

# Tvorba biofilmu na polymerních površích

Eva Šáchová

---

Bakalářská práce  
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2016/2017

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Eva Šáchová**  
Osobní číslo: **T14349**  
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**  
Forma studia: **prezenční**

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

Zásady pro vypracování:

Cílem práce je studium vztahu povrchových vlastností a možností eliminace biofilmu na polymerních površích s protikorozními vlastnostmi. Předmětem práce je v teoretické části seznámení se s dosud publikovanými studiemi o vztahu povrchových vlastností polymerů a tvorby biofilmu na nich. V návaznosti na takto získané informace se naplánuje a provede série experimentů za účelem stanovení tvorby biofilmu prokaryotických a eukaryotických mikroorganismů na modifikovaných polymerních površích obsahujících antioxidanty. Povrchy se následně charakterizují z hlediska jejich povrchové energie.



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

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

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

**DAVID A.P. BIZIOS R. Biological Interactions on Material Surfaces. ISBN 9780387981604**

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.**

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce:

**2. ledna 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**17. května 2017**

Ve Zlíně dne 1. března 2017



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



doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Šachová' Eva

Obor: Polymerní materiály  
a technologie

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9.5.2017

Šachová' Eva

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

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

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

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

<sup>3)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

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

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

## ABSTRAKT

V bakalářské práci je popsán vztah mezi polymerními povrchy a tvorbou biofilmu plísni. V teoretické části jsou shrnuty informace o biomateriálech, biofilmu a povrchové energii, která byla měřena u všech vzorků. V experimentální části je zkoumána tvorba biofilmu plísni na různých polymerních nátěrech. Zkoumané vzorky polymerních nátěrů byly na bázi epoxyesterové a methylsilikonové pryskyřice. V experimentu byly využity plísně *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* a *Paecilomyces variotii*. Z těchto plísni byla vytvořena směsná kultura, která byla naočkována na vzorky. Bylo sledováno, jak je biofilm schopen přerůst vzorek anebo tvořit biofilm přímo na něm. Kultivace probíhala na kompletním a nekompletním agaru. Pro stanovení povrchové energie byla použita metoda měření kontaktního úhlu sedící kapkou. Dále bylo testováno, zda je biofilm schopen čerpat živiny pouze z živné půdy nebo i ze samotného vzorku. Hodnoty růstu a přerůstání byly dány do vztahu ke složení vzorků a k naměřeným hodnotám povrchové energie.

Klíčová slova: Biomateriál, biofilm, plísně, polymerní nátěry

## ABSTRACT

The bachelor thesis describes the relationship between polymer surfaces and fungal biofilm. The theoretical part summarizes the information about biomaterials, biofilm and surface energy, which were measured for all samples. In the experimental part the formation of fungal biofilm on different polymer coats is investigated. The investigated samples of polymer coatings were based on epoxy and methylsilicone resins. *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *Paecilomyces variotii* were used in the experiment. A mixed culture was formed from these fungi. The mixed culture was seeded on samples. The biofilm was able to overcome the sample or create a biofilm directly on it. Cultivation takes place on complete and incomplete agar. For the determination of surface energy, a method of measuring a contact angle was used. It has also been tested whether the fungi was able to get some nutrients from the sample itself. Growth and overgrowth values were determined and put into the relation with composition of the samples and the surface energy.

Keywords: Biomaterial, biofilm, fungi, polymer coatings

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Petru Humpolíčkovi, Ph.D. za pomoc, cenné rady, ochotu a trpělivost při zpracování této práce. Děkuji také Ing. Nikole Mikušové za pomoc a spolupráci při získávání údajů pro výzkumnou část práce.

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



# OBSAH

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ÚVOD</b> .....   | <b>11</b> |
| <b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....  | <b>12</b> |
| <b>1 POLYMERNÍ MATERIÁLY</b> .....  | <b>13</b> |
| 1.1    OBECNÁ CHARAKTERISTIKA .....                                       | 13        |
| 1.2    BIOMATERIÁLY .....   | 14        |
| 1.3    POŽADAVKY NA BIOMATERIÁLY .....                                    | 15        |
| 1.4    ROZDĚLENÍ BIOMATERIÁLŮ.....  | 15        |
| 1.4.1    Kovy.....  | 16        |
| 1.4.2    Keramika .....   | 16        |
| 1.4.3    Polymery .....   | 17        |
| 1.4.4    Kompozity.....   | 19        |
| 1.5    POVRCHOVÉ VLASTNOSTI MATERIÁLŮ .....                               | 20        |
| 1.5.1    Povrchové napětí a povrchová energie .....                       | 20        |
| 1.5.2    Kontaktní úhel.....  | 21        |
| 1.5.3    Hydrofilita a hydrofobicita.....                                 | 22        |
| <b>2 BIOFILM</b> .....  | <b>23</b> |
| 2.1    DEFINOVÁNÍ BIOFILMU.....   | 23        |
| 2.2    PŘÍČINY VZNIKU BIOFILMU .....                                      | 23        |
| 2.3    VZNIK BIOFILMU .....   | 24        |
| 2.4    ROZDÍLY MEZI BIOFILM TVOŘÍCÍMI A PLANKTONNÍMI MIKROORGANISMY ..... | 25        |
| <b>3 ORGANISMY TVOŘÍCÍ BIOFILM</b> .....                                  | <b>27</b> |
| 3.1    BAKTERIE.....  | 27        |
| 3.1.1    Biofilm bakterií .....   | 27        |
| 3.2    PLÍSNĚ.....  | 28        |
| 3.2.1    Biofilm plísní .....   | 28        |
| 3.3    KVASINKY.....  | 29        |
| 3.3.1    Biofilm kvasinek .....   | 29        |
| <b>4 VZÁJEMNÝ VZTAH BIOFILMU A MATERIÁLU</b> .....                        | <b>31</b> |
| 4.1    MATERIÁLOVÉ VLASTNOSTI OVLIVŇUJÍCÍ VZNIK BIOFILMU .....            | 31        |
| 4.2    VLIV BIOFILMU NA MATERIÁLOVÉ VLASTNOSTI .....                      | 32        |
| <b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....  | <b>34</b> |
| <b>5 MATERIÁL A METODIKA</b> .....  | <b>35</b> |
| 5.1    STANOVENÍ TVORBY BIOFILMU .....                                    | 35        |
| 5.1.1    Plísně.....  | 35        |
| 5.2    KULTIVAČNÍ MÉDIUM.....   | 35        |
| 5.2.1    Kompletní agar.....  | 36        |
| 5.2.2    Nekompletní agar .....   | 36        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 5.3      | VZORKY POLYMERNÍCH FILMŮ .....                                     | 37        |
| 5.3.1    | Vzorky polymerních filmů na bázi epoxyesterové pryskyřice .....    | 37        |
| 5.3.2    | Vzorky polymerních filmů na bázi methylsilikonové pryskyřice ..... | 39        |
| 5.4      | OČKOVÁNÍ .....   | 43        |
| 5.5      | MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU METODOU SEDÍCÍ KAPKY .....                 | 44        |
| <b>6</b> | <b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>                                    | <b>45</b> |
| 6.1      | VÝSLEDKY MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU .....                             | 45        |
| 6.2      | TVORBA A PŘERŮSTÁNÍ BIOFILMU PLÍSNÍ .....                          | 48        |
|          | <b>ZÁVĚR .....</b>   | <b>56</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>                             | <b>57</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>                    | <b>65</b> |
|          | <b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>  | <b>66</b> |
|          | <b>SEZNAM TABULEK .....</b>  | <b>68</b> |

## ÚVOD

Biofilmy produkované mikroorganismy jako jsou plísně, bakterie nebo kvasinky často způsobují řadu problémů například ve zdravotnictví nebo průmyslu. Materiál, na kterém je biofilm vytvořen může například podlehnout korozi a být znehodnocen. V případě biofilmu plísní dochází k sekreci enzymů, které rozkládají složitější molekuly a na povrchu materiálu se tvoří hyfy, které mohou často do substrátu pronikat. Problémem je také tvorba biofilmu na různých endoprotézách a tělesech, které jsou vkládány do těla, protože mohou způsobovat závažná onemocnění a infekce. Tvorba biofilmu přináší mikroorganismům určité výhody na rozdíl od jejich planktonní formy. Mikroorganismy tvořící biofilm jsou více odolné vůči toxickým látkám, UV záření, antibiotikům nebo mechanickému poškození, což způsobuje potíže při jejich odstranění. Problémům spojeným s tvorbou biofilmu lze předejít tak, že zamezíme přichycení mikroorganismů na povrch. K tomu se využívají například polymerní nátěry, které slouží jako ochrana materiálu.

Jako testovací povrchy byly v práci použity polymerní nátěry na bázi epoxyesterové a methylsilikonové pryskyřice s různým obsahem vodivých polymerů. Polyanilin a polypyrrol jsou jedny z nejvíce studovaných materiálů v oblasti vodivých polymerů. Polyanilin se běžně vyskytuje v několika formách lišících se například svými elektrickými vlastnostmi nebo chováním při styku s živou tkání. Kromě různých vlastností mají tyto formy polyanilinu rozdílné zbarvení, takže je lze rozeznat pouhým okem. Polyanilin se využívá jako ochrana proti korozi nebo může být použitý v biomedicínských aplikacích. V biomedicínských aplikacích našel uplatnění i polypyrrol díky své nízké cytotoxicitě a biokompatibilitě. Polymerní nátěry obsahují také různé pigmenty a antikorozi složky, díky kterým mohou být upraveny vlastnosti materiálu. Aby měly polymerní nátěry široké uplatnění, nesmí obsahovat ekologicky závadné složky.

Cílem této práce je zjistit vztah mezi povrchovými vlastnostmi materiálu a možností eliminace biofilmu na polymerních površích s protikoroziními vlastnostmi.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 POLYMERNÍ MATERIÁLY

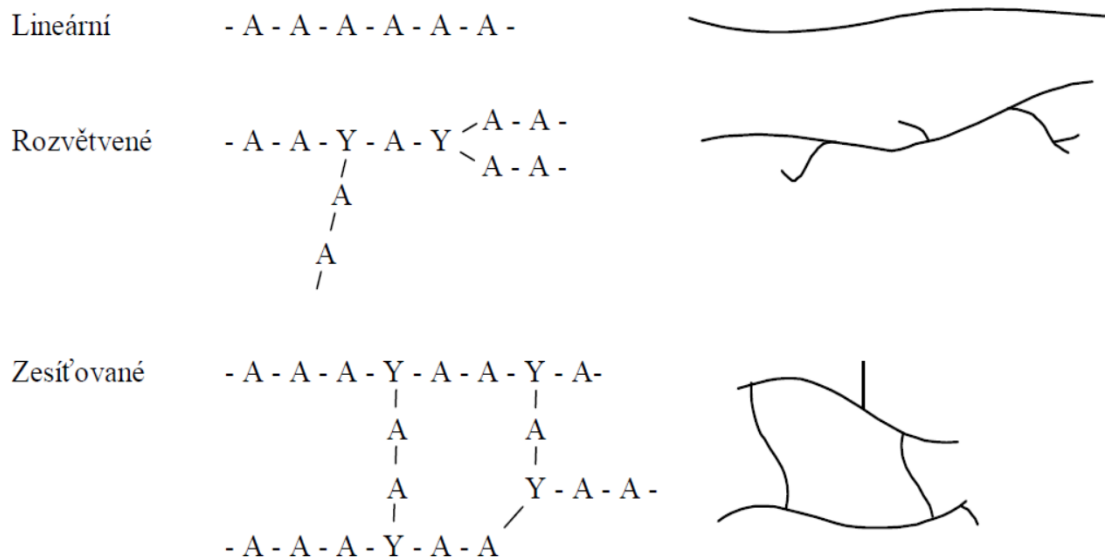
## 1.1 Obecná charakteristika

Polymery jsou chemické látky, tvořené velkými molekulami tzv. makromolekulami. Makromolekuly vznikají spojením několika opakujících se konstitučních jednotek – merů. Tyto polymery získáme jednoduchým přetvořením monomeru [1]. Polymery mají různé vlastnosti a využití, jejich výhodou je například dobrá dostupnost a nízká cena, jejich snadná zpracovatelnost, dobrá odolnost a izolační vlastnosti [2]. Polymerní látky dělíme podle počtu konstitučních jednotek na oligomery a polymery. U oligomerů, které jsou tvořeny malým počtem merů, můžeme přidáním nebo odebráním několika konstitučních jednotek změnit vlastnosti. Avšak u polymeru, který je tvořen velkým množstvím merů, přidání nebo odebrání několika konstitučních jednotek nezpůsobí žádnou změnu vlastností [3].

Polymery dělíme podle různých kritérií do několika skupin.

Jedním z důležitých kritérií je původ, podle kterého se polymery dělí na přírodní a syntetické. Syntetické polymery jsou vyráběny z organických látek chemickými reakcemi (např. polyetylen, polypropylen, polyepoxydy). Přírodní polymery jsou syntetizovány v přírodě pomocí enzymatických reakcí (např. ligniny, proteiny, přírodní kaučuky) [4]. Kolagen a želatina jsou biologicky odbouratelné přírodní polymery, proto se nejčastěji používají jako nosiče léčiv [5]. Využívají se také pro tvorbu scaffoldů, protože podporují buněčnou adhezi. Avšak kvůli obavám ohledně jejich imunogenní schopnosti a možnému přenosu patogenů jsou nahrazovány spíše syntetickými polymery. Syntetické polymery mají obvykle řízenou strukturu, vyšší stupeň flexibility a lepší odolnost [6]. Syntetické polymery mají jedinečné vlastnosti (chemické, mechanické, elektrické, tepelné), které je činí nenahraditelnými v konkrétních aplikacích. Mají široké využití jako výrobky běžné spotřeby, elektronické výrobky, jsou využívány ve stavebnictví, dopravě a průmyslu [7]. Dále polymery rozdělujeme podle struktury a fyzikálních vlastností na termoplasty, termosety a elastomery. Termoplasty jsou takové polymery, které při vyšší teplotě měknou a je u nich možné je opakovaně tavit a zase zpracovat, což je jejich velkou výhodou protože je lze recyklovat [8]. Termosety se od termoplastů liší v chemické struktuře, která je velmi síťovaná. Nelze je znovu roztavit, jsou stabilní při zvýšených teplotách. Tyto materiály jsou pevné, tvrdé a odolné vůči chemickým látkám. Do skupiny elastomerů patří hlavně kaučuky, které jsou velmi pružné a mají dobré elastické vlastnosti. Jejich řetězce jsou propletené a tvoří síť.

Hustota zesíťování je dána molekulovou hmotností jednotlivých řetězců. Působením vnější síly se řetězce deformují a po odstranění síly se opět vrací do původního tvaru [9]. Na obrázku 1 můžeme vidět rozdělení syntetických polymerů podle tvaru řetězce na lineární, rozvětvený a zesíťovaný [3].



Obrázek 1. Makromolekulární řetězce [3]

Polymery mohou vznikat různými mechanismy. Jedním z těchto mechanismů je polymerace, při které spolu reaguje několik monomerních jednotek, které se spojují přes aktivní centra, a vzniká polymerní řetězec. Důležité je, aby monomerní jednotka obsahovala alespoň jednu násobnou vazbu [4]. Dalším mechanismem je polykondenzace, kdy spolu reagují dvě různé monomerní jednotky, každá alespoň s dvěma funkčními skupinami. Tyto monomerní jednotky vytvoří nejdříve menší celky, které se následně spojují ve velké makromolekuly. Při polykondenzaci vzniká vedlejší produkt, kterým je nízkomolekulární látka jako např. voda [10]. Posledním mechanismem je polyadice. Je podobná polykondenzaci s tím rozdílem, že funkční skupina jednoho monomeru musí obsahovat vodík, který se odtrhne a přesune na jiný monomer. Dojde ke spojení monomerů a vzniku jednoho celku. Při polyadici nevzniká vedlejší produkt [2,3].

## 1.2 Biomateriály

Jedna z mnoha definic klasifikuje biomateriály jako přírodní nebo syntetické materiály, které mohou být použity k náhradě nebo zlepšení funkce tkáně nebo orgánu. Tyto materiály mohou být v kontaktu s tělesnými tkáněmi a tekutinami, bez rizika vzniku nežádoucích

účinků [11]. Dřívější generace biomateriálů byla navržena tak, aby zajišťovala pouze fyzickou podporu s minimálním požadavkem kompatibility. Byly zde také obavy, jak bude materiál interagovat s lidským tělem, protože byl považován za inertní. V současné době, se pojem biomateriálů výrazně posunul. Biomateriály jsou nyní vnímány jako velmi účinné materiály, které podporují hojení zraněných tkání, nebo mohou poškozenou tkáň nahradit [12].

### 1.3 Požadavky na biomateriály

Biomateriály musí splňovat určité požadavky jako je například biokompatibilita materiálu, což je schopnost materiálu být biologicky kompatibilní s tkání hostitele. Hostitelská tkáň by neměla způsobit negativní reakci nebo zánět. Biomateriál musí umožnit dodávku krve pro rychlejší regeneraci tkáně, nesmí být imunogenní a vyvolat tvorbu protilátek, také nesmí korodovat při fyziologickém pH a musí odolávat tělesné teplotě. Musí mít velký specifický povrch pro uložení buněk. Dále musí být možné modifikovat povrch takového biomateriálu pro zlepšení adheze tkání a musí zde být možnost sterilizace materiálu, aby se zabránilo toxické kontaminaci [13]. Biomateriál může být bioaktivní, bioinertní a nebo bioresorbovatelný. Pojem bioaktivní se týká materiálu, který při zavedení v lidském těle interaguje s okolím. K tomu dochází v závislosti na čase. Hlavní příklady těchto materiálů jsou syntetické hydroxyapatity nebo sklokeramika [14]. Bioinertní materiál má mít po vložení do lidského těla minimální interakci s okolní tkání [11]. Bioresorbovatelné materiály jsou ty, které po vykonání své funkce začnou v těle degradovat. Běžnými příklady biologicky resorbovatelných materiálů jsou např. polyamidy, polyglykolidy a kopolymery polymléčné a polyglykolové kyseliny [10].

### 1.4 Rozdělení biomateriálů

Polymerní biomateriály, můžeme rozdělit podle materiálu, ze kterého jsou vyrobeny. Mohou být z kovů, keramiky, polymerů anebo kompozitů. Každý materiál vlastní jedinečný stavební blok, který určuje jeho biologické a mechanické vlastnosti. Zatímco biologické vlastnosti jsou ovlivněny především povrchovými vlastnostmi materiálu, mechanické vlastnosti hrají významnou roli při plnění konstrukčních požadavků specifických biomateriálů nebo implantátů [12].

### 1.4.1 Kovy

Kovy se používají jako biomateriály z důvodu své vynikající elektrické a tepelné vodivosti a dobrým mechanickým vlastnostem. Kovy jsou používány jako náhrady tvrdé tkáně, například kyčelního a kolenního kloubu, pomůcky pro hojení zlomenin jako jsou kostní dlahy a šrouby, spinální fixační zařízení anebo jako zubní implantáty. Některé kovové slitiny se používají k výrobě desek kostí a šroubů. Většina kovů, jako je železo, chrom, kobalt, nikl, titan, tantal, niob, molybden a wolfram mohou být tolerovány v lidském těle pouze v nepatrném množství. Biokompatibilita kovového implantátu nese značné obavy, protože může korodovat v *in vivo* prostředí. Důsledkem koroze je postupný rozpad materiálu implantátu, který může vyvolat negativní reakci na okolních tkáních a orgánech [15]. I když jsou tyto kovové implantáty úspěšně používány pro aplikace tvrdé tkáně, vzniká nesoulad mechanického tělesa s přírodní kostí. Podle originálního Wolffova zákona, pokud se tužší implantát umístí do tvrdé tkáně, kosti se podrobí sníženému mechanickému namáhání, které postupně vede k resorpci kosti. Tento jev je známý jako stres stínění. Bylo zjištěno, že odpovídající tuhost implantátu omezuje účinky stresu stínění u hostitelských buněk. Na druhé straně, některé kovové biomateriály mohou být bioinertní a nemají schopnost interagovat s tkání hostitele, chemicky nebo biologicky. Vzhledem k nedostatečné mezifázové vazbě mezi kovovým implantátem a tkání hostitele, dochází k omezené osteointegraci. Pro zlepšení osteointegrace se kovové implantáty potahují kyselinou hyaluronovou [13].

