

# Vlastnosti biopolymerních povlaků s obsahem různých povrchově aktivních látek

Bc. Kristýna Šebestová

---

Diplomová práce  
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

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

Akademický rok: 2020/2021

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

Jméno a příjmení: **Bc. Kristýna Šebestová**  
Osobní číslo: **T20863**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**  
Forma studia: **Kombinovaná**  
Téma práce: **Vlastnosti biopolymerních povlaků s obsahem různých povrchově aktivních látek**

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část

1. Zpracujte literární rešerši zabývající se problematikou polymerních filmů a obalů, technologií jejich přípravy a aplikací.
2. Zabývejte se možnostmi stabilizace a optimalizace jejich fyzikálních a užitných vlastností.

#### II. Praktická část

1. Připravte vzorky filmotvorných roztoků a následně filmů.
2. Sledujte vliv různých povrchově aktivních látek (typy, koncentrace) na jejich fyzikálně-chemické a mechanické vlastnosti.
3. Dosažené výsledky diskutujte a formulujte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] TONGNUANCHAN, P., BENJAKUL, S., PRODPRAN, T. Structural, morphological and thermal behaviour characterizations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. *Food Hydrocolloids* 2014, 41, 33.
- [2] ŠUPUT, D. Z., LAZIC, V. L. et al. Edible Films and Coatings. Sources, Properties and Application. *Food and Feed Research* 2015, 42, 11.
- [3] RAMAWAT, K. G., MÉRILLON, J-M. Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology 2015, Springer International Publishing, ISBN 978-3-319-16297-3.
- [4] SZYMANSKA, E., WINNICKA, K. Stability of Chitosan. A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Marine Drugs* 2015, 13, 1819.

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

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2021

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

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

### **Prohlašuji,**

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce se zabývá problematikou přípravy filmotvorných roztoků a filmů na bázi chitosanu a povrchově aktivních látek. Teoretická část je zaměřena na charakterizaci materiálů sloužících k jejich přípravě, zejména pak na chitosan, esenciální oleje a neionické povrchově aktivní látky. Dále je zhodnocen význam a uplatnění chitosanových filmů v praxi.

Praktická část se orientuje na přípravu a charakterizaci chitosanových roztoků a filmů, s ohledem na parametry ovlivňující jejich následnou aplikaci. Důraz je kladen zejména na mechanické, povrchové a antibakteriální vlastnosti filmů.

Klíčová slova: emulgátor, fyzikální vlastnosti, chitosan, mechanické vlastnosti, smáčivost, tymiánový olej, Tween.

## **ABSTRACT**

The presented diploma work deals with preparation of film-forming solutions and films based on chitosan and surfactants. The theoretical part is focused on characterization of materials used for their preparation, especially chitosan, essential oils and non-ionic surfactants. Furthermore, the importance and practical applications of chitosan films is evaluated.

The practical part is focused on the preparation and characterization of chitosan solutions and films, with respect to the parameters affecting their subsequent application. Emphasis is placed especially on the mechanical, surface and antibacterial properties of films.

Keywords: chitosan, emulsifier, mechanical properties, physical properties, thyme oil, Tween, wettability.

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Janě Sedlaříkové, Ph.D., za její odborné vedení, cenné rady, za velmi vstřícný přístup a především za čas a nesmírnou trpělivost, kterou mi při tvorbě mé diplomové práce věnovala. Dále děkuji Ing. Petře Peer, Ph.D. z Ústavu pro hydrodynamiku AV ČR a také všem laborantkám, které mi pomáhaly při zpracování experimentální části. Velké díky patří i mé rodině a kamarádům za veškerou podporu při studiích.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1 POLYMERNÍ FILMY A OBALY</b> .....	<b>11</b>
1.1 PŘÍPRAVA POLYMERNÍCH FILMŮ A OBALŮ.....	11
1.2 VLASTNOSTI POLYMERNÍCH FILMŮ A OBALŮ.....	12
1.2.1 Mechanické vlastnosti .....	13
1.2.2 Smáčivost .....	13
1.2.3 Bariérové vlastnosti.....	16
1.2.4 Antibakteriální vlastnosti .....	17
1.3 VÝZNAM V PRAXI.....	19
1.3.1 Kosmetika .....	19
1.3.2 Potravinářství .....	20
1.3.3 Farmaceutický průmysl .....	21
<b>2 MATERIÁLY PRO PŘÍPRAVU OBALŮ A FILMŮ</b> .....	<b>23</b>
2.1 POLYMERY .....	24
2.1.1 Syntetické polymery.....	24
2.1.2 Přírodní polymery - polysacharidy.....	25
2.1.3 Proteiny .....	28
2.2 SMĚSI POLYMERŮ .....	29
2.3 ZMĚKČOVADLA .....	31
2.3.1 Změkčovadla proteinových filmů a obalů.....	32
2.3.2 Změkčovadla polysacharidových filmů a obalů.....	32
2.4 AKTIVNÍ LÁTKY.....	33
2.4.1 Antioxidanty.....	33
2.4.2 Antimikrobiální látky .....	34
2.4.3 Enzymy .....	34
2.4.4 Esenciální oleje .....	35
<b>3 VÝZNAM POVRCHOVĚ AKTIVNÍCH LÁTEK</b> .....	<b>37</b>
3.1 NEIONICKÉ POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY .....	38
3.1.1 Charakteristika neionických tenzidů .....	39
3.1.2 Estery sorbitanu mastných kyselin (Span) .....	40
3.1.3 Ethoxylované estery sorbitanu (Tween, polysorbáty).....	40
3.2 VLIV NEIONICKÝCH PAL NA VLASTNOSTI FILMOTVORNÝCH ROZTOKŮ A FILMŮ .....	41
3.2.1 Vliv na stabilitu emulze .....	42
3.2.2 Vliv na mechanické vlastnosti .....	42
3.2.3 Vliv na smáčivost povrchu.....	43
<b>4 CHITOSANOVÉ FILMY</b> .....	<b>44</b>

4.1	APLIKACE CHITOSANOVÝCH FILMŮ .....	44
4.1.1	Systémy pro řízené uvolňování léčiv .....	44
4.1.2	Tkáňové inženýrství .....	45
4.1.3	Hojení ran .....	46
4.1.4	Antimikrobiální a konzervační vlastnosti .....	47
4.1.5	Kosmetické přípravky .....	48
4.2	FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VLASTNOSTI CHITOSANOVÝCH FILMŮ .....	49
4.2.1	Přítomnost organických látek .....	49
4.2.2	Nutraceutika .....	50
4.2.3	Vliv pH rozpouštědla .....	51
4.2.4	Změkčovadla .....	51
4.2.5	Chitosan ve směsi s biopolymery .....	52
4.2.6	Chitosan ve směsi se syntetickými polymery .....	53
<b>5</b>	<b>CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>54</b>
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A METODIKA .....</b>	<b>56</b>
6.1	CHEMIKÁLIE .....	56
6.2	PŘÍSTROJE A POMŮCKY .....	56
6.3	METODIKA .....	57
6.3.1	Příprava chitosanových roztoků a filmů .....	57
6.3.2	Charakteristika filmotvorných roztoků .....	58
6.3.3	Charakteristika filmů .....	59
6.3.4	Stanovení mechanických vlastností .....	59
6.3.5	SEM analýza filmů .....	60
6.3.6	Stanovení antibakteriální účinnosti filmů .....	60
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>62</b>
7.1	STANOVENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC .....	62
7.2	STANOVENÍ ZETA (Z) POTENCIÁLU .....	63
7.3	VZHLED A TLOUŠŤKA FILMŮ .....	64
7.4	POVRCHOVÉ VLASTNOSTI FILMŮ .....	65
7.5	SEM ANALÝZA FILMŮ .....	71
7.6	STANOVENÍ MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ FILMŮ .....	72
7.7	STANOVENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍCH ÚČINKŮ FILMŮ .....	77
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>80</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>82</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>93</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>94</b>
	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>95</b>



## ÚVOD

Řada současných studií je důkazem, že biopolymerní materiály nacházejí uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích, jako je potravinářství, farmacie nebo kosmetika. Chitosan je biokompatibilní a biodegradabilní přírodní polymer, který je díky svým výjimečným vlastnostem schopen vytvářet různé formy nosičů, například v podobě filmů nebo vláken. Chemická struktura chitosanu umožňuje jeho snadnou modifikaci prostřednictvím různých aktivních látek. V posledních letech narůstá preference přírodních extraktů v důsledku snahy snižovat obsah chemických přísad v potravinách, a také minimalizovat vznik odpadů. Aktivní obalové materiály na bázi biopolymerů nebo kompozitní filmy představují velmi zajímavou a rychle se vyvíjející technologii. Velmi rozšířené jsou právě potravinářské aplikace chitosanových filmů s esenciálními oleji za účelem zabránit antimikrobiální kontaminaci a prodloužit životnost potravin. Mimo to chitosan nachází využití také ve zdravotnictví jako systém pro řízené uvolňování aktivních látek nebo ve tkáňovém inženýrství, které se v posledních letech stalo rychle se rozvíjejícím biomedicínským oborem v souvislosti s rozvojem nanomateriálů.

Předkládaná diplomová práce se zabývá přípravou a studiem filmotvorných roztoků a filmů na bázi chitosanu a tymiánového esenciálního oleje v kombinaci s různými druhy neionických emulgátorů ze skupiny polysorbátů. Cílem bylo stabilizovat a optimalizovat tyto biopolymerní systémy a sledovat vliv modifikace na jejich strukturní, povrchové, mechanické a antibakteriální vlastnosti vůči vybraným mikroorganismům, a to vše s ohledem na praktické aplikace ve formě aktivních obalových materiálů.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 POLYMERNÍ FILMY A OBALY

Obalové materiály jsou využívány za účelem ochrany a zvýšení kvality produktů, a to během procesů skladování, přepravy a distribuce ke spotřebiteli. Klíčové funkce obalových materiálů spočívají v ochraně produktů před vnějšími faktory, jako jsou změny teploty, koroze, biochemické změny a mikrobiální nákaza. Zároveň by tyto materiály neměly zásadně měnit optické, elektrické, transportní a tepelné vlastnosti povrchu obalového materiálu nebo substrátu [1]. Požadavky na obalové materiály se významně změnily s rostoucí produkcí potravin a jiných komodit a nutností jejich transportu do větších měst a obchodů.

Obaly lze klasifikovat do několika úrovní a to na primární, sekundární a terciární. Primární obal nezahrnuje pouze materiály, které jsou s výrobkem v přímém kontaktu, ale všechny obaly/vrstvy, do nichž je výrobek zabalen, když si jej spotřebitel přinese domů. Na tento typ obalů je kladen největší důraz. Sekundární obal je využíván pro lepší manipulaci menších balíčků a terciární obal slouží pro shromáždění sekundárních obalů pro snadnější transport [2].

Ve čtyřicátých letech 20. století došlo k zásadnímu rozvoji v používání plastových obalových materiálů, a to zejména v důsledku nízkonákladových výrobních procesů a produkce materiálů se širokou škálou vlastností, které mohly být přizpůsobeny na míru konkrétním požadavkům. Z těchto důvodů plasty v některých aplikacích nahradily tradičnější materiály jako je sklo nebo kov. Jako příklady lze uvést přechod ze skleněných nádob na PET láhve pro balenou vodu a nealkoholické nápoje nebo HDPE obaly pro skladování mléka a také náhradu kovových nádob (plechovek) flexibilními plastovými sáčky, které zajistily snadnější manipulaci a skladovatelnost [2].

### 1.1 Příprava polymerních filmů a obalů

Existuje mnoho technologií, které mohou být použity k výrobě polymerních filmů a obalů, a které následně ovlivňují jejich strukturní a bariérové vlastnosti. Výběr konkrétního postupu závisí nejen na povaze složek tvořících tyto filmy či obaly, ale také na požadovaném tvaru ochranné vrstvy. Polysacharidy a proteiny je nutné modifikovat polymerizací, gelací, koagulací nebo koacervací. Obaly na bázi lipidů jsou nejčastěji získávány tavením, krystalizací nebo odpařováním rozpouštědel. Jedlé filmy a obaly lze připravit extruzí, koextruzí, roztíráním, odléváním, válením, využitím potahovacích bubnů, laminováním nebo sprejováním [3].

Mezi nejběžnější technologie výroby lze zařadit: [3]

- depozici potahového materiálu (ve formě roztoku, suspenze, emulze či prášku) na povrch produktu, např. sprejováním nebo potíráním,
- namáčení substrátu do roztoku potahového materiálu,
- odlévání a následné sušení filmotvorného roztoku,
- stabilizace kontinuální potahové vrstvy na povrchu produktu pomocí koacervace sušením, zahřátím či koagulací.

Do filmů a obalů jsou kromě nosných polymerů často přidávány i další látky za účelem zlepšení jejich funkčních vlastností, jako jsou filmotvorné schopnosti, možnosti regulace reologických vlastností roztoků, suspenzí a emulzí a dále např. zvýšení adheze filmu/obalu k substrátu. Ke stabilizaci disperzních systémů jsou používány emulgátory a texturizační činidla. Kyseliny a zásady zlepšují rozpustnost proteinů, naopak činidla jako jsou sulfidy, aldehydy nebo kyselina askorbová slouží ke zvýšení schopnosti síťování či štěpení proteinů. Navíc některé antioxidanty (př. kyselina askorbová), antimikrobiální látky nebo enzymy (př. transglutamináza) mohou podporovat intra- nebo inter-molekulární vazby a zároveň tak přispívat ke zvýšení rozpustnosti biopolymerů. Některé druhy solí mohou indukovat gelaci polymeru [3].

Během výroby filmů je nutné, aby došlo k dobré dispergaci filmotvorných látek a k jejich rozpuštění v příslušném rozpouštědle, či jejich směsi. V tomto kroku lze přidat změkčovadla, antimikrobiální látky, barviva, aroma aj. Pro usnadnění dispergace lze upravit pH anebo roztok zahřát (rozpustnost je daná typem polymeru). Poté je filmotvorný roztok odlit a usušen při požadované teplotě a uchováván při dané relativní vlhkosti [4].

Potravinářský průmysl je zaměřený především na emulgované filmy, které vyžadují pouze jeden krok, tj. výroba jednovrstvých filmů namísto dvou nebo vícevrstvých. Povaha emulgátoru používaného při tvorbě lipidové disperze udává vlastnosti filmu. Teplota a čas sušení mají velký vliv na fyzikální vlastnosti [3].

## 1.2 Vlastnosti polymerních filmů a obalů

Polymerní povlaky a filmy jsou obvykle klasifikovány podle jejich nosného materiálu. Jako hlavní zdroje slouží syntetické a přírodní polymery. Vybrané typy budou charakterizovány v kapitole 2. K tvorbě polymerních filmů přispívají intramolekulární

interakce, např. vznikají kovalentní vazby (disulfidové vazby a zesíťování), hydrofobní nebo iontové interakce [5].

Polymerní filmy a obaly musí splňovat řadu specifických funkčních požadavků (bariérové schopnosti vůči plynům a vodě, rozpustnost ve vodě nebo v tucích, požadovaná barva a vzhled, mechanické a reologické vlastnosti, nízká toxicita atd.) a všechny jsou závislé na typu použitého materiálu, jejich přípravě a aplikaci. V každém polymerním filmu či obalu působí dva typy sil: koheze (síly působící mezi molekulami tvořící film) a adheze (síly působící mezi polymerním filmem a obalovaným materiálem). Stupeň soudržnosti ovlivňuje vlastnosti filmu, a to odolnost, flexibilitu nebo propustnost a je závislý na struktuře polymeru, jeho výrobním procesu (teplota, tlak) a přítomnosti změkčovadel [6].

### 1.2.1 Mechanické vlastnosti

Mechanické vlastnosti filmů a povlaků jsou závislé na interakcích v polymerní matici a jsou silně ovlivněny fyzikálními, chemickými a teplotními podmínkami, které zároveň ovlivňují stabilitu a pružnost filmu. Mechanické vlastnosti jsou obvykle charakterizovány pomocí deformace při přetržení, procentuálního prodloužení při přetržení, pevnosti v tahu, a modulu pružnosti. Všechny tyto parametry souvisí s elasticitou filmu a je možno je stanovit pomocí textuometru. Je dobře známo, že vnější podmínky prostředí během zpracování, skladování a používání ovlivňují jejich mechanické vlastnosti [3].

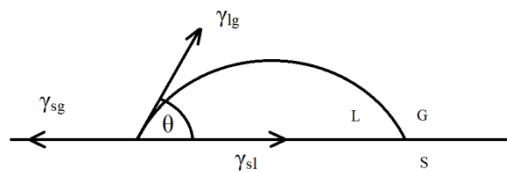
Při výrobě filmů lze jednotlivé polymery kombinovat, což vede ke vzniku kompozitních filmů. Cílem je kombinovat výhody jednotlivých komponent a získat tak produkt s optimálními vlastnostmi. Především polysacharidy a proteiny zajišťují strukturní stabilizaci, zatímco lipidy se využívají ke zlepšení bariérových charakteristik. Mechanické vlastnosti jsou ovlivněny také přidávkem různých hydrofilních nebo hygroskopických plastifikátorů, které jsou schopny navázat molekuly vody interakcí biopolymer-plastifikátor. Přidání změkčovadel ovlivňuje nejen pružnost a další mechanické vlastnosti, ale také odolnost jedlých filmů a povlaků vůči pronikání vodních par a plynů [3][5].

### 1.2.2 Smáčivost

Smáčivost lze definovat jako schopnost kapaliny přilnout k povrchu některých pevných látek a je charakterizována tzv. kontaktním úhlem neboli úhlem smáčení  $\theta$ . Jestliže při styku kapaliny a pevné látky nedojde k rozestření kapaliny po jejím povrchu (do souvislé vrstvy), kapka pak zaujme na povrchu pevné látky rovnovážný tvar, který je

charakterizován právě úhlem smáčení. Jedná se o úhel, který svírá tečna k povrchu kapky, vedená v bodě styku kapky s rozhraním pevná látka/kapalina.

Úhel smáčení a tedy i tvar kapaliny závisí na mezipovrchových napětích tří koexistujících fázových rozhraní: kapalná a pevná fáze ( $\gamma_{ls}$ ), pevná a plynná fáze ( $\gamma_{sg}$ ), kapalná a plynná fáze ( $\gamma_{lg}$ ). Na Obr. 1 je znázorněn systém obsahující všechny tři koexistující fáze. Všechna napětí působí ve směru tečny vedené k ploše rozhraní, vycházející z bodu kontaktu všech tří fází [7].



Obr. 1 Třífázový systém pevná látka-kapalina-plyn

Za rovnovážných podmínek kontaktní úhel závisí na třech vzájemně závislých mezifázových napětích. Úhel smáčení lze vypočítat pomocí Youngovy rovnice:

$$\gamma_{sg} = \gamma_{ls} - \gamma_{lg} \cos \theta \rightarrow \cos \theta = \frac{\gamma_{sg} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lg}} \quad (1)$$

Kde:

$\cos \theta$  kontaktní úhel

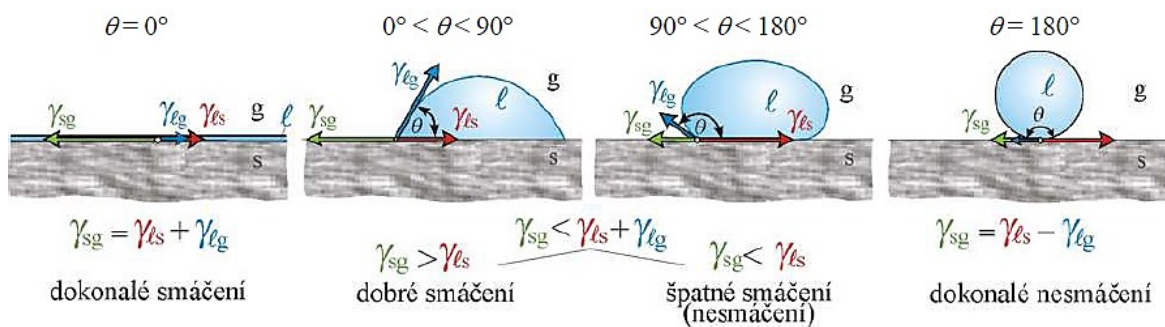
$\gamma_{sl}$  povrchové napětí na rozhraní pevná látka/kapalina [mN/m]

$\gamma_{sg}$  povrchové napětí na rozhraní pevná látka/plyn [mN/m]

$\gamma_{lg}$  povrchové napětí na rozhraní kapalina/plyn [mN/m]

Velikost úhlu smáčení může být ovlivněna přítomností nečistot nebo nerovnostmi povrchu, případnou interakcí pevné látky s kapalinou (chemickou reakcí, rozpouštěním nebo botnáním), nehomogenitou pevné látky, přítomností mikrotrhlin nebo naadsorbovaných plynů a par. Stanovení je obvykle prováděno za účelem testování vlivu viskozity a povrchového napětí kapaliny na smáčivost pevného povrchu, změna povrchových vlastností vzorků. Výsledky mohou být také ovlivněny velikostí objemu kapky.

