doi:10.1002/app.50658

SHAO, P . a R .Y .M . HUANG. Polymeric membrane pervaporation. *Journal of Membrane Science* [online]. 2007, **287**(2), 162-179 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j .memsci.2006.10.043

SHARIFI-RAD, Javad, Antoni SUREDA, Gian TENORE, et al. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules* [online]. 2017, **22**(1) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 1420-3049. Dostupné z : doi:10.3390/molecules22010070

SHARIFI-RAD, Mehdi, Elena Maria VARONI, Marcello IRITI, et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research* [online]. 2018, **32**(9), 1675-1687 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 0951418X. Dostupné z : doi:10.1002/ptr.610

SHEN, Liguo, Shushu FENG, Jianxi LI, Jianrong CHEN, Fengquan LI, Hongjun LIN a Genying YU. Surface modification of polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane via radiation grafting: novel mechanisms underlying the interesting enhanced membrane performance. *Scientific Reports* [online]. 2017, **7** (1) [cit. 2021-4 -29]. ISSN 2045-2322. Dostupné z : doi:10.1038/s41598-017-02605-3

SWAMY, Mallappa Kumara, Mohd Sayeed AKHTAR a Uma Rani SINNIHAH. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [online]. 2016, **2016**, 1 -21 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 1741-427X. Dostupné z : doi:10.1155/2016/3012462

ŠEGVIĆ KLARIĆ, M., I. KOSALEC, J. MASTELIĆ, E. PIECKOVÁ a S. PEPELJNAK. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L .) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology* [online]. 2007, **44**(1), 36-42 [cit. 2021-5 -1]. ISSN 0266-8254. Dostupné z : doi:10.1111/j .1472-765X.2006.02032.x

ŠIRC, Jakub, Radka HOBZOVÁ, Nina KOSTINA, et al. Morphological Characterization of Nanofibers: Methods and Application in Practice. *Journal of Nanomaterials* [online]. 2012, **2012**, 1 -14 [cit. 2021-04-21]. ISSN 1687-4110. Dostupné z : doi:10.1155/2012/327369

TAN, E.P.S. a C.T. LIM. Mechanical characterization of nanofibers – A review. *Composites Science and Technology* [online]. 2006, **66**(9), 1102-1111 [cit. 2021-04-21]. ISSN 02663538. Dostupné z : doi:10.1016/j.compscitech.2005.10.003

THORMAR, Halldor, ed. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents* [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2011 [cit. 2021-5-12]. ISBN 9780470976623. Dostupné z : doi:10.1002/9780470976623

TONGNUANCHAN, Phakawat a Soottawat BENJAKUL. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science* [online]. 2014, **79**(7), R1231-R1249 [cit. 2021-4-29]. ISSN 00221147. Dostupné z : doi:10.1111/1750-3841.12492

TUCKER, Nick, Jonathan J. STANGER, Mark P. STAIGER, Hussam RAZZAQ a Kathleen HOFMAN. The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* [online]. 2012, **7** (2 _suppl) [cit. 2021-5-1]. ISSN 1558-9250. Dostupné z : doi:10.1177/155892501200702S10

WANG, Peng a Tai-Shung CHUNG. Design and fabrication of lotus-root-like multi-bore hollow fiber membrane for direct contact membrane distillation. *Journal of Membrane Science* [online]. 2012, **421-422**, 361-374 [cit. 2021-4-29]. ISSN 03767388. Dostupné z : doi:10.1016/j.memsci.2012.08.003

WANG, Xin, Haitao NIU, Xungai WANG a Tong LIN. Needleless Electrospinning of Uniform Nanofibers Using Spiral Coil Spinnerets. *Journal of Nanomaterials* [online]. 2012, **2012**, 1-9 [cit. 2021-4-25]. ISSN 1687-4110. Dostupné z : doi:10.1155/2012/785920

WAQAS MUNIR, Muhammad a Usman ALI. Classification of Electrospinning Methods. SASANI GHAMSARI, Morteza a Soumen DHARA, ed. *Nanorods and Nanocomposites* [online]. IntechOpen, 2020, 11. 3. 2020 [cit. 2021-4-26]. ISBN 978-1-78984-468-9. Dostupné z : doi:10.5772/intechopen.88654