### 1.4.2 Keramika

Keramické materiály jsou žáruvzdorné, polykrystalické sloučeniny, obvykle anorganické, včetně křemičitanů, oxidů kovů, karbidů a různých žáruvzdorných hydridů, sulfidů a selenidů. Až do nedávné doby bylo použití keramiky omezené v důsledku své přirozené křehkosti, citlivosti na zářezy nebo mikrotrhliny, nízké pevnosti v tahu a nízké rázové houževnatosti. Nicméně, v průběhu posledních 100 let, inovativní techniky vedly k použití keramiky jako high-tech materiálů. V posledních letech je keramika používána k rozšíření nebo výměně různých částí těla, zejména kostí a je klasifikována jako biokeramika. Jsou relativně inertní vůči tělesným tekutinám, mají vysokou pevnost v tlaku a esteticky příjemný vzhled, což vedlo k použití keramiky v zubním lékařství jako zubní korunky [15]. Podle interakce s hostitelskou tkání mohou být keramiky rozděleny na bioinertní nebo bioaktivní. Mohou být rovněž vstřebatelné nebo nevstřebatelné. Keramika je netvárná a při pokojové teplotě má téměř nulovou hodnotu tečení. Výhodou oproti kovům nebo polymerům je nižší



míra opotřebení. Oxidy hlinitý a zirkoničitý, řazené mezi bioinertní keramiku, jsou obvykle používány v ortopedii a také jako zubní implantáty, protože nezpůsobují žádné znatelné odezvy od hostitelské tkáně [16]. Kyselina hyaluronová, která patří k bioaktivní keramice, byla zavedena do lékařských aplikací právě díky své výjimečné biologické aktivitě, protože vyvolává silnou mezifázovou interakci s tkání hostitele. Do skupiny bioresorbovatelné keramiky patří například fosforečnan vápenatý, který je široce používán pro náhrady tvrdé tkáně. Poskytuje lešení pro tvorbu nové kostní tkáně, která se tvoří. Nakonec je fosforečnan vápenatý vstřebán a zůstane jenom nová tkáň [13].

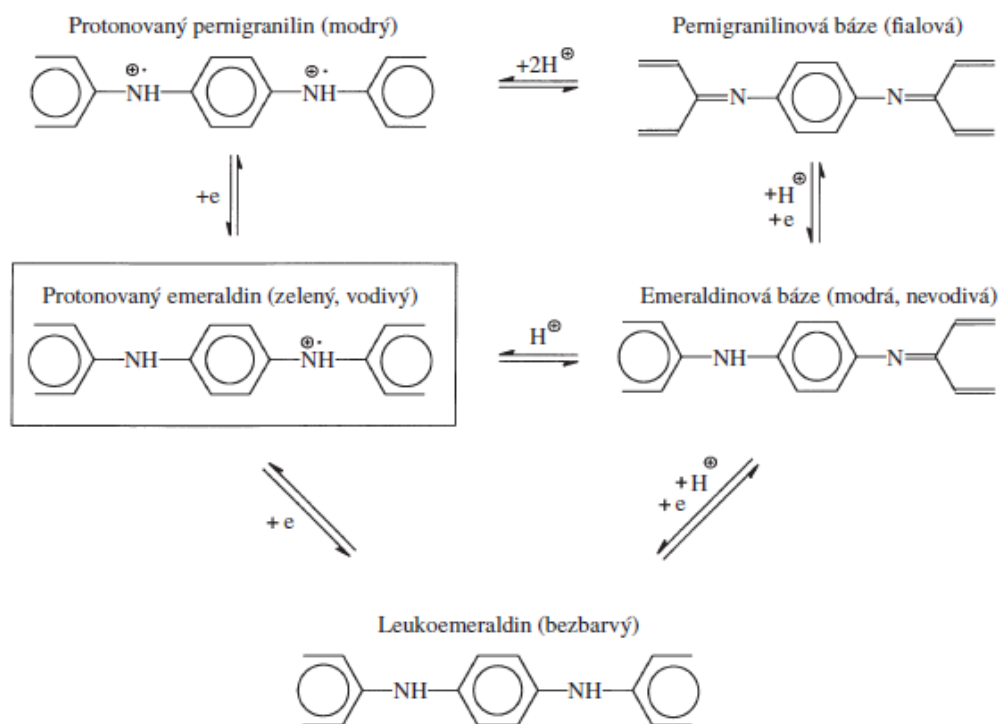
### 1.4.3 Polymery

Polymery představují největší třídu biomateriálů. V současné době je k dispozici pro výrobu systémů ve zdravotnictví řada polymerů [17], jako například polytetrafluorethylen, polyetylen, polyanilin, polypyrrol, polyuretany a další. Ačkoliv syntetické polymery jsou používány v lékařských aplikacích posledních 40 – 50 let, s postupem času roste stále více zájem o přírodní polymery, které jsou často řazeny do skupiny biopolymerů [18]. Polymer spadá do dvou kategorií, buď jsou to polymery biologicky odbouratelné neboli biodegradabilní, v opačném případě je označujeme jako polymery nebiodegradabilní. Jako příklady biodegradabilních polymerů můžeme uvést např. kolagen, želatinu, kyselinu polymléčnou a polyglykolovou. Stojí za zmínku, že výrobky z biologicky odbouratelných polymerů musí být netoxické a neměly by vyvolávat žádnou negativní reakci. Polyetylen, polyetylen-tereftalát, polymethylmetakrylát jsou pozoruhodné příklady nebiodegradabilních polymerů. Jsou používány v širokém rozsahu biomedicínských aplikací, zejména kvůli jejich flexibilitě, biokompatibilitě, povrchové modifikovatelnosti, nízké hmotnosti a tvárné povaze. I když polymery mají mnoho žádoucích charakteristik, bohužel mají také nízkou mechanickou pevnost v porovnání s kovy a keramikou, a proto, že se často používají k rekonstrukci měkkých tkání. V současné době jsou polymery široce používány v technických aplikacích jako scaffoldy. Ve většině případů, biodegradabilní polymery, ať už přírodní nebo syntetické, jsou považovány za dobrou volbu pro tkáňové inženýrství [10, 13, 19].

#### **Polyanilin**

V posledním desetiletí je polyanilin (PANI) velmi studovaným materiálem v oblasti vodivých polymerů. Využívá se například jako ochrana proti korozi, ale díky své dobré vodivosti našel své uplatnění i v tkáňovém inženýrství a biomedicínských aplikacích. U PANI byly prokázány pozitivní účinky pro elektrickou stimulaci tkání, které jsou citlivé na elek-

trické signály (např. nervová a srdeční tkáň) [20]. PANI se běžně vyskytuje v několika formách lišících se pouze stupněm protonace nebo oxidace [21]. Nejčastější formou je nevodivá emeraldinová báze (PANI-B), ze které může oxidací vznikat pernigranilin a redukcí leukoemeraldin. Takzvaným dopováním může PANI-B přecházet na vodivou emeraldinovou sůl (PANI-S) jak je znázorněno na obrázku 2 [22]. K přechodu mezi těmito formami dochází při pH 5-6. Obě formy se liší kromě elektrických vlastností i chováním při kontaktu s živými tkáněmi [21].

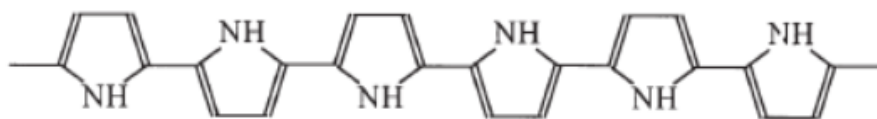


Obrázek 2. Formy polyanilinu [22]

## Polypyrrol

Polypyrrol (PPY) je jedním z nejvíce studovaných vodivých polymerů [23]. Má nízkou cytotoxicitu a je biokompatibilní, proto ho lze použít v biomedicínských aplikacích. PPY je široce používán v systémech pro stimulaci kmenových buněk, umělý vývoj svalů nebo regeneraci nervů. V těchto případech hraje aktivní roli jako inteligentní vodivá vrstva, která je v kontaktu s bakteriemi a buňkami [24]. PPY má dobrou tepelnou stabilitu, ale je nerozpustný a netavitelný, což omezuje způsoby zpracování [25]. Za normálních podmínek je mnohem stabilnější ve své dopované (vodivé) formě než ve formě nedopované (neutrální). Elektrickou vodivost PPY zvyšuje nejen teplota, ale také koncentrace příměsí aniontu až do určité úrovně nasycení. Typ příměsí aniontu ovlivňuje i strukturu a konečné vlastnosti

PPY. Problémem je interakce PPY s kyslíkem, která způsobuje změnu délky konjugace, což vede ke snížení vodivosti, dále působením kyslíku dochází k degradaci materiálu [23].



Obrázek 3. Strukturální vzorec polypyrrol [22]

Tabulka 1. Polymery používané jako implantabilní zdravotnické prostředky [26]

| Polymery                     | Příklady použití  |
|------------------------------|---|
| Silikonové polymery          | katétry, lepidla, nitrooční čočky                       |
| Polyuretany                  | katétry, konstrukční prvky, konektory kardiostimulátorů |
| Polyetereterketon            | ortopedické díly  |
| Epoxidové polymery           | konstrukční prvky                                       |
| Polyetylen                   | endoprotézy, trubice katétrů, netkané textilie          |
| Polymethylmetakrylát         | kostní cement, nitrooční čočky                          |
| Fluoropolymer                | cévní štěpy   |
| Polyetylentereftalát         | cévní štěpy, umělé srdeční chlopně, šlachy, vazy a cévy |
| Polylaktid a jeho kopolymery | ortopedické výrobky                                     |
| Kolagen                      | lešení ve tkáňovém inženýrství, hojení ran              |

#### 1.4.4 Kompozity

Kompozitní materiály jsou vytvořeny kombinací dvou nebo více různých typů materiálu, aniž by docházelo k reakci mezi jednotlivými prvky. Kompozitní materiál je navržen tak, aby poskytoval co nejlepší mechanické vlastnosti, kterých nelze dosáhnout u jednotlivých materiálech [27]. Například v polymerech keramického kompozitu, polymer může působit jako matrice a keramika působí jako jeho plnivo. Kompozitní biomateriály jsou lepší volbou než jednofázové nebo monolitické biomateriály. Při použití kompozitu je možné manipulovat s mechanickými a strukturálními vlastnostmi. Kompozity mají dobré vlastnosti jako je tažnost a tvrdost. Jsou to značně atraktivní materiály pro ortopedické aplikace, pro-

tože jsou modifikovatelné, biokompatibilní, biologicky rozložitelné a schopné vázat se na kost [12]. Kompozitní biomateriály členíme do tří skupin stejně jako ostatní biomateriály. Mezi bioinertní kompozity patří například hliníkem pokryté biomateriály. Bioaktivní kompozity jsou v podstatě navrženy tak, aby usnadnily mezipovrchové spojení mezi hostitelskými tkáněmi a implantátem. Do této skupiny patří například kyselina hyaluronová/kolagen, kyselina hyaluronová/polyetylen. Bioresorbovatelné kompozity jsou navrženy tak, že v průběhu času degradují a jsou postupně nahrazeny novou tkání. Takovým kompozitem je například fosforečnan vápenatý/kolagen [13].

## 1.5 Povrchové vlastnosti materiálů

Polymerní materiály obecně mají vynikající fyzikální a chemické vlastnosti. Nicméně, vlastnosti jako nízká povrchová energie, nízká smáčivost a vysoký elektrický odpor mohou někdy omezovat jejich použití [28]. Je často nutností provést povrchovou úpravu, a tak zvýšit povrchovou energii, hydrofilitu a zároveň zdrsňit povrch [29]. Morfologické vlastnosti povrchu mohou určovat míru adheze, formování filmu a jeho výsledné vlastnosti. Klíčovou roli zde má také homogenita povrchu, která je důležitá kvůli reprodukovatelnosti vytvořeného filmu [30].

### 1.5.1 Povrchové napětí a povrchová energie

Povrchové napětí je důležitou vlastností kapalin, která souvisí s přitažlivými silami. Kapalina se snaží mít vždy takový tvar, aby byl její povrch co nejmenší. Chovají se tak na základě mezimolekulárních sil, které se navzájem přitahují. Uvnitř kapaliny jsou tyto mezimolekulární síly vyrušeny, protože jsou ve všech směrech stejně velké. Avšak na povrchu je směr působících sil orientován dovnitř kapaliny, která se snaží mít takový tvar, aby počet molekul na povrchu byl co nejmenší, tzn., snaží se svůj povrch minimalizovat.

Na základě různých pokusů bylo povrchové napětí definováno jako síla  $F$ , která působí kolmo na jednotu délky  $l$  v rovině kapaliny a je vyjádřeno v  $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$  [31]

$$\gamma = \frac{F}{l} \quad (1)$$

Číselná hodnota vyjádřena v  $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$  zároveň udává práci v J, kterou je třeba vykonat na vytvoření  $1 \text{ m}^2$  nového povrchu. Pokud jsou tedy hodnoty povrchového napětí vyjádřeny v jednotkách  $\text{J}\cdot\text{m}^{-2}$  označujeme je jako hodnoty volné povrchové energie [32]. Povrchová energie je dána rozdílem vnitřních energií molekul v povrchové vrstvě a molekul uvnitř

kapaliny nebo pevné látky. Dodatečná volná energie na rozhraní mezi dvěma fázemi je známá jako mezifázová energie. Povrchové a mezifázové energie jsou důležité, protože mají rozhodující vliv na adhezi a stabilitu disperze a smáčení pevných látek kapalinami.

Povrchovou energii nelze přímo zjistit kvůli nedostatku pohyblivosti molekul na povrchu pevných látek. [33]. Ke zjišťování povrchové energie bývají použity nepřímé metody, které nejsou tak složité jako metody přímé. Jednou z nepřímých metod je měření kontaktního úhlu, které se provádí za pomoci smáčení několika kapalinami. Podle použité teorie lze povrchovou energii rozdělit do několika složek. Pokud jsou použity jen dvě měřicí kapaliny, jde o teorii „OWRK“ (Owens-Wendt-Rabel-Kaelble). U této metody dělíme povrchovou energii na polární a disperzní složku. Když použijeme 3 měřicí kapaliny, z nichž má jedna nulovou polární složku, jedná se o teorii „Acid-Base“. Úhel smáčení můžeme stanovit přímo na rozhraní plyn/kapalina/pevná látka analyzováním tvaru menisku. Tento úhel svírá tečna k povrchu kapky s rozhráním [29].

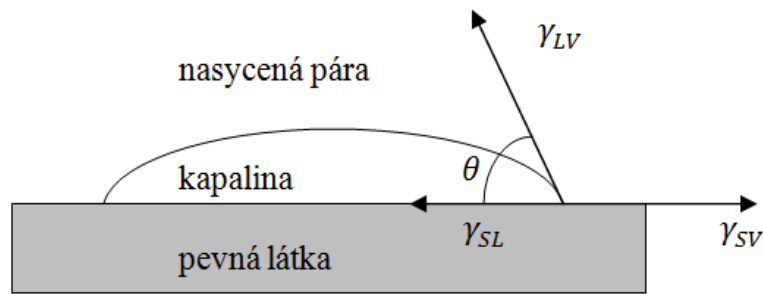
### 1.5.2 Kontaktní úhel

Povrch kapaliny může být ve styku nejen s plynnou fází, ale také s fází tuhou. Na tomto rozhraní na sebe rovněž působí síly mezi molekulami kapaliny a tuhé látky. Pokud jsou tyto síly větší než síly poutající kapalinu dohromady, snaží se kapalina pokrýt co největší část povrchu tuhé fáze. Pokud jsou však síly mezi molekulami kapaliny a tuhé látky menší než síly uvnitř kapaliny, snaží se kapalina zmenšit svůj povrch a styčnou plochu s tuhou fází [32].

Vztah mezi mezifázovými energiemi a úhlem smáčení neboli kontaktním úhlem popisuje Youngova rovnice:

$$\cos\theta = \frac{\gamma_{sg} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lg}} \quad (2)$$

kde  $\gamma_{sl}$  je mezifázová energie mezi tuhou a kapalnou fází, a  $\gamma_{sg}$  je mezifázová energie mezi tuhou a plynnou fází a  $\gamma_{lg}$  je mezifázová energie mezi kapalnou a plynnou fází [34].



Obrázek 4. Rozložení mezifázových energií v místě styku tří fází, upraveno dle [35].

Pomocí kontaktního úhlu lze stanovit smáčení tuhého povrchu kapalinou. Pokud je tento úhel roven  $0^\circ$ , pak je kapalina zcela rozprostřena po povrchu pevné látky. Pokud je kontaktní úhel roven  $180^\circ$ , pak kapalina povrch nesmáčí. Lze tedy říci, že se snižující se hodnotou kontaktního úhlu se zvyšuje smáčivost povrchu a také povrchová energie [35].

### 1.5.3 Hydrofilita a hydrofobicitá

Jak už bylo zmíněno výše, smáčivost pevné látky kapalinou je často charakterizována měřením kontaktního úhlu. Toto měření je považováno za relativně jednoduché a užitečné také pro hodnocení hydrofobicity nebo hydrofility povrchu [36]. Povrchy jsou považovány za hydrofilní v případě, že je kontaktní úhel menší než  $35^\circ$ . Naopak kontaktní úhel větší než  $90^\circ$  charakterizuje povrch hydrofobní. Pokud je úhel mezi  $35^\circ$  a  $90^\circ$  povrch je označován jako částečně smáčitelný. Z výše uvedeného je zřejmé, že hydrofobnost materiálu definuje jeho odolnost vůči vodě. Na materiálu, který je snadno smáčitelný, se voda neudrží ve tvaru kapičky, jako u materiálů nesmáčivých, ale rozteče se do plochy [37].

## 2 BIOFILM

Biofilmy mohou být produkovány nejen bakteriemi, ale také mikrořasami nebo houbami [38]. Biofilm nenajdeme jen v přírodě ale také na různých površích humánních prostředků, kde s sebou přináší značné problémy [39]. Biofilmy vytvořené ve vodovodních potrubích nebo kanalizacích mohou poškodit materiál korozí, snížit výkon, zvýšit třecí odpor kapaliny nebo zhoršit kvalitu pitné vody a tím zvýšit zdravotní riziko. Biofilmy se bohužel mohou vyskytovat i na površích těles vkládaných do lidského těla, jako jsou různé protetické implantáty, katétry, kardiostimulátory, kde uvolňováním mikroorganismů z biofilmu často dochází k akutní infekci [40].

### 2.1 Definování biofilmu

Biofilmy jsou univerzální, komplexní, vzájemně závislé komunity povrchově spojených mikroorganismů, které jsou uzavřeny v matici [41]. Jiná definice popisuje biofilm jako mikrobiálně přisedlou komunitu vyznačující se tím, že buňky jsou nevratně připojeny k substrátu, rozhraní nebo k jiným buňkám a jsou uloženy v matici z extracelulární polymerní látky [42]. Další definice říká, že biofilm je nahromadění mikroorganismů uložených v matici z polysacharidu. Definic biofilmu je však několik a stále se vyvíjejí. Biofilmy jsou tvořeny mnoha druhy bakterií a jejich studie ukazují, jak jsou složité a různorodé [43].