Dle velikosti úhlu smáčení lze rozlišovat povrchy smáčivé (lyofilní, je-li kapalinou voda pak hydrofilní) a nescháčivé (lyofobní, u vody hydrofobní). Zjednodušeně lze říci, že pokud je hodnota nízká jedná se o látku smáčivou (mezní případ je nazýván jako dokonalé smáčení, kdy dojde k rozestření kapaliny po povrchu pevné látky), je-li naopak hodnota  $90^\circ$  a více pak je povrch látky nescháčivý (limitní případ špatného smáčení je označován jako dokonalé nescháčování). Na Obr. 2 lze pozorovat všechny případy chování kapaliny na pevném povrchu [7][8][9].

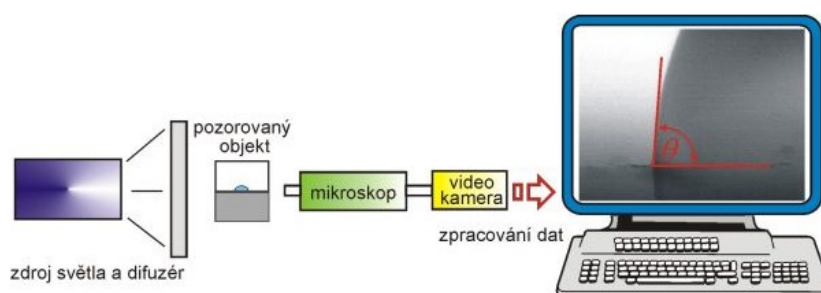


Obr. 2 Kapka kapaliny na pevném povrchu [9]

Interakce mezi pevnou látkou a kapalinou hraje klíčovou roli u řady fyzikálních a chemických procesů v praxi. Znalost velikosti úhlu smáčení je velice podstatná v mnoha odvětvích, jako příklad lze uvést automobilový nebo stavební průmysl. Při aplikaci barev a nátěrových hmot je nutné zajistit dlouhodobou adhezi mezi používanými materiály (sklo, dřevo, plasty, textil aj.). V textilním průmyslu je snaha zavádět speciální povrchové úpravy (antistatické oděvy, nátěry proti ulpívání skvrn) např. u kobercových vláken, ale i chirurgických textilií. Smáčitelnost jednotlivých vláken nebo tkanin, také jejich hydrofobicitu a prací schopnost, je možné zjistit měřením kontaktních úhlů. Ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu je znalost kontaktního úhlu často využívána ke stanovení kontroly kvality produktu. Ve zdravotnictví je měření uplatňováno při vývoji jednorázových kontaktních čoček, zubních protéz nebo tělních implantátů. Velmi diskutovaným tématem je vliv smáčivosti na proces řízeného uvolňování léčiv (rozpuštění perorálně požitého léčiva ve formě tablety, tobolky nebo transdermálně aplikovaného léčiva). V kosmetickém průmyslu lze takto sledovat účinnost šamponů, čistících roztoků, pleťových vod, tělových a opalovacích krémů. Povrchové napětí pesticidů a hnojiv ovlivňuje jejich šíření na listech nebo v půdě, což má za následek znečištění životního prostředí [10].

### Metoda přisedlé kapky

Jedná se o tzv. přímou goniometrickou metodu, kdy jsou využívány mikroskopy s goniometrickým okulárem. Kapka o určitém objemu je speciální jehlou (pipetou) nanášena na povrch pevné látky. Svazek paprsků prochází kapkou ve směru rovnoběžném k povrchu a ta je následně pozorována mikroskopem vybaveným goniometrickým okulárem (což umožňuje přímý odečet úhlu smáčení), anebo je úhel vyhodnocen z fotografie či profilu kapky. Přesnějších výsledků lze dosáhnout použitím videokamery, která vše zdigitalizuje a pomocí počítačového softwaru je následně vyhodnocen kontaktní úhel (Obr. 3). Lze také použít zařízení s přisedlou kapkou pro dynamická měření (měření dynamického kontaktního úhlu), což je výhodné v systémech, v nichž kontaktní úhel s časem klesá (porézní pevná látka). Získáním hodnot v závislosti na čase je možné měřit rychlost rozprostření doprovázeného pronikáním kapaliny do lehce porézního materiálu [7][8].



Obr. 3 Systém měření kontaktního úhlu metodou přisedlé kapky [11]

### 1.2.3 Bariérové vlastnosti

Mezi bariérové vlastnosti filmů a obalů patří propustnost pro vodní páry a plyny (kyslík, oxid uhličitý), propustnost těkavých a rozpustných látek. Například v potravinářském průmyslu je propustnost kyslíku a oxidu uhličitého důležitá, jestliže mohou oxidační reakce ovlivnit kvalitu produktu (př. čerstvá zelenina a ovoce). Propustnost vodních par je významným faktorem v případě, kdy je potřeba během skladování zachovat křupavost potravin. Bariérové vlastnosti jedlých filmů připravených z polárních polymerů např. polysacharidů jsou citlivé na vlhkost. Obecně pak filmy na bázi proteinů vykazují nejhorší bariérové vlastnosti [3].

Jedlé obaly obsahující lipidy lze připravit různými technikami, které pak určují strukturu jejich bariéry [3]. Toto tvrzení bylo zkoumáno ve studii [12], kde byly vytvořeny emulzní a dvouvrstvé filmy složené z hydroxypropylmethylcelulózy a stearové nebo palmitové kyseliny. Filmy získané emulzní polymerací vykazovaly 40krát nižší propustnost vlhkosti



než dvouvrstvé filmy, i když množství lipidů v emulzních filmech bylo desetkrát nižší. Počáteční připravená emulze byla homogenní, avšak během sušení byla pozorována její fázová separace, která vedla ke zjevné dvouvrstvé struktuře emulgovaného filmu. Nejúčinnější bariéry proti vlhkosti jsou obvykle získávány, když struktura filmu obsahuje souvislou lipidovou vrstvu získanou buď dvouvrstvou technikou, anebo po destabilizaci emulze během sušení emulzních filmů.

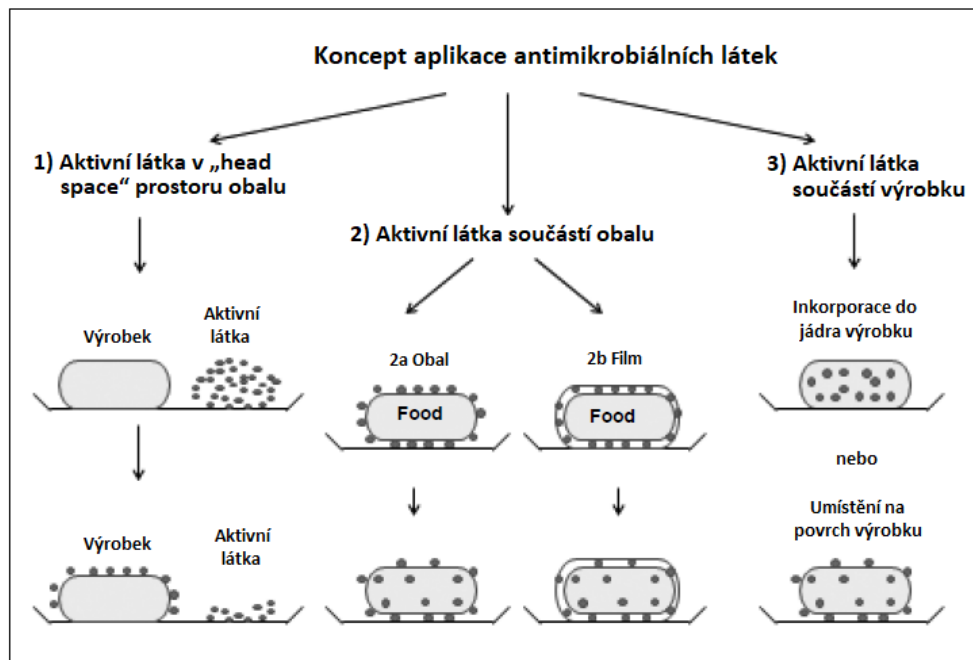
Bariérové vlastnosti jedlých filmů na bázi hydrokoloidů vůči plynům jsou velmi důležité při aplikaci na čerstvém ovoci a zelenině. V suchých podmínkách je propustnost jedlých filmů a povlaků velmi nízká dokonce až 3000krát nižší než u syntetických polymerů. Ačkoliv propustnost polymerních filmů (s výjimkou ethylen vinyl alkoholu nebo Nylonu) zůstává konstantní bez ohledu na relativní vlhkost, propustnost jedlých filmů a povlaků obvykle v přítomnosti vlhkosti výrazně roste. Toto chování je nejčastěji způsobeno plastifikací sítě biopolymeru vodou, která indukuje větší rozpustnost a difuzivitu plynů v matrici biopolymeru. Některé lipidové sloučeniny (především nenasycené mastné kyseliny) vykazují silnou afinitu ke kyslíku a mohou tak podléhat žluknutí, které je doprovázeno změnou chuti a nepříjemným zápachem [3].

#### 1.2.4 Antibakteriální vlastnosti

Výskyt a aktivita nežádoucích mikroorganismů závisí na vlastnostech a skladování jak vstupních surovin, tak i produktů, ale také na metodách použitých k prevenci jejich růstu nebo jejich kompletní inaktivaci. Při výběru konzervačního postupu je zásadní znalost stavu bakteriálních buněk. Vegetativní bakteriální formy jsou daleko náchylnější v porovnání s bakteriálními endospory, které jsou obecně rezistentní. Růstová fáze mikroorganismů je rovněž faktorem, který ovlivňuje inaktivaci mikroorganismů antimikrobiálním činidlem. Mnoho studií uvádí, že buňky ve vegetativním stádiu jsou citlivější během exponenciální růstové fáze než buňky odebrané ve stacionární fázi [13].

Aktivní obaly lze definovat jako systém zahrnující další složky, inkorporované přímo do vnitřní struktury či na povrch materiálu, za účelem zvýšení funkčnosti obalového materiálu. Aktivní obaly používané v potravinářství mohou obsahovat absorbéry vlhkosti, složky chránící před UV zářením antioxidanty či antimikrobiální činidla. Při aplikaci aktivních obalů dochází k interakci mezi produktem a vnitřní atmosférou v balení s cílem zachovat nebo dokonce zvýšit nutriční vlastnosti, jakost, trvanlivost a bezpečnost balených potravin. K inkorporaci antimikrobiálních látek do obalových materiálů polymerního

charakteru jsou nejčastěji používány tyto metody: 1) přimíchávání antimikrobiálních látek přímo ke směsi polymerů; 2) potahování nebo adsorbování antimikrobiálních látek na povrchy polymerů; 3) imobilizace antimikrobiálních látek na polymerních površích prostřednictvím iontových nebo kovalentních vazeb a 4) použití polymerů, které samy o sobě vykazují antimikrobiální účinky. Na Obr. 4 je zobrazeno schéma možného začlenění antimikrobiálních látek do obalového materiálu. K uvolňování aktivních látek může docházet odpařováním do okolního prostředí (1) (př. esenciální oleje), migrací do výrobku prostřednictvím difuze (2a) nebo oddělením (2b) (př. nisin, organické kyseliny). Migrace aktivních látek by mohla probíhat přidáním aktivní látky přímo na povrch výrobku ve formě obalu (2a) nebo jejím přimícháním do jedlého filmu obklopujícího výrobek (2b). Aktivní látku lze také zakomponovat do výrobku při jeho výrobě (3). Obalové materiály obsahující antimikrobiální látky mohou být rozděleny na dva typy. První typ obsahuje antimikrobiální látky, které migrují na povrch obalového materiálu a mohou přicházet/ přichází do styku s výrobkem (potravinou). Druhý typ je účinný vůči růstu mikroorganismů na povrchu potravin, aniž by došlo k migraci aktivních látek do materiálu [13][14].



Obr. 4 Koncept aplikace antimikrobiálních látek [13]

Zatímco některé přírodní antimikrobiální látky fungují na principu chelatace, většina z nich narušuje metabolické procesy narušením membrány/struktury buněčné stěny. Nisin například interaguje se sloučeninami obsahujícími síru v bakteriální membráně, narušuje

jejich polopropustnou funkci a způsobuje lýzi buněk. Ostatní kationické látky, jako jsou tenzidy, fungují na podobném principu. Chemické sloučeniny jako sůl a glykol účinkují díky snížení vodní aktivity v buňce. Vzhledem k tomu, že voda je klíčovou sloučeninou v metabolismu buňky, jakékoliv narušení toku tekutiny způsobuje potlačení jejího růstu [14].

### 1.3 Význam v praxi

Využití obalů jako nosičů pro postupné uvolňování aktivních látek je v současnosti předmětem výzkumu mnoha odborníků, zejména potravinářského a farmaceutického průmyslu. Formulace mohou být navrženy tak, aby obsahovaly požadovaná potravinářská aditiva (antioxidanty, antimikrobiální látky, pigmenty, příchutě, koření, soli, různé živiny, látky absorbující světlo), ale také farmaceutické nebo nutraceutické složky ve formě tvrdých nebo měkkých tobolek, mikrokapslí, rozpustných filmů, flexibilních sáčků nebo povlaků. V závislosti na individuální aplikaci jsou vyžadovány specifické vlastnosti pro řízené uvolňování rozpuštěných aktivních látek [15].

#### 1.3.1 Kosmetika

Polymery rozpustné ve vodě jsou běžnými přísadami do emulzních produktů a slouží zde jako zahušňovadla či kondicionéry. Polymery mohou být syntetického nebo přírodního původu. Mezi nejčastěji používané syntetické polymery patří akryláty s aniontovým nábojem a do přírodních polymerů lze zařadit deriváty celulózy. Komerčně dostupné jsou polymery anionického, kationického i neionického charakteru, s různou molekulovou hmotností, počtem éterových vazeb a odlišnou tolerancí vůči elektrolytům. Příkladem běžně používaných derivátů celulózy je sodná sůl karboxymethylcelulózy, hydroxypropylmethylcelulóza a hydroxyethylcelulóza. Polysacharidy jsou obvykle omezeny na kationické a neionické emulze v důsledku vlastní nestability, která se projeví při začlenění do anionických systémů. Polyquaternium-10, chitosan a derivatizovaná guarová guma, jsou tři typy polymerů, které se často nacházejí v krémech na ruce a tělových mlécích. Celulóza a mikrokrytalická celulóza jsou v kosmetice používány jako absorpční a protispékavá látka, stabilizátor emulze a látka zvyšující viskozitu. Využití také nachází v make-upech nebo čistících prostředcích [16][17].

V kosmetice lze použít nativní proteiny, avšak nepoužívanější jsou hydrolyzované proteiny střední molekulové hmotnosti s vyšší rozpustností. Zlepšení filmotvorných vlastností lze dosáhnout kombinací proteinu a poplyvinylpyrrolidonu jako kopolymeru.

Takové úpravy mohou zvýšit absorpci vlhkosti ve srovnání s původní sloučeninou. Potenciální problémy, které mohou proteiny představovat, jsou zápach a změna barvy. Jelikož se jedná o živiny, k jejich začlenění do kosmetických přípravků bude zapotřebí silnějších konzervačních látek [18].

### 1.3.2 Potravinářství

Jedlé polymerní filmy jsou definovány jako tenká vrstva materiálu, kterou lze konzumovat s potravinou a zároveň produktu poskytuje bariérové vlastnosti. V posledních letech je věnována značná pozornost biopolymerním filmům a povlakům. Jejich hlavní výhodou oproti syntetickým obalům je to, že mohou být konzumovány spolu s balenými produkty a tím přispívají ke snížení environmentální zátěže. Zároveň jsou jedlé filmy vyráběny výhradně z obnovitelných zdrojů, a proto je jejich likvidace snadnější než u syntetických materiálů [4].

Jedlé filmy a obaly umožňují zabudovat do své struktury různé aktivní látky, konzervanty, živiny či nutraceutika. Dochází tím ke zlepšení kvality výrobku v případě dobarvovaných a dochucovaných cukrářských výrobků, glazovaného pekařského zboží, ochucených ořechů nebo rýže s přidanými vitamíny. Aktivní sloučeniny mohou být přidávány do potravinových obalů pro prodloužení trvanlivosti, zachování jejich barvy a zlepšení nutričních vlastností potravin. Multifunkční jedlé filmy a obaly mohou být využity na cukrovinky s přidanou hodnotou, farmaceutické výrobky a jiná nutraceutika, ale také běžné potraviny podléhající rychlé zkáze. Kromě zlepšení nutriční hodnoty mohou v obalu zabudované příchutě a barviva zlepšit chuť a vizuální přitažlivost výrobků.

Jedlé obaly jsou aplikovány na povrchy snack potravin a sušenek, jako podklad nebo adhezivum pro ochucovadla. Tradičně jsou pro lepší dispergaci koření a příchutí používány tuky a oleje, avšak poptávka po potravinách se sníženým obsahem nebo bez obsahu tuku, zapříčinila zavedení jiných složek právě jako náhradu olejů v nízkotučných výrobcích. Arašídový prášek nasucho je nutné pokrýt obalem, který bude sloužit jako adhezivum pro sůl nebo koření. Například roztok vyrobený ze směsi modifikovaného potravinářského škrobu kukuřičného sirupu, vody a glycerolu je aplikován na arašídový prášek během převalování a poté je aplikována sůl a koření [3].

Filmy dodávající chuť musí být pevné a stabilní, schopné vytvářet samostatné filmy. Sloučeniny poskytující potravině chuť jsou často nemísitelné s vodou, což může představovat řadu problémů pro polymery dispergovatelné ve vodě (př. škrob). Příchutě na

bázi oleje, jako citrusy a jiné esenciální oleje mohou být začleněny ve viskózní filmotvorné kapalině ve formě kapek právě tak velkých, aby nedocházelo ke koalescenci. Prevence rozpadu emulze a fázové separace je zde zajištěna homogenizací nebo velkým smykovým namáháním, aby byl zajištěn vznik malých kapiček v disperzním prostředí (o adekvátně vysoké viskozitě), který zpomalí jejich mobilitu. Dočasná emulze musí být stabilní pouze po dobu, než se voda odpaří a vzniká film s olejovými částicemi zapouzdřenými v matrici. Mnoho příchutí je ve vodě nerozpustných a musí být rovnoměrně rozptýleny v celé polymerní matrici, aniž by narušovaly celistvost filmu. Stejně jako u každé aktivní látky nesmí nerozpustná složka jakkoliv ovlivňovat pevnost a odolnost filmu [3].

### 1.3.3 Farmaceutický průmysl

Polymerní materiály se vyznačují řadou jedinečných vlastností, které jim umožňují širokou škálu využití v oblasti ortopedie a stomatologie, náhrady měkkých tkání nebo jako kardiovaskulární implantáty. Polymery ve skutečnosti představují největší třídu biomateriálů používaných v lékařství. Na rozdíl od syntetických vláken, která bylo nutné přizpůsobit lékařskému použití, se přírodní vlákna vyvinula přirozeně [19].

#### *Povlaky s postupným uvolňováním*

Doručování léčiv prostřednictvím jedlých filmů má výhody oproti konvenčním zařízením jako jsou tekutiny, tobolky nebo tablety. Tento typ léku lze konzumovat i bez použití vody. Jedlé filmy představují výhody pro lidi, kteří mají problém s polykáním léků, nejčastěji se to týká malých dětí. Aplikace filmů na cílené místo ústní dutiny je lepší oproti jiným způsobům podání, jako příklad lze uvést anestetikum proti bolesti zubů [3].

#### *Tkáňové inženýrství*

Tkáňové inženýrství je v posledních letech rychle se rozvíjející biomedicínský obor, který uplatňuje principy přírodních věd, chemie a inženýrství k vývoji biologických náhražek sloužících k obnově, zachování nebo zlepšení funkcí tkání nebo orgánů člověka. Jedná se o aplikaci nanotechnologií v medicíně, kde napomáhají reprodukovat nebo nahrazovat poškozené tkáně pomocí vhodných scaffoldů vyrobených právě z nanomateriálů. Tkáňové inženýrství je slibnou oblastí nanotechnologií, která může nahradit stávající konvenční metody léčby, jako je transplantace nebo umělé implantáty. Scaffold syntetického nebo přírodního původu slouží jako nosič, matrice pro adhezi buněk, na které následně probíhá jejich proliferace a diferenciaci. Podmínky vhodného scaffoldu pro použití zahrnují: 1) přijatelný profil biokompatibility a toxicity, schopnost podpory růstu a proliferace

buněk; 2) mechanické vlastnosti odpovídající vlastnostem tkáně v místě implantace nebo schopnost chránit buňky před nežádoucím tlakem a tahem bez inhibice vhodných biomechanických podnětů; 3) odpovídající rychlost degradace scaffoldu v závislosti na rychlosti regenerace tkáně; 4) schopnost vytvářet složité tvary s vhodnou pórovitostí (optimální pórovitost se pohybuje mezi 100–500  $\mu\text{m}$ ); 5) biologickou rozložitelnost, kdy je přednostně adsorbován okolními tkáněmi bez nutnosti chirurgického odstranění; 6) schopnost napodobit extracelulární matrici endogenní látky obklopující buňky, vázat je do tkání a poskytovat signály napomáhající buněčnému vývoji a morfogenezi. Slouží jako mechanická bariéra proti infiltraci okolních tkání, a proto je lepší vyvinout biologicky kompatibilní a rozložitelný scaffold [20][21].