WEI, Alfreda a Takayuki SHIBAMOTO. Medicinal Activities of Essential Oils. *Bioactive Foods in Promoting Health* [online]. Elsevier, 2010, 2010, s. 59-70 [cit. 2021-5-1]. ISBN 9780123746283. Dostupné z : doi:10.1016/B978-0-12-374628-3.00004-9

WEI, Ping, Li-Hua CHENG, Lin ZHANG, Xin-Hua XU, Huan-lin CHEN a Cong-jie GAO. A review of membrane technology for bioethanol production. *Renewable and Sustainable*

Energy Reviews [online]. 2014, **30**, 388-400 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 13640321. Dostupné z : doi:10.1016/j .rser.2013.10.017

XUE, Jiajia, Tong WU, Yunqian DAI a Younan XIA. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chemical Reviews* [online]. 2019, **119**(8), 5298-5415 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0009-2665. Dostupné z : doi:10.1021/acs.chemrev.8b00593

YALCINKAYA, Fatma. A review on advanced nanofiber technology for membrane distillation. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* [online]. 2019, **14** [cit. 2021-4 -25]. ISSN 1558-9250. Dostupné z : doi:10.1177/1558925018824901

ZELENKOVA, Jana, Petra PEER, Pavel PLEVA, Magda JANALIKOVA, Jana SEDLARIKOVA a Petr FILIP. *Antibacterial electrospun membrane prepared from poly (vinylidene fluoride)-co-hexafluoropropylene with lauric acid monoacylglycerol* [online]. In: . 2020, s . 355-360 [cit. 2021-5 -1]. Dostupné z : doi:10.37904/nanocon.2020.3741

ZERMANE, A ., A .-H . MENIAI a D . BARTH. Supercritical CO₂ Extraction of Essential Oil from Algerian Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L .). *Chemical Engineering & Technology* [online]. 2010, **33**(3), 489-498 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 09307516. Dostupné z : doi:10.1002/ceat.200900381

ZHAN, Xia, Jiding LI, Junqi HUANG a Cuixian CHEN. Enhanced Pervaporation Performance of Multi-layer PDMS/PVDF Composite Membrane for Ethanol Recovery from Aqueous Solution. *Applied Biochemistry and Biotechnology* [online]. 2010, **160**(2), 632-642 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0273-2289. Dostupné z : doi:10.1007/s12010-008-8510-y

ZHANG, Y Z , Y FENG, Z -M HUANG, S RAMAKRISHNA a C T LIM. Fabrication of porous electrospun nanofibres. *Nanotechnology* [online]. 2006, **17**(3), 901-908 [cit. 2021-4 -29]. ISSN 0957-4484. Dostupné z : doi:10.1088/0957-4484/17/3 /047

ZHAO, Ying, Yihui QIU, Huanhuan WANG, Yu CHEN, Shaohua JIN a Shuseng CHEN. Preparation of Nanofibers with Renewable Polymers and Their Application in Wound Dressing. *International Journal of Polymer Science* [online]. 2016, **2016**, 1 -17 [cit. 2021-4 -25]. ISSN 1687-9422. Dostupné z : doi:10.1155/2016/4672839

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AFM	Mikroskopie atomárních sil
BET	Technika měření povrchové plochy (Brunauer, Emmett, Teller)
BHA	Butylhydroxyanisol
BHI	Bujón mozkosrdcové infúze
BHT	Butylhydroxytoluen
Cin	Cinnamaldehyd
CO ₂	Oxid uhličitý
DMF	Dimethylformamid
EO	Esenciální oleje
Eug	Eugenol
Kar	Karvakrol
Lin	Linalool
MBR	Membránový bioeraktor
MF	Mikrofiltrace
MH	Mueller Hinton bujón
MNE	Systém více jehel (multiple needle electrospinning)
NLES	Systém bez jehly (needleless electrospinning)
PCL	Polykaprolakton
PEO	Polyethylenoxid
PGA	Kyselina polyglykolová
PLA	Kyselina polymléčná
PVA	Polyvinylalkohol
PVC	Polyvinylchlorid
PVDF	Polyvinylidenfluorid
PS	Polystyren