### 2.2 Příčiny vzniku biofilmu

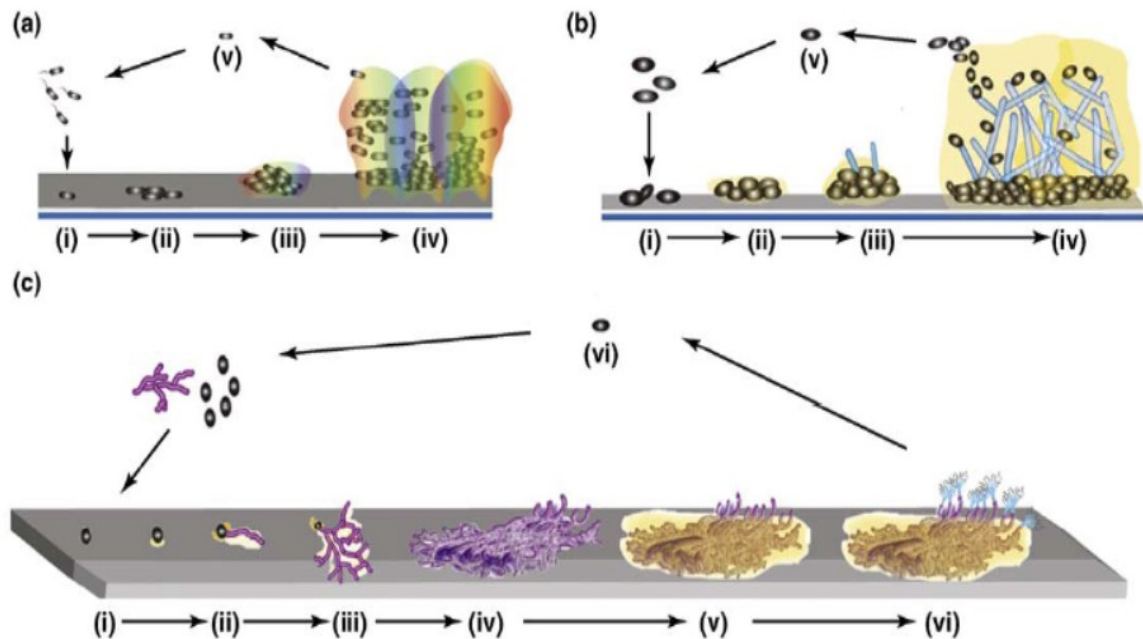
Existence biofilmů naznačuje, že žití v tomto společenství nese některé docela významné přínosy. To, že přetrvávají v takovém množství po takovou dobu, znamená, že se jedná o velmi výhodný způsob života [44]. Na rozdíl od buněk ve formě planktonu jsou buňky biofilmem chráněny. Biofilmová vrstva tvoří jakousi bariéru od okolí nebo například udržuje homeostázu. Buňky, které jsou v biofilmu, jsou odolnější vůči toxickým látkám, mechanickému poškození, ultrafialovému záření nebo predátorům a bakteriofágům [45]. Pokud se dostanou do těla člověka, mohou být díky biofilmu odolnější také vůči antibiotikům nebo imunitnímu systému. Pokud se buňky shlukují do biofilmu, je zde větší pravděpodobnost, že setrvají déle ve vhodném prostředí a nebudou unášeny proudem [46].

### 2.3 Vznik biofilmu

V posledních desetiletích se naše základní chápání jak mikroorganismy rostou a přežívají v přírodním prostředí nebo v hostitelských tkáních značně změnilo [47].

Vznik biofilmu, jeho vývoj a stabilizace probíhá v několika krocích. První etapou vývoje biofilmu je adsorpce organických a anorganických molekul na pevném povrchu (i). Dále dochází k transportu mikroorganismů k pevnému povrchu (ii). K transportu může dojít prostřednictvím Brownova pohybu, průtokem tekutého média nebo aktivním pohybem mikroorganismů. Mikroorganismy mohou být zároveň ovlivněny mnoha faktory, jako jsou například pH, teplota, povrchová energie substrátu nebo povrchová hydrofobicita. Dalším krokem při tvorbě biofilmu je přilnavost mikrobiálních buněk k povrchu [48]. Adheze probíhá pomocí různých interakcí, které vedou ke vzniku primárního a sekundárního biofilmu (iii). Upoutáním dojde ke snížení mezifázové energie, vznikne primární adheze, kterou charakterizují nespecifické a vratné interakce. Mezi ně patří Van der Waalsovy síly, elektrostatické a acidobazické interakce a vodíkové vazby [49]. U buněk primárního biofilmu dochází k určité růstové prodlevě. Je pravděpodobně spojena se změnami fenotypu přisedlých buněk nebo s adaptací na nové podmínky života. Zpočátku je rychlost růstu vysoká, ale po určité době se rychlost sníží a tloušťka biofilmu se ustálí. Tento jev nastává z důvodu omezeného transportu živin do hlubších vrstev biofilmu [46]. Sekundární biofilm vzniká tak, že se na povrch primárního biofilmu přichytí další buňky. Nastává sekundární adheze, což je označení pro nevratné upoutání buňky. Dochází k tomu pomocí specifických vazebných interakcí např. adhezínů [49]. Poslední fází je samotný růst a vývoj biofilmu. Pevně ulpívající mikroorganismy začnou růst, nově vzniklé buňky zůstávají pevně připojeny, a biofilmy se mohou rozvíjet (iv). Fyzikálně-chemické povrchové vlastnosti pelikuly jsou do značné míry závislé na fyzikální a chemické na struktuře podkladového povrchu [48]. Může dojít také k odtrhávání buněk, které se vrací zpět do kapalného prostředí (v) [46].





Obrázek 5. Modely vývoje biofilmu u bakterií, kvasinek a vláknitých hub. U bakterií (a) a kvasinek (b) je pět etap vývoje: (i) adsorpce, (ii) adheze, (iii) tvorba mikrokolonií, (iv) zralý biofilm, (v) disperze. Vývoj vláknitých hub (c) zahrnuje tyto kroky: (i) adsorpce, (ii) aktivní připevnění, (iii) tvorba monovrstvy, (iv) vývoj hyf a vrstvení, (v) vývoj zralého biofilmu, (vi) disperze [42].

## 2.4 Rozdíly mezi biofilm tvořícími a planktonními mikroorganismy

Vývoj biofilmu je podmíněn volně pohybujícími se planktonickými mikroorganismy, které se mohou reverzibilně vázat na různé povrchy. V této formě jsou mikroorganismy velmi citlivé na okolní faktory, například působení UV záření, pH, antibiotik. Proto je pro tyto mikroorganismy výhodnější shlukovat se a tvořit biofilm. Kromě způsobu života se biofilm tvořící organismy odlišují od planktonních mikroorganismů přítomností extracelulární polymerní matrice (EPM), která obaluje mikrokolonie [50]. Tento chemický komplex se liší s ohledem na bakteriální druh a kultivační podmínky. EPM zvyšuje odolnost biofilmu, slouží jako obrana proti hostiteli a antimikrobiálním činidlům. Biofilm, ve srovnání s více zranitelnými volně plovoucími planktonními organismy, má hydratovanou bariéru mezi buňkami a jejich vnějším prostředím. Funkce matrice zahrnují adhezi, agregaci mikrobiálních buněk, soudržnost biofilmu, retenci vody, sorpci organických a anorganických materiálů a enzymatickou aktivitu. Je také zdrojem živin, zapřičiňuje výměnu genetických informací a export buněčných složek [51]. Klíčovými složkami polymerní matrice jsou extracelulární polysacharidy, extracelulární DNA, lipidy a proteiny [52]. Polysacharidy jsou převážně

zdrojem uhlíku v období deprivace živin. Zároveň chrání organismus před toxickými ionty. Extracelulární DNA hraje klíčovou roli při tvorbě struktury biofilmu. Má funkci mezibuněčného konektoru a zapříčiňuje antimikrobiální aktivitu. Lipidy modifikují hydrofobní charakter mikrobiálních buněk, a proto mohou ovlivnit jejich přilnavost na různé povrchy. Také selektivně brání adhezi patogenních buněk. Velkou součástí EPM jsou i proteiny, které mají různé funkce. Z těchto proteinů vznikají enzymy, které tvoří vnější trávicí systém pro mikroorganismy v biofilmu a slouží jako ochrana proti oxidačním činidlům. Neenzymatické proteiny přispívají ke strukturální stabilitě sítě EPM [38]. Dále se matrice skládá z vody, která je buď vázaná anebo volně ve formě rozpouštědla, organických a anorganických látek, absorbovaných živin nebo vyloučených polymerních komplexů. Další funkcí EPM je kontrola pohybu plynů, solí rozpuštěných ve vodě anebo makromolekul, které přecházejí mezi jednotlivými koloniemi biofilmu [45].

### 3 ORGANISMY TVOŘÍCÍ BIOFILM

#### 3.1 Bakterie

Bakterie jsou definovány jako jednobuněčné organismy, které mají prokaryotický typ buňek. Jednoduchá stavba a malý vnitřní prostor prokaryotické buňky umožňuje rychlý transport látek, rychlý metabolismus a reprodukci. Mohou se množit příčným dělením nebo pučením. Bakterie jsou označovány jako kosmopolitní organismy. Mohou obývat různé typy prostředí, najdeme je například v tělech organismů, v půdě nebo ve vodě, ve vzduchu ale i na ledovcích nebo horkých pramenech [53]. Existence bakterií v přírodních populacích je všeobecně známá. Buď se vyskytují volně ve vodě jako plankton, anebo se mohou usazovat na různých površích a tvořit společenství zvané biofilm [39]. Ve formě biofilmu jsou bakterie více odolné vůči účinkům antibiotik a desinfekcí. Bakteriální biofilm bývá často příčinou řady infekcí a zánětlivých onemocnění, avšak může být využit i pozitivně, umějí například snižovat znečištění půd, potoků a řek [54].

##### 3.1.1 Biofilm bakterií

Jak už bylo zmíněno výše, tvorba biofilmu je za určitých podmínek pro bakterie výhodnější. Bakterie mají přirozenou tendenci spojovat se a přichytit se na pevný podklad svými aktivními molekulami. Aktivní molekuly nazývané adheziny mohou být různé například bílkoviny, polysacharidy nebo glykopeptidy [39]. Po přilnutí k povrchu se změní chování i vzhled bakterií. Začnou produkovat velké množství polysacharidů, které mají adhezivní vlastnosti. Díky tomu se mohou připoutat i další buňky až nakonec vznikne mikrokolonie, kde dochází k množení a růstu [54]. V této fázi bakterie tvoří polymerní matici, do které jsou ponořeny. Je tvořena převážně vodou, dále jsou přítomny organické a anorganické látky a polysacharidy, které jsou strukturním prvkem celého biofilmu. V EPM se nachází také absorbované živiny, proteiny, lipidy a fosfolipidy. Díky extracelulárním enzymům je biofilm schopen rozložit vysokomolekulární látky, např. lignin, který je jinak pro planktonické buňky nedostupný [46]. Bakterie spolu komunikují pomocí jevu zvaného quorum sensing. Díky tomuto systému jsou buňky schopny rozpoznat existenci okolních buněk pomocí signálních molekul. Tento mechanismus je spojen s vysokou hustotou populace a zapnutím určitých genů, které zabrání zahuštění biofilmu. Některé buňky se mohou odpoutat a opět kolonizovat jiný povrch [55].

## 3.2 Plísně

Plísně, označované také jako vláknité houby, jsou morfologicky komplexní mikroorganismy, které po celou dobu jejich životního cyklu vykazují odlišně strukturované formy [56]. Tvar a integrita plísně závisí na mechanické pevnosti buněčné stěny a na celkové buněčné struktuře, která prochází řadou změn při interakci plísně s okolním prostředím. Buněčná stěna je komplexní struktura složená převážně z chitinu, glukanu a proteinů. Je to velmi dynamická struktura, která podléhá neustálým změnám například při expanzi a dělení buněk, během klíčení spor nebo větvení hyf [57]. Základní vegetativní strukturu tvoří trubkové vlákna neboli hyfy, které vznikají vyklíčením reprodukčních spor (výtrusů). Hyfy se mohou rozrůstat a větvit a vytváří tak soubor hyf nazývaný podhoubí [56].

### 3.2.1 Biofilm plísní

Plísně jsou speciálně uzpůsobeny pro růst na povrchu. Důkazem přizpůsobení je jejich absorpční nutriční režim, jejich sekrece extracelulárních enzymů sloužící k trávení složitých molekul a apikální růst hyf. Plísňové biofilmy mají poněkud odlišné morfologické znaky od bakteriálních a kvasinkových biofilmů. Plísně na rozdíl od kvasinek a bakterií produkují invazivní hyfy nebo struktury, které přesahují rozhraní kapalina-vzduch, anebo specializované struktury potřebné pro penetraci hostitele. Tyto rozdíly mohou zkomplikovat naše chápání biofilmů, zvláště proto, že stávající definice a modely jsou odvozeny spíše od biofilmů bakterií a kvasinek. Kromě toho plísně často pronikají do substrátů, na kterých rostou, což vylučuje termín biofilm, protože slovo „film“ nereprezentuje invazivní růst. Je rovněž zřejmé, že pro mnoho vědců termín „biofilm“ představuje více než pouhý biologický povlak. Kromě toho, některé definice biofilmu popisují růst mikroorganismů pouze ve vodném prostředí, kdežto u plísní se očekává růst v běžném prostředí vystaveném vlhkosti a působení vzduchu tzv. nenasyčené prostředí. K popisu plísňových kolonií se tedy používají alternativní výrazy jako plísňové biomasy nebo mnohobuněčné masy [42]. Mnoho vláknitých hub se šíří prostřednictvím výtrusů unášených vzduchem. Upevnění těchto spor na povrch substrátu představuje prvotní krok rozvoje plísňového biofilmu. Přilnavost a upevnění spor k povrchu substrátu jsou složité procesy, které závisí na fyzikálně-chemických povrchových interakcích, jako jsou povrchový náboj a hydrofobicita. Molekulární faktory určující povrch spor zahrnují glykoproteiny, hydrofobiny, sacharidy a lipidy. Vzájemná interakce mezi buňkami je základem pro vytvoření trojrozměrné struktury biofilmu [58]. I u plísňového biofilmu byla prokázána přítomnost extracelulární polymerní

matrice. Funkcí EPM je zachování integrity a přispívání k toleranci proti antimykotikům [47]. EPM má také bránit biofilm proti fagocytům nebo omezit šíření toxických látek do biofilmu. Matrice obsahuje hlavně sacharidy, bílkoviny, fosfor, glukózu a hexosaminy, avšak velká část matrice zůstává neznámá [59]. Stejně jako u bakterií a kvasinek funguje i zde, u plísňového biofilmu, proces dorozumívání se tzv. quorum sensing. Umožňuje mikrobiálním buňkám pomocí difuze detekovat hustotu populace nebo předat informaci o stavbě biofilmu. V případě husté populace tak mohou zabránit tvorbě nových spor nebo vláken. Díky této komunikaci mohou buňky také koordinovat změny v genové expresi, morfologii a vývoji [42].

### 3.3 Kvasinky

Kvasinky jsou označovány jako heterotrofní eukaryotní mikroorganismy patřící do říše hub. Jejich buněčná stěna je velmi pevná a silná [60]. Tvar buněk je úzce spojen se způsobem množení, ke kterému dochází pučením nebo dělením [61]. Kvasinky mohou tvořit elipsoidní jednobuněčné organismy anebo jsou jejich buňky protáhlé, které se většinou spojují a tvoří vlákna zvané pseudomycelia [60]. U některých druhů může dojít k vytvoření pravého mycelia, které vzniká příčným dělením buněk. Ke vzniku pseudomycelia a pravého mycelia dochází především u silně anaerobních druhů, jako jsou například *Candida*, *Endomycopsis* nebo *Sporobolomyces* [61]. Většina druhů kvasinek má schopnost zkvašovat převážně monosacharidy, ale také disacharidy nebo trisacharidy [60]. Kvasinky jsou z největší části tvořeny vodou, která je v zastoupení 60 až 80 %. Obsah vody je závislý na druhu a stáří kvasinek, dále také na kultivačních podmínkách [61]. Zbytek tvoří sušina, která se skládá z dusíkatých látek, cukrů, lipidů, minerálních látek a vitaminů. Kvasinky jsou velmi využívanými organismy především v potravinářství a farmacii, mají své uplatnění také ve vědě, technice a medicíně, kde slouží jako modelové systémy [60].

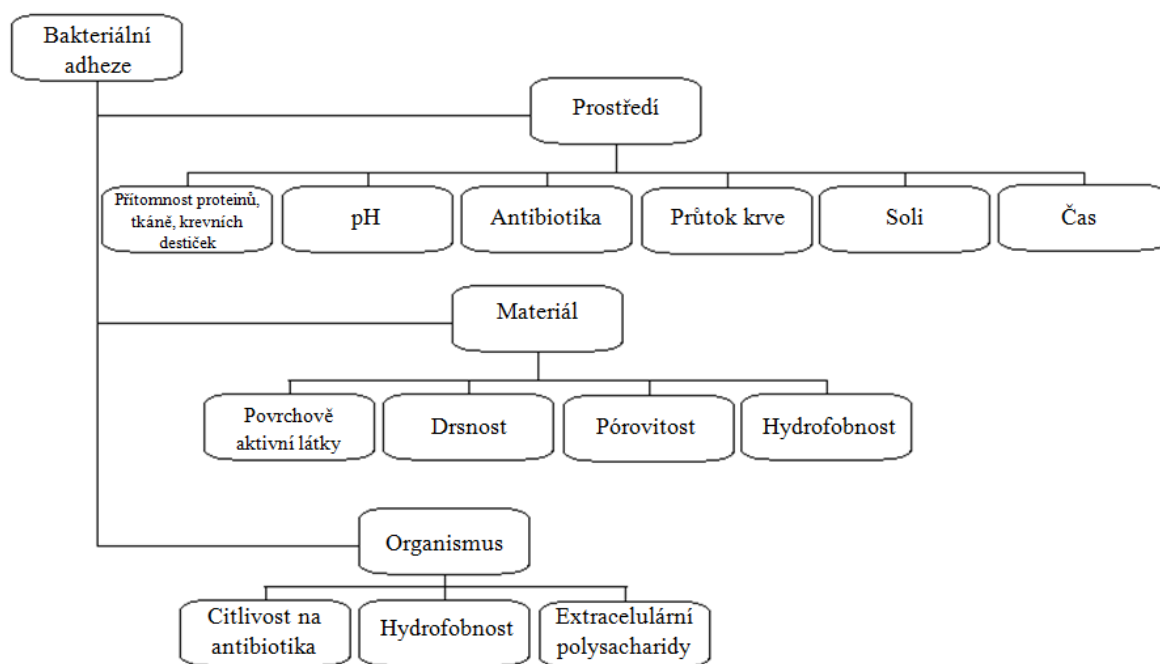
#### 3.3.1 Biofilm kvasinek

Biofilm je velmi často tvořen kvasinkou *Candida albicans* [62]. Ve formě biofilmu mají kvasinky zvýšenou odolnost proti antimykotickým látkám a jsou schopny odolávat imunitní reakci organismu [63]. Biofilmy tvořené touto kvasinkou vznikají nejčastěji na povrchu lékařských implantátů např. na katétrech nebo srdečních chlopních [62]. To může mít negativní vliv na hostitelskou tkáň a být příčinou selhání zařízení. Kvasinky mohou kolonizovat jakýkoliv povrch. Počáteční připojení buněk je zprostředkováno nespecifickými fak-

tory (hydrofobicita buněčného povrchu, elektrostatické síly) a faktory specifickými (proteiny a ligandy buněčného povrchu). Po připevnění se buňky začnou dělit, dochází k proliferaci a vývoji biofilmu [63]. Během proliferace se zároveň tvoří polymerní matrix, jako u již výše zmíněných mikroorganismů [62]. Stejně jako bakterie a plísňe mohou mezi sebou kvasinky komunikovat pomocí quorum sensing systému, díky čemuž zabrání zbytečnému přemnožení a nedojde tak k souboji o živiny [63].