Aby biomateriály řádně fungovaly, musí vykazovat určité vlastnosti. Výběr scaffoldu je velmi důležitý, jestliže je potřeba vytvořit tkáně nebo orgány se specifickými vlastnostmi. Jak již bylo zmíněno dříve, důležitými charakteristikami pro správný výběr je pórovitost, mechanická pevnost, biokompatibilita a imunitní tolerance materiálů. Na biodegradabilní materiály jsou kladeny přísnější požadavky, jelikož je nutné vzít v úvahu toxicitu látek, které vznikají během jejich rozkladu. Pro klinické použití je možné použít pouze několik syntetických látek, např. polyglykolid, polylaktid, polykaprolakton, polydioxanon. Většina scaffoldů je vyráběna z přírodních nebo syntetických polymerů, ale v případě tvrdých tkání, jako jsou kosti a zuby, převažují různé druhy keramiky (např. sloučeniny fosforečnanu vápenatého). Jako biopolymerní materiály lze použít polysacharidy zahrnující chitosan, kyselinu hyaluronovou, škrob nebo alginát anebo proteiny jako kolagen, hedvábí, želatinu, fibrin aj. [20][21].

Regenerace pokožky je důležitým aspektem tkáňového inženýrství, zejména u rozšířených popálenin třetího stupně. Biokompatibilní, biologicky rozložitelné a injekční sloučeniny mohou sloužit jako jakési dočasné kostry pro přizpůsobení a stimulaci růstu nových tkání. Hydrogely získané z přírodních proteinů a polysacharidů jsou ideálními scaffoldy, protože připomínají extracelulární matrice tkáně složené z různých aminokyselin a makromolekul na bázi sacharidů [22].

## 2 MATERIÁLY PRO PŘÍPRAVU OBALŮ A FILMŮ

Obalové materiály jsou tvořeny převážně polymery (70–99 %) a dále také obsahují různé množství přísad, jako jsou změkčovadla, antioxidanty, pigmenty, antistatické látky, plniva aj. Tyto chemické látky jsou nezbytné pro zajištění očekávané funkčnosti. Všechny výchozí látky jakož i hotové obaly musí být schváleny kontrolními orgány na základě jejich chemických a toxikologických vlastností [23].

Složení obalů a filmů musí zahrnovat alespoň jednu komponentu, která je schopna vytvořit dostatečně soudržnou a spojitou matici. Jedná se o syntetické makromolekuly, z nichž je vyráběna převážná většina obalových materiálů, anebo přírodní biopolymery, které jsou lépe biologicky rozložitelné [6]. V případě výroby jedlých filmů a obalů je nutné, aby všechny složky byly bezpečné a vhodné pro potraviny (Tab. 1).

Tab. 1 Přehled materiálů používaných k výrobě jedlých filmů a obalů [5][24]

Funkční kompozity	Materiál
Filmotvorné materiály	<i>Proteiny</i> : kolagen, keratin, želatina, kasein, kukuřičný zein, pšeničný protein a lepek, sójový, syrovátkový, hrachový a arašídový protein.
	<i>Polysacharidy</i> : škrob a modifikovaný škrob, celulóza a modifikovaná celulóza (MC, karboxymethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza), alginát, karagenan, pektin, chitosan, xantánová guma.
	<i>Lipidy</i> : vosky (včelí, karnaubský, kandelitový), parafín, pryskyřice (šelak, terpeny), acetoglyceridy.
Změkčovadla	Glycerol, sorbitol, propylenglykol, PEG, kukuřičný sirup, sacharóza, voda.
Funkční aditiva	Antioxidanty, antimikrobika, živiny, nutraceutika, farmaka, příchutě, barviva.
Ostatní aditiva	Emulgátory (lecitin, Tween, Span), lipidové emulze (jedlé vosky, mastné kyseliny).

## 2.1 Polymery

Struktura polymeru je velmi závislá na použitých polymerizačních metodách a iniciátorech. Existuje mnoho faktorů, které mají vliv na daný polymer: [2]

- typ použitého monomeru,
- takticita (uspořádanost substituentů v molekule),
- způsob polymerizace monomeru,
- stupeň krystaličnosti polymeru,
- distribuce molekulové hmotnosti v polymeru,
- orientace každého monomeru v kopolymeru,
- typ mezimolekulárních sil (inter- a intra-molekulární síly) v polymerní struktuře,
- přídavné látky v polymerní směsi, připravené ke zpracování na obaly.

### 2.1.1 Syntetické polymery

Ze skupiny syntetických polymerů jsou často využívány alkeny polyethyleny a polypropyleny. Jedná se o uhlovodíky, které obsahují pouze uhlík a vodík. Náhrada vodíku může vést ke vzniku polymeru s velmi odlišnými vlastnostmi. Např. nahrazení atomu vodíku atomem chlóru vede k vytvoření polymeru s výrazně lepší plynovou bariérou a sníženou vlhkostní bariérou. Výsledný polymer se nazývá polyvinylchlorid (PVC) [2].

#### *Polyethylen*

Ethen (ethylen) je nejjednodušší alken, ve kterém jsou monomery kovalentně spojeny do dlouhých řetězců a to díky dvojně vazbě v molekule. Může polymerizovat adičním mechanismem (řetězovou polymerací) a vzniklý produkt je nazýván jako polyethylen (PE). V závislosti na podmínkách polymerizace (tlak a teplota) a použitých katalyzátorech lze modifikovat morfologii a hustotu vyráběného PE [23].

Nejčastější typy polymerů používané pro obaly potravin jsou HDPE, LDPE a LLDPE. Vzájemně se liší hustotou, rozvětvením řetězce, krystaličností, mechanickými, optickými a bariérovými vlastnostmi. HDPE má ve srovnání s LDPE lepší chemickou odolnost, vyšší bod tání, větší pevnost v tahu a tvrdost. LDPE je měkký, pružný a roztažitelný, navíc je čirý a vykazuje termoizolační vlastnosti, proto je běžně používán jako vnitřní vrstva vícevrstvých struktur. LLDPE je kopolymer obsahující 1–10 % ostatních alkenových



monomerů. Má podobnou čírost a termoizolační vlastnosti jako LDPE a zároveň pevnost a houževnatost jako HDPE. Nastavením parametrů polymerizačního procesu je možné vyrábět LLDPE filmy s vynikajícími tepelnými, optickými a mechanickými vlastnostmi [23].

### ***Polypropylen***

Polypropylen (PP) má podobné fyzikální a chemické vlastnosti jako PE. Ve srovnání s PE má velmi nízkou hustotu a díky svému izotaktickému polymernímu řetězci dobrou čírost. Dále PP vykazuje vyšší pevnost v tahu, tuhost, tvrdost a teplotu tání. PP filmy jsou dostupné v orientovaných nebo neorientovaných formách. Orientované polypropylenové filmy mají výrazně zlepšenou pevnost, tuhost, plynovou bariéru a nevykazují termoizolační vlastnosti [23].

### ***Poly(vinyl alkohol)***

Poly(vinyl alkohol) neboli PVA je termoplastický polymer, který je syntetizován hydrolyzou z prekurzoru polyvinylacetátu. Rozkládá se působením biologických mikroorganismů a je vysoce rozpustný ve vodě. Fyzikální a chemické vlastnosti PVA jsou závislé na stupni hydrolyzy a molekulové hmotnosti. Jedná se o tvárný a vysoce pružný polymer, který má vynikající vlastnosti plynové bariéry a pevnost v tahu. Tento biopolymer je schopný se chemicky navázat na povrch materiálů a snadno se zadržovat na vodním povrchu. PVA je netoxický a biologicky rozložitelný polymer, který je využíván pro balení potravin. Má také uplatnění v biomedicínských odvětvích, např. chirurgické nitě, kontaktní čočky, obvazování ran a jako nosič aktivní látky v lécích [25].

## **2.1.2 Přírodní polymery - polysacharidy**

Všechny typy polysacharidů, jejichž monosacharidové jednotky jsou navzájem propojeny  $\beta$ -(1,4) glykosidovými vazbami, se vyznačují velmi dobrou schopností vytvářet filmotvorné roztoky a filmy. Ačkoliv většina sacharidů vykazuje neutrální náboj, výskyt relativně velkého počtu hydroxylových nebo jiných hydrofilních skupin ve struktuře naznačuje, že vodíkové vazby mohou hrát významnou roli při tvorbě filmů a následně jejich vlastnostech [24][26].

Polysacharidy jsou obecně velmi hydrofilní, a tudíž filmy a povlaky mají špatné bariérové vlastnosti pro vodní páru a plyny. Filmy na bázi polysacharidů tedy neposkytují dobré bariérové vlastnosti, mohou naopak sloužit jako látky zpomalující ztrátu vlhkosti

v potravinářských výrobcích. Nejčastěji používané polysacharidy pro přípravu filmů a obalů jsou deriváty celulózy, chitosanu, škrobu, alginátu, karagenanu a pektinu, pro své dobré vlastnosti při tvorbě filmu [3][4].

### *Celulóza a deriváty celulózy*

Rozpustnost celulózy ve vodě lze zvýšit jejím zpracováním. Nejprve za použití alkálií dojde k nabotnutí struktury a následnou reakcí s kyselinou chloroctovou, methylchloridem nebo propylenoxidem dochází ke vzniku karboxymethylcelulózy, methylcelulózy (MC) nebo hydroxypropylcelulózy (HPC). Filmy tvořené těmito deriváty jsou obecně bez chuti a zápachu, pružné a mají střední pevnost, jsou odolné vůči tukům a olejům, ve vodě rozpustné a průměrně odolné vůči vlhkosti a přenosu kyslíku [4].

Z derivátů celulózy vykazuje MC nejlepší filmotvorné vlastnosti, má vysokou rozpustnost (ve srovnání se samotnou celulózou) a vzniklé filmy mají účinné bariérové vlastnosti vůči kyslíku a lipidům [3].

Derivát na bázi etheru celulózy jako je sodná sůl karboxymethylcelulózy se používá jako činidlo schopné třídít velikosti částic a hraje tak významnou roli při přípravě jednotné koloidní suspenze s vodou v tiskových a barvicích aplikacích [25].

### *Chitosan*

Chitosan je získáván deacetylací chitinu, skládá se z D-glukosaminu a N-acetyl-D-glukosaminu. Rozložení těchto jednotek závisí na způsobu přípravy chitosanu. Stupeň deacetylace se pohybuje v rozmezí 40–98 % a molekulová hmotnost od  $5 \cdot 10^4$  do  $2 \cdot 10^6$  Da. Také je považován za materiál s vysokým potenciálem využití a to díky reaktivním aminoskupinám a hydroxylovým skupinám [27].

Filmy na bázi chitosanu vykazují velmi vysokou nepropustnost vůči různým plynům v jejich dehydratované formě. Propustnost chitosanového filmu závisí na různých parametrech, jako je stupeň deacetylace a hydratace nebo krystaličnosti. Vykazují také selektivní propustnost některých plynů a jsou účinné při pervaporaci směsí alkohol-voda [26].

Mechanické vlastnosti chitosanových filmů jsou závislé na různých parametrech, jeden z nejdůležitějších je obsah vody, dále např. struktura kyseliny použité pro přípravu filmotvorného roztoku. Povaha interakcí, koncentrace chitosanu a použité kyseliny mohou ovlivnit konformaci polymerních řetězců při tvorbě filmu a v důsledku i hustotu zapletenin

řetězců v pevném stavu. Zhutnění materiálu vede ke snížení molekulární mobility, která je zodpovědná za zvýšení elastického modulu [26].

Chitosan vytváří stabilní, pružné, semipermeabilní filmy, které mohou být použity jako obalové materiály pro prodloužení trvanlivosti potravinářských produktů. Díky svým bariérovým vlastnostem mohou filmy zabránit ztrátě vlhkosti, zachovat barevné a chuťové vlastnosti produktu, zlepšit mikrobiální kvalitu a tím prodloužit trvanlivost, např. různých druhů ovoce a zeleniny. Místo balení již hotovým filmem je možné provést namáčení produktů ve zředěném roztoku chitosanu a kyseliny octové. Tato technika umožňuje začlenit přídatné látky jako vitamín E, oleoresin, ionty Ca a K [27]. Problematika chitosanových filmů bude podrobněji rozepsána v samostatné kapitole 4.

### ***Škrob a deriváty škrobu***

Škroby jsou používány k výrobě biologicky rozložitelných fólií, které částečně nebo zcela nahrazují syntetické polymery a to z důvodu nízké ceny a dobrým mechanickým vlastnostem výsledných obalů [4].

Aplikace škrobových povlaků v potravinářství představuje perspektivní přístup, zejména díky jejich environmentální příznivosti, flexibilitě a transparentnosti. Jedlé filmy vyrobené ze škrobu jsou průhledné, bez chuti a zápachu, čímž zabraňují změně chuti a vzhledu potravinových výrobků. Pevnost v tahu a pružnost škrobových povlaků je dána pohyblivostí makromolekulárního řetězce v amorfní fázi, poměrem amylozy a amylopektinu, přítomností změkčovadla a obsahu vody. Hlavními výhodami těchto povlaků jsou vynikající bariérové vlastnosti vůči kyslíku a oxidu uhličitému. Za nevýhodu lze považovat slabší bariérové vlastnosti vůči vodě kvůli vysoké hydrofilitě škrobu [5].

Kukuřičný škrob je díky vysokému podílu amylozy schopen vytvářet samostatné filmy. Běžný kukuřičný škrob obsahuje přibližně 25 % amylozy a 75 % amylopektinu. Vyrábějí se však mutantní varianty kukuřice, které produkují škrob s obsahem až 85 % amylozy. Bylo zjištěno, že filmy vyrobené z kukuřičného škrobu s vysokým obsahem amylozy (71 %) neměly detekovatelnou propustnost kyslíku při relativní vlhkosti nižší než 100 %. Toto tvrzení platilo i pro filmy obsahující navíc 16 % glycerolu. Tento výsledek je překvapivý s ohledem na skutečnost, že přidávání změkčovadel a absorpce molekul vody hydrofilními polymery zvyšují mobilitu polymerního řetězce, což obecně vede ke zvýšené propustnosti plynů [4][28].

### 2.1.3 Proteiny

Proteiny jsou běžně používané materiály pro výrobu jedlých filmů a obalů. Jedná se o makromolekuly se specifickou sekvencí aminokyselin (AMK) ve struktuře, obsahují více než 100 AMK. Fyzikální a chemické vlastnosti proteinových filmů jsou ovlivněny složením AMK v řetězci, hustotou náboje, amfifilní povahou proteinů, dále pak denurací sekundární, terciární a kvartérní struktury, ke které může dojít v důsledku působení tlaku, tepla, ozáření, kyselin a zásad anebo rozpouštědel, solí iontů kovů, enzymů, mechanického poškození chemickou hydrolyzou nebo zesíťováním. Mezi faktory ovlivňující mechanické a bariérové vlastnosti (a tím i přítomnost disulfidových nebo vodíkových vazeb a hydrofobních interakcí) patří interakce mezi proteiny a malými molekulami, včetně vody, změkčovadel, lipidů a dalších přísad rozptýlených v matrici nebo fyzikální úpravy (změny teplot, ozařování) a enzymatické úpravy, to vše za účelem zlepšení vlastností filmů [5] [24][29].

Filmy tvořené proteiny jsou křehké a náchylné k praskání v důsledku silné soudržné energie polymeru. Síťování proteinů chemickou (glutaraldehyd, formaldehyd, glycerinaldehyd, glyoxal), enzymatickou (transglutamináza) nebo fyzikální (zahřívání, ozařování) úpravou je prováděno za účelem zlepšení bariéry proti vodním parám a zároveň i ke zlepšení mechanických vlastností a odolnosti vůči proteolýze filmů. Ve srovnání se syntetickými materiály vykazují proteinové filmy špatnou odolnost vůči vodě a nižší mechanickou pevnost. Přesto jsou proteiny obecně lepší než polysacharidy z důvodu schopnosti vytvářet filmy s dobrými mechanickými a bariérovými vlastnostmi [5].

#### ***Kukuřičný zein***

Zein je protein získávaný z kukuřice a vyznačuje se jedinečnými vlastnostmi ve srovnání s ostatními zemědělskými proteiny (pšeničný, sójový) používanými pro jedlé filmy. Tři primární AMK nacházející se v kukuřičném zeinu jsou glutamin (21–26 %), leucin (20 %) a prolin (10 %). Díky tomuto složení je kukuřičný zein nerozpustný ve vodě, což je vlastnost, která ovlivňuje bariérové vlastnosti z něj připravených filmů. Na základě rozpustnosti, molekulové hmotnosti a rozdílů nábojů lze zein rozdělit do tří proteinových frakcí:  $\alpha$ -zein, který je rozpustný v 95% ethanolu a tvoří přibližně 75–85 % celkového zeinu, zatímco  $\beta$ -zein (10–15 %) je rozpustný v 60% ethanolu a  $\gamma$ -zein (5–10 %) [29][30].

Obecně platí, že zeinové filmy vykazují (ve srovnání s jinými jedlými filmy na bázi proteinů) relativně dobrou odolnost vůči vodě, ale jsou horší ve srovnání se syntetickým

LDPE (nízkohustotní polyethylen) a polyvinylalkoholem. Filmy jsou příliš křehké a ke zvýšení jejich flexibility je nutné použít změkčovadla neboli plastifikátory. Jako změkčovadlo lze použít glycerol, PEG, polypropylenglykol, ale také mastné kyseliny (olejovou, stearovou, laurovou). Inkorporací hydrofobních změkčovadel navíc dojde ke snížení propustnosti pro vodní páry [29].

Zeinové filmy se zpravidla odlévají z roztoků alkoholu, acetonu nebo isopropanolu s použitím plastifikátorů. Vznikají tak lesklé, houževnaté filmy s nízkou propustností pro vodní páry. Komerčně jsou využívány pro ve zdravotnictví pro tvorbu povlaků tablet a mají velký potenciál pro výrobu biologicky rozložitelných obalů (ořechy, cukrovinky). Nízká propustnost kyslíku a mechanická odolnost zeinových filmů vedly k vývoji recyklovatelného křídového papíru [29][30].

## 2.2 Směsi polymerů

Biopolymerní filmy a obaly mohou být heterogenní povahy a skládat se ze směsi polysacharidů, proteinů nebo lipidů, a jiných polymerů. Tyto filmy jsou označovány jako kompozitní a připravují se tak, aby se zkombinovaly výhody každé příslušné složky. Běžné kombinace biopolymerů pro tvorbu filmů jsou: proteiny/sacharidy, proteiny/lipidy, sacharidy/lipidy nebo směs syntetických polymerů a biopolymerů [4].

Cílem kombinace přírodních a syntetických polymerů je vytvořit směs s jedinečnými strukturálními a mechanickými vlastnostmi. Jednotlivé složky lze kombinovat v roztaveném stavu (nevýhodou je možná denaturace proteinů za vysokých teplot), anebo je lze rozpustit v příslušném rozpouštědle. Vzhledem k tomu, že mnoho biopolymerů je nerozpustných v běžných rozpouštědlech, je nutné získat rozpustný derivát přírodního polymeru nebo makromolekulu hydrolyzovat na kratší řetězce, které jsou obvykle rozpustné ve vodě. Při přípravě směsných roztoků je třeba brát v úvahu interakce mezi přírodními a syntetickými polymery [31].

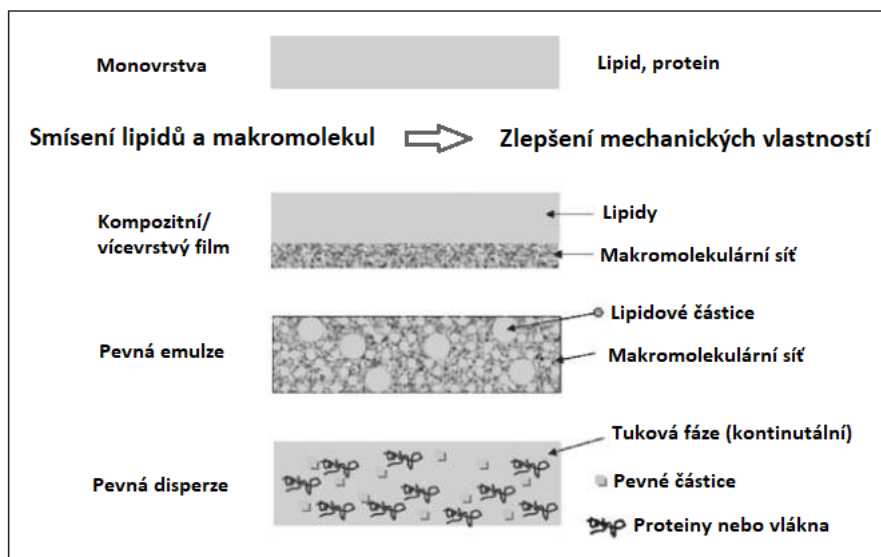
Syntetické polymery jsou náchylnější k mikrobiálnímu napadení, jestliže se nacházejí společně ve směsi s biopolymery. Biologickou rozložitelnost syntetických polymerů je tedy možné urychlit přidáním složek, které jsou následně asimilovány mikroorganismy. V současnosti jsou na trh dodávány výrobky na bázi škrobu [6].