SEM	Skenovací elektronový mikroskop
SNE	Systém jedné jehly (single needle electrospinning)
TEM	Transmisní elektronový mikroskop
Thy	Thymol
VOC	Těkavé organické sloučeniny (volatile organic compound)
mm	Milimetr
μm	Mikrometr
nm	Nanometr
kV	Kilovolt
rpm	Otáčky za minutu (rotation per minute)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Nanovlákná vrstva připravena elektrostatickým zvlákňováním, upraveno dle Peer et al. (2020).....	12
Obrázek 2 Molekulová struktura PVDF, upraveno dle Eisenmenger et al. (1999).....	17
Obrázek 3 Jednotlivé kroky výroby nanovláken pomocí fyzikálního dloužení, upraveno dle Patil et al. (2017).....	18
Obrázek 4 Proces fázové separace, upraveno dle Patil et al. (2017)	19
Obrázek 5 Elektrostatické zvlákňování (systém SNE), upraveno dle Koenig et al. (2019).....	21
Obrázek 6 A – schéma elektrostatického zvlákňování z povrchu roztoku, B – paprsky vytvořených vláken, upraveno dle Cengiz-Çallioğlu (2014).....	23
Obrázek 7 Tvorba korálových vláken při nedokonalém odpařování rozpouštědla, upraveno dle Liu et al. (2008).....	24
Obrázek 8 Membránová destilace, zvýšení pórovitosti, upraveno dle Nejati et al. (2015)	28
Obrázek 9 Strukturální vzorec izoprenu, upraveno dle Baser a Buchbauer (2010)	31
Obrázek 10 Schéma destilace vodní parou, upraveno dle King (2020).....	35
Obrázek 11 Strukturální vzorec thymolu.....	37
Obrázek 12 Strukturální vzorec cinnamaldehydu (trans).....	38
Obrázek 13 Strukturální vzorec karvakrolu.....	39
Obrázek 14 Strukturální vzorec linaloolu.....	39
Obrázek 15 Strukturální vzorec eugenolu	40
Obrázek 17 Přístroje pro zobrazení morfologie nanovláken a filmů, A – skenovací elektronový mikroskop TESCAN VEGA3, B – magnetronový rozprašovací přístroj QUORUM (vlastní zdroj)	43
Obrázek 18 Vzorky PVDF filmů s vodivou vrstvou vložené do SEM.....	47
Obrázek 19 Detail zařízení pro elektrostatické zvlákňování	48
Obrázek 20 PVDF (23% w /w) nanovlákná vrstva.....	49
Obrázek 21 SEM polymerních filmů s inkorporovanou aktivní látkou EO – cinnamaldehyd, karvakrol, thymol, eugenol, linalool; (5 % w /w).....	53
Obrázek 22 Inhibiční zóny E . coli u filmu se zabudovaným 5 % w /w karvakrolem	54
Obrázek 23 SEM nanovlákných membrán s inkorporovanými aktivními látkami EO – cinnamaldehyd, thymol, eugenol, linalool, karvakrol; (5 % w /w)	60
Obrázek 24 Snímky z fluorescenční mikroskopie PVDF membrán inkorporovanými 5 % w /w aktivními látkami EO pro E . coli; (měřítko 20µm)	63
Obrázek 25 SEM posouzení tvorby biofilmu S . aureus na nanovláknách s aktivními látkami – cinnamaldehyd, thymol, eugenol, linalool, karvakrol; (5 % w /w)	66

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Teoretické navážky jednotlivých látek pro přípravu polymerních filmů	46
Tabulka 2 Připravené druhy vzorků polymerních filmů.....	51
Tabulka 3 Střední hodnoty inhibičních zón v průběhu času pro E . coli,.....	55
průměr disku 9 mm	55
Tabulka 4 Střední hodnoty inhibičních zón v průběhu času pro S . aureus, průměr disku 9 mm	56
Tabulka 5 Střední hodnoty průměrů připravených PVDF nanovláken	58
Tabulka 6 Tvorba biofilmu E . coli a S . aureus v přítomnosti PVDF membrán	64
Tabulka 7 Naměřené hodnoty absorbancí a jejich poměr pro PVDF nanovlákná a film .	67