## 4 VZÁJEMNÝ VZTAH BIOFILMU A MATERIÁLU

Základními požadavky pro růst biofilmu je přítomnost samotných mikroorganismů a substrátu. Pokud je jedna z těchto složek vynechána, biofilm se nevytvoří. Růst biofilmu je řízen řadou fyzikálních, chemických a biologických procesů. Spojení buňky a substrátu označujeme jako přilnavost, připevnění buňky k buňce nazýváme soudržnost. Jedná se o mechanismy, které v konečném důsledku určují vlastnosti biofilmu [64]. Tři hlavní faktory, které ovlivňují přilnavost mikroorganismů na polymerní povrch, jsou povaha životního prostředí, druh (kmen) mikroorganismu a vlastnosti materiálu, každý z těchto faktorů je pak ovlivněn několika dalšími parametry, jak je znázorněno na obrázku 5. Mezi tyto faktory patří např. teplota, doba expozice, koncentrace bakterií, přítomnost antibiotik nebo proudění tekutiny. Dominantním faktorem je průtok tekutiny v blízkosti povrchu, který výrazně ovlivňuje počet připojených buněk [65].



Obrázek 6. Parametry určující adhezi bakterií k povrchům, upraveno dle [65]

### 4.1 Materiálové vlastnosti ovlivňující vznik biofilmu

Vytvoření základní vrstvy biofilmu závisí na vlastnostech materiálu, chemii povrchu a náboji, dále také na pH, koncentraci proteinů a na hydrodynamických silách, které působí na materiál. Molekuly nejprve ovlivňují povrch nespecifickými elektrostatickými, Van der Waalsovými a hydrofobními silami, což vede k reverzibilní adsorpci buněk [65]. Po určité době buňky překonají odpudivé síly elektrické dvojvrstvy a zůstávají znehybněny a ne-

vratně připojeny k povrchu. Mikrobiální přilnavost je silně závislá na hydrofobních a hydrofilních vlastnostech interagujících povrchů [64]. U bakterií může hydrofobicitu ovlivnit např. pH kultivačního media. Velmi vysoké hydrofobní síly byly pozorovány při pH 2,2 - 4 [65]. Bylo vyzkoumáno, že hydrofobní mikroorganismy se rychleji připojí na hydrofobní, nepolární povrch jako např. teflon než na ostatní hydrofilní materiály, mezi které patří sklo nebo kovy [66]. Funkční skupiny přítomné na povrchu materiálu ovlivňují kromě hydrofobicity také povrchovou energii. Plochy s nízkou povrchovou energií obvykle neudržují biofilm tak dobře jako podobné plochy s vyšší povrchovou energií. Například dentální materiály, s výjimkou keramiky, mají vyšší povrchovou energii než sklovina zubu, tudíž je u nich větší riziko tvorby biofilmu. Velkou roli hraje také drsnost povrchu. Zvýšená drsnost vykazuje vyšší afinitu k mikrobiálnímu osídlení než hladší povrch. Ve srovnání s hladším povrchem, hrubý představuje větší plochu, která je k dispozici pro kolonizaci. Kromě toho hrubý povrch obsahuje různé štěrbinu, kde se mohou mikroorganismy usadit. Jsou více chráněny od okolního prostředí, takže mají čas na lepší přichycení. Na adhezi mikroorganismů má vliv také chemické složení materiálu. Mikroorganismy se mohou přitahovat se složkami materiálu prostřednictvím Van der Waalsových sil nebo elektrostatických interakcí [67]. Další proměnné, které mohou mít vliv na adhezi hostitelských buněk na polymerní materiály, jsou zbytky monosacharidů nebo disacharidů, přítomných v inertním materiálu. Adheze závisí také na přítomnosti iontů [68]. Dvojmocné kationty jako  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$  mají přímý vliv na elektrostatické interakce a nepřímo biofilm ovlivňují prostřednictvím enzymových kofaktorů [65]. Že je adheze podporována přítomností dvojmocných kationtů spíše, než jednomocných bylo dokázáno např. u kvasinek *Candida* [68].

## 4.2 Vliv biofilmu na materiálové vlastnosti

Biofilm může způsobit řadu problémů. Jedním z nich je například koroze materiálu, kterou způsobí biofilm vytvořený na kovovém povrchu. Koroze je elektrochemická reakce mezi kovem a mikroorganismy, které jsou přítomné v životním prostředí. Míra koroze je závislá na druhu materiálu, na podmínkách okolního prostředí a také na typu přítomných mikroorganismů [69]. Téměř všechny slitiny podléhají mikrobiální korozi, výjimkou je pouze titan. Ke korozi může dojít za aerobních nebo anaerobních podmínek, nebo se tyto dva typy mohou kombinovat. Nejnebezpečnější korozi je ta, kterou způsobují anaerobní sulfát redukující bakterie (SRB) [70]. SRB jsou bakterie, které jsou schopny oxidovat organickou hmotu a využívat sulfidy jako akceptory elektronů. Konečným produktem je sulfát, který zůstává



na povrchu kovu a katalyzuje proces koroze [71]. Mikrobiální kolonizace může také ovlivnit účinnost fotovoltaických panelů. Vytvořený biofilm může snížit množství světla dopadajícího na fotoelektricky aktivní vrstvu. Svou přítomností snižují produktivitu fotovoltaických systémů a zároveň působí jako absorpční matrice pro jiné pevné částice [72]. Potíže spojené s biofilmem jsou i v potravinářství. Pokud se biofilm dostane do styku s potravinou, může to vést k vážným hygienickým problémům a hospodářským ztrátám způsobeným znehodnocením potravy. Například v mlékárenském průmyslu se biofilmy tvoří v chladičích nádržích a mléčných silech a při nesprávném vyčištění a dezinfikování kontaminují mléčné výrobky, které jsou velmi náchylné ke kontaminaci a rychle podléhají zkáze [73].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 MATERIÁL A METODIKA

### 5.1 Stanovení tvorby biofilmu

Znalost schopnosti bakterií tvořit biofilm na polymerním povrchu je rozhodujícím faktorem pro jeho využití v různých průmyslových aplikacích. Zjištění vlivu vodivých polymerů a dalších pigmentů na tvorbu biofilmu může být přínosem v oblasti ochranných polymerních povlaků.

#### 5.1.1 Plísně

Pro testování tvorby biofilmu byly použity plísně z České sbírky mikroorganismů v Brně. Růst plísní byl testován na dvou různých živných půdách, kompletním a nekompletním agaru. Použité plísně:

##### *Aspergillus niger CCM 8155*

U této plísně je doporučené médium střední 11 a podmínky pro růst a namnožení jsou 25 °C. Tyto plísně patří do rizikové skupiny 2. Zdrojem je odpad z jablečného kvasu při destilaci [74].

##### *Trichoderma viride F 486*

Doporučené médium je střední 1 a podmínky pro růst a namnožení jsou 25 °C stejně jako u předchozí plísně. Tyto plísně patří do rizikové skupiny 2. Kmen byl izolován z technického oleje. Země původu je Česká republika [74].

##### *Paecilomyces variotii CCM F-398*

Doporučené kultivační média jsou střední 1 nebo 2 a podmínky pro růst a namnožení jsou 25 °C. Kmen byl izolován z technického oleje. Země původu je Česká republika [74].

### 5.2 Kultivační médium

Jako kultivační média byly pro růst plísní použity dva agary. Kompletní agar a nekompletní agar neboli ochuzený. Kompletní agar obsahoval živiny a složky pro růst biofilmu, kdežto nekompletní agar měl tyto složky pouze v omezeném množství. Kombinací kultivace na kompletním a nekompletním agaru lze zjistit, zda plísně potřebují pro svůj růst živiny z agaru nebo je dokážou čerpat ze vzorku.

### 5.2.1 Kompletní agar

Pro přípravu kompletního agaru byl použit Malt Extract Agar Base (MEAB) značky Hi-media, ref. M137-500G. Bylo naváženo 25 g MEAB, který byl následně rozpuštěn v 500 ml destilované vody. Výsledné pH při teplotě 25 °C je  $5,4 \pm 0,2$ . Složení kompletního agaru je v tabulce 2.

*Tabulka 2. Složení kompletního agaru*

| Složení            | Množství |
|--------------------|----------|
| Sladový extrakt    | 30 g/l   |
| Agar               | 15 g/l   |
| Mykologický pepton | 5 g/l    |

### 5.2.2 Nekompletní agar

Nekompletní agar byl připraven z látek uvedených v tabulce 3. Jednotlivé složky byly naváženy dle zadání a rozpuštěny v 500 ml destilované vody.

*Tabulka 3. Složení nekompletního agaru*

| Složka  | Množství |
|---|----------|
| NaNO <sub>3</sub>                               | 0,5 g    |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0,5 g    |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                 | 0,5 g    |
| KCl   | 0,25 g   |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O           | 0,25 g   |
| FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O           | 0,09 g   |
| Sojový pepton                                   | 0,5 g    |
| Agar  | 9 g      |
| Roztok stopových prvků                          | 0,5 ml   |

U kompletního i nekompletního agaru byla provedena sterilizace v autoklávu při 115 °C po dobu 10 minut. Po sterilizaci byly agary promíchány a následně probíhalo samovolné ochlazení při laboratorní teplotě na 45–50 °C. Následně byly agary přelity do Petriho misek.

### 5.3 Vzorky polymerních filmů

Pro testování tvorby biofilmu byly použity dvě skupiny vzorků. V první skupině byly vzorky polymerních filmů na bázi epoxyesterové pryskyřice s různým obsahem PANI fosfátu a ve druhé skupině vzorky polymerních filmů na bázi methylosilikonové pryskyřice, které obsahovaly anorganické pigmenty s různým chemickým složením, rozdílné typy vodivých polymerů a kovový zinek. Tyto vzorky byly poskytnuty Ústavem chemie a technologie makromolekulárních látek Fakulty chemicko-technologické, Univerzity Pardubice. Z tohoto ústavu byl poskytnut také popis vzorků.

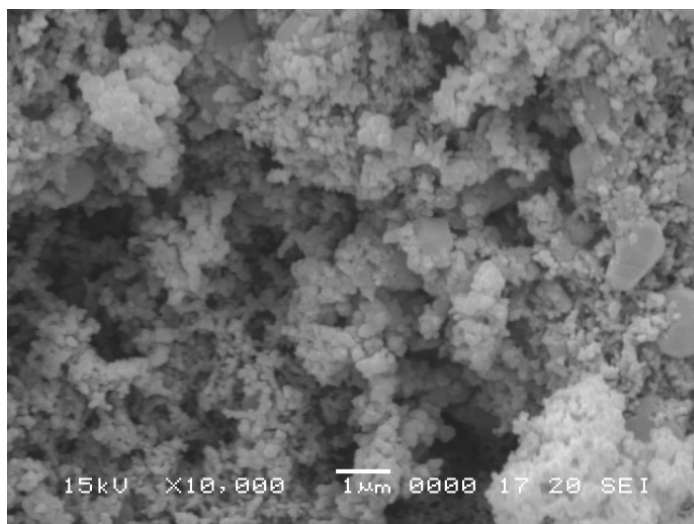
#### 5.3.1 Vzorky polymerních filmů na bázi epoxyesterové pryskyřice

Pro přípravu vzorků byl jako vodivý polymer použit polyanilin-fosfát (PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) a jako filmotvorná složka epoxyesterová pryskyřice (60 % roztok v xylenu). Nátěrové filmy na bázi epoxyesterové pryskyřice mají dobrou adhezi k podkladu, jsou vláčné a chemicky odolné. Díky svým vlastnostem se používají pro nátěry automobilů a pro základní nátěrové hmoty.

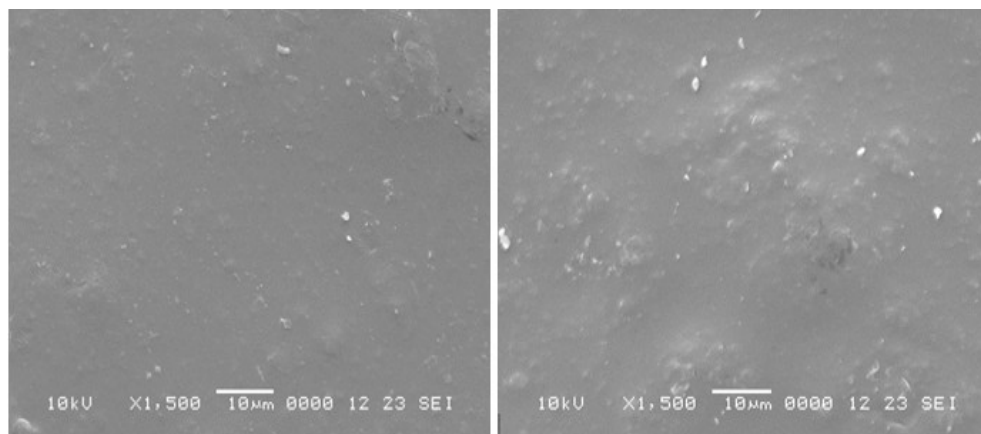
Vzorky nátěrových hmot s obsahem PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$  byly testovány jako antikoroziční nátěry, kde by měly nahradit nevyhovující toxické pigmenty, které obsahují chrom a olovo, za jiné vyhovující pigmenty.

Na Univerzitě Pardubice bylo připraveno 11 vzorků nátěrových hmot. Vzorky byly připraveny disperzací práškového PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$  v roztoku epoxyesterové pryskyřice v attritoru. Pomocí nanášecího pravítka byla vytvořena vrstva nátěrového filmu. Pravítkem byla na ocelové panely nanášena kapalná nátěrová hmota a po zaschnutí pryskyřice byl vytvořen pigmentovaný polymerní film. Vzorky pigmentovaných polymerních filmů se lišily objemovou koncentrací pigmentu (OKP) na bázi PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Množství PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$  ve vzorcích rostlo od hodnoty OKP = 0 % až OKP = 25 %. Vzorky neobsahovaly další pigmenty nebo plniva, které by mohly ovlivnit funkci samotného PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Konkrétní složení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 4.

Vzorky se lišily morfologií povrchu filmu, s rostoucím obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> byl povrch drsnější. Rostoucí obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> způsobil také mírný pokles povrchové tvrdosti nátěrů. Vodný výluh všech pigmentovaných polymerních filmů vykazoval kyselou hodnotu pH. Ve vlhkém prostředí mohlo však pH klesat díky deprotonaci kyseliny fosforečné, která pocházela z PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Samotná epoxyesterová pryskyřice měla pH 3,3. S rostoucí OKP pH filmů klesalo, zatímco měrná elektrická vodivost rostla.



*Obrázek 7. SEM částic PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Poskytnuto z Univerzity Pardubice*



*Obrázek 8. Snímek povrchu nátěrového filmu OKP = 20 % PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (vlevo) a OKP = 25 % PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (vpravo). Poskytnuto z Univerzity Pardubice*

Tabulka 4. Složení vzorků polymerních pigmentovaných filmů s rozdílným obsahem PANI- $H_3PO_4$

| Označení vzorku | Obsah vodivého polymeru OKP PANI- $H_3PO_4$ [%] | pH vodného výluhu NF po 21 dnech | Měrná elektrická vodivost vodného výluhu NF po 21 dnech [ $\mu S/cm$ ] |
|-----------------|---|----------------------------------|--|
| EP0             | 0   | 3,30                             | 185  |
| EP1             | 0,1   | 3,27                             | 189  |
| EP2             | 0,5   | 2,91                             | 407  |
| EP3             | 1   | 2,81                             | 572  |
| EP4             | 2   | 2,53                             | 1073   |
| EP5             | 3   | 2,50                             | 1160   |
| EP6             | 5   | 2,34                             | 1768   |
| EP7             | 10  | 2,01                             | 3250   |
| EP8             | 15  | 1,78                             | 5950   |
| EP9             | 20  | 1,75                             | 6060   |
| EP10            | 25  | 1,70                             | 7130   |

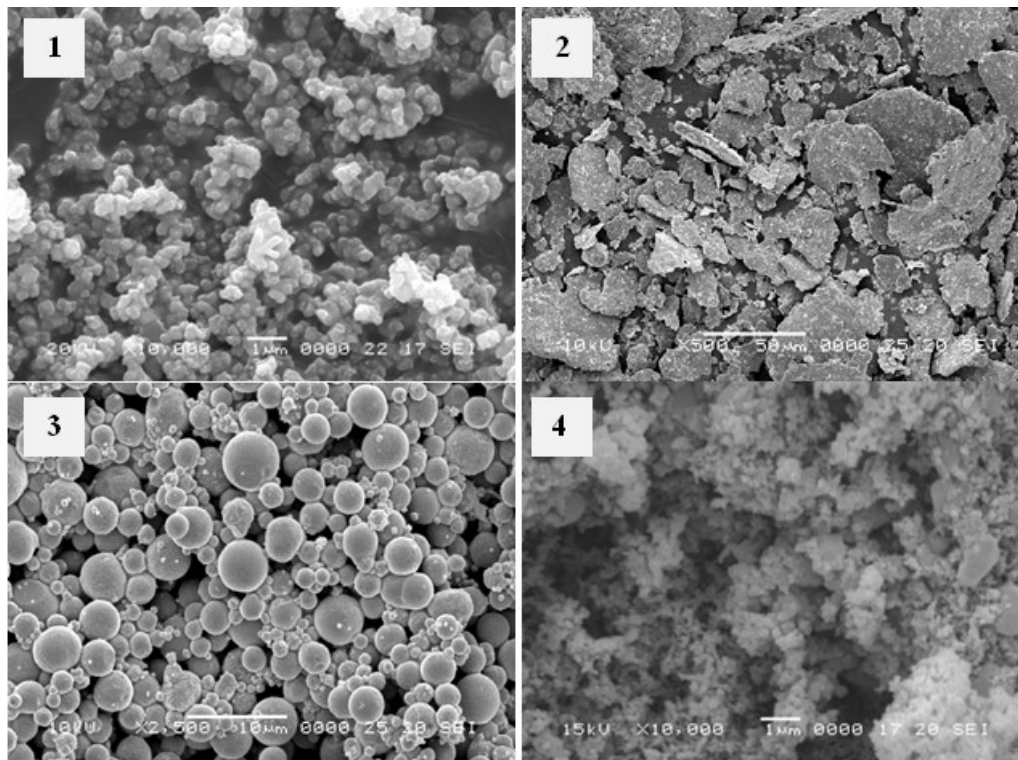
### 5.3.2 Vzorky polymerních filmů na bázi methylosilikonové pryskyřice

Pro přípravu vzorku byla jako filmotvorná složka použita methylosilikonová pryskyřice (60 % roztok v xylenu). Jako chemicky aktivní pigmenty byly testovány anorganické látky na bázi oxidů, směsných oxidů, solí kyseliny fosforečné a kyseliny borité, a také vodivé polymery na bázi solí polyanilinu (PANI) a polypyrrolu (PPY). Dále byl testován kovový zinek a vodivý polymer jakožto směs elektrochemicky a elektricky vodivých pigmentů. Silikonové filmy velmi dobře odolávají účinku ozonu, UV záření a povětrnostním vlivům. Silikonové pryskyřice bývají modifikovány buď fenylovými nebo methylovými skupinami, jsou rozpustné v aromatických uhlovodících, ketonech, esterech a nerozpustné v alkoholech. Bývají využívány v lékařském průmyslu, dále pro pojiva například pro elektroizolační laky, ochranné látky proti korozi nebo vypalovací laky stálé za vyšší teploty.