Polymerní film tvořený matricí na bázi polyethylenu (PE) a škrobu je považován za první biologicky rozložitelný plast. Biodegradace škrobu vyvolaná mikrobiálními enzymy

snižuje mechanické vlastnosti materiálu, zvyšuje rozhraní syntetického polymeru s okolím (kyslík, voda aj.) a tím stimuluje chemickou degradaci (autooxidaci) syntetické fáze. Špatná kompatibilita škrobu a PE oslabuje mechanické vlastnosti materiálu, čímž je zároveň omezen obsah škrobu, který může výsledný film obsahovat (až 43 %). Mechanické vlastnosti biodegradabilních filmů vyrobených ze směsi syntetického polymeru a škrobu závisí na obsahu škrobu, kompatibilitě mezi hydrofobním syntetickým polymerem a hydrofilním biopolymerem a přítomnosti dalších látek. Vyšší obsah škrobu vede ke snížení pevnosti vpichu a roztažnosti filmů [6].

Kompozitní filmy lze připravit i kombinací přírodních polymerů a dalších látek. Podobně jako u vícevrstvých kompozitních plastových filmů mohou být z biopolymerů připraveny vícevrstvé kompozitní filmy či obaly, jako proteinová vrstva na polysacharidovém filmu nebo lipidová vrstva na proteinovém nebo polysacharidovém filmu. Kompozitní filmy lze také vytvořit smícháním dvou nebo více biopolymerů, což vede ke vzniku jedné homogenní vrstvy filmu [24]. Mezi nejčastěji používané látky pro přípravu kompozitních filmů patří: celulóza a škrob a jejich deriváty, pektin, chitosan, algináty a karagenan. Tyto látky jsou často kombinovány s kyselinou stearovou nebo palmitovou, včelím voskem, monoacylglyceroly a lecitiny.

Kombinací polysacharidů a lipidů lze získat filmy a povlaky se specifickými vlastnostmi. Lipidy přispívají ke zlepšení odolnosti obalů vůči propustnosti pro vodní páry, zato hydrokoloidy jim poskytují selektivní propustnost pro kyslík a oxid uhličitý, delší trvanlivost, strukturální soudružnost a integritu. Hlavním cílem aplikace kompozitních obalů je zlepšit propustnost nebo mechanické vlastnosti tak, jak vyžadují konkrétní aplikace. Tyto heterogenní filmy na bázi lipidů jsou aplikovány ve formě emulze, suspenze, jako disperze vzájemně nemísitelných složek, ve formě vícevrstvých filmů a obalů nebo ve formě roztoku s běžným rozpouštědlem (Obr. 5). Způsob, jakým je suspenze homogenizována, ovlivňuje její stabilitu a následně i charakter připraveného filmu. Vysoká stabilita emulze vede k lepší distribuci lipidových částic. Způsob aplikace ovlivňuje bariérové vlastnosti získaných filmů [3][4][32].



Obr. 5 Struktura kompozitních filmů na bázi lipidů [3]

Při tvorbě kompozitních filmů jsou často kombinovány lipidy s hydrokoloidy, začleněním lipidů přímo do filmotvorného roztoku (emulzní technika), anebo „položení“ lipidové vrstvy na předem vytvořený hydrokoloidní film za účelem získání dvojevrstvy [3][33].

### 2.3 Změkčovadla

Filmy, které jsou tuhé a křehké, se v praktických aplikacích potýkají s řadou omezení. Ke zlepšení zpracovatelnosti, mechanických vlastností a flexibility těchto filmů lze využít přídavek hydrofilních nebo hygroskopických plastifikátorů, které jsou schopny navázat molekuly vody interakcí biopolymer/plastifikátor. Přidání změkčovadel ovlivňuje nejen pružnost a další mechanické vlastnosti, ale také odolnost jedlých filmů a povlaků vůči pronikání vodních par a plynů. Působením změkčovadel dochází k narušení asociace polymerních řetězců, což vede ke snížení tuhosti polymerní sítě a tvorbě méně uspořádané struktury [3][5].

Hydrofilní sloučeniny, jako jsou polyoly (glycerol, sorbitol), PEG, triethylenglykol, propylenglykol, glukóza, sacharóza a monoglyceridy, jsou běžně používány jako změkčovadla ve filmech či obalech hydrofilní povahy k úpravě jejich mechanických vlastností. Jedná se o nízkomolekulární sloučeniny, které jsou přidávány za účelem změkčit tuhou strukturu filmů. Jsou běžnou součástí biopolymerních filmů a zlepšují jejich mechanické, bariérové a fyzikální vlastnosti. Tyto sloučeniny musí být kompatibilní s polymery tvořící filmy a zároveň musí snižovat intermolekulární síly a zvyšovat

pohyblivost polymerních řetězců. Lipofilní sloučeniny jako rostlinné oleje, lecitin, v menší míře pak mastné kyseliny (olejová, palmitová, stearová nebo linolová) mohou rovněž působit jako emulgátory a změkčovadla. Fyzikálně-chemické a bariérové vlastnosti polymerních sítí jsou ovlivněny koncentrací a molekulovou hmotností změkčovadla, obsahem vody ve filmu, pevností filmu a také typem interakcí polymer/polymer a polymer/změkčovadlo [3][29][34][35].

### 2.3.1 Změkčovadla proteinových filmů a obalů

Proteinové filmy a obaly jsou poměrně tuhé a křehké v důsledku rozsáhlých interakcí mezi proteinovými řetězci prostřednictvím vodíkových vazeb, hydrofobních, anebo disulfidových vazeb. Tyto filmy musí mít dobrou pevnost a pružnost, aby nedošlo k popraskání při jejich manipulaci a skladování. Přidáním změkčovadla s relativně nízkou molekulovou hmotností dojde ke snížení vzájemné interakce mezi řetězci, snížení teploty skelného přechodu proteinu a zvýšení flexibility filmu (zvýšení elongace a naopak snížení pevnosti). Obecně změkčovadla snižují bariérové vlastnosti vůči působení vlhkosti, kyslíku, aromat a olejů. Voda je nejučinnějším změkčovadlem pro proteinové filmy. Obsah vlhkosti ve filmu je také ovlivněn relativní vlhkostí okolního prostředí, která má velký vliv na jeho vlastnosti. Účinnost změkčovadla závisí na třech věcech a tou je velikost, tvar a jeho kompatibilita s proteinovou maticí [3][36].

Typ a množství změkčovadla, ovlivňuje interakce mezi proteinovými molekulami s výsledným účinkem na vlastnosti filmu. Plastifikátor je přidáván za účelem snížit tuhost filmu a zvýšit jeho prodloužení při přetržení (modul pružnosti E) [36].

Bylo prokázáno, že významnou roli hraje skupenství použitého změkčovadla. Některá pevná změkčovadla mohou působit negativně a snižovat flexibilitu matrice a zvyšovat propustnost [37].

### 2.3.2 Změkčovadla polysacharidových filmů a obalů

Jedlé filmy vyrobené z polysacharidů rozpustných ve vodě jsou pevné, kompaktní a zároveň poskytují obalu křupavost.

Často se využívají neionické deriváty celulózy, které vykazují dobré filmotvorné vlastnosti a díky své lineární struktuře základního polymerního řetězce poskytují pevné a pružné transparentní filmy. Jejich plasticitu je nutné upravit přidáním polyglykolů, glycerolu nebo propylenglykolu. Většina plastifikátorů používaných v biopolymerních filmech (polyoly),



slouží jako silná rozpouštědla pro aromatické složky a proto jsou široce používány jako tekuté nosiče aromat a dochucovadel v potravinářském průmyslu [29].

## 2.4 Aktivní látky

Za účelem výroby funkčních obalů mohou být do filmtvorných roztoků přidány také antioxidanty nebo antimikrobiální látky. Výsledné filmy a povlaky poté slouží k inhibici patogenních bakterií a tím ke zpomalení kažení potravin udržováním účinných koncentrací aktivních látek na povrchu potraviny. Existuje řada antimikrobiálních látek, které lze potenciálně zabudovat do jedlých filmů: organické kyseliny (octová, benzoová, mléčná, propionová, sorbová), estery mastných kyselin (glycerol monolaurát), polypeptidy (lysozom, peroxidáza, nisin, laktoferin), rostlinné EO (skořice, oregano, citronová tráva) mimo jiné také dusitany a siřičitany. Aktivní funkce jedlého filmu a obalu chrání potravinářské výrobky před oxidací a mikrobiálním znehodnocením, což vede ke zlepšení organoleptických vlastností a celkovému zvýšení kvality [3][5].

### 2.4.1 Antioxidanty

Tvorba volných radikálů je přirozeným jevem probíhajícím v biologických a potravinových systémech. Antioxidanty jsou skupinou chemických látek sloužících k oddálení nebo zpomalení rychlosti průběhu oxidační reakce. Tyto látky se mohou vyskytovat jako přirozená součást tuků a olejů, anebo mohou být do nich záměrně přidávány. Antioxidanty se v této době staly nepostradatelnou skupinou potravinářských aditiv, zejména pro svou schopnost prodloužit životnost produktů, aniž by došlo k poškození smyslových nebo nutričních vlastností. Antioxidanty lze klasifikovat podle několika kritérií, a to podle původu na přírodní, syntetické (terc-butyhydrochinon (TBHQ), butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT)) a přírodně identické (tokoferoly, kyselina askorbová). Podle mechanismu účinku na primární (tokoferoly, galláty, vanillin, eugenol) a sekundární (cystein, methionin, dilaurylthiopropionáty) antioxidanty, sloučeniny reagující s kyslíkem přímo, enzymatické oxidanty (kyselina askorbová, sulfáty), chelatující a maskující činidla (polyfosfáty, lecitin, kyselina citronová, ethylendiamintetraoctová kyselina (EDTA)). Další příklady antioxidantů jsou dusitany, AMK, flavonoidy, vitamín A,  $\beta$ -karoten, Zn nebo Se [38][39].

Antioxidanty vhodné pro použití v potravinách či kosmetice musí splňovat několik důležitých požadavků. Musí být netoxické, rozpustné v tucích, nesmí ovlivňovat jejich

organoleptické vlastnosti (barva, vůně nebo chuť) při skladování produktu po dobu nejméně 1 rok při teplotě 25–30 °C. Dále musí být stabilní a schopné zachovat si antioxidační účinky i po tepelném zpracování při výrobním procesu a zajistit tak ochranu hotového výrobku, snadno zabudovatelné a účinné již při nízkých koncentracích. Důležitým aspektem je také cena [38][39].

#### 2.4.2 Antimikrobiální látky

Antimikrobiální látky jsou schopny zabránit růstu mikroorganismů a někdy bývají označovány jako konzervanty. Začlenění antimikrobiálních sloučenin do jedlých filmů a obalů představuje způsob, jak zlepšit bezpečnost potravin určených k přímé spotřebě. Mezi nejčastěji používané konzervanty a antimikrobiální látky se řadí benzoáty, propionáty, sorbáty, parabeny a organické kyseliny, konzervační činidla (NaCl, NaNO<sub>2</sub>), bakteriociny (nisin, pediocin). Hlavními zdroji přírodních antimikrobiálních sloučenin jsou sekundární metabolity rostlinného původu (esenciální oleje a fytoalexiny), mikroorganismy (bakteriociny a organické kyseliny) a zvířata (lysozom z vajec nebo laktoferin z mléka). Byla prokázána vyšší účinnost antimykotických sloučenin při jejich zpracování do jedlých gelů připravených ze škrobu, karagenanu, vosků, etherů celulózy a alginátu. Mezi antimykotické sloučeniny patří různé druhy organických kyselin, sorbát draselný, bakteriociny [3][29].

#### 2.4.3 Enzymy

Některé enzymy mohou vykazovat antimikrobiální účinky. Tyto enzymy jsou navázány na vnitřní povrch filmů určených pro přímý styk s potravinami, které produkují mikrobiální toxiny. Jako příklad lze uvést mikrobiální enzym glukózaoxidáza, který se řadí do třídy oxidoreduktáz a slouží k odstraňování zbytku O<sub>2</sub> a glukózy a také k výrobě kyseliny glukonové. Katalyzuje reakci β-D-glukózy a O<sub>2</sub> a vznikající peroxid vodíku, poté slouží jako silné antimikrobiální činidlo [14][40].

Lysozom a laktoperoxidáza jsou široce studované antimikrobiální enzymy izolované z různých přírodních zdrojů např. mléka. Lysozom je schopný hydrolyzovat β(1→4) glykosidové vazby mezi N-acetylmuramovou kyselinou a N-acyetylglukosaminem, které se nachází v peptidoglykanových buněčných stěnách grampozitivních a gramnegativních bakterií. Ztráta strukturální integrity buněčných stěn způsobí rozpad bakteriálních buněk. Lysozom je méně účinný proti grampozitivním bakteriím. Laktoperoxidáza katalyzuje oxidaci thiokyanátového iontu a vytváří oxidační produkty, které jsou schopné inhibovat

mikroorganismy oxidací thiolových skupin mikrobiálních enzymů a jiných proteinů, což vede ke strukturálnímu poškození cytoplazmatických membrán a dochází k úniku iontů draslíku, AMK a peptidů z mikrobiálních buněk [15].

Inkorporací lysozomu do chitosanových obalů vedlo ke zvýšení jejich antimikrobiální aktivity proti bakteriím *Escherichia coli* a *Streptococcus faecalis*. Navíc bylo prokázáno, že chitosanové obaly obsahující sorban draselný vykazují dobrou antimykotickou aktivitu proti růstu *Cladosporia* a *Rhizopus* [41].

#### 2.4.4 Esenciální oleje

Esenciální oleje (EO) se staly nedílnou součástí každodenního života. Lze je nalézt v potravinách, jako přísady v krmivech a jsou důležité složky parfémů a kosmetiky. Využití našly také ve farmacii, balneologii či aromaterapii. V posledních letech vzrostl význam EO jako biocidů a repelentů proti hmyzu díky jejich antimikrobiálnímu potenciálu [42].

Esenciální oleje jsou komplexní směsi těkavých sloučenin produkovaných živými organismy, izolované z celé rostliny, části nebo jejího plodu. Hlavní složkou rostlinných éterických olejů jsou terpeny složené z jednotek isoprenu. Podle počtu isoprenových jednotek jsou terpeny rozdělovány na hemiterpeny ( $C_5$ ), monoterpeny (2 isoprenové jednotky,  $C_{10}$ ), seskviterpeny (3 isopreny,  $C_{15}$ ), diterpeny (4 isopreny,  $C_{20}$ ) až polyterpeny. Obecně platí, že pouze ty s 5–15 atomy uhlíků jsou dostatečně těkavé, aby byly složkami EO. Terpeny jsou známé pro své analeptické, antibakteriální, protiplísňové, protinádorové a sedativní účinky [42].

Esenciální oleje jsou často začleňovány do biopolymerních filmů a povlaků proto, že kromě své schopnosti zamezovat průchodu vodních par vykazují další charakteristické vlastnosti, jako jsou antimikrobiální a antioxidační účinky. Tyto přírodní extrakty jsou v dnešní době velice perspektivní také v důsledku snahy snižovat obsah chemických přísad v potravinách [3][43].

#### *Antimikrobiální vlastnosti esenciálních olejů*

Mnoho druhů koření a bylin vykazuje antimikrobiální aktivitu. Bylo zjištěno, že nejúčinnější proti mikroorganismům byly EO z hřebíčku, skořice, rozmarýnu šalvěže a vanillinu. Důraz je také kladen na široce studované odrůdy bylin včetně bazalky, oregana a tymiánu a jejich EO, vzhledem k tomu, že je lze přidávat do potravin, nebo připravit tzv. aktivní obaly potravin přimícháním do polymerních filmů [44].

Použití EO jako konzervantů v potravinách je omezeno jejich senzoryckými vlastnostmi. Jejich enkapsulací lze zabránit změně chuti potraviny. Jednou z technik, kterou lze použít, je inkorporace oleje do polymerního filmu. V tomto případě může EO fungovat také jako změkčovač. Uvolnění antimikrobiálních látek z takových filmů závisí na mnoha faktorech, včetně elektrostatických interakcí mezi antimikrobiální látkou a polymerními řetězci, strukturálních změn vyvolaných přítomností těchto látek a na podmínkách prostředí. Bylo také zjištěno, že začleněním EO do filmů ve srovnání s jejich přímým použitím je zapotřebí daleko menšího množství, aby bylo dosaženo potřebné doby trvanlivosti, v důsledku postupného uvolňování účinné složky z filmu na povrch potraviny [45].

Byla prokázána účinnost EO k inhibici mikroorganismů nacházejících se v ústní dutině, proto se používají do řady komerčních přípravků př. kloktadla a ústní pasty. Byla také prokázána aktivita EO vůči bakteriím způsobujícím zánětlivá onemocnění dásní a zubní kazy [42].

#### ***Esenciální olej extrahovaný z tymiánu***

Mezi monoterpeny nacházející se ve vysokých koncentracích zejména v EO z listů rostliny *Thymus vulgaris* neboli Tymjánu obecném patří kamfen, karvakrol, *p*-cymen nebo thymol. Kamfen je monoterpen, který se na základě jeho expektoračních, spasmolytických a antimikrobiálních účinků používá při léčbě kašle a infekcí dýchacích cest. Karvakrol je monoterpenický alkohol, který se vyskytuje v rostlině v koncentracích 3–5 % a používá se jako přísada do řady potravin a nápojů. Thymol se může nacházet v oleji v koncentraci až 70 %. Jedná se o monoterpen, který je z důvodu antiseptických vlastností primární složkou moderních komerčně dostupných receptur na ústní vody, a lze jej nalézt také v řadě potravin a nápojů [42].

### 3 VÝZNAM POVRCHOVĚ AKTIVNÍCH LÁTEK

Povrchově aktivní látky (PAL) jsou chemikálie, s nimiž se setkáváme denně. Jsou přítomny v potravinách a obalech potravin, produktech sloužících k čištění, v kosmetice, v textilním a farmaceutickém průmyslu a v mnoha dalších odvětvích průmyslu [46].

PAL neboli tenzid je organická látka, která je schopná se již při nízké koncentraci hromadit na fázovém rozhraní a tím významně snižovat povrchové napětí. Tenzidy jsou charakteristické svou tzv. amfifilní strukturou, což znamená, že se v jejich molekule nachází polární (hydrofilní) a nepolární (hydrofobní) část. Nejčastější dělení tenzidů je podle charakteru jejich hydrofilní složky a to na neionické, anionické, kationické a amfoterní. Lze je také dělit například podle hydrofilní a lipofilní složky, jejich aplikace nebo biologické rozložitelnosti [7].

Filmy a obaly rozpustné ve vodě obecně nemají dobré bariérové vlastnosti. Ke zlepšení těchto vlastností dojde tvorbou heterogenních obalů obsahujících hydrofobní částice uvnitř hydrofilní matrice. V tomto případě je nutné použít PAL ke stabilizaci rozptýlené fáze v polymerním roztoku před vysušením filmu nebo před nanesením obalu na povrch potraviny. Ve farmaceutickém průmyslu jsou, PAL důležitou součástí při přípravě léčiv ve formě roztoků, emulzí, disperzí, gelových tobolek nebo tablet. Jsou nezbytné při přípravě léků s postupným uvolňováním a při transdermálním dávkování. V některých případech jsou aktivní složkou přímo PAL [3][47].

PAL jsou často využívány pro usnadnění tvorby emulzí a jejich stabilizaci. Emulze je heterogenní disperzní systém složený ze dvou vzájemně nemísitelných nebo omezeně mísitelných kapalin. Je tvořena disperzním prostředím a dispergovanou fází, která je obvykle ve formě malých kapiček. V soustavě zároveň bývají přítomny látky, které jsou schopny zabránit koalescenci tzn. slévání dispergovaných kapiček. Podle polarity disperzního podílu a prostředí lze emulze rozdělit na O/V (olej ve vodě), kapky oleje jsou dispergovány ve vodě nebo vodném roztoku a V/O (voda v oleji), kdy jsou kapky vody rozptýleny v oleji [7][9].