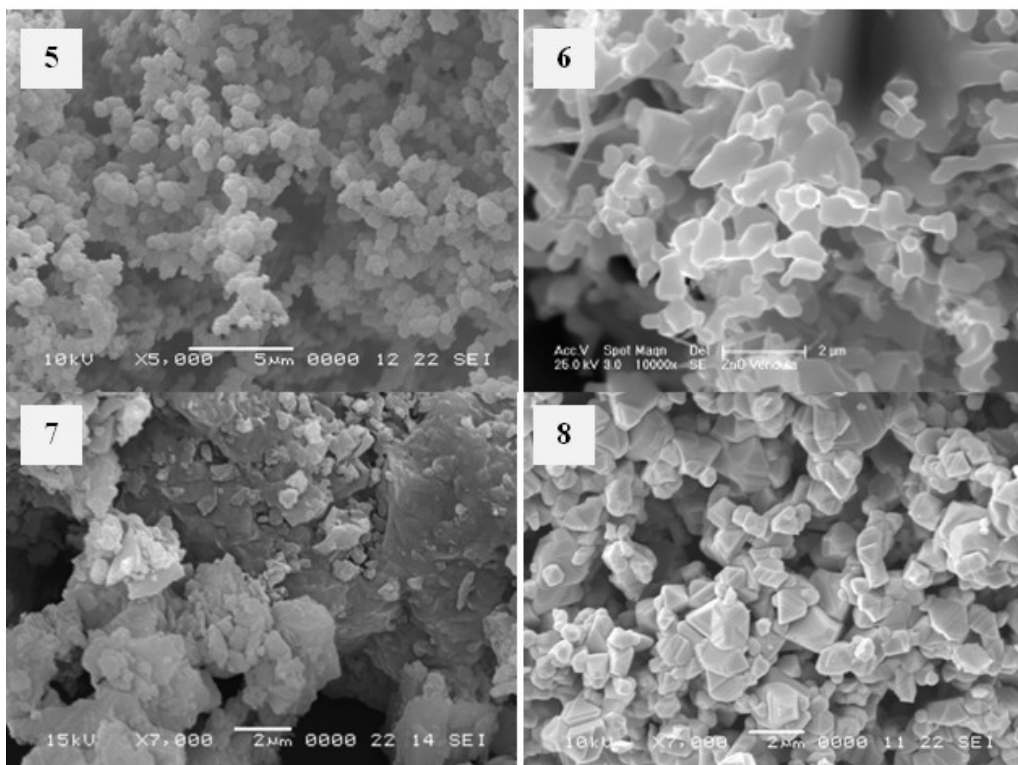
Vzorky nátěrových hmot s obsahem vodivého polymeru byly testovány jako chemicky a UV odolné nátěrové hmoty s antikoročním efektem. Testování proběhlo na Univerzitě Pardubice. Přesto že jsou silikonové pryskyřice používány i pro ochranu kovových materiálů za zvýšených teplot, dochází často k praskání nátěrových filmů. Provedení experimentu může vést k nalezení vhodného pigmentu, který přispěje k antikoroční ochraně a zvýšení mechanické odolnosti nátěrů. Pokud totiž nepůsobí vyšší teplota, dochází ke kondenzaci vody na povrchu nátěru a dochází ke koroznímu napadení povrchu kovu a k degradaci polymerní vrstvy.

Bylo připraveno 13 vzorků kapalných nátěrových hmot. Nátěrové hmoty byly nanášeny na skleněné panely tak, že byly ponořeny do kapalné nátěrové hmoty. Vzorky se lišily složením aktivního pigmentu, který měl koncentraci 10 % obj. (OKP = 10 %). U vzorku se zinkem byla OKP = 15 %, protože se jedná o kovový elektrochemicky aktivní pigment. Pigmenty mají většinou nodulární tvar, kovový zinek je buď kulovitý anebo lamelární (obrázky 8, 9, 10). Nátěrové hmoty obsahovaly konstantní množství plniv, jejichž cílem bylo zvýšit sušinu nátěrové hmoty, zajistit přínavost nátěrů k podkladu a zlepšit mechanické vlastnosti filmu. Těmito plnivy jsou hematit a síran barnatý. V našem případě činila  $OKP/KOKP_{p+pp} = 0,65$ . Jelikož je těchto plniv v každém vzorku stejné množství, neměly by ovlivňovat výsledky samotných testovaných aktivních pigmentů ve filmu. Konkrétní složení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 5.

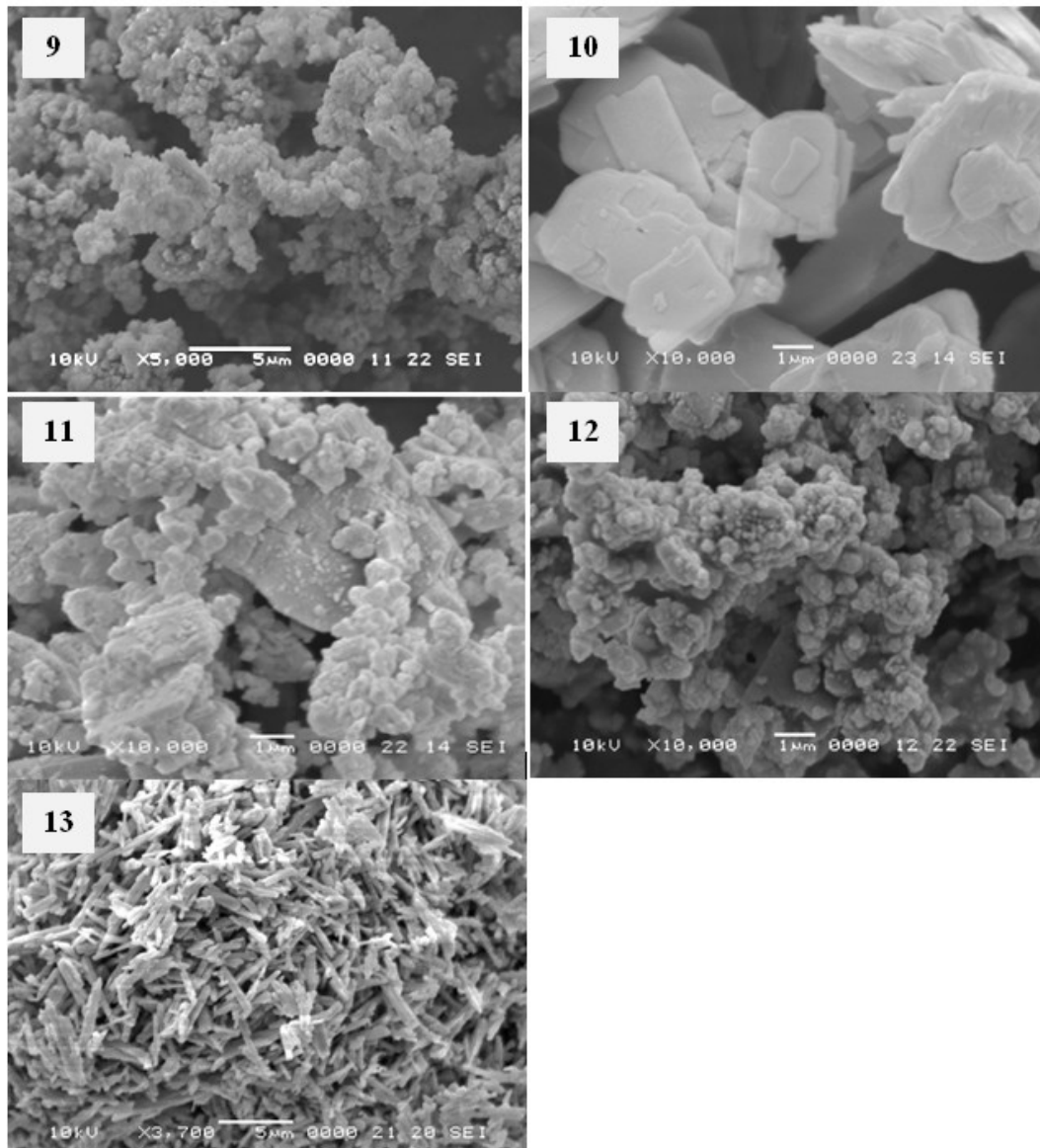




Obrázek 9. SEM částic pigmentů: 1)  $\text{TiO}_2$ , 2)  $\text{Zn} + \text{PANI-karbon.}$ , 3)  $\text{Zn}_{\text{sferický}} + \text{PANI-H}_3\text{PO}_4$ , 4)  $\text{PANI-H}_3\text{PO}_4$ . Poskytnuto z Univerzity Pardubice



Obrázek 10. SEM částic pigmentů: 5)  $\text{PPy-H}_3\text{PO}_4$ , 6)  $\text{ZnO}$ , 7)  $\text{Ca}(\text{BO}_3)_2 - \text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 8)  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ . Poskytnuto z Univerzity Pardubice



Obrázek 11. SEM částic pigmentů: 9)  $\text{CaTiO}_3$ , 10)  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , 11) Jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo, 12)  $\text{Pb}_3\text{O}_4$ , 13)  $\text{ZnCrO}_4$ . Poskytnuto z Univerzity Pardubice

Tabulka 5. Složení vzorků NF s obsahem rozdílných pigmentů při jedné koncentraci OKP

| Označení vzorku | Pigment   | Obsah testovaného pigmentu                    |
|-----------------|---|---|
|                 |   | OKP testovaného pigmentu [%]<br>OKP/KOKP=0,65 |
| MS1             | TiO <sub>2</sub>  | 10  |
| MS2             | Zn + PANI-karbon.   | 15 + 3  |
| MS3             | Zn <sub>sferický</sub> + PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 15 + 3  |
| MS4             | PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>   | 10  |
| MS5             | PPy-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 10  |
| MS6             | ZnO   | 10  |
| MS7             | Ca(BO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - Ca <sub>2</sub> B <sub>6</sub> O <sub>11</sub> ·5H <sub>2</sub> O | 10  |
| MS8             | ZnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>  | 10  |
| MS9             | CaTiO <sub>3</sub>  | 10  |
| MS10            | Zn <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> xH <sub>2</sub> O                                     | 10  |
| MS11            | Jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo   | 10  |
| MS12            | Pb <sub>3</sub> O <sub>4</sub>  | 10  |
| MS13            | ZnCrO <sub>4</sub>  | 10  |

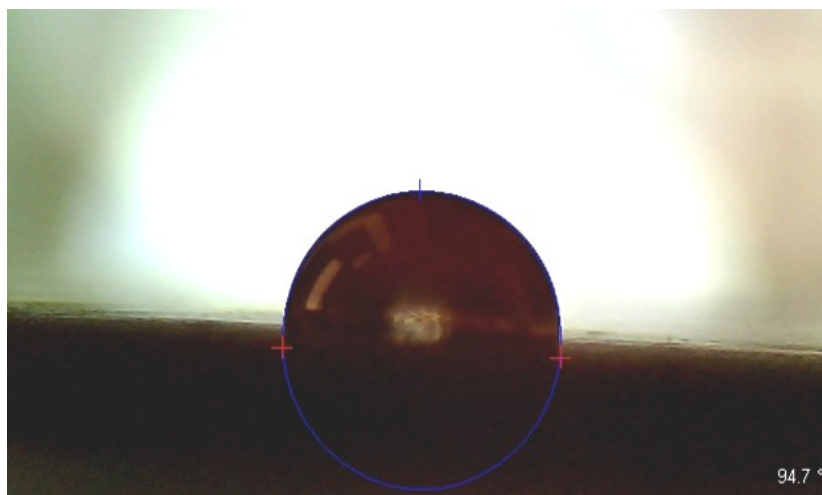
#### 5.4 Očkování

Nejprve byly vzorky s polymerními nátěry vystaveny UV záření po dobu 30 minut, aby byly sterilní. Protože v reálných podmínkách na materiál nepůsobí nikdy jen jedna plíseň, byla v tomto experimentu použita směsná kultura plísní. Směsná kultura byla připravena tak, že do zkumavky bylo nalito 25 ml sterilního fyziologického roztoku. Následně byly vyžíhanou kličkou setřeny spory nakultivovaných plísní, z každé plísně vždy 3 krát, a vpraveny do zkumavky až do zakalení roztoku. Klička byla vyžihána před každým setřením, aby nedošlo ke kontaminaci již narostlých plísní. Směsná kultura byla následně aplikována mikropipetou v množství 100 µl na oba typy agarů, připravených v Petriho miskách. Suspenze byla rozetřena vyžíhanou zahnutou skleněnou kličkou a po zaschnutí byl na povrch živné půdy přenesen příslušný vzorek. Vzorky s polymerním nátěrem byly apli-

kovány na agary pomocí pinzety, vždy tak, aby nedošlo k poškození živné půdy. Následně byly vzorky zaočkovány i na povrchu. Pomocí sterilní vatové tyčinky, která byla vždy ponořena do suspenze směsné kultury, byly jemným poklepem povrchy vzorků zaočkovány. Připravené Petriho misky byly následně vloženy do inkubačního boxu a ponechány zde při teplotě 25 °C. V inkubačním boxu došlo ke kultivaci plísni.

### 5.5 Měření kontaktního úhlu metodou sedící kapky

Metoda měření kontaktního úhlu sedící kapkou byla použita pro charakterizaci povrchu a pro stanovení povrchové energie. Měření bylo prováděno pomocí přístroje *See systému* (Surface energy evaluation systém). Pro určení kontaktního úhlu byly použity tři měřicí kapaliny – deionizovaná voda, ethylenglykol a diiodometan. Měření vychází z teorie „Acid-Base“, která je zmíněna v kapitole Povrchové napětí a povrchová energie. Touto metodou byla povrchová energie měřena u všech testovaných vzorků.



*Obrázek 12. Kapka ethylenglykolu na vzorku MS11 (Jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo)*

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato kapitola obsahuje výsledky z měření povrchové energie polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové a methylsilikonové pryskyřice. Výsledky přerůstání a tvorby biofilmu plísní na povrchu polymerních nátěrů na kompletním a nekompletním agaru a jsou zde popsány změny povrchu vzorků polymerních nátěrů v důsledku působení biofilmu.

### 6.1 Výsledky měření kontaktního úhlu

V tabulce 6 jsou uvedeny výsledné hodnoty povrchových energií pro jednotlivé vzorky polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice. Dále tabulka obsahuje hodnoty kontaktních úhlů měřených pomocí tří měřicích kapalin.

*Tabulka 6. Hodnoty celkové povrchové energie ( $\gamma_{tot}$ ), disperzní složky povrchové energie ( $\gamma_{LW}$ ), polární složky povrchové energie ( $\gamma_{AB}$ ) a kontaktních úhlů měřených pomocí deionizované vody ( $\theta_w$ ), ethylenglykolu ( $\theta_E$ ) a diiodometanu ( $\theta_D$ ) pro vzorky polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice.*

| Číslo vzorku | Obsah PANI-<br>H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub><br>[%] | $\gamma_{tot}$<br>(mJ<br>· m <sup>-2</sup> ) | $\gamma_{LW}$<br>(mJ<br>· m <sup>-2</sup> ) | $\gamma_{AB}$<br>(mJ<br>· m <sup>-2</sup> ) | $\theta_w$ (°) | $\theta_E$ (°) | $\theta_D$ (°) |
|--------------|--|--|---|---|----------------|----------------|----------------|
| EP0          | 0  | 36,72  | 34,12                                       | 2,60  | 66,19 ± 0,56   | 45,80 ± 1,51   | 50,27 ± 4,20   |
| EP1          | 0,1  | 37,61  | 34,77                                       | 2,84  | 63,26 ± 0,85   | 43,02 ± 0,57   | 49,11 ± 0,41   |
| EP2          | 0,5  | 40,45  | 36,02                                       | 4,43  | 68,25 ± 1,00   | 41,24 ± 0,94   | 46,84 ± 0,66   |
| EP3          | 1  | 41,34  | 37,49                                       | 3,85  | 49,66 ± 0,88   | 39,10 ± 0,51   | 44,10 ± 1,21   |
| EP4          | 2  | 41,63  | 37,51                                       | 4,13  | 52,15 ± 0,81   | 41,10 ± 0,26   | 44,07 ± 0,92   |
| EP5          | 3  | 39,12  | 35,46                                       | 3,66  | 65,97 ± 0,99   | 42,36 ± 0,80   | 47,86 ± 0,92   |
| EP6          | 5  | 35,20  | 34,46                                       | 0,74  | 64,16 ± 1,22   | 48,63 ± 0,42   | 49,67 ± 1,57   |
| EP7          | 10   | 39,94  | 34,29                                       | 5,66  | 56,75 ± 0,70   | 48,91 ± 1,57   | 49,98 ± 0,55   |
| EP8          | 15   | 36,75  | 33,85                                       | 2,90  | 61,96 ± 0,30   | 50,16 ± 0,59   | 50,76 ± 1,19   |
| EP9          | 20   | 40,41  | 36,69                                       | 3,72  | 68,22 ± 1,94   | 52,70 ± 0,46   | 45,59 ± 0,44   |
| EP10         | 25   | 42,46  | 32,35                                       | 10,11                                       | 66,03 ± 0,20   | 60,61 ± 0,63   | 53,42 ± 1,24   |

U vzorků polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice se hodnoty povrchové energie pohybují v rozmezí 35–42  $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Nejnižší povrchovou energii má vzorek EP6 (5 % PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) jehož povrchová energie je 35,20  $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Nejvyšší hodnota povrchové energie je 42,46  $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Tato hodnota je naměřena u vzorku s nejvyšším obsahem PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ , jedná se o vzorek EP10. Tento vzorek má také nejvyšší hodnoty kontaktních úhlů měřených pomocí ethylenglykolu ( $60,61 \pm 0,63$ )° a diiodometanu ( $53,42 \pm 1,24$ )°. Naopak nejmenší hodnoty kontaktních úhlů měřených pomocí deionizované vody, ethylenglykolu a diiodometanu jsou zaznamenány u vzorků EP3 (1 % PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) a EP4 (2 % PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Přestože mají tyto vzorky velmi nízké hodnoty kontaktních úhlů, jejich povrchová energie se pohybuje kolem 40  $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Hodnoty kontaktních úhlů jsou nízké z neznámých důvodů a pro vysvětlení budou provedeny další testy. Povrchová energie se zvyšuje od vzorku EP0 (0 % PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 36,72  $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$  s rostoucí OKP až po vzorek EP4 (2 % PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), který má povrchovou energii 41,63  $\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ , z čehož by se dalo vyvodit, že povrchová energie závisí na OKP. Dále však už hodnoty povrchové energie s rostoucí OKP kolísají. Je proto vyvozen závěr, že povrchová energie na OKP nijak nezávisí. To, že hodnoty povrchové energie v první polovině tabulky rostou zároveň se zvyšující se OKP je nejspíš jen náhoda. Protože se kontaktní úhly testovaných polymerních nátěrů pohybují mezi hodnotami 35° a 90°, jsou tyto povrchy označeny jako částečně smáčitelné (viz. Kapitola Hydrofilita a hydrofobicita).

V tabulce 7 jsou uvedeny výsledné hodnoty povrchových energií pro jednotlivé vzorky polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice a hodnoty kontaktních úhlů měřené pro tyto polymerní nátěry.

Tabulka 7. Hodnoty celkové povrchové energie ( $\gamma_{tot}$ ), disperzní složky povrchové energie ( $\gamma_{LW}$ ), polární složky povrchové energie ( $\gamma_{AB}$ ) a kontaktních úhlů měřených pomocí deionizované vody ( $\theta_w$ ), ethylenglykolu ( $\theta_E$ ) a diiodometanu ( $\theta_D$ ) pro vzorky polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice.

| Číslo vzorku | Pigment  | $\gamma_{tot}$<br>(mJ · m <sup>-2</sup> ) | $\gamma_{LW}$<br>(mJ · m <sup>-2</sup> ) | $\gamma_{AB}$<br>(mJ · m <sup>-2</sup> ) | $\theta_w$ (°) | $\theta_E$ (°) | $\theta_D$ (°) |
|--------------|--|---|--|--|----------------|----------------|----------------|
| MS1          | TiO <sub>2</sub>   | 30,60                                     | 27,52                                    | 3,08                                     | 95,29 ± 2,49   | 78,65 ± 8,10   | 61,83 ± 7,36   |
| MS2          | Zn+PANI-karbon.  | 26,83                                     | 25,46                                    | 1,37                                     | 96,37 ± 1,21   | 78,10 ± 0,47   | 65,43 ± 1,32   |
| MS3          | Zn <sub>sferický</sub> + PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>   | 29,12                                     | 26,56                                    | 2,55                                     | 94,58 ± 0,17   | 78,00 ± 1,12   | 63,50 ± 0,22   |
| MS4          | PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | 29,72                                     | 28,31                                    | 1,41                                     | 101,30 ± 1,31  | 79,77 ± 0,99   | 60,45 ± 1,43   |
| MS5          | PPy-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>   | 30,90                                     | 27,53                                    | 3,37                                     | 100,43 ± 0,92  | 83,32 ± 1,09   | 61,81 ± 1,13   |
| MS6          | ZnO  | 37,74                                     | 25,83                                    | 11,91                                    | 96,95 ± 0,82   | 90,92 ± 1,18   | 64,78 ± 1,52   |
| MS7          | Ca(BO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - Ca <sub>2</sub> B <sub>6</sub> O <sub>11</sub> · 5H <sub>2</sub> O | 32,90                                     | 28,10                                    | 4,79                                     | 99,87 ± 0,06   | 84,58 ± 1,62   | 60,82 ± 1,03   |
| MS8          | ZnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>   | 29,18                                     | 28,14                                    | 1,04                                     | 100,20 ± 0,43  | 78,10 ± 0,14   | 60,76 ± 0,48   |
| MS9          | CaTiO <sub>3</sub>   | 33,26                                     | 29,75                                    | 3,50                                     | 100,07 ± 0,35  | 81,89 ± 0,75   | 57,95 ± 0,53   |
| MS10         | Zn <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> · x H <sub>2</sub> O                                   | 30,82                                     | 26,69                                    | 4,13                                     | 107,10 ± 0,92  | 91,15 ± 1,42   | 63,28 ± 0,98   |
| MS11         | Jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo  | 34,77                                     | 26,30                                    | 8,47                                     | 104,80 ± 1,27  | 94,64 ± 0,59   | 63,96 ± 0,82   |
| MS12         | Pb <sub>3</sub> O <sub>4</sub>   | 25,08                                     | 21,84                                    | 3,24                                     | 111,33 ± 1,32  | 96,41 ± 0,92   | 71,85 ± 1,32   |
| MS13         | ZnCrO <sub>4</sub>   | 21,69                                     | 18,52                                    | 3,17                                     | 101,04 ± 1,70  | 90,04 ± 0,59   | 78,01 ± 1,70   |

U vzorků polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice se hodnoty povrchové energie pohybují v rozmezí 21–37 mJ·m<sup>-2</sup>. Nejnižší hodnota povrchové energie je 21,69 mJ·m<sup>-2</sup>, kterou má vzorek ZnCrO<sub>4</sub>. Nízkou hodnotu povrchové energie má také

$Pb_3O_4$ , přesto naměřené hodnoty kontaktních úhlů tohoto vzorku s deionizovanou vodou ( $111,33 \pm 1,32$ )° a ethylenglykolem ( $96,41 \pm 0,92$ )° jsou nejvyšší. Nízké hodnoty povrchové energie mají také vzorky s pigmenty Zn+PANI-karbon,  $Zn_{\text{sferický}} + \text{PANI-H}_3\text{PO}_4$  a  $\text{PANI-H}_3\text{PO}_4$ . Zn+PANI-karbon a  $Zn_{\text{sferický}} + \text{PANI-H}_3\text{PO}_4$  mají zároveň i nízké hodnoty kontaktních úhlů měřených s deionizovanou vodou a ethylenglykolem. Podobně jako  $Zn_{\text{sferický}} + \text{PANI-H}_3\text{PO}_4$  a  $\text{PANI-H}_3\text{PO}_4$  je na tom i  $ZnFe_2O_4$ , který má podobné hodnoty kontaktních úhlů a naměřenou hodnotu povrchové energie  $29,18 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Nejvyšší povrchovou energii, jejíž hodnota je  $37,74 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ , má vzorek ZnO. Dále má vysokou povrchovou energii jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo ( $34,77 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a  $\text{CaTiO}_3$  ( $33,26 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Hodnoty kontaktních úhlů jsou velmi vysoké u  $ZnCrO_4$ , přesto že má nejnížší hodnotu povrchové energie. Ze vzorků s  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (vzorky MS3, MS4, MS5) má nejvyšší hodnotu povrchové energie vzorek PPy- $\text{H}_3\text{PO}_4$ , která je  $30,90 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Hodnoty povrchové energie u těchto vzorků jsou však velmi podobné. Zajímavé je, že u polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice má  $\text{PANI-H}_3\text{PO}_4$  hodnotu povrchové energie  $29,72 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$  zatímco při měření povrchové energie u nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice je její hodnota rovna  $39,94 \text{ mJ}\cdot\text{m}^{-2}$ . Rozdíl je nejspíš způsoben různým druhem použité pryskyřice. Také mezi kontaktními úhly testovaných polymerních nátěrů jsou velké rozdíly. Tak jako u polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice jsou zde naměřeny hodnoty mezi 35° a 90°. Tyto povrchy jsou pak částečně smáčitelné. Pokud mají kontaktní úhly více než 90°, povrchy jsou označeny jako hydrofobní neboli odolné vůči vodě. (viz. Kapitola Hydrofilita a hydrofobicita). Velkou roli zde hraje také měřicí kapalina, protože každá smáčí povrch jinak. Z tabulky lze vyčíst, že všechny kontaktní úhly měřené pomocí deionizované vody jsou větší než 90°, tudíž jsou všechny testované polymerní nátěry hydrofobní.

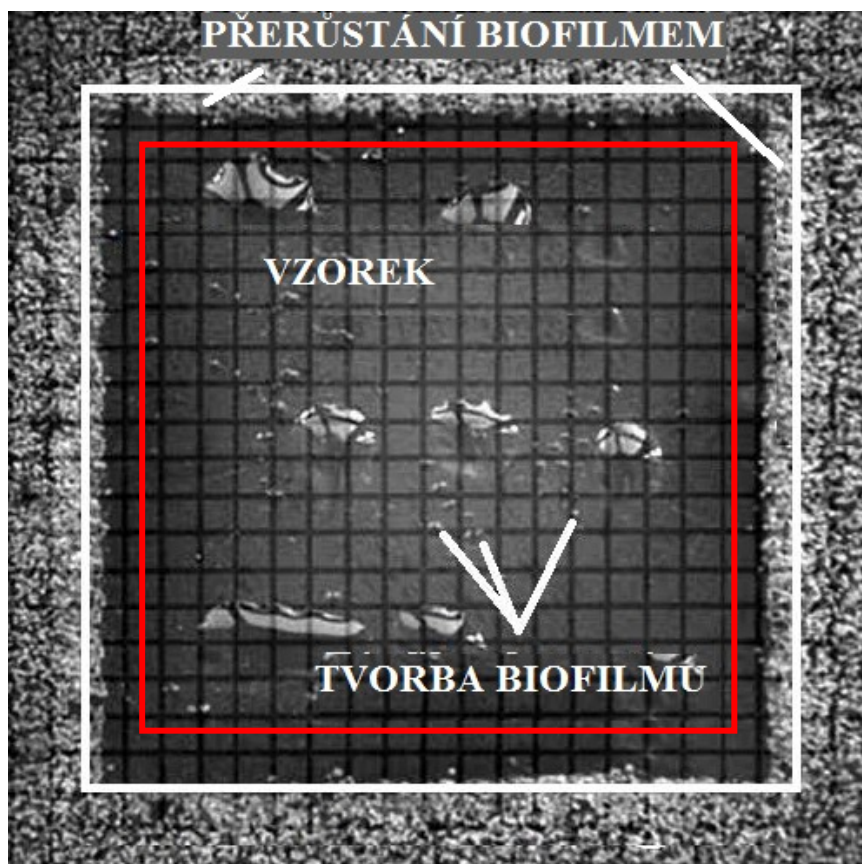
## 6.2 Tvorba a přerůstání biofilmu plísní

Růst a chování biofilmu bylo pozorováno po dobu 35 dní. Jednotlivé vzorky byly v určených intervalech vyfoceny a poté vyhodnoceny změny a chování plísní u každého vzorku a to jak na kompletním, tak na nekompletním agaru.

Na obrázku 13 je zobrazena fotka vzorku s mřížkou, pomocí které bylo vyhodnoceno přerůstání a tvorba biofilmu. Na fotce jsou vyznačeny dva čtverce, bílý a červený, které od sebe oddělují jednotlivé oblasti. Oblast uvnitř červeného čtverce představuje místa tvorby biofilmu, oblast mezi červeným a bílým čtvercem je oblast přerůstání biofilmu a oblast

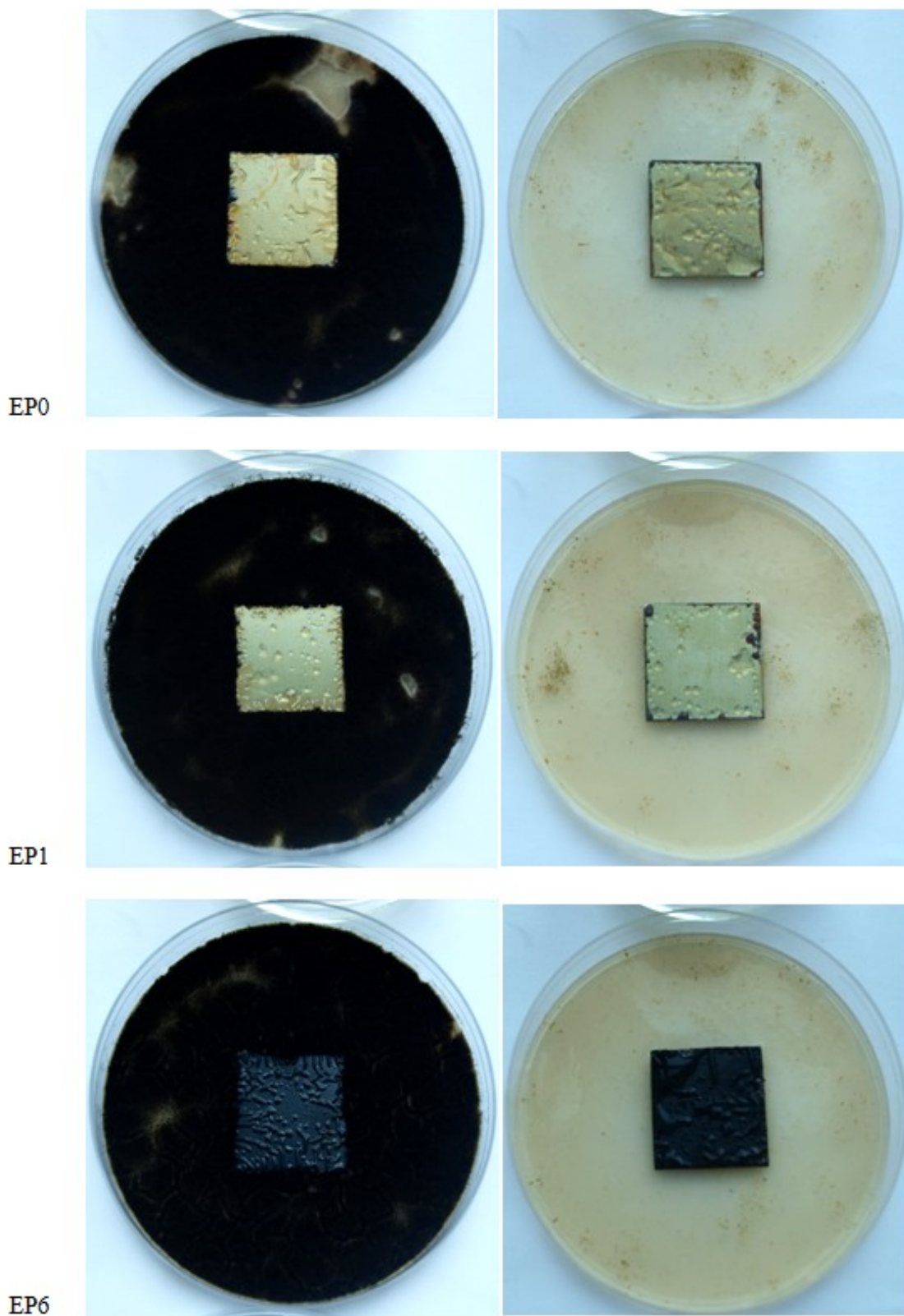


okolo bílého čtverce představuje biofilm plísně. Bylo zde měřeno procentuální zastoupení, které bylo dáno poměrem zaplněných a nezaplněných čtverečků.

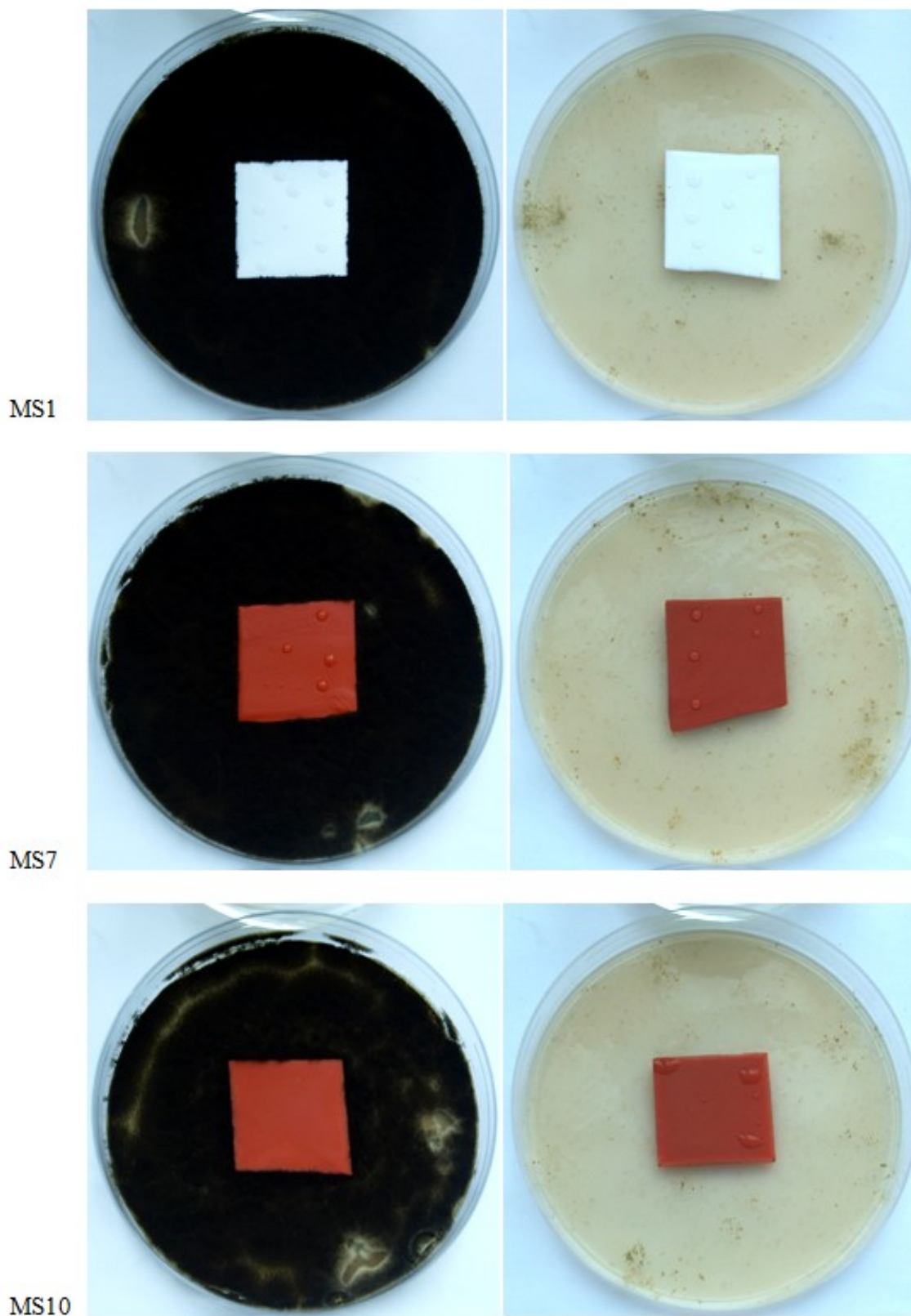


Obrázek 13. Vzorek s mřížkou pro určení přerůstání a tvorby biofilmu, upraveno dle [75]

Samotný růst plísní byl různý podle typu agaru. Bylo zjištěno, že směsná kultura potřebovala pro svůj růst složky, které obsahoval kompletní agar. Jelikož se na nekompletním agaru směsná kultura téměř nevytvořila, lze říci, že směsná kultura nebyla schopna potřebné složky pro růst získat ze vzorku. V tomto experimentu bylo na kompletním agaru přerůstání biofilmu směsné kultury u všech testovaných vzorků minimální a na nekompletním agaru biofilm směsné kultury nepřerůstal vůbec. Tvorba biofilmu se jak na kompletním, tak na nekompletním agaru u testovaných vzorků vůbec neprojevila. Proto bylo vyhodnoceno přerůstání biofilmu u všech testovaných vzorků 0 % a rovněž tak tvorba biofilmu u všech testovaných vzorků byla 0 %. Bylo také zjištěno, že tvorba a přerůstání biofilmu nijak nesoúvisí s povrchovou energií. Na obrázku 14 jsou uvedeny některé vzorky polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice na kompletním a nekompletním agaru. Na obrázku 15 jsou uvedeny některé vzorky polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice na kompletním a nekompletním agaru.