Emulze jsou připravovány procesem tzv. emulzifikace, při kterém dochází k rozptýlení jedné fáze do druhé za použití homogenizátoru. Aby došlo ke smísení kapalin a tvorbě emulze je nutná přítomnost třetí složky, která systém stabilizuje tzv. emulgátor [7].

Podle velikosti částic dispergované fáze lze emulze rozdělit na tři typy. Emulze s největší velikostí částic se nazývají makroemulze. Jedná se o mléčné termodynamicky nestabilní

emulze, jejichž velikost částic se zpravidla pohybuje od 100–1000 nm. Mikroemulze jsou transparentní a termodynamicky stabilní, jejich velikost částic je v rozmezí od 10–100 nm. Nanoemulze jsou transparentní a kineticky stabilní emulze s velikostí částic od 50–200 nm [7].

Emulgátor vytváří na povrchu kapének adsorpční film s takovými mechanickými vlastnostmi, které brání koalescenci. Emulgátor musí být schopný se hromadit na rozhraní dvou fází a vytvářet soudržný elastický film. Povaha emulgátoru určuje zároveň i typ emulze. Obecně platí, že disperzní prostředí je tvořeno tou fází, k níž má použitý emulgátor za daných podmínek vyšší afinitu (lepší rozpustnost). Pro své použití jsou emulgátory vybírány na základě své hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB) [9].

Pro výrobu kompozitních filmů na bázi protein/lipid nebo polysacharid/lipid z vodného roztoku je často nutné přidat emulgátor, který umožní disperzi hydrofobní lipidové složky v roztoku, pro zlepšení stability emulze a distribuce částic v jedlých filmech připravovaných emulzní metodou. Některé proteiny jsou dostatečně povrchově aktivní, takže není nutné použít žádný emulgátor [29][36].

V praxi se lze setkat s přirozenými i uměle vytvořenými emulzemi v potravinářském a kosmetickém průmyslu, ve farmacii a zemědělství, v průmyslu plastických hmot a mnoho dalších oborech. V některých průmyslových odvětvích je tvorba emulze nevídaným jevem, např. při zpracování ropy. Emulgátory mohou být použity ke zlepšení přilnavosti potravin a obalu nebo mezi dvěma vrstvami vícevrstvého filmu. Emulgátory také ovlivňují smyslové vlastnosti výrobku, jako je barva, vůně a požadovaná konzistence (např. plet'ová voda nebo krémová konzistence) [3][9][18].

### 3.1 Neionické povrchově aktivní látky

Neionické tenzidy nemají ve své struktuře náboj a jejich rozpustnost ve vodě je zajištěna pomocí funkčních skupin nacházející se v molekule. Tyto skupiny musí vykazovat vysokou afinitu k vodě, jako jsou aminoskupiny, etherické a hydroxylové skupiny. Mezi nejdůležitější výhody neionických PAL patří: výrazně nižší citlivost na přítomnost elektrolytů v systému, nižší vliv pH roztoku a schopnosti navrhnout požadovaný stupeň rozpustnosti v molekule kontrolou velikosti její hydrofilní skupiny. Pro většinu neionických tenzidů platí, že s rostoucí teplotou vody klesá jejich rozpustnost. Při určité teplotě dojde k zakalení původně čirého roztoku, tenzid přestává být mísitelný s vodou a tato skutečnost je označována jako tzv. bod zákalu [7][46][47].

Pojmem neionické PAL se obvykle rozumí deriváty ethylenoxidu nebo propylenoxidu s alkoholem obsahující aktivní atom vodíku. Dále sem patří alkylfenoly, estery sacharidů, alkanolamidy, oxidy aminů, mastné kyseliny, mastné aminy a polyoly. Estery mastných kyselin se sorbitanem jsou často ethoxylovány do různých stupňů. Estery a ethoxylované estery (známé jako Span, Tween atd.) tvoří velmi důležitou skupinu neionických látek pro použití v mnoha aplikacích, jako jsou potraviny, kosmetika a farmaceutika [46][47].

### 3.1.1 Charakteristika neionických tenzidů

#### *Hydrofilně-lipofilní rovnováha (HLB)*

K popisu schopnosti PAL stabilizovat emulzi je používána veličina, která se označuje jako hydrofilně-lipofilní rovnováha (HLB). Tato hodnota charakterizuje vzájemný vztah mezi hydrofilní a lipofilní částí PAL. Všechny emulgátory mají hydrofilní část, která je obvykle složena z funkční skupiny rozpustné ve vodě, a lipofilní část, která většinou obsahuje mastnou kyselinu nebo alkohol. Teorie hodnoty HLB je taková, že emulgátor s nízkou hodnotou HLB bývá rozpustný v oleji a látky s vysokou hodnotou jsou naopak rozpustné ve vodě. Pro tvorbu emulzí V/O jsou používány emulgátory s hodnotami HLB 4–6 a s hodnotami HLB 8–18 se využívají pro přípravu emulze O/V [9][48][49].

#### *Kritická micelární koncentrace (CMC)*

Amfipatické molekuly neionických tenzidů se obvykle skládají z relativně velké nepolární části, kterou představuje uhlovodíkový řetězec s několika polárními skupinami na jeho konci, jedná se většinou o hydroxylové nebo esterové skupiny. Tato struktura má za následek, že se při určité koncentraci začnou molekuly tenzidu shlukovat a dochází ke vzniku útvarů koloidní velikosti, tzv. micel. Zmíněná koncentrace, označována jako kritická micelární koncentrace (CMC), představuje nejvyšší koncentraci, při které je PAL v roztoku stále v molekulové formě. Jakýkoliv další přídavek tenzidu nad CMC způsobí jeho asociaci do micel. Pro vznik micel je také důležité, aby teplota roztoku byla vyšší než tzv. Krafftova teplota. Při nízkých teplotách dochází u neionických tenzidů ke snížení rozpustnosti a vzniku zákalu. Hodnoty CMC jsou závislé na typu tenzidu, jeho struktuře a vlastnostech hydrofobní a hydrofilní složky. S rostoucí koncentrací PAL v roztoku prudce klesá povrchové napětí, po dosažení CMC se jeho hodnota již téměř nemění [7][9].

### 3.1.2 Estery sorbitanu mastných kyselin (Span)

Sorbitanové estery MK jsou neionické lipofilní emulgátory s nízkou hodnotou HLB. Jeho hydrofilně/lipofilní vlastnosti závisí na stupni a typu esterifikované MK. Sorbitanové estery mastných kyselin jsou získávány esterifikací sorbitolu mastnou kyselinou. Sorbitol se řadí mezi polyoly, jehož vlastnosti jsou podobné vlastnostem glycerolu. Nejběžnějším sorbitanovým esterem je sorbitan monostearát. Sorbitanové estery stearové, laurové, olejové a dalších MK mohou dále reagovat s ethylenoxidem a produkovat polyoxyethylensorbitanové estery nebo polysorbáty, které mají větší využití v potravinách [50].

Tenzidy typu Span jsou obecně rozpustné nebo dispergovatelné v oleji a tvoří emulze V/O. Používají se pro své vynikající emulgační schopnosti v produktech osobní péče, v průmyslovém čištění, na povrchovou úpravu vláken, ochraně plodin, úpravě vody, v barvách a nátěrových hmotách, v mazivu a dalších průmyslových aplikacích [46]. Klasifikace a vlastnosti vybraných typů Spanů je uvedena v Tab. 2.

Tab. 2 Přehled fyzikálních vlastností tenzidu Span [50]

Obchodní název	Systematický název	Skupenství (25 °C)	HLB (± 1)
Span 20	Sorbitan monolaurát	Kapalina	8,6
Span 40	Sorbitan monopalmitát	Pevná látka	6,7
Span 60	Sorbitan monostearát	Pevná látka	4,7
Span 80	Sorbitan monoleát	Kapalina	4,3
Span 85	Sorbitan trioleát	Kapalina	1,8

### 3.1.3 Ethoxylované estery sorbitanu (Tween, polysorbáty)

Polysorbáty patří mezi nejvíce hydrofilní emulgátory a to díky svému dlouhému polyoxyethylenovému řetězci. Jedinečné vlastnosti každého polysorbátu jsou připisovány různým MK používaných na jejich výrobu. V závislosti na délce řetězce MK se mění i hodnota HLB. Polysorbát kyseliny laurové (Polysorbát 20) s nejkratší délkou řetězce má nejvyšší hodnotu HLB. S rostoucí délkou MK dochází ke snižování HLB. V tabulce jsou uvedeny hodnoty polysorbátů s delšími řetězci MK obsahující 20 jednotek ethylenoxidu. Typ a stabilita emulzí připravených pomocí polysorbátů silně závisí na teplotě, ačkoliv jsou považovány za hydrofilní, s rostoucí teplotou jejich hydrofilita klesá [50].



Polysorbáty mají ve srovnání se sorbitanovými monoestery větší potenciál při výrobě mikroemulzí v potravinářském průmyslu. Většina použití zahrnuje obohacování potravin aromatickými oleji, vitamíny nebo antioxidanty. Převážně jsou polysorbáty používány v mlékárenském průmyslu. Mléčné bílkoviny jsou silné emulgátory a v tomto případě se syntetický polysorbát přidává za účelem destabilizace systému. Bylo zjištěno, že největší účinek vykazoval Polysorbát 80 při nejnižší použité koncentraci [50]. Klasifikace a vlastnosti vybraných typů Tweenů je uvedena v Tab. 3.

Tab. 3 Přehled fyzikálních vlastností tenzidu Tween [50]

Další název	Obchodní název	Systematický název	Skupenství (25 °C)	HLB ( $\pm 1$ )
Polysorbát 20	Tween 20	Polyoxyethylen sorbitan monolaurát	Kapalina	16,7
Polysorbát 40	Tween 40	Polyoxyethylen sorbitan monopalmítát	Kapalina	15,6
Polysorbát 60	Tween 60	Polyoxyethylen sorbitan monostearát	Gel	14,9
Polysorbát 80	Tween 80	Polyoxyethylen sorbitan monoleát	Kapalina	15,0
Polysorbát 85	Tween 85	Polyoxyethylen sorbitan trioleát	Kapalina	11,0

### 3.2 Vliv neionických PAL na vlastnosti filmotvorných roztoků a filmů

V některých případech je přidávána PAL do filmotvorných roztoků za účelem zlepšit jejich texturu a schopnost depozice a rozestírání. Při nanášení vodného roztoku na hydrofobní povrch je vhodné přidat do polymerního roztoku emulgátor, právě kvůli snížení povrchového napětí a zvlhčení povrchu. Jestliže nedojde k důslednému zvlhčení povrchu, výsledná obalová vrstva nepřilne pevně k potravíně a podpovrchové bubliny mohou zničit vzhled výrobku.

Filmy připravené emulzní metodou by měly být kompatibilní se substrátem, na který mají být aplikovány, což znamená, že by neměl být nepříznivě ovlivněn vzhled, struktura, stabilita nebo chuť. Mezi nejdůležitější fyzikálně-chemické vlastnosti emulzí, které jsou používány pro výrobu filmů a obalů, patří viskozita, optické vlastnosti, stabilita, distribuce molekul [29].

### 3.2.1 Vliv na stabilitu emulze

Jestliže není disperzní soustava vhodným způsobem stabilizována, probíhají v ní různé procesy, které postupně vedou ke strukturálním změnám, snížení stupně disperzity, až nakonec dojde k rozpadu disperzní soustavy [9].

Kombinace emulgátorů s nízkou a vysokou hodnotou HLB obvykle vede ke vzniku stabilnější emulze, než při použití pouze jednoho druhu emulgátoru i přesto, že hodnota HLB je stejná jako u směsi. Díky podobné molekulární struktuře estery sorbitanu a polysorbáty vykazují synergické účinky. Bylo prokázáno, že při použití obou typů emulgátorů lze dosáhnout lepšího efektu a výsledkem je film s větší mechanickou pevností. Neionické polysorbátové emulgátory působí jako sterické stabilizátory. Objemné hydratované polyoxyethylenové řetězce se navzájem odpuzují a jsou udržovány van Der Waalsovými silami. Bylo prokázáno, že 20 molů ethylenoxidu použitých v polysorbátových produktech je minimum pro jejich efektivní stabilizaci. S větším počtem ethylenoxidu v řetězci asi 50–100 molů jsou účinky stabilizátoru daleko větší [50][51].

### 3.2.2 Vliv na mechanické vlastnosti

Vliv různých typů neionických PAL (konkrétně glycerol monostearátu, Tweenu 60 a 80) na pevnost v tahu a elongaci emulgovaného jedlého filmu složeného z kukuřičného škrobu a methylcelulózy obsahujícího kakaové máslo nebo sójový olej jako lipidovou složku byl sledován autory studie [52]. Mechanické vlastnosti se významně lišily v závislosti na složení filmu. Zvýšením celkového obsahu lipidů došlo ke snížení hodnoty pevnosti v tahu (TS). Při použití emulgátoru Tween 80 byly ovšem hodnoty TS prokazatelně vyšší a zároveň tyto filmy vykazovaly nejmenší pružnost.

Účinek skořicového esenciálního oleje, jako součást obalů na bázi chitosanu za přítomnosti emulgátoru Tween 80 a glycerolu byl zkoumán autory [44][53]. Bylo zjištěno, že přítomnost EO výrazně zvýšila hodnoty TS, antimikrobiální a antioxidační aktivitu, zatímco došlo ke snížení obsahu vlhkosti, rozpustnosti ve vodě, propustnosti pro vodní páry a prodloužení při přetržení. Aktivní složkou podílející se na antimikrobiálních a antioxidačních vlastnostech je především skořicový aldehyd (cinnamaldehyd), který zároveň poskytuje výraznou chuť a vůni spojenou se skořicí (využití v potravinách).

### 3.2.3 Vliv na smáčivost povrchu

Přilnavost většiny jedlých obalů na povrch ovoce je obecně špatná, kvůli jejich odlišné chemické povaze. Pro zlepšení smáčivosti a adhezi hydrofilních obalů jsou obvykle do obalů přidávány povrchově aktivní látky. Účinnost jedlých obalů závisí především na jejich hydrofilitě, která ovlivňuje tloušťku obalu a tím i bariérové a mechanické vlastnosti [29]. Bylo provedeno několik studií [54][55], ve kterých byl prokázán vliv Tweenu 80 na vlastnosti povrchového napětí chitosanových roztoků. Přidáním emulgátoru do roztoku došlo ke snížení povrchového napětí a zároveň ke zvýšení smáčivosti povrchu čerstvé zeleniny či ovoce. Roztíratelnost filmotvorného roztoku souvisí i s povrchovou energií substrátu (obalované potraviny), kterou lze stanovit měřením kontaktního úhlu.

## 4 CHITOSANOVÉ FILMY

Filmy a povlaky na bázi chitosanu jsou ve velké míře používány kvůli jeho schopnosti inhibovat růst bakteriálních a plísňových patogenů. Kromě svých antimikrobiálních účinků se pyšní dalšími výhodami, jako je biodegradabilita, biokompatibilita s lidskými tkáněmi a nulová toxicita.

### 4.1 Aplikace chitosanových filmů

Díky zmíněným vlastnostem mají chitosanové filmy a povlaky obrovský potenciál při uplatnění v potravinářském průmyslu. Nevýhodou je citlivost na vlhkost prostředí, což omezuje jejich použití [5].

Chitosan může sloužit k výrobě různých druhů nosičů, ve formě částic, filmů nebo vláken, které lze využít ve tkáňovém inženýrství, systému doručování léčiv a jako systém sloužící k podpoření hojení ran. Při hojení ran se převážně uplatňuje hemostatická schopnost chitosanu [56].

#### 4.1.1 Systémy pro řízené uvolňování léčiv

Chitosan je považován za vhodný nosič účinných látek. Jelikož se jedná o polysacharid schopný zvyšovat disoluční vlastnosti špatně rozpustných léků, slouží k transdermálnímu podávání léčiv a také zabraňuje podráždění žaludku. Pro účinné podání léků lze chitosan použít ve formě mikročástic nebo nanočástic, granulí, gelu nebo filmu. Schopnost chitosanu transportovat aktivní látky může být zvýšena jeho derivatizací, anebo tvorbou komplexu s jinými polymery. Jako příklad lze uvést kompozitní kapsle složené z karboxymethylchitosanu a alginátu, které jsou schopny odolat kyselosti žaludečních kyselin, aniž by došlo k uvolnění značného množství proteinů, zároveň zpomalují uvolňování proteinů ve střevě, což poukazuje na jejich účinnost jako nosičů pro perorální podávání léků obsahujících proteiny. Kompozitní membrána tvořená kolagenem a chitosanem má potenciál pro léčbu periodontálních vad ve stomatologii. Kompozitní nanočástice chitosanu a karagenanu jsou slibným nosičem terapeutických makromolekul s aplikací pro doručování léčiv, ve tkáňovém inženýrství a regenerativní medicíně [22].

Výhodou chitosanu je schopnost vytvářet kovalentní nebo iontové vazby se síťovacími činidly a vytvářet tak síť, která je schopna udržet účinnou látku nebo léčivo a zajistit její kontrolované uvolnění z polymerní struktury. V závislosti na vlastnostech činidla jsou hlavní interakce buďto kovalentní nebo iontové povahy. Síťování kovalentním činidlem

vede ke tvorbě hydrogelů nebo mikročastic, které se vyznačují permanentní strukturou, protože dochází ke vzniku nevratné chemické vazby. Tento typ vazby umožňuje absorpci vody či bioaktivních sloučenin beze změny struktury (rozpuštění) a umožňuje jejich uvolnění difuzí. Přidáním dalšího polymeru jako enkapsulačního činidla, lze docílit procesu uvolňování regulovatelného prostřednictvím změn pH. Ionicky síťované chitosanové hydrogely nebo mikročástice jsou daleko citlivější na změnu pH, při které dochází ke většímu bobtnání než u kovalentních vazeb [57].

#### 4.1.2 Tkáňové inženýrství

Biologicky rozložitelný polymerní scaffold na bázi chitosanu je používán jako matrice ve tkáňovém inženýrství, má potenciální využití jako podpora pro dobrou regeneraci chrupavčité, kostní a šlachovité tkáně. Chitosan je využíván právě kvůli schopnosti vytvářet porézní struktury a gely, snadné chemické modifikaci svých aminových a hydroxylových skupin v molekule a vysoké afinitě k makromolekulám *in vivo*. Aby bylo možné chitosan použít ve tkáňovém inženýrství, je nutné modifikovat jeho fyzikální a biochemické vlastnosti pro lepší interakci v biologickém prostředí. Pro kloubní chrupavku je charakteristická vysoká koncentrace glykosaminoglykanů. Při regeneraci chrupavčité tkáně se chitosan uplatňuje právě díky své struktuře, která je podobná glykosaminoglykanům, které hrají důležitou roli při morfologii, diferenciaci a funkci chondrocytů [20][21][22][59].

Jednou z nejslibnějších vlastností chitosanu je jeho schopnost zpracování do porézních (houbových) struktur, které jsou používány při transplantaci buněk a regeneraci tkání. Porézní chitosanové struktury lze snadno vyrobit řízeným zmrazováním chitosanového roztoku či disperze a následnou lyofilizací. Vznikají systémy s otevřenými póry, jejichž velikost je závislá na koncentraci, teplotě a rychlosti zmrazování. Jestliže jsou lyofilizáty hydratovány, stávají se velmi křehkými a mohou být použity jako zdroj částic. Při vyšší hustotě mohou fungovat jako houba se zajímavými biologickými vlastnostmi [26].

Bylo prokázáno, že matrici chitin/hydroxyapatit (HA) lze využít jako náhrady tvrdé (kostní) tkáně. Tyto netoxické sloučeniny upřednostňují regeneraci kostí s biologickým rozkladem matrice. I když se celková kloubní náhrada stala v posledních letech běžnou procedurou, bakteriální infekce zůstává významnou komplikací. Jedním ze způsobů, jak snížit výskyt bakteriální infekce, je přidat antimikrobiální látky do kostního pojiva používaného k fixaci implantátu. Scaffold tvořený pouze chitosanem postrádá bioaktivitu

k vyvolání potřebné tvorby tvrdých tkání. Ke zlepšení biokompatibility a osteokonduktivity je potřeba připravit směs chitosanu a dalšího polymeru, a proto byla vytvořena řada polymerních směsí, např. systém kolagen/HA/chitosan, nanovlákně z chitosan/HA a chitosan/nanoHA, komplex chitosan/karboxymethylcelulóza, chitosan/algínát. Kompozitní nebo hybridní scaffold vykazuje daleko vyšší míru proliferace lidských parodontálních vazivových buněk ve srovnání s čistým chitosanem. Kompozitní membrány obsahující kolagen mají podobné složení a strukturu jako kosti, zároveň se pyšní výbornou biokompatibilitou, osteokonduktivitou a jejich vrstva vykazuje dobrou pružnost a bioaktivitu. Algínát zajišťuje lepší mechanické a biologické vlastnosti, kostní osteoblasty snadno adherují na scaffold, dobře proliferují a ukládají zvápenatělou matici, současně tento systém vykazuje vysoký stupeň tkáňové kompatibility. Scaffold lze připravit z roztoků o fyziologické hodnotě pH, které pak mohou poskytnout příznivé prostředí pro zabudování proteinů s menším rizikem denaturace [22][58].