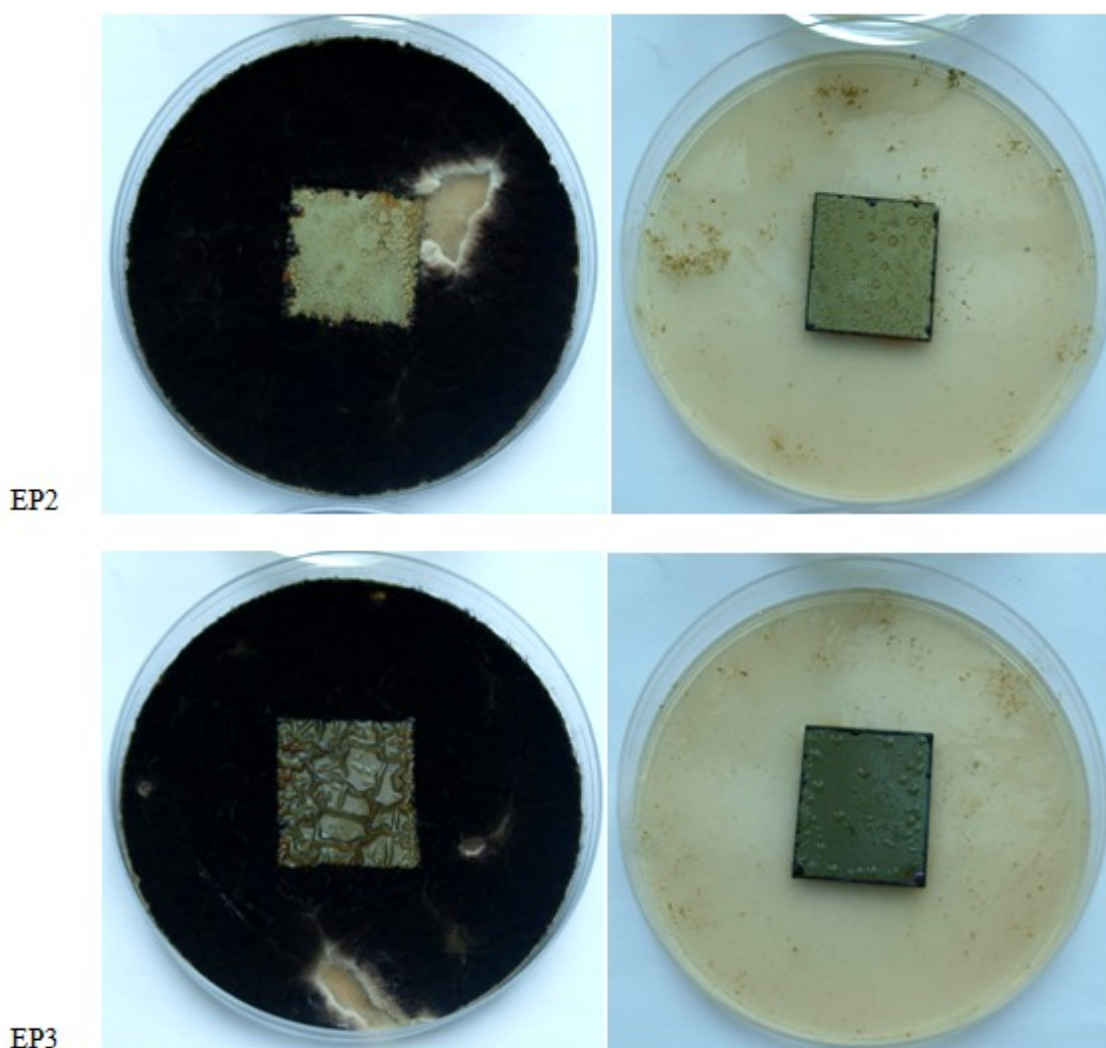


Obrázek 14. Vzorčky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: EP0 s 0 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, EP1 s 0,1 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, EP6 s 5 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>



Obrázek 15. Vzorky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: MS1 s pigmentem  $\text{TiO}_2$ , MS7 s pigmentem  $\text{Ca}(\text{BO}_3)_2 - \text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , MS10 s pigmentem  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_3 \cdot \text{xH}_2\text{O}$

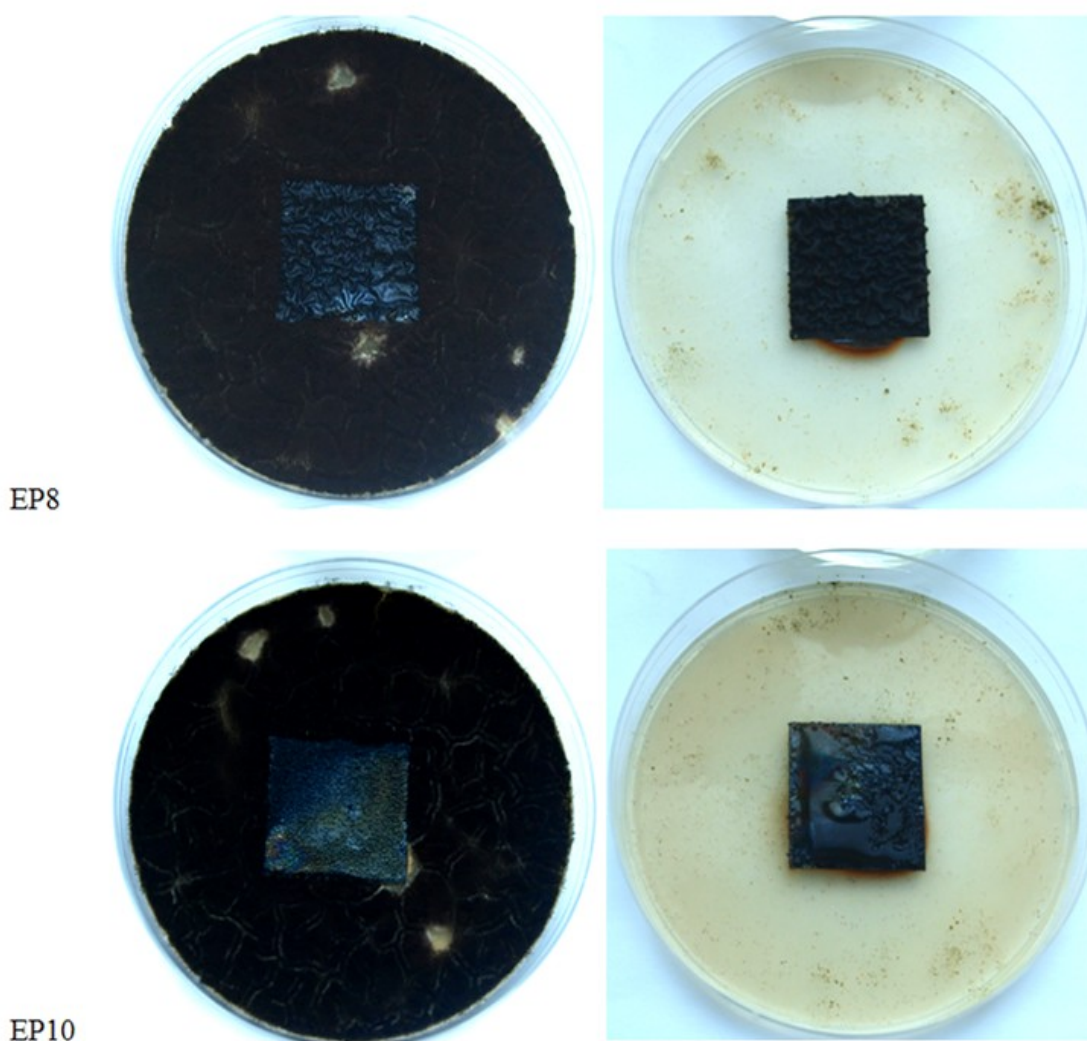
I když u testovaných polymerních nátěrů nedocházelo ke tvorbě a přerůstání biofilmu, vytvořený biofilm výrazně ovlivnil některé vzorky polymerních nátěrů. U polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice došlo ke korozi. Přestože byly tyto nátěry testovány na Univerzitě Pardubice jako antikoroziční nátěry, lze vidět, že po vložení na agar a vystavení působení mikroorganismů se jejich antikoroziční vlastnosti postupně ztratily. Koroze vznikla u vzorků EP0, EP1, které jsou na obrázku 14, dále pak korozi podlely vzorky EP2 a EP3 (obrázek 16).



*Obrázek 16. Vzorky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: EP2 s 0,5 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a EP3 s 1 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>*

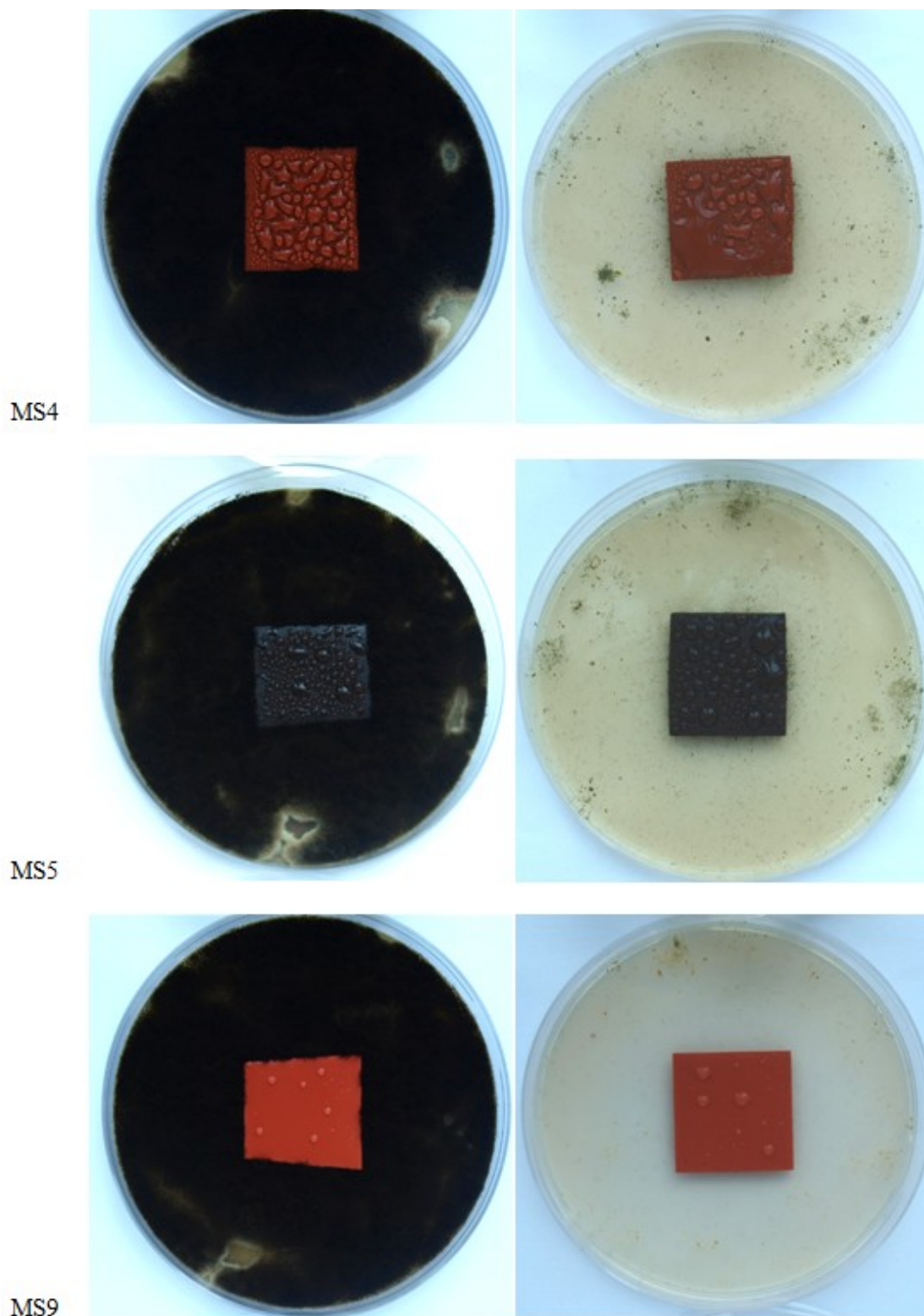
Působením biofilmu byl u polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice porušen také jejich povrch. S rostoucím obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> se plocha zvrásnění zvětšovala. Na obrázku 14 u vzorků EP0 (obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0 %) a EP1 (obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 %)

bylo zvrásnění minimální, dále pak na obrázku 16 lze vidět vzorek EP3 (obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1%), u kterého je zvrásnění povrchu výraznější. Nejvíce zvrásněn byl vzorek EP8 (obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 15 %), který je na obrázku 17. U vzorků EP9 (obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 20 %) a EP10 (obsah PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 25 %) už nedochází k zvrásnění, ale vytváří se zrnitý povrch.



*Obrázek 17. Vzorky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: EP8 s 15 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a EP10 s 25 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>*

Pokud nejsou vzorky vystaveny vyšší teplotě, dochází na povrchu nátěru ke kondenzaci vody (obrázek 18), což může způsobit korozi kovu a degradaci polymerní vrstvy. U testovaných vzorků však nebyly zaznamenány žádné změny povrchu.



Obrázek 18. Vzorčky polymerních nátěrů po 21 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: MS4 s pigmentem PANI- $H_3PO_4$ , MS5 s pigmentem PPy- $H_3PO_4$ , MS9 s pigmentem  $CaTiO_3$

Chování PANI filmů v kontaktu s biofilmem plísní bylo zkoumáno v článku [75]. Několik materiálů bylo potaženo právě PANI, z důvodu jeho dobré schopnosti pokrývat různé povrchy. Plísně *A. niger*, *G. virens*, *P. variotii* a *T. viridae* byly kultivovány na kompletním a nekompletním agaru a dále byla vyhodnocena míra přerůstání a tvorba biofilmu. Bylo zjištěno, že u kompletního agaru dochází k 100 % přerůstání, nejintenzivnější tvorba biofilmu byla zaznamenána u *G. virens* a *P. variotii*. V případě nekompletního agaru byly plísně schopny pokrýt povrch jen velmi řídkce. Vzájemný vztah mezi polymerními nátěry a biofilmem byl zkoumán také v jedné z diplomových prací [76]. Vyšší míra přerůstání byla zaznamenána u vzorků na kompletním agaru. Vyšší tvorba biofilmu byla překvapivě u vzorků na nekompletním agaru, kdy plísně tvořily dlouhé hyfy, pomocí kterých se nejspíše snažily nalézt potřebné živiny. Biofilm tvořily nejvíce plísně *G. virens* a *P. variotii*. Ve studii Binkauskiené [77] byl zkoumán vliv *Aspergillus niger* na plasty a na korozi kovových materiálů. *A. niger* působí buď jako urychlovač koroze nebo jako inhibitor, v závislosti na kovu, který kolonizuje. Hlavní příčinou tohoto jevu byly organické kyseliny, které *A. niger* sám produkoval. Studie Lugauskas [78] byla zaměřena na testování homogenních polymerních materiálů a polymerních materiálů s různým obsahem přísad a dalších složek. Materiály, které obsahovaly různé přísady, byly kolonizovány plísněmi snadněji než homogenní materiály bez přidaných složek. Bylo tomu tak z důvodu obsahu přísad, které zajišťovaly nutriční a energetické potřeby.

U experimentu prováděného v této práci se tvorba biofilmu jak na kompletním, tak na nekompletním agaru u testovaných vzorků vůbec neprojevila. Mohlo to být způsobeno vyšší koncentrací PANI než v předešlých pracích [75,76], což zabránilo přerůstání biofilmu. V případě nekompletního agaru je možné, že testované nátěry neobsahovaly dostatek potřebných živin, proto zde nedošlo k tvorbě biofilmu. Jak bylo uvedeno ve studii Binkauskiené [77], *A. niger* může působit jako urychlovač nebo také inhibitor koroze v závislosti na kolonizovaném kovu. Výsledky experimentu ukázaly, že ke korozi došlo pouze u polymerních nátěrů s objemovou koncentrací PANI menší než 1 %. Ostatní vzorky, které měly objemovou koncentrací PANI vyšší, než 1 % korozi nepodlehly. Stejně tak i u polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice s různými pigmenty ke korozi nedošlo. Můžeme tedy říci, že *A. niger* zde působil jako inhibitor.

## ZÁVĚR

Mikroorganismy se pohybují buď volně, nebo mohou tvořit biofilm. Na rozdíl od pohybujících se planktonních buněk, které jsou velmi citlivé na okolní faktory, jsou buňky v biofilmu chráněny a jsou schopny odolávat například toxickým látkám nebo antibiotikům. Zda budou buňky tvořit biofilm, závisí na podmínkách prostředí, ve kterém se pohybují, na vzájemných chemických i fyzikálních interakcích, a také na povrchu materiálu. Tvorba biofilmu s sebou přináší i různé problémy ať už ve zdravotnictví nebo průmyslu, proto se hledají způsoby, kterými lze upravit některé ze zmíněných podmínek, aby se zabránilo adhezi mikroorganismů k povrchu a zabránilo se tak tvorbě biofilmu.

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit vztah mezi biofilmem a povrchovými vlastnostmi materiálu. Dále pak nalézt možnost eliminace biofilmu na polymerních površích s protikorozními vlastnostmi. Byla sledována míra přerůstání a tvorba biofilmu na jednotlivých polymerních nátěrech. Na polymerních nátěrech byl studován růst směsné kultury plísní *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* a *Paecilomyces variotii*. Větší nárůst směsné kultury byl zaznamenán u kompletního agarů, který poskytl plísním potřebné složky a živiny pro růst. Na rozdíl od nekompletního agarů, kde byl nárůst směsné kultury velmi malý. Přesto že u kompletního agarů byl nárůst plísně velký, míra přerůstání byla 0 %, taktéž i tvorba biofilmu byla 0 %. V případě nekompletního agarů plísně nebyly schopny čerpat potřebné živiny ze vzorku, proto byla míra přerůstání a tvorba biofilmu vyhodnocena jako 0 %. Byly však pozorovány ještě další změny jako vznik koroze a zvrásnění povrchu vzorku. Poškozený povrch měly jen vzorky polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice. U vzorků s nižším obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> došlo ke vzniku koroze. Přestože tyto vzorky měly být antikorozní, při kontaktu s biofilmem ztratily své antikorozní vlastnosti. Zvrásněný povrch vykazovaly všechny vzorky, míra zvrásnění se zvyšovala s obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. U polymerních nátěrů s obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 20 % a 25 % už nebyl povrch zvrásněný, nýbrž tvořil zrnitou strukturu. Na vzorcích polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice byly vytvořeny kapky zkondenzované vody. Díky tomu, že byl povrch hydrofobní, jak bylo zjištěno pomocí měření kontaktních úhlů, kapky držely svůj tvar a povrch vzorku nesmáčely. Zkondenzovaná voda by mohla způsobit korozi kovu nebo degradaci polymerního nátěru. U testovaných vzorků však nebyly zaznamenány žádné změny povrchu, tudíž by tyto nátěry mohly být použity k antikorozní ochraně.



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MEISSNER, Bohumil a Václav ZILVAR. *Fyzika polymerů: Struktura a vlastnosti polymerních materiálů*. Praha: SNTL, 1987, 306 s. ISBN 04-634-87.
- [2] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2006, 278 s. ISBN 80-708-0617-6.
- [3] STOKLASA, Karel. *Makromolekulární chemie I*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická ve Zlíně. Zlín, 2005, 106 s.
- [4] KUČERA, Miloslav. *Vznik makromolekul I: Obecné poznatky o zákonitostech tvorby polymerů*. Brno: VUTIUM, 2003, 172 s. ISBN 80-214-2127-4.
- [5] SRIVASTAVA, Apurva, Tejaswita YADAV, Soumya SHARMA, Anjali NAYAK, Akanksha AKANKSHA KUMARI a Nidhi MISHRA. Polymers in Drug Delivery. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2016, 4, 69-84. DOI: 10.4236/jbm.2016.41009.
- [6] GUO, BaoLin a Peter X. MA. Synthetic biodegradable functional polymers for tissue engineering: a brief review. *Science China Chemistry*. 2014, 57(4), 490-500. DOI: 10.1007/s11426-014-5086-y.
- [7] SABBATINI, Luigia. *Polymer Surface Characterization*. Boston: De Gruyter, 2014, 292 s. ISBN 978-3-11-028811-7.
- [8] ROBERTS, John D. a Marjorie C. CASERIO. *Basic principles of organic chemistry*. Menlo Park, Calif.: W. A. Benjamin, 1964, 1615 s. ISBN 08-053-8329-8.
- [9] EHRENSTEIN, Gottfried W. *Polymeric materials: structure, properties, applications*. Munich: Hanser Gardner Publications, 2001, 277 s. ISBN 15-699-0310-7.
- [10] HENCH, Larry L. a Julian Raymond. JONES. *Biomaterials, artificial organs and tissue engineering*. Cambridge: Woodhead, 2005, 304 s. ISBN 978-1-85573-737-2.
- [11] EBNESAJJAD, Sina. *Expanded PTFE Applications Handbook: Technology, manufacturing and applications*. Oxford: Elsevier, 2016, 300 s. ISBN 978-1-4377-7855-7.
- [12] MAHYUDIN, Ferdiansyah a Hendra HERMAWAN. *Biomaterials and Medical Devices: A Perspective from an Emerging Country*. Switzerland: Springer International Publishing, 2016, 241 s. ISBN 987-3-319-14845-8.

- [13] RAMAKRISHNA, Seeram. *Biomaterials: a nano approach*. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor, 2010, 350 s. ISBN 978-1-4200-4781-3.
- [14] MIGONNEY, Véronique. *Biomaterials*. London: ISTE, 2014, 233 s. ISBN 978-1-84821-585-6.
- [15] PARK, Joon Bu. a Joseph D. BRONZINO. *Biomaterials: principles and applications*. Boca Raton: CRC Press, 2003, 250 s. ISBN 0-8493-1491-7.
- [16] BOCCACCINI, A. R. a Julie E. GOUGH. *Tissue engineering using ceramics and polymers*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007, 604 s. ISBN 978-1-84569-176-9.
- [17] RATNER, Buddy D., Allan S. HOFFMAN, Frederick J. SCHOEN a Jack E. LEMONS. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. Boston: Elsevier/Academic Press, 2013, 1555 s. ISBN 01-237-4626-4.
- [18] WILLIAMS, David. *Essential biomaterials science*. Cambridge: Cambridge University Press, 2014, 640 s. ISBN 978-0-521-89908-6.
- [19] SHI, Donglu. *Biomaterials and tissue engineering*. Berlin: Springer, 2004, 246 s. ISBN 3-540-22203-0.
- [20] HUMPOLICEK, Petr, Vera KASPARKOVA, Petr SAHA a Jaroslav STEJSKAL. Biocompatibility of polyaniline. *Synthetic Metals*. Elsevier Science, 2012, 162(7-8), 722-727. DOI: 10.1016/j.synthmet.2012.02.024.
- [21] HUMPOLÍČEK, Petr, Věra KAŠPÁRKOVÁ, Jaroslav STEJSKAL, Zdenka KUČEKOVÁ a Petra ŠEVČÍKOVÁ. *Chemické Listy 106: Proliferace buněk na vodivém polymeru, polyanilinu*. 2012, 380-383. ISSN 0009-2770.
- [22] PROKEŠ, Jan, Jaroslav STEJSKAL, a Mária OMASTOVÁ. *Chemické Listy 95: Polyanilin a polypyrrol - dva představitelé vodivých polymerů*. 2001, 484-492. ISSN 0009-2770.
- [23] TABAČIAROVÁ, Jana, Matej MIČUŠÍK, Pavol FEDORKO a Mária OMASTOVÁ. Study of polypyrrole aging by XPS, FTIR and conductivity measurements. *Polymer Degradation and Stability*. 2015, 120, 392-401. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2015.07.021

- [24] GOLABI, Mohsen, Anthony P. F TURNER a Edwin W. H JAGER. Tuning the Surface Properties of Polypyrrole Films for Modulating Bacterial Adhesion. *Macromolecular Chemistry and Physics*. Wiley-v C H Verlag, 2016, 217(10), 1128-1135. DOI: 10.1002/macp.201500445.
- [25] WANG, Lin-Xia, Xin-Gui LI a Yu-Liang YANG. Preparation, properties and applications of polypyrroles. *Reactive and Functional Polymers*. Elsevier B.V, 2001, 47(2), 125-139. DOI: 10.1016/S1381-5148(00)00079-1.
- [26] LYU, SuPing a Darrel UNTEREKER. Degradability of Polymers for Implantable Biomedical Devices. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009, 10(9), ISSN 4033-4065. DOI: 10.3390/ijms10094033.
- [27] CHEN, Qizhi a George THOUAS. *Biomaterials: a basic introduction*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2015, 706 s. ISBN 978-1-4822-2769-7.
- [28] SHARMA, Rajesh, Robert A. SIMS a Malay K. MAZUMDER. Modification of Surface Properties of Polymeric Materials. *Journal of the Arkansas Academy of Science*. 2002, (56), 157-161. ISSN 2326-0491.
- [29] 5. Stanovení povrchové energie obalových materiálů. [online]. [cit. 2017-03-08]. Dostupné z: [www.utb.cz/file/40897\\_1\\_1/](http://www.utb.cz/file/40897_1_1/)
- [30] MATTOX, Donald M. *Handbook of Physical Vapor Deposition (PVD) Processing*. United States of America: Elsevier, 2010, 792 s. ISBN 978-0-8155-2037-5.
- [31] KALOUS, Vítěz. *Základy fyzikálně chemických metod*. Praha: SNTL, 1975, 476 s.
- [32] BRDIČKA, Rudolf, Mirko KALOUSEK a Alexander SCHÜTZ. *Úvod do fyzikální chemie*. Praha: SNTL, 1972, 493 s.
- [33] KREVELEN, D. W. van a K. te NIJENHUIS. *Properties of Polymers: Their Correlation with Chemical Structure; their Numerical Estimation and Prediction from Additive Group Contributions*. Amsterdam: Elsevier, 2009, 1030 s. ISBN 978-0-08-054819-7.
- [34] ŠIMEK, Lubomír a Josef HRNČIŘÍK. *Fyzikální chemie I*. Brno: VUT, 1997, 181 s. ISBN 8021409509.
- [35] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. Praha: VŠCHT Praha, 2008, 506 s. ISBN 978-80-7080-675-3

- [36] AMIN, Mohammad, Mohammad AKBAR a Salman AMIN. Hydrophobicity of Silicone Rubber Used for Outdoor Insulation (An Overview). *Reviews on Advanced Materials Science*. 2007, 16(1), 10-26. DOI: 10.1109/ICPADM.1994.413990
- [37] NJOBUNWU, Derrick O., Esio O. OBOHO a Rhoda H. GUMUS. Determination of Contact Angle from Contact Area of Liquid Droplet Spreading on Solid Substrate. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*. 2007, 10, 29-38. ISSN 1583-1078.
- [38] MAZZA, Marco G. The physics of biofilms - an introduction. *Journal of Physics D: Applied Physics*. Germany, 2016, 49(20). DOI: 10.1088/0022-3727/49/20/203001.
- [39] SCHINDLER, Jiří. Mikrobiální biofilm. *Přírodovědecký časopis Vesmír* [online]. 2001, 80(4), 203. ISSN 1214-4029. Dostupné z: <http://www.vesmir.cz/clanek/mikrobialni-biofilm>
- [40] HAWSER, Stephen P. a Julia J. DOUGLAS. Biofilm Formation by Candida Species on the Surface of Catheter Materials in Vitro. *Infection and Immunity*. 1994, 62(3), 915-921. ISSN 0019-9567.
- [41] JABRA-RIZK, Mary Ann, William A FALKLER a Timothy F. MEILLER. Fungal Biofilms and Drug Resistance. *Emerging Infectious Diseases*. 2004, 10(1), 14-19. DOI: 10.3201/eid1001.030119.
- [42] HARDING, Michael W., Lyriam L.R. MARQUES, Ronald J. HOWARD a Merle E. OLSON. Can filamentous fungi form biofilms? *Trends in Microbiology*. 2009, 17(11), 475-480. DOI: 10.1016/j.tim.2009.08.007.
- [43] CORTÉS, Maria Esperanza, Jessika CONSUEGRA a Ruben Dario SINISTERRA. Biofilm formation, control and novel strategies for eradication. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. 2011, 896-905, ISBN 978-84-939843-2-8.
- [44] CUNNINGHAM, Alfred B., John E. LENNOX a Rockford J. ROSS. *Biofilms*. 2001-2010 [online]. [cit. 2017-01-02]. Dostupné z: <http://www.hypertextbookshop.com/biofilmbook/v004/r003/contents/chapters/chapter001/section003/green/page001.html>

- [45] RULÍK, Martin. *Mikrobiální biofilmy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011, 447 s. ISBN 978-80-244-2747-8.
- [46] RULÍK, Martin a Veronika HOLÁ. Mikrobiální biofilmy: 1. Všudypřítomný a přítom málo známý fenomén. *Živa* [online]. 2012, (3), 104-106. Dostupné z: <http://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/mikrobiani-biofilmy-1-vsudypritomny-a-pritom-malo.pdf>
- [47] BONHOMME, Julie a Christophe D'ENFERT. Candida albicans biofilms: building a heterogeneous, drug-tolerant environment. *Current Opinion in Microbiology*. 2013, 16(4), 398-403. DOI: 10.1016/j.mib.2013.03.007.
- [48] GHARECHAHI, Maryam, Horieh MOOSAVI a Maryam FORGHANI. Effect of Surface Roughness and Materials Composition on Biofilm Formation. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 2012, 3, 541-546. DOI: 10.4236/jbnb.2012.324056.
- [49] PROCHÁZKOVÁ, Gita, Vladimír JIRKŮ, Lidmila BARTOVSKÁ a Tomáš BRÁNYIK. *Chemické listy 105: Použití fyzikálně-chemických nástrojů pro predikci mikrobiální adheze*. 2011, 856-863. ISBN 978-80-86238-81-4.
- [50] HØIBY, Niels, Thomas BJARNSHOLT, Michael GIVSKOV, Søren MOLIN a Oana CIOFU. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010, 35(4), 322-332. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011.
- [51] ALI MOHAMMED, Marwan Mansoor, Audun H. NERLAND, Mohammed AL-HARONI a Vidar BAKKEN. Characterization of extracellular polymeric matrix, and treatment of *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* biofilms with DNase I and proteinase K. *Journal of Oral Microbiology*. 2013, 5(1). DOI: 10.3402/jom.v5i0.20015. ISSN 2000-2297.
- [52] MITCHELL, Kaitlin F., Robert ZARNOWSKI a David R. ANDES. The Extracellular Matrix of Fungal Biofilms. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016, 3, 21-35. DOI: 10.1007/5584\_2016\_6.
- [53] MIŠURCOVÁ, Ladislava. *Základy biologie*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická ve Zlíně. Zlín, 2012, 168 s. ISBN 978-80-7454-156-8
- [54] HENEBERG, Petr. Biofilm – Dr. Jekyll anebo Mr. Hyde ? In: *Medicína a přírodověda* [online]. [cit. 2017-03-29]. Dostupné z:

<http://www.3pol.cz/cz/rubriky/medicina-a-prirodoveda/843-biofilm-dr-jekyll-anebo-mr-hyde>

- [55] BJARNSHOLT, Thomas. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *Acta Pathologica, Microbiologica Et Immunologica Scandinavica*. 2013, 121(136), 1-51. DOI: 10.1111/apm.12099.
- [56] PAPAGIANNI, Maria. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*. 2004, 22, 189-259. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2003.09.005.
- [57] ADAMS, D. J. Fungal cell wall chitinases and glucanases. *Microbiology*. 2004, 150, 2029-2035. DOI: 10.1099/mic.0.26980-0.
- [58] PRIEGNITZ, Bert-Ewald, Andreas WARGENAU, Ulrike BRANDT, Manfred ROHDE, Sylvia DIETRICH, Arno KWADÉ, Rainer KRULL a André FLEIßNER. The role of initial spore adhesion in pellet and biofilm formation in *Aspergillus niger*. *Fungal Genetics and Biology*. 2011, 49(1), 30-38. DOI: 10.1016/j.fgb.2011.12.002.
- [59] BLANKENSHIP, Jill R a Aaron P MITCHELL. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Current Opinion in Microbiology*. 2006, 9, 588-594. DOI: 10.1016/j.mib.2006.10.003.
- [60] KOPECKÁ, Jana, Dagmar MATOULKOVÁ a Miroslav NĚMEC. Yeast and its uses. *Kvasný Průmysl*. 2012, 58(11-12), 326-335. DOI: 10.18832/kp2012029.
- [61] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [62] DOUGLAS, L. Julia. Candida biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology*. 2003, 11(1), 30-36. DOI: 10.1016/S0966-842X(02)00002-1.
- [63] RAMAGE, G., S. P. SAVILLE, D. P. THOMAS a J. L. LOPEZ-RIBOT. Candida Biofilms: an Update. *Eukaryotic Cell*. 2005, 4(4), 633-638. DOI: 10.1128/EC.4.4.633-638.2005.
- [64] GARRETT, Trevor Roger, Manmohan BHAKOO a Zhibing ZHANG. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*. 2008, 18(9), 1049-1056. DOI: 10.1016/j.pnsc.2008.04.001.

- [65] PAVITHRA, D a Mukesh DOBLE. Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants - issues and prevention. *Biomedical Materials*. 2008, 3(3). DOI: 10.1088/1748-6041/3/3/034003.
- [66] DONLAN, Rodney M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*. 2002, 8(9), 881-890. DOI: 10.3201/eid0809.020063.
- [67] ØILO, Marit a Vidar BAKKEN. Biofilm and Dental Biomaterials. *Materials*. 2015, 8, 2887-2900. DOI: 10.3390/ma8062887.
- [68] CUÉLLAR-CRUZ, M., A. VEGA-GONZÁLEZ, B. MENDOZA-NOVELO, E. LÓPEZ-ROMERO, E. RUIZ-BACA, M. A. QUINTANAR-ESCORZA a J. C. VILLAGÓMEZ-CASTRO. The effect of biomaterials and antifungals on biofilm formation by *Candida* species: a review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2012, 31(10), 2513-2527. DOI: 10.1007/s10096-012-1634-6.
- [69] GOLABI, Mohsen, Anthony P. F. TURNER a Edwin W. H. JAGER. Tunable conjugated polymers for bacterial differentiation. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016, 222, 839-848. DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.033.
- [70] LIN, J. a R. BALLIM. Biocorrosion control: Current strategies and promising alternatives. *African Journal of Biotechnology*. 2012, 11(91), 15736-15747. DOI: 10.5897/AJB12.2479
- [71] JULÁK, Jaroslav. Mikrobiální koroze kovů. In: *Časopis Vesmír* [online]. 2001 [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/mikrobialni-koroze-kovu>
- [72] SHIRAKAWA, Marcia A., Roberto ZILLES, Andre MOCELIN, et al. Microbial colonization affects the efficiency of photovoltaic panels in a tropical environment. *Journal of Environmental Management*. 2015, 157, 160-167. DOI: 10.1016/j.jenvman.2015.03.050.
- [73] KUMAR, C.Ganesh a S.K ANAND. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 1998, 42(1-2), 9-27. DOI: 10.1016/S0168-1605(98)00060-9.
- [74] Czech Collection of Microorganisms [online]. [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: <http://www.sci.muni.cz/ccm/>

- [75] MIKUŠOVÁ, Nikola, Petr HUMPOLÍČEK, Jan RŮŽIČKA, et al. Formation of bacterial and fungal biofilm on conducting polyaniline. *Chemical Papers*. 2017, 71(2), 505-512. DOI: 10.1007/s11696-016-0073-8.
- [76] JANŮ, K. Tvorba biofilmu na polymerních površích. Zlín, 2016, diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.
- [77] BINKAUSKIENĖ, Elena, Vitalija JASULAITIENĖ a Albinas LUGAUSKAS. Effect of *Aspergillus niger* Tiegh. L-10 on the physical and chemical properties of a polyaniline coating in the growth substrate. *Synthetic Metals*. 2009, 159(13), 1365-1368. DOI: 10.1016/j.synthmet.2009.03.011.
- [78] LUGAUSKAS, Albinas, Loreta LEVINSKAIT a Dalia PEČIULYT. Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2003, 52(4), 233-242. DOI: 10.1016/S0964-8305(03)00110-0.



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

|  |                                  |
|--|----------------------------------|
| PANI                                       | Polyanilin                       |
| PANI-B                                     | Emeraldinová báze                |
| PANI-S                                     | Emeraldinová sůl                 |
| PPY  | Polypyrrol                       |
| EPM  | Extracelulární polymerní matrice |
| SRB  | Sulfát redukující bakterie       |
| VP   | Vodivý polymer                   |
| MEAB                                       | Malt Extract Agar Base           |
| $\text{NaNO}_3$                            | Dusičnan sodný                   |
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$               | Síran amonný                     |
| $\text{K}_2\text{HPO}_4$                   | Hydrogenfosforečnan draselný     |
| KCl  | Chlorid sodný                    |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | Heptahydrát síranu hořečnatého   |
| $\text{FeSO}_4$                            | Síran železnatý                  |
| PANI- $\text{H}_3\text{PO}_4$              | Polyanilin-fosfát                |
| OKP  | Objemová koncentrace pigmentu    |

## SEZNAM OBRÁZKŮ

|   |    |
|---|----|
| Obrázek 1. Makromolekulární řetězce [3] .....   | 14 |
| Obrázek 2. Formy polyanilinu [22] .....   | 18 |
| Obrázek 3. Strukturní vzorec polypyrrol [22] .....  | 19 |
| Obrázek 4. Rozložení mezifázových energií v místě styku tří fází, upraveno dle [35].....  | 22 |
| Obrázek 5. Modely vývoje biofilmu u bakterií, kvasinek a vláknitých hub. U bakterií (a) a kvasinek (b) je pět etap vývoje: (i) adsorpce, (ii) adheze, (iii) tvorba mikrokolonií, (iv) zralý biofilm, (v) disperze. Vývoj vláknitých hub (c) zahrnuje tyto kroky: (i) adsorpce, (ii) aktivní připevnění, (iii) tvorba monovrstvy, (iv) vývoj hyf a vrstvení, (v) vývoj zralého biofilmu, (vi) disperze [42]. ..... | 25 |
| Obrázek 6. Parametry určující adhezi bakterií k povrchům, upraveno dle [65].....  | 31 |
| Obrázek 7. SEM částic PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> . Poskytnuto z Univerzity Pardubice .....   | 38 |
| Obrázek 8. Snímek povrchu nátěrového filmu OKP = 20 % PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (vlevo) a OKP = 25 % PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (vpravo). Poskytnuto z Univerzity Pardubice .....  | 38 |
| Obrázek 9. SEM částic pigmentů: 1) TiO <sub>2</sub> , 2) Zn + PANI-karbon., 3) Zn <sub>sferický</sub> + PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 4) PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> . Poskytnuto z Univerzity Pardubice .....  | 41 |
| Obrázek 10. SEM částic pigmentů: 5) PPy-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 6) ZnO, 7) Ca(BO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - Ca <sub>2</sub> B <sub>6</sub> O <sub>11</sub> ·5H <sub>2</sub> O, 8) ZnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> . Poskytnuto z Univerzity Pardubice .....  | 41 |
| Obrázek 11. SEM částic pigmentů: 9) CaTiO <sub>3</sub> , 10) Zn <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> xH <sub>2</sub> O, 11) Jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo, 12) Pb <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , 13) ZnCrO <sub>4</sub> . Poskytnuto z Univerzity Pardubice .....  | 42 |
| Obrázek 12. Kapka ethylenglykolu na vzorku MS11 (Jádrový pigment na bázi fosforečnanu s obsahem Mo) .....   | 44 |
| Obrázek 13. Vzorek s mřížkou pro určení přerůstání a tvorby biofilmu, upraveno dle [75] .....   | 49 |
| Obrázek 14. Vzorky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: EP0 s 0 % obsahem PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , EP1 s 0,1 % obsahem PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , EP6 s 5 % obsahem PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....  | 50 |
| Obrázek 15. Vzorky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: MS1 s pigmentem TiO <sub>2</sub> , MS7 s pigmentem Ca(BO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - Ca <sub>2</sub> B <sub>6</sub> O <sub>11</sub> · 5H <sub>2</sub> O, MS10 s pigmentem Zn <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> xH <sub>2</sub> O.....   | 51 |

- Obrázek 16. Vzorčky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: EP2 s 0,5 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a EP3 s 1 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>..... 52
- Obrázek 17. Vzorčky polymerních nátěrů po 35 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: EP8 s 15 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a EP10 s 25 % obsahem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>..... 53
- Obrázek 18. Vzorčky polymerních nátěrů po 21 dnech na kompletním agaru (vlevo) a nekompletním agaru (vpravo). Poznámka: MS4 s pigmentem PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MS5 s pigmentem PPy-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MS9 s pigmentem CaTiO<sub>3</sub>..... 54

**SEZNAM TABULEK**

|  |    |
|--|----|
| Tabulka 1. Polymery používané jako implantabilní zdravotnické prostředky [26].....   | 19 |
| Tabulka 2. Složení kompletního agaru .....   | 36 |
| Tabulka 3. Složení nekompletního agaru .....   | 36 |
| Tabulka 4. Složení vzorků polymerních pigmentovaných filmů s rozdílným obsahem<br>PANI-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....  | 39 |
| Tabulka 5. Složení vzorků NF s obsahem rozdílných pigmentů při jedné koncentraci<br>OKP .....  | 43 |
| Tabulka 6. Hodnoty celkové povrchové energie ( $\gamma_{tot}$ ), disperzní složky povrchové<br>energie ( $\gamma_{LW}$ ), polární složky povrchové energie ( $\gamma_{AB}$ ) a kontaktních úhlů<br>měřených pomocí deionizované vody ( $\theta_W$ ), ethylenglykolu ( $\theta_E$ ) a diiodometanu<br>( $\theta_D$ ) pro vzorky polymerních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice. ....   | 45 |
| Tabulka 7. Hodnoty celkové povrchové energie ( $\gamma_{tot}$ ), disperzní složky povrchové<br>energie ( $\gamma_{LW}$ ), polární složky povrchové energie ( $\gamma_{AB}$ ) a kontaktních úhlů<br>měřených pomocí deionizované vody ( $\theta_W$ ), ethylenglykolu ( $\theta_E$ ) a diiodometanu<br>( $\theta_D$ ) pro vzorky polymerních nátěrů na bázi methylsilikonové pryskyřice..... | 47 |