#### 4.1.3 Hojení ran

Je všeobecně známo, že ideální krytí rány by mělo co nejvíce napodobit vlastnosti kůže. Přirozené vlastnosti chitinu a chitosanu jako biokompatibilita, vstřebatelnost exsudátu a schopnost tvořit filmy je činí užitečnými pro výrobu systému na ošetření ran a popálenin, což bylo prokázáno řadou studií. Chitin a jeho deriváty jsou zpracovány na filmy a vlákna, ze kterých jsou následně připravovány obvazy na popáleniny a povrchové rány pro urychlení hojení. Hlavními biochemickými aktivitami materiálů na bázi chitinu a chitosanu v hojení jsou aktivace polymorfonulkeárních buněk, aktivace fibroblastů, produkce cytokinů, stimulace syntézy kolagenu IV. Chitin a jeho decacetylované formy jsou náchylné k degradaci působením tělních enzymů N-acetylglukosaminidázy a lysozomu za vzniku tzv. chitooligomerů, které jsou schopny stimulovat makrofágy a pozitivně ovlivňovat ukládání kolagenu, čímž urychlují proces hojení [26][59].

Vzhledem ke svým bakteriostatickým a fungicidním vlastnostem je chitosan často součástí mastí při léčbě povrchových ran. Chitosan implantovaný do zvířecích tkání stimuloval hojení ran a vykazoval hemostatickou aktivitu. Schopnost srážet krev se využívá při léčení traumatických a chirurgických ran pomocí obvazů na bázi chitosanu. Chitosanem potažené hydroxyapatitové mikročástice snižují krvácivost a urychlují hojení tvrdých tkání při zubních a ortopedických aplikacích. Biokompatibilní obvazy získané z chitinu jsou k dispozici ve formě hydrogelů, xerogelů, prášků, kompozitů a filmů. Chitosanové gely mají dobré adhesivní vlastnosti na kůži a mohou být použity ve formě náplastí pro dodání

různých substrátů, jako je kofein, nikotin či různé vitamíny. Transdermální filmy obsahující chitosan mohou uvolňovat aktivní látky do krve [22][26].

Ong a kol. [60] připravili hemostatický obvazový materiál na bázi chitosanu a polyfosfátového polymeru, za účelem dosáhnout lepších hemostatických účinků. Polyfosfát (PF) je lineární polymer, který se nachází ve vysokých koncentracích v krevních destičkách a je schopný urychlovat srážení krve a oddalovat fibrinolýzu. Obvazy obsahovaly polymerní řetězce o různém počtu fosfátových jednotek. Vzhledem k tomu, že se PF rozpouští ve vodě a vytváří polyanion, může interagovat s chitosanem a vytvářet tak polyelektrolytové komplexy. Bylo prokázáno, že obě složky aktivují koagulaci různými mechanismy. Chitosan zvyšuje agregaci krevních destiček a PF v obvazu urychlí tvorbu dostatečného množství trombinu a následně i fibrinu. Typ polyfosfátového polymeru značně ovlivňoval hemostatické vlastnosti. PF s menším počtem fosfátových skupin způsobily rychlejší srážení krve, větší adhezi krevních destiček a rychlejší tvorbu trombinu.

#### 4.1.4 Antimikrobiální a konzervační vlastnosti

Chitosan je sám o sobě antimikrobiální látkou. Jeho aktivita byla hodnocena na širokém spektru mikroorganismů. Nejúčinnější je proti kvasinkám a plísním, dále následují gramnegativní a grampozitivní bakterie. Antimikrobiální aktivita se značně liší v závislosti na typu chitosanu, zejména stupni deacetylace, molekulové hmotnosti, cílovém mikroorganismu a vlastnostech prostředí, ve kterém je aplikován. Zejména hraje roli pH, iontová síla a přítomnost rozpuštěných látek citlivých na reakci s chitosanem prostřednictvím elektrostatické interakce nebo kovalentní vazby, které mohou blokovat reaktivitu aktivní aminové skupiny. Mechanismus antimikrobiální aktivity chitosanu nebyl doposud zcela objasněn. Nejschůdnější hypotézou je však změna permeability buněčné membrány v důsledku interakce mezi kladně nabitými molekulami chitosanu a záporně nabitými mikrobiálními buněčnými membránami. Tato interakce vede k úniku proteinových a jiných intracelulárních složek. Bylo prokázáno, že přítomnost určitých mastných kyselin zvyšuje antimikrobiální aktivitu chitosanových filmů [5][13][15][29][61].

Chitosan vytváří polopropustné filmy, které mohou upravovat vnitřní atmosféru a tím oddalovat zrání a snížit stupeň transpirace ovoce a zeleniny. Chitosanové povlaky jsou pro své antimikrobiální vlastnosti obvykle používány na ovoce a rostlinné produkty, jako jsou

jahody, okurky, papriky, a dále díky bariérovým vlastnostem vůči plynům na jablka, hrušky, broskve a švestky. Filmy z vodných chitosanových roztoků jsou čiré, tuhé, pružné [4].

Účinnost chitosanového obalu na prodloužení trvanlivosti vajec byla sledována ve studii [62]. Bylo prokázáno, že chitosanový obal je schopný zajistit ochrannou bariéru proti přenosu vlhkosti a CO<sub>2</sub> z albumenu (vaječný bílek) přes vaječnou skořápku, zabránit úbytku hmotnosti a zároveň prodloužit trvanlivost vajec. Obalená vejce mohou být takto konzervována až 5 týdnů při teplotě 25 °C, což je přibližně o 3 týdny déle než u referenčních vzorků vajec, která nebyla potřena chitosanovým filmem.

#### 4.1.5 Kosmetické přípravky

Kosmetické přípravky používané v péči o pokožku obsahují ve svém složení řadu přísad, jejichž účelem je zlepšit senzorycké a fyzikálně-chemické vlastnosti. Tyto přísady zahrnují lipofilní složky, silikony, polymerní látky rozpustné ve vodě a jejich kationické deriváty, humektanty atd. Humektanty jsou kationické povahy, díky čemuž jsou schopné adsorbovat na negativně nabitým povrchu kůže. Jako příklad lze uvést kompozit na bázi chitosanu a sodné soli kyseliny pyrrolidon karboxylové (PCA). Jedná se o polykationický polymer (při nízkém pH) s vysokou molekulovou hmotností [18].

Chitosan v péči o vlasy slouží jako dobré hydratační činidlo bez alergenních vlastností, s výhodou jsou využívány i jeho filmotvorné vlastnosti. Chitosan a povrch vlasů jsou navzájem kompatibilní, a to díky jejich opačnému náboji. Chitosan slabě interaguje s keratinem, a proto je možné jeho nízkomolekulární formu přidávat jako součást kondicionéru, který poskytuje hedvábný pocit vlasů po aplikaci. Jestliže je molekulová hmotnost chitosanu nízká, polymerní film lze z vlasů odstranit pouhým vykartáčováním nebo při dalším mytí. Filmotvorný roztok na bázi chitosanu vytváří čirý a pružný film na povrchu vlasu a tím zvyšuje jeho měkkost, jemnost a mechanickou pevnost [26][63].

Chitosan slouží jako ochrana vůči působení škodlivého UV záření. Pomocí *in vitro* a *in vivo* modelů byla zkoumána účinnost a toxicita opalovacích krémů. Připravené roztoky a filmy na bázi chitosanu vykazovaly silnou absorpci UV záření s vlnovou délkou pod 200 nm i přes to, že jsou jeho filmy a roztoky ve viditelném spektru poměrně transparentní. Zároveň také látky schopné absorbovat UV záření nebo různá barviva mohou být snadno kovalentně vázány s chitosanovými aminoskupinami [26][63].



Rozpustnost chitosanových filmů ve vodě je důležitou vlastností, převážně při jejich aplikaci na lidskou pokožku. Tento polymer je možné použít pro výrobu obličejových masek, a to kvůli vynikající schopnosti absorbovat vlhkost, a také díky antibakteriální aktivitě. Při výrobě kosmetických masek je nutné, aby byly dostatečně flexibilní. K oddálení nebo zabránění stárnutí pleti slouží tzv. anti-aging produkty, které obsahují aktivní složky, jako jsou minerály, bylinné ingredience, proteiny, vitamíny a další složky (med, koenzym Q). Trend v anti-aging výzkumu je využívat bioaktivní sloučeniny získané z přírodních zdrojů. Některé ovoce, zelenina nebo semena obsahují polyfenoly (antioxidační sloučeniny), které odstraňují volné radikály. Mají schopnost obnovit pokožku a eliminovat známky stárnutí snížením jemných vrásek. Začlenění bioaktivních látek, jako vitamín C a annatto semen do chitosanových filmů, pro výrobu anti-aging obličejových masek, bylo předmětem studie [64]. Antioxidační vlastnost biologicky rozložitelných masek na bázi chitosanu byla výrazně zvýšena díky synergickému působení přírodních antioxidantů.

## 4.2 Faktory ovlivňující vlastnosti chitosanových filmů

### 4.2.1 Přítomnost organických látek

#### *Mastné kyseliny a oleje*

Nejčastěji používané mastné kyseliny jsou směsi vyrobené z rostlinných olejů s vysokým obsahem kyseliny olejové, jako je sója nebo semena bavlníku [29].

Navzdory rozsáhlému užívání chitosanu pro povrchovou úpravu potravin a jako součást jedlých obalů, mají poměrně vysokou propustnost pro vodní páry, která snižuje jeho ochranné schopnosti. Proto byly provedeny studie vlivu přídavku různých olejů do chitosanových filmů za účelem zvýšení jejich hydrofobicity a tím zlepšení propustnosti pro vodní páry. Chitosanové obaly obsahující kyselinu olejovou vykazují dobré vlastnosti v zadržování vody, např. na obalených čerstvých jahodách. Přidání kyseliny olejové také přispělo k výraznému zvýšení lesku a průsvitnosti, ale vedlo ke snížení pevnosti v tahu a prodloužení při přetržení. Byly připraveny homogenní filmy obsahující chitosan a olivový olej (v různých koncentracích). S rostoucí koncentrací docházelo ke zvyšování hydrofobicity a tím ke snížení propustnosti vodních par. V tomto případě se s rostoucí koncentrací zároveň zvýšila pevnost v tahu a maximální prodloužení při přetržení [3][53].

Inkorporací mastné kyseliny do obalu na bázi chitosanu může dojít ke zlepšení jeho antimikrobiálních vlastností a zároveň ke snížení přenosu vlhkosti. Samotná kyselina laurová má antibakteriální účinek pouze proti grampozitivním bakteriím a kvasinkám, avšak přípravou kompozitních obalů na bázi chitosanu lze dosáhnout rozšíření spektra působení proti mikroorganismům. Byl prokázán synergický účinek chitosanu a kyseliny laurové vůči *B. subtilis* a *E. coli*. Jedlé filmy s antimikrobiálními účinky, dobrými mechanickými vlastnostmi, schopné bránit přenosu vodních par byly připraveny ze směsi chitosanu a kyseliny laurové nebo kombinace kukuřičného škrobu, chitosanu a kyseliny laurové [22][65][66].

### ***Esenciální oleje***

Esenciální oleje, resp. jejich složky jsou do chitosanových filmů často přidávány za účelem zvýšení antimikrobiálních, případně antioxidačních vlastností.

Například bergamotový esenciální olej (BO) obsahuje jako hlavní chemické sloučeniny limonen a linalool. Antimikrobiální účinek oleje byl prokázán proti *Bacillus cereus*, *Listeriamonocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* a *Penicillium digitatum* a to jak při přímém kontaktu, tak i působením jeho par. Inkorporací tohoto EO do chitosanových filmů v poměru chitosan:BO (1:3) došlo ke snížení propustnosti pro vodní páry až o 50 % a byl zajištěn vysoký inhibiční účinek proti plísním. Na druhou stranu, připravené filmy vykazovaly menší pevnost v tahu a elongaci ve srovnání s nemodifikovanými chitosanovými vzorky. Je tedy nutné zvážit primární použití těchto kompozitních filmů [53].

Zpracováním skořicového oleje do chitosanových filmů došlo ke zlepšení jejich schopnosti inhibovat růstu grampozitivních a gramnegativních bakterií. Cinnamaldehyd je aktivní složka, která se nachází v EO (až 60 %), u níž byla prokázána schopnost zabránit produkci amylázy a proteázy u bakterií *Bacillus cereus*. Přítomnost EO měla také vliv na fyzikální a mechanické vlastnosti, došlo ke snížení obsahu vlhkosti ve filmu, což způsobilo zvýšení hydrofobicity filmu, s čímž souvisí zhoršení rozpustnosti ve vodě, zvýšení pevnosti v tahu a pokles elongace [67].

### **4.2.2 Nutraceutika**

Použití nutraceutik v jedlých filmech a obalech bylo zkoumáno ve studii [68] na čerstvých a zmražených jahodách a malinách. Byly připraveny směsi na bázi chitosanu, vitamínu E (ve formě  $\alpha$ -tokoferol acetátu) a Ca (ve formě glukonátu vápenatého), za účelem zlepšení

trvanlivosti a zvýšení nutričních hodnot. Obaly na bázi chitosanu prokázaly schopnost pojmout vysoké koncentrace těchto látek, čímž došlo k výraznému nárůstu jejich obsahu v čerstvém i zmraženém ovoci. Přídavek vysokých koncentrací Ca a vitamínu E do filmů nezpůsobil změnu přirozených antimykotických vlastností a zároveň nedošlo k žádnému negativnímu ovlivnění bariérových schopností vůči vlhkosti. Díky aplikaci těchto obalů byla významně zvýšena kvalita ovoce, snížen úbytek hmotnosti, zpomaleny nežádoucí změny barvy a pH při různých podmínkách skladování (2 °C a relativní vlhkost 88 % po dobu 3 týdnů) a mrazu (-23 °C o dobu 6 měsíců).

#### 4.2.3 Vliv pH rozpouštědla

Chitosan je pevná látka, nerozpustná ve vodě, ale na rozdíl od chitinu je rozpustná již ve slabě kyselém prostředí ( $\text{pH} < 6,0$ ). V kyselých podmínkách mohou být jeho aminoskupiny částečně protonovány, vznikají odpudivé síly mezi kladně nabitými řetězci, což vede k difuzi molekul vody a následné solvataci molekul. Rozpustnost chitosanu je obvykle testována na 1% roztoku kyseliny octové [22].

Hydrolytický rozklad chitosanu je ve farmaceutické technologii častý, protože farmaceutika na bázi chitosanu jsou běžně rozpustná ve zředěných kyselinách. Během hydrolýzy působí kyselina jako katalyzátor, který štěpí polymerní řetězce. Mezi hlavní faktory ovlivňující rychlost hydrolýzy patří stupeň deacetylace a koncentrace chitosanu, typ kyseliny a její koncentrace, doba léčby a teplota disolučního média. Existuje několik studií, které se věnují právě hydrolýze chitosanu za použití několika typů kyselin, a to octové, mravenčí, mléčné a chlorovodíkové. Bylo zjištěno, že zatímco změna koncentrace kyseliny octové neovlivňuje rychlost degradace, s rostoucí koncentrací kyseliny chlorovodíkové je degradační proces urychlen. Bez ohledu na druh kyseliny došlo při zvýšení teploty k rychlejšímu rozpuštění polymeru [69].

#### 4.2.4 Změkčovadla

Změkčovadla jsou do polymerních filmů přidávána zejména pro ovlivnění jejich mechanických vlastností. Přítomnost a typ změkčovadla, ovlivňující kvalitu a trvanlivost vajec obalených chitosanovým filmem byl sledován autory publikace [70]. Jako změkčovadlo byl použit sorbitol, glycerol a PEG. Bylo zjištěno, že daleko lepších výsledků při snížení úbytku hmotnosti vajec během skladování a zachování lepší kvality albumenu a žloutku, bylo dosaženo použitím chitosanových filmů ve směsi se sorbitolem při srovnání

s dalšími látkami. Obecně byl prokázán vliv chitosanového obalu na trvanlivost vajec, bez ohledu na použitý typ změkčovadla.

#### 4.2.5 Chitosan ve směsi s biopolymery

Abugoch a kol. [71] připravili jedlé filmy a obaly na bázi anionického extraktu proteinu získaného z quinoy a kationického chitosanu, které byly použity v potravinářském průmyslu. Byly zaznamenány interakce mezi oběma biopolymery, které probíhaly prostřednictvím vodíkových vazeb. Tyto interakce vedly k vytvoření materiálu s lepšími mechanickými vlastnostmi a propustností pro vodní páry ve srovnání s filmy obsahující pouze chitosan. Smícháním těchto přírodních polymerů (1:1) bylo možné i bez obsahu změkčovadla připravit filmy s větší tloušťkou a daleko vyšší hodnotou prodloužení při přetržení ve srovnání s referenčními vzorky na bázi samotného chitosanu, což indukuje změkčující účinek proteinového extraktu. Naopak pevnost v tahu připraveného filmu byla u polymerní směsi 10krát menší, film navíc vykazoval mnohem větší hydrofilitu než samotný chitosan.

Dobré mechanické a bariérové vlastnosti užitečné pro potravinářské a farmaceutické aplikace byly pozorovány u filmů a kompozitních mikročástic připravených ze směsi pektinu a chitosanu. Významnou roli zde hrají vzájemné elektrostatické interakce mezi těmito polyelektrolytovými polysacharidy (anionickým a kationickým), které jsou závislé na hustotě náboje, poměru složek ve směsi a iontové síle média [72].

Antimikrobiální aktivita jedlých obalů na bázi chitosanu a směsi chitosanu a tiapiokového škrobu s přísadkou a bez přísadky sorbanu draselného byla prováděna pomocí agar difúzního testu ve studii Vásconez a kol. [73]. Testy na plátcích lososa prokázaly, že za přítomnosti chitosanových obalů došlo ke snížení počtu, aerobních, mezofilních a psychrofilních bakterií, pH a úbytek hmotnosti během skladování zůstaly přijatelné po celou dobu a došlo ke zvýšení celkové kvality až o 6 dní. Filmy na bázi chitosanu a škrobu snížily kažení polotuhého výrobku způsobené *Zygosaccharomyces bailii*, ale proti *Lactobacillus spp.* byly neúčinné. Výsledky ukazují nejen závislost antimikrobiální aktivity na aplikační technice filmotvorných roztoků, ale také možné interakce mezi chitosanem a škrobem/sorbanem draselným, které mohou ovlivnit fyzikální vlastnosti filmů a zároveň i jejich antimikrobiální aktivitu.

Chitosan je schopen zvýšit emulgační schopnosti některých proteinů, jak bylo zjištěno například ve studii o vlivu obsahu chitosanu (0–0,5 %) na distribuci velikosti částic,

stabilitu krémování, zdánlivou viskozitu a mikrostrukturu emulze O/V (40 % řepkového oleje) obsahujícího 4% syrovátkového proteinového izolátu při pH 3. Kompozitní směs měla vyšší emulgační aktivitu než samotný syrovátkový protein. Zvýšení obsahu chitosanu mělo za následek snížení průměrné velikosti částic, vyšší viskozitu a stabilitu emulze vůči krémování [22].

#### 4.2.6 Chitosan ve směsi se syntetickými polymery

Syntetické polymery jsou většinou využívány za účelem zlepšení mechanických vlastností biopolymerů. V případě směsi PVA s chitosanem byla prokázána dobrá vzájemná mísitelnost polymerů a díky dobré tažnosti PVA došlo ke zvýšení Youngova modulu. Připravené kompozitní materiály mají potenciál pro nosiče určené ke kontrolovanému uvolňování léčiv nebo k výrobě polymerních filmů sloužících jako obalový materiál [56]. Ve studii Kanatt a kol. [74] byly testovány optické, mechanické a bariérové vlastnosti, a dále antioxidační a antimikrobiální aktivita chitosan/PVA filmů obohacených přírodními extrakty s cílem zlepšit bezpečnost a kvalitu potravin. Jednou z požadovaných vlastností obalového materiálu je ochrana před účinky záření. Vzorky filmu obsahující EO vykazovaly nízkou propustnost světla při vlnových délkách 280 nm, což naznačuje, že kompozitní filmy chitosan/PVA/EO vytváří dobrou bariéru proti UV záření. Filmy obsahující větší množství PVA vykazovaly vyšší hodnoty pevnosti v tahu, přídavek EO do směsi způsobil další zvýšení, což lze s výhodou využít právě ve farmaceutickém průmyslu. Připravené kompozitní filmy na bázi chitosan/PVA/EO byly nepropustné pro kyslík, bez ohledu na obsaženém poměru jednotlivých složek. Hodnoty propustnosti byly dokonce lepší než u syntetických polymerů typu LDPE a HDPE. Uvedenou modifikací byl připraven systém s vynikající antioxidační aktivitou a antimikrobiální aktivitou vůči *S. aureus* a *B. cereus*.

## 5 CÍLE PRÁCE

Cíle této diplomové práce jsou:

- připravit chitosanové roztoky a filmy s obsahem tymiánového oleje a s různými typy emulgátorů,
- charakterizovat připravené roztoky stanovením velikosti částic a zeta potenciálu,
- charakterizovat fyzikálně-chemické a mechanické vlastnosti připravených polymerních filmů měřením kontaktního úhlu, pevnosti v tahu, vpichu a elongace,
- zhodnotit antimikrobiální účinnost chitosanových filmů bez obsahu a s obsahem tymiánového oleje,
- diskutovat dosažené výsledky.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A METODIKA

### 6.1 Chemikálie

Chitosan nízkomolekulární, 50–190 kDa (Sigma-Aldrich)

Kyselina octová p.a., obsah 99,8 % min (IPL – Petr Lukeš, Uherský Brod)

Tween 20 (Sigma-Aldrich)

Tween 80 (Sigma-Aldrich)

Tween 85 (Sigma-Aldrich)

Éterický olej tymián (Nobilis Tilia)

Destilovaná voda

Ethylenglykol

Diiodomethan

Mueller–Hinton směs

Agar Agar, Type I

Chlorid sodný

### 6.2 Přístroje a pomůcky

Běžné laboratorní sklo a plasty (Petriho miska, zkumavka)

Exsikátor s  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (ČSN SIMEX)

Analytické váhy Sartorius (Sartalex)

Magnetické míchadlo s ohřevem (MR Hei-Standard, Heidolph)

Vortex (V-1 plus, Biosan)

Stříkačkový filtr Millipore Millex GS/Optex GS 0,22  $\mu\text{m}$  (Merci s.r.o.)

Filtrační zařízení dle Mortona (pórovitost frity S3/P40 SIMAX, Merci s.r.o.)

Ultra Turrax T-25 Digital (IKA)

Elektrická sušárna

Digitální mikrometr (0–25  $\mu\text{m}$ ; Schut Geometrical Metrology)



Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrumentr, Ltd.)

TA1 Series (Lloyd Machines)

See System (Advex Instruments)

Skenovací elektronový mikroskop Vege 3 (Tescam, ČR)

Inkubátor

Denzitometr McFarland typ

## 6.3 Metodika

### 6.3.1 Příprava chitosanových roztoků a filmů

Nejprve byl připraven 1% roztok kyseliny octové, který sloužil jako rozpouštědlo pro přípravu chitosanového roztoku. Pipetovaný objem na přípravu 100 ml 1%ního roztoku kyseliny octové byl zjištěn pomocí rovnice 2. Toto množství bylo převedeno do odměrné baňky a doplněno destilovanou vodou po rysku.

$$V_{\text{CH}_3\text{COOH}} = \frac{m}{\rho} \quad (2)$$

Kde:

$V_{\text{CH}_3\text{COOH}}$  pipetovaný objem kyseliny octové pro přípravu 1% roztoku [ml]

$m$  hmotnost kyseliny octové [g]

$\rho$  hustota kyseliny octové [g/ml]

Základní chitosanový roztok o koncentraci 1 %hm. byl připraven následovně. Do kádinky byl navážen 1 g chitosanu (s přesností 0,0001 g), který byl následně rozpuštěn ve 100 ml 1% roztoku kyseliny octové. Tato směs byla míchána při laboratorní teplotě 25 °C po dobu 24 hodin. Poté byl roztok přefiltrován přes fritu (pórovitost P3).

První série vzorků (označení T) byla připravena následovně. K základnímu roztoku chitosanu byl přidán emulgátor (Tween 20 – T20, Tween 80 – T80 a Tween 85 – T85) tak, aby jeho koncentrace v roztoku byla 0,1; 0,2; 0,4 nebo 0,6 %hm. Získaná směs byla míchána 1 minutu pomocí přístroje Vortex a poté homogenizována za použití Ultra-Turrax při 15 600 ot./min po dobu 5 minut.

Tab. 4 Složení vzorků T obsahující emulgátor

Vzorek	Chitosan [%hm]	Koncentrace Tween [%hm]			
T20-1;2;4;6	1	0,1	0,2	0,4	0,6
T80-1;2;4;6	1	0,1	0,2	0,4	0,6
T85-1;2;4;6	1	0,1	0,2	0,4	0,6

Druhá série vzorků (označení TEO) obsahovala navíc tymiánový esenciální olej o neměnné koncentraci 2 %hm. Byla připravena disperze obsahující základní roztok chitosanu, esenciální olej a daný emulgátor (T20, T80 nebo T85), který zaujímal 0,1; 0,2; 0,4 nebo 0,6 %hm. Tato směs byla homogenizovaná stejným způsobem jako vzorky první série.

Tab. 5 Složení vzorků TEO obsahující směs esenciálního oleje a emulgátoru

Vzorek	Chitosan [%hm]	EO [%hm]	Koncentrace Tween [%hm]			
TEO20-1;2;4;6	1	2	0,1	0,2	0,4	0,6
TEO80-1;2;4;6	1	2	0,1	0,2	0,4	0,6
TEO85-1;2;4;6	1	2	0,1	0,2	0,4	0,6

Přibližně 25 ml roztoku vzorku bylo odléváno na sterilní plastovou Petriho misku (o průměru 90 mm) a sušeno při 35 °C v sušárně s cirkulací vzduchu po dobu 24 hodin. Vysušené filmy byly uchovávány v exsíkátoru s relativní vlhkostí 60 % při laboratorní teplotě 25 °C.

### 6.3.2 Charakteristika filmotvorných roztoků

#### *Velikost částic a zeta potenciál filmotvorných roztoků*

Měření velikosti částic a zeta potenciálu chitosanových roztoků bylo prováděno na zařízení Zetasizer Nano ZS. Jednotlivé vzorky byly ředěny destilovanou vodou, která byla dvakrát přefiltrována přes stříkačkový filtr o velikosti pórů 0,22 μm. Pro stanovení velikosti částic bylo smícháno 0,5 ml roztoku vzorku a 1 ml vody. Pro stanovení zeta potenciálu bylo ředěno 6 μl roztoku vzorku do 3 ml vody. Velikost částic byla stanovena pomocí laserové difrakce (index lomu 1.33, absorpce 0,001), která je založena na rozptylu laserového záření

(DLS). Zeta potenciál byl analyzován pomocí Smoluchowskiho matematického modelu, který se používá pro částice rozptýlené ve vodném prostředí.

### 6.3.3 Charakteristika filmů

#### *Tloušťka filmů*

Tloušťka chitosanových filmů byla měřena digitálním mikrometrem s přesností  $\pm 1 \mu\text{m}$ . Na deseti náhodně vybraných místech každého vzorku byla změřena tloušťka. Výsledná hodnota tloušťky byla průměrem provedených měření.

#### *Povrchové vlastnosti filmů*

Hodnocení smáčivosti filmů a povrchové energie bylo prováděno metodou přisedlé kapky pomocí optického tenziometru Theta (Biolin Scientific, Švédsko). Pomocí mikropipety byla na vzorek filmu nanесena kapka rozpouštědla (destilovaná voda, ethylenglykol, diiodomethan) o objemu 3  $\mu\text{l}$ . Utvořená kapka byla snímána digitální videokamerou a z jejího obrazu byl následně pomocí softwaru OneAttension stanoven kontaktní úhel (úhel smáčení). Povrchová energie byla stanovena pomocí dvou typů modelů OWRK/Fowkes a Wu. Měření bylo provedeno vždy třikrát.

### 6.3.4 Stanovení mechanických vlastností

Mechanické vlastnosti byly stanoveny pomocí přístroje pro analýzu textury TA1 Series a dále vyhodnocovány prostřednictvím počítačového softwaru NEXYGEN Plus.

Pevnost v tahu (TS) byla měřena na vzorcích filmů, které byly nařezány na proužky o velikosti 10×60 mm. Konce proužků byly přichyceny do speciálních úchytů tak, aby volná část byla 10×40 mm. Rychlost natahování byla nastavena na 1 mm/s. Pevnost v tahu byla vyhodnocena pomocí počítačového softwaru, a to z maximální pevnosti v tahu, tloušťky a šířky vzorku, jako vyplývá z rovnice 3. Prodloužení při přetržení (E) je udáváno v % a je definováno jako podíl hodnoty prodloužení při přetržení [mm] a počáteční délky vzorku (40 mm) vynásobena 100.

$$TS = \frac{F_{max}}{T \cdot W} \quad (3)$$

Kde:

TS pevnost v tahu [Pa]

Fmax maximální pevnost v tahu [N]

T průměrná tloušťka vzorku filmu [mm]

W šířka vzorku filmu [10 mm]

Pro zkoušku vpichem byly filmy nařezány do tvaru čtverce o velikosti 40×40 mm. Takto připravené vzorky byly vloženy mezi dvě kovové desky s kruhovým otvorem (o průměru 20 mm), a vše bylo zajištěno pomocí svorek. Válcová sonda o průměru 2 mm byla protlačena vzorkem rychlostí 1 mm/s. Pevnost při vpichu (PS) byla vypočítána ze dvou měření podle rovnice 4. Deformace při vpichu (PD) byla vyhodnocena jako vzdálenost od prvního kontaktu sondy se vzorkem až do bodu, kdy dojde k protržení filmu a je udávána v mm.

$$PS = \frac{F_{max}}{T} \quad (4)$$

Kde:

PS pevnost vpichu [N/mm]

Fmax maximální síla při zatížení [N]

T průměrná tloušťka vzorku filmu [mm]

### 6.3.5 SEM analýza filmů

Vybrané vzorky filmů byly analyzovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), která byla realizována na pracovišti Ústavu pro hydrodynamiku Akademie věd ČR v Praze. K analýze byl použit skenovací elektronový mikroskop Vega 3 s vysokým rozlišením (Tescam, ČR).

### 6.3.6 Stanovení antibakteriální účinnosti filmů

K testování antimikrobiální aktivity biopolymerních filmů obsahujících tymiánový esenciální olej byla použita metoda agar difúzního testu (ADT). Na základě schopnosti inhibovat růst grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* a gramnegativní bakterie

*Escherichia coli* byla posouzena jejich účinnost. Pro testování byl v obou případech použit Mueller–Hintonův agar (dále jen MH).

Pro přípravu MH půdy bylo naváženo 8,4 g MH směsi a 6,0 g agaru do 400 ml destilované vody. Fyziologický roztok byl připraven smícháním 8,5 g NaCl na 1 l destilované vody. Takto připravené roztoky byly sterilizovány v autoklávu při teplotě 120 °C po dobu 90 minut. Poté byla kultivační média nalita do Petriho misek a ponechána ztuhnout. Do skleněné zkumavky s fyziologickým roztokem byla sterilní kličkou přidávána čistá bakteriální kultura daného mikroorganismu až do požadované hodnoty zákalu 0,5 McF. Na připravené kultivační půdy bylo nanášeno mikropipetou vždy 1000 µl inokula a následně byly položeny 2 kruhové disky příslušných filmů (o průměru 9 mm). Misky byly kultivovány po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C.

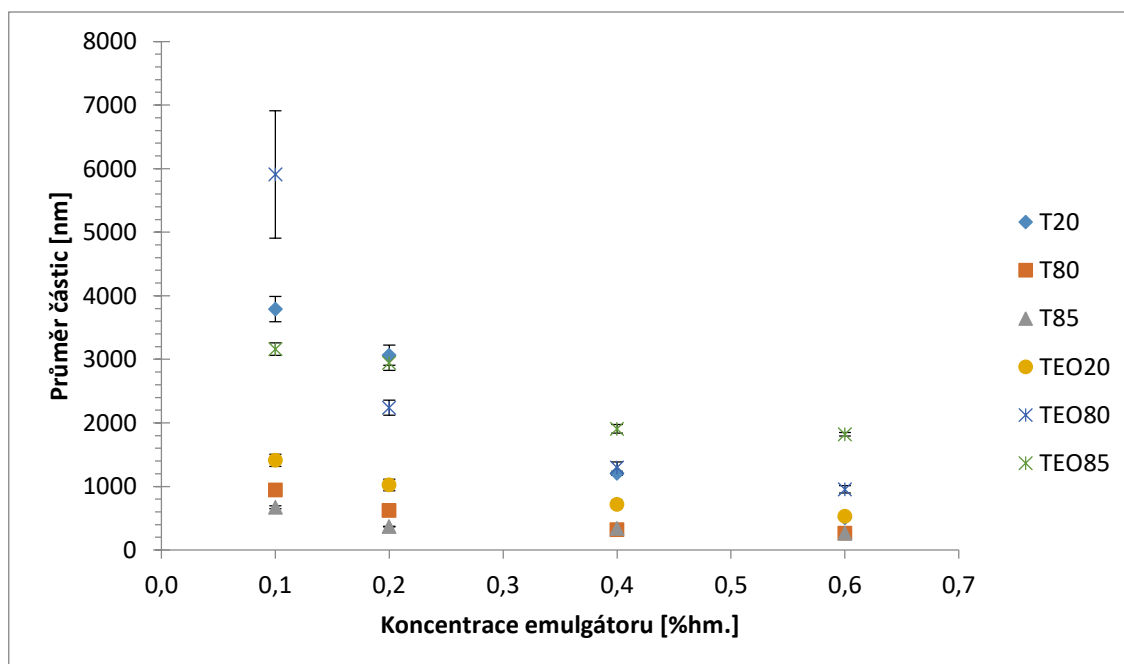
Po uplynutí stanovené doby kultivace byly odečteny průměry jednotlivých inhibičních zón. Velikost těchto zón značí míru antibakteriální účinnosti daného vzorku filmu.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1 Stanovení velikosti částic

Velikost částic a její distribuce patří mezi jedny z nejpoužívanějších charakteristik pro hodnocení stability emulze [75]. Často má zásadní dopad na fyzikální, chemické a senzorické vlastnosti jako je trvanlivost, vzhled, chuť a textura. Tyto vlastnosti hrají významnou roli při uplatnění filmů v praxi [43].

Na Obr. 6 je zobrazena závislost velikosti částic filmotvorných roztoků obsahujících emulgátory typu Tween s různými HLB hodnotami a tymiánovým EO. Velikost částic chitosanových roztoků bez EO se pohybovala v rozmezí od 266 až 1411 nm. V případě směsi s EO byl rozsah velikostí od 531 až 5908 nm, přičemž nejvyšší hranice přesahovala velikost změřenou u samotného chitosanového roztoku 4050 nm stanovenou v práci [76]. Nejvýznamnější rozdíl (84 %) při srovnání směsi bez a s obsahem EO byl prokázán u vzorků s nejnižším obsahem 0,1 %hm. T80. Je ovšem zřejmé, že přidavkem emulgátoru, resp. směsi TEO došlo u všech testovaných roztoků vzorků ke snížení průměru velikosti částic. Byl také prokázán vliv HLB hodnoty povrchově aktivní látky, nejmenší částice byly pozorovány u vzorků s obsahem emulgátoru s nejnižší HLB, tj. T85. Zjištěné výsledky byly v souladu se SEM analýzou (viz kapitola 7.5).



Obr. 6 Velikost částic chitosanových roztoků s různými typy emulgátorů

## 7.2 Stanovení zeta ( $\zeta$ ) potenciálu

Zeta ( $\zeta$ ) potenciál lze definovat jako elektrokinetický potenciál částice měřený na rovině skluzu elektrické dvojvrstvy. Hodnota zeta potenciálu je měřítkem pro hodnocení elektrostatické stability disperzních soustav a je ovlivněna chemickými a fyzikálními vlastnostmi kapalin. Jedním z nejdůležitějších faktorů je pH ve vodném prostředí, přičemž při nízkém pH bude zeta potenciál kladný, naopak při vysokém pH může dosahovat i záporných hodnot. Existuje tzv. izoelektrický bod, kdy je hodnota  $\zeta$  potenciálu nulová a v tomto případě je stabilita koloidního systému nejmenší. V rozmezí pH 4,0–7,5 lze očekávat potíže s disperzní stabilitou, jelikož  $\zeta$  potenciál nabývá hodnot od +30 mV až -30 mV. Čím větší bude kladná nebo záporná hodnota ( $\pm 30$  mV), tím je pravděpodobnější vznik stabilnějšího systému, protože se nabitě částice navzájem odpuzují a nemají sklon k agregaci. Často je stanovení zeta potenciálu využíváno ke zkoumání vlivu povrchového náboje na různé fyzikálně-chemické procesy, jako jsou agregace, adsorpce a disperze [27][77][78].

Vliv koncentrace emulgátoru o různé HLB hodnotě a tymiánového EO na hodnotu zeta potenciálu lze pozorovat v Tab. 6. Inkorporace PAL do filmotvorného roztoku způsobila pokles  $\zeta$  potenciálu u všech testovaných vzorků, ve srovnání s hodnotou samotného chitosanového roztoku (+58,7 mV) stanovenou ve studii [76]. Jelikož se jedná o 1% roztok chitosanu v kyselině octové, kladná hodnota  $\zeta$  potenciálu odpovídá faktu, že v kyselém prostředí jsou přítomné aminoskupiny kladně nabitě. Kladné hodnoty  $\zeta$  potenciálu vzorků naznačují, že se molekuly chitosanu adsorbují na povrchu lipidových částic v systému, čímž získávají tyto částice pozitivní náboj. V závislosti na složení se hodnoty  $\zeta$  potenciálu testovaných vzorků pohybovaly v rozmezí od +26,3 až +54,2 mV. Lze tedy předpokládat, že kromě vzorků 0,4 a 0,6 %hm. TEO85 všechny disperzní systémy splňují podmínku pro elektrostatickou stabilitu. Bylo také pozorováno, že  $\zeta$  potenciál klesal se zvýšením hodnoty HLB emulgátoru, stejný trend byl prokázán autory Ibrahim a kol. [79]. Nejvyšší hodnoty (+54,2 mV) bylo dosaženo při použití 0,2 %hm. Tweenu 85. V práci [80] byl prokázán vliv HLB hodnoty na velikost  $\zeta$  potenciálu u emulzí typu O/V za použití neionických PAL Tween a Span ve směsi o různých poměrech. Zároveň byl potvrzen vliv chemické struktury neionických PAL na  $\zeta$  potenciál a tedy stabilitu emulze.

Tab. 6 Srovnání zeta potenciálu chitosanových roztoků s různými typy emulgátorů

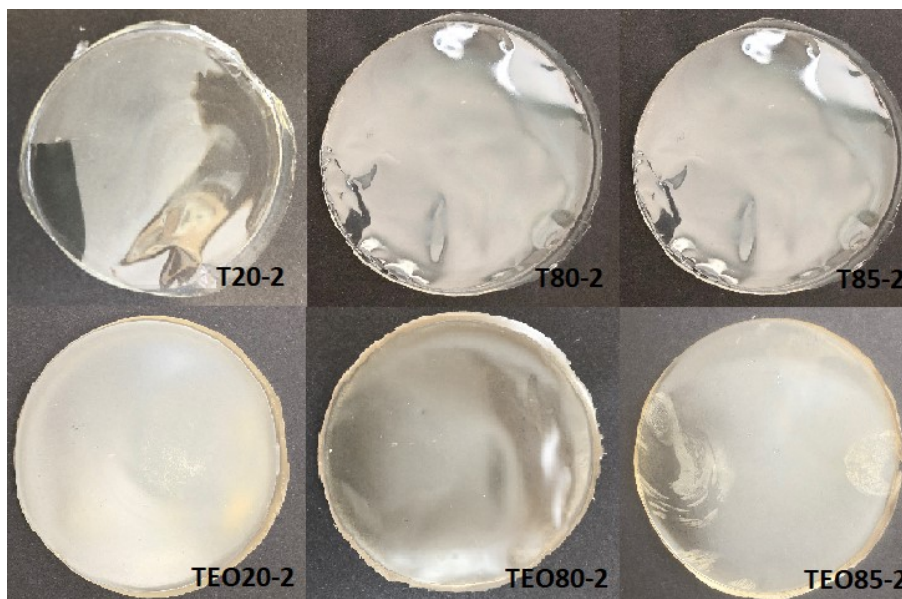
Koncentrace Tweenu [%hm]	Zeta potenciál [mV]					
	T20	T80	T85	TEO20	TEO80	TEO85
0,1	35,7 ± 1,5	35,3 ± 1,2	40,3 ± 5,5	35,4 ± 0,6	32,4 ± 1,2	39,3 ± 0,8
0,2	30,5 ± 1,8	49,1 ± 0,5	54,2 ± 0,7	34,9 ± 0,5	33,2 ± 0,5	37,1 ± 1,2
0,4	34,7 ± 1,4	42,8 ± 1,0	47,5 ± 0,5	37,9 ± 0,8	32,2 ± 0,4	26,3 ± 0,6
0,6	33,7 ± 0,5	43,4 ± 1,2	32,0 ± 1,2	39,2 ± 0,7	31,6 ± 0,1	27,1 ± 0,9

### 7.3 Vzhled a tloušťka filmů

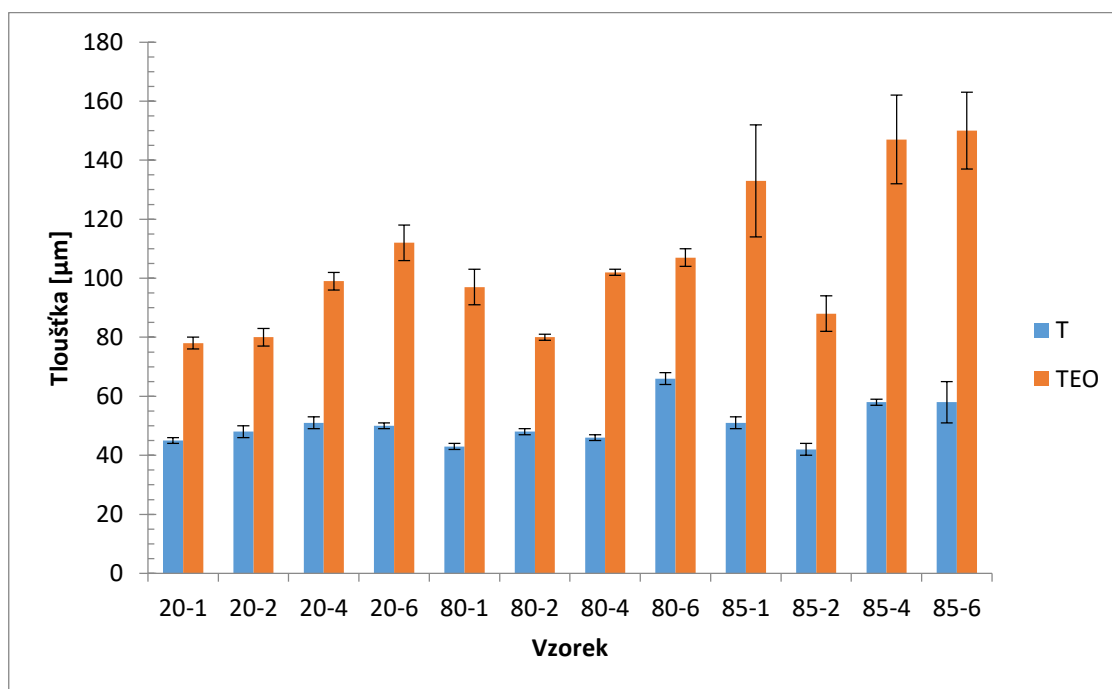
Tloušťka je důležitou charakteristikou jedlých polymerních filmů, protože ovlivňuje jejich bariérové vlastnosti. Chitosanové filmy T20, T80 a T85 byly transparentní a lesklé. Zakomponováním tymiánového EO do vzorků vznikly vysoce zakalené filmy s nažloutlým nádechem, jak lze pozorovat na Obr. 7. S rostoucí koncentrací emulgátoru se filmy staly flexibilnějšími.

Z Obr. 8 je patrné, že inkorporací tymiánového EO do chitosanové matrice se zvětšila tloušťka filmů, která se pohybovala v rozmezí od 78 až 150  $\mu\text{m}$ . Podobný trend byl potvrzen ve studiích [67][81]. Podstatná je také koncentrace oleje ve filmu, kdy se s rostoucím obsahem zároveň zvětšuje i tloušťka filmu [82]. Největší nárůst tloušťky po přidávku EO byl zaznamenán při použití 0,4 a 0,6 %hm. Tweenu 85, téměř o 61 % ve srovnání se vzorky bez obsahu oleje. U vzorků bez obsahu EO nedocházelo k zásadním změnám tloušťky, hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 42 až 66  $\mu\text{m}$ , bez ohledu na použitý typ emulgátoru. Ve studii Liana a Penga [83], kde byly také studovány PAL typu Tween 20, 80 a 85, bylo zjištěno, že s klesající hodnotou HLB emulgátoru dochází ke zvětšení tloušťky filmu, což se v podstatě potvrdilo i u našich vzorků (Obr. 8).





Obr. 7 Vzhled chitosanových filmů s obsahem 0,2 %hm. emulgátoru



Obr. 8 Tloušťka chitosanových filmů

#### 7.4 Povrchové vlastnosti filmů

Měření kontaktního úhlu je nejčastěji používanou metodou pro stanovení smáčivosti, povrchového napětí a celkové povrchové energie pevného substrátu [27]. Konečný stav kapky kapaliny na povrchu je ukazatelem smáčitelnosti daného povrchu. Důležitým aspektem souvisejícím s účinkem EO na vlastnosti filmu je jejich retence ve finálním

vysušeném filmu, protože ke ztrátám těkavých látek dochází především během sušení. Ztráty jsou spojeny zejména s migrací olejových kapiček na povrch a následným odpařením těkavé sloučeniny společně s vodou již za pokojových teplot [45].

Aby bylo možné pochopit vliv PAL na smáčivost filmu, byly měřeny kontaktní úhly chitosanových filmů v přítomnosti tymiánového oleje a emulgátoru T20, T80 a T85. Výsledky měření ukázaly, že zvýšení koncentrace emulgátoru ve filmu vedlo ke snížení úhlu smáčení (Tab. 7). Film připravený pouze na bázi chitosanu má podle [76] relativně vysokou hodnotu  $\theta$  pro destilovanou vodu  $60,7^\circ$ . Vzhledem k charakteru tymiánového oleje lze očekávat, že po jeho přidavku do chitosanové matrice dojde ke zvýšení hydrofobicity. Z Tab. 8 je patrné, že byl tento trend u většiny vzorků potvrzen. V případě TEO80 již přídavek nejnižších koncentrací (0,1 a 0,2 %hm.) způsobil změnu charakteru polymerních filmů za vzniku nesmáčivého povrchu ( $\theta > 90^\circ$ ). Největší pokles  $\theta$  pro destilovanou vodu byl zaznamenán u filmu s obsahem 0,6 %hm. T80 v porovnání s kontrolním filmem (81 %).

Obecně platí, že kombinace hydrokoloidních a lipidových složek díky jejich vzájemné kompatibilitě příznivě ovlivňuje strukturní, mechanické a bariérové vlastnosti polymerních filmů.

*Tab. 7 Hodnoty kontaktních úhlů chitosanových filmů bez EO pro různé kapaliny (W destilovaná voda, E ethylenglykol, DI diiodomethan)*

Vzorek	$\theta_w$ [°]	$\theta_E$ [°]	$\theta_{DI}$ [°]
T20-1	58,1 ± 0,5	18,5 ± 0,1	26,2 ± 0,5
T20-2	63,1 ± 0,3	23,4 ± 0,1	32,4 ± 0,1
T20-4	12,8 ± 0,4	-	13,4 ± 0,3
T20-6	16,0 ± 0,8	14,0 ± 0,2	12,7 ± 0,3
T80-1	54,8 ± 0,2	23,8 ± 0,7	19,7 ± 1,3
T80-2	48,5 ± 0,2	32,9 ± 0,5	11,8 ± 0,3
T80-4	43,0 ± 0,9	10,6 ± 0,1	14,2 ± 0,4
T80-6	11,6 ± 0,2	12,9 ± 0,2	14,5 ± 0,2
T85-1	52,8 ± 1,0	43,7 ± 0,5	29,1 ± 0,3
T85-2	21,9 ± 0,3	13,8 ± 0,1	14,0 ± 0,3
T85-4	14,1 ± 0,1	14,3 ± 0,3	15,4 ± 0,3
T85-6	17,3 ± 0,1	15,3 ± 0,1	16,0 ± 0,5

Tab. 8 Hodnoty kontaktních úhlů chitosanových filmů s EO pro různé kapaliny (*W* destilovaná voda, *E* ethylenglykol, *DI* diiodomethan)

Vzorek	$\theta_w$ [°]	$\theta_E$ [°]	$\theta_{DI}$ [°]
TEO20-1	20,9 ± 0,7	40,3 ± 0,6	31,91 ± 0,1
TEO20-2	69,5 ± 0,3	42,6 ± 0,8	24,84 ± 0,1
TEO20-4	55,8 ± 1,0	29,6 ± 2,3	32,54 ± 0,2
TEO20-6	37,4 ± 1,2	36,9 ± 0,2	27,53 ± 0,1
TEO80-1	90,0 ± 0,3	13,1 ± 0,3	26,43 ± 0,2
TEO80-2	96,3 ± 0,4	33,3 ± 0,2	28,74 ± 0,1
TEO80-4	50,6 ± 2,8	48,1 ± 1,2	-
TEO80-6	45,7 ± 0,3	17,6 ± 0,9	-
TEO85-1	81,1 ± 0,4	51,6 ± 2,0	16,06 ± 0,7
TEO85-2	61,8 ± 0,3	57,7 ± 1,9	19,54 ± 0,4
TEO85-4	85,4 ± 0,3	51,0 ± 0,8	31,46 ± 0,4
TEO85-6	73,5 ± 1,2	46,8 ± 0,4	26,53 ± 0,8

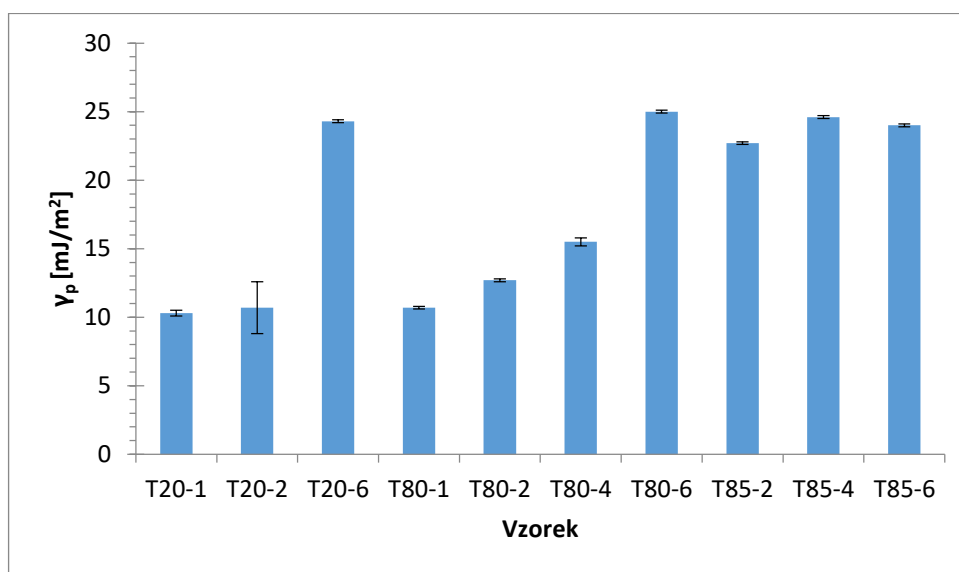
Hodnoty povrchových energií testovaných vzorků, které byly počítány na základě vybraných typů modelů, konkrétně OWRK/Fowkes a Wu pro tři kapaliny (destilovaná voda, ethylenglykol a diiodomethan) jsou uvedeny v Tab. 9 a 10. OWRK (Owens, Wendt, Rabel, Kaelble) teorie (rovnice 5) vychází z Fowkesovy teorie. Podle Fowkese je k určení volné povrchové energie potřeba znát povrchovou energii alespoň dvou kapalin se známým podílem disperzní a polární složky. Příkladem takových kapalin mohou být voda, glycerol a formamid jako polární kapaliny a diiodomethan a  $\alpha$ -bromnaftalen jako disperzní. U polymerních materiálů jsou nejčastěji využívanými měřicími kapalinami voda a diiodomethan [84].

Podle Fowkesovy teorie je celková volná energie pevné látky  $\gamma_s$  dána součtem jednotlivých komponent (disperzní, polární, indukční, acido-bazická, příspěvek vodíkových můstků a zbývající interakce). Na Fowkesovu teorii navázali OWRK, kteří konstatovali, že podobně jako u pevné látky lze na jednotlivé komponenty rozdělit i povrchovou energii kapalně fáze  $\gamma_l$ . Index  $d$  představuje v rovnici 5 disperzní složku povrchové energie kapalin a  $p$  je polární složka. Povrchové napětí pro pevnou/ kapalnou látku je dáno součtem její disperzní a polární složky.

$$\sqrt{\gamma_s^d \gamma_l^d} + \sqrt{\gamma_s^p \gamma_l^p} = 0,5\gamma_l(1 + \cos\theta) \quad (5)$$

Tab. 9 Hodnoty povrchové energie získané OWRK/Fowkesovou metodou

Vzorek	$\gamma_{\text{tot}}$ [mJ/m <sup>2</sup> ]	$\gamma_d$ [mJ/m <sup>2</sup> ]	$\gamma_p$ [mJ/m <sup>2</sup> ]
T20-1	54,1 ± 0,2	43,8 ± 0,2	10,3 ± 0,2
T20-2	52,3 ± 1,4	41,6 ± 0,4	10,7 ± 1,9
T20-6	67,4 ± 0,1	43,1 ± 0,1	24,3 ± 0,1
T80-1	55,6 ± 0,2	44,9 ± 0,3	10,7 ± 0,1
T80-2	58,7 ± 0,2	45,9 ± 0,1	12,7 ± 0,1
T80-4	60,7 ± 0,3	45,3 ± 0,1	15,5 ± 0,3
T80-6	67,7 ± 0,1	42,7 ± 0,1	25,0 ± 0,1
T85-2	66,0 ± 0,1	43,3 ± 0,1	22,7 ± 0,1
T85-4	67,2 ± 0,1	42,6 ± 0,1	24,6 ± 0,1
T85-6	66,6 ± 0,1	42,6 ± 0,1	24,0 ± 0,1



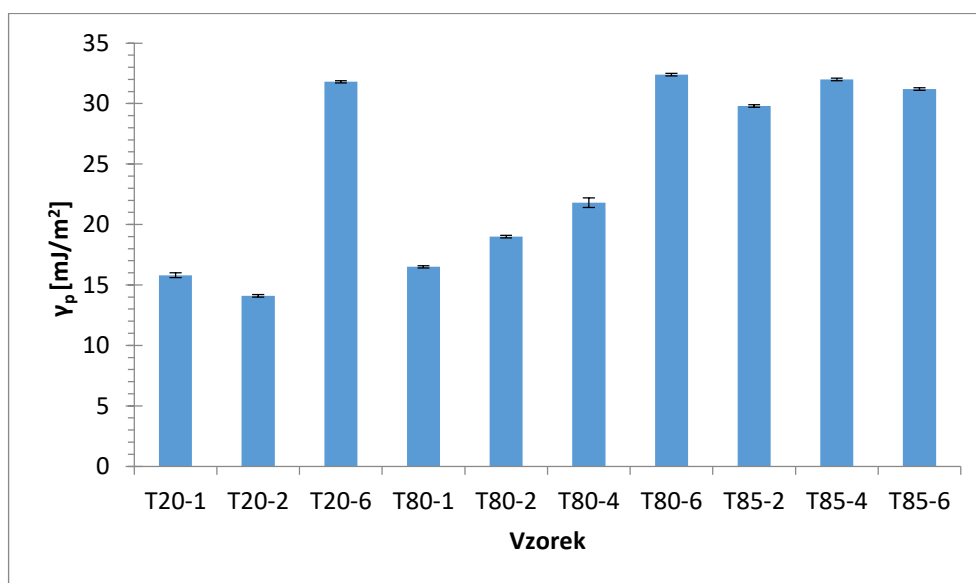
Obr. 9 Hodnoty polární složky povrchové energie získané OWRK/Fowkesovou metodou

Na OWRK/Fowkesovu teorii navazuje Wuova teorie (rovnice 6). I pro tento postup platí, že povrchová energie je součtem disperzní  $\gamma^d$  a polární  $\gamma^p$  složky. Jediným rozdílem ve výpočtu je použití harmonického průměru namísto geometrického, který je použitý v OWRK metodě.

$$\left[ \frac{\gamma_s^d \gamma_l^d}{(\gamma_s^d + \gamma_l^d)} + \frac{\gamma_s^p \gamma_l^p}{(\gamma_s^p + \gamma_l^p)} \right] = 0,25 \gamma_l (1 + \cos \theta) \quad (6)$$

Tab. 10 Hodnoty povrchové energie získané Wuovou metodou

Vzorek	$\gamma_{\text{tot}}$ [mJ/m <sup>2</sup> ]	$\gamma_{\text{d}}$ [mJ/m <sup>2</sup> ]	$\gamma_{\text{p}}$ [mJ/m <sup>2</sup> ]
T20-1	58,5 ± 0,2	42,7 ± 0,2	15,8 ± 0,2
T20-2	55,2 ± 0,1	41,0 ± 0,1	14,1 ± 0,1
T20-6	73,4 ± 0,1	41,6 ± 0,1	31,8 ± 0,1
T80-1	60,2 ± 0,2	43,7 ± 0,3	16,5 ± 0,1
T80-2	63,5 ± 0,2	44,6 ± 0,1	19,0 ± 0,1
T80-4	65,7 ± 0,3	43,9 ± 0,1	21,8 ± 0,4
T80-6	73,7 ± 0,1	41,3 ± 0,1	32,4 ± 0,1
T85-2	71,7 ± 0,1	41,9 ± 0,1	29,8 ± 0,1
T85-4	73,1 ± 0,1	41,2 ± 0,1	32,0 ± 0,1
T85-6	72,4 ± 0,1	41,2 ± 0,1	31,2 ± 0,1



Obr. 10 Hodnoty polární složky povrchové energie získané Wuovou metodou

Z Tab. 9 a 10 je patrné, že přidavkem povrchově aktivních látek Tweenu 20 a 80 došlo ve většině případů ke zvýšení celkové povrchové energie chitosanových filmů. Na druhou stranu, v přítomnosti Tweenu 85 nebyl vliv na povrchové vlastnosti tak výrazný. Nejvyšší hodnoty  $\gamma_{\text{tot}}$  bylo dosaženo při použití 0,6 %hm. Tweenu 80 (v závislosti na použité metodě výpočtu) a to 67,7 mJ/m<sup>2</sup> (OWRK/Fowkes) a 73,7 mJ/m<sup>2</sup> (Wu). Bylo také prokázáno, že s klesající hodnotou HLB emulgátoru docházelo ke zvýšení hodnot  $\gamma_{\text{tot}}$ . Obecný předpoklad, že s růstem hodnot povrchové energie roste i smáčivost, resp. hydrofilita povrchu, se v našem případě potvrdil. Tento trend je také patrný ze změn polární složky

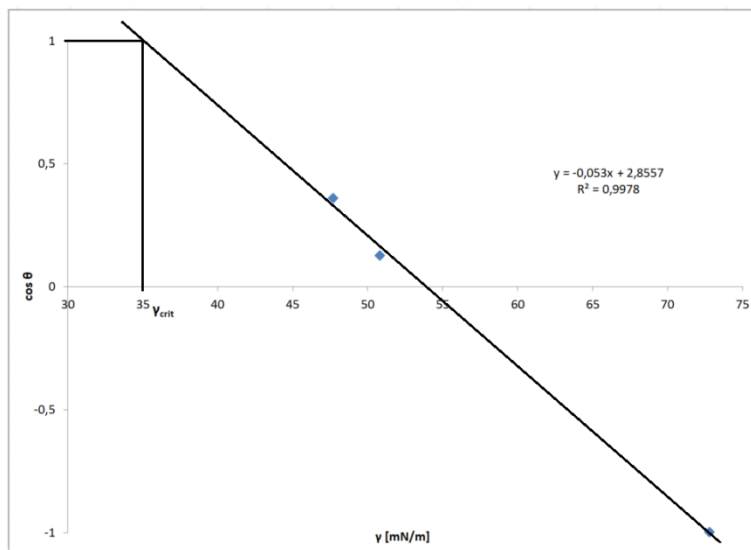
povrchové energie v závislosti na typu a koncentraci emulgátoru. Z grafů na Obr. 9 a 10 je zřejmé, že rostoucí koncentrací emulgátoru T20 a 80 došlo k významnému nárůstu polární složky.

Zismanova metoda slouží ke stanovení hodnoty tzv. kritického povrchového napětí  $\gamma_{crit}$ , které odpovídá dokonalému smáčení povrchu pevné látky (kontaktní úhel  $\theta = 0^\circ$ ). Naměřené hodnoty kontaktních úhlů jsou převedeny na  $\cos \theta$  a vyneseny do grafu proti povrchovému napětí referenčních kapalin, tj. destilované vody (72,8 mN/m), ethylenglykolu (47,7 mN/m) a diiodomethanu (50,8 mN/m) [84], výsledkem je tzv. Zismanův graf (Obr. 11). Kritické povrchové napětí pevné látky pak lze získat lineární extrapolací v průsečíku přímky  $\cos \theta \rightarrow 1$ . Nad hodnotou  $\gamma_{crit}$  je povrch pevné látky smáčen omezeně.

Zismanovu metodu lze využít pro materiály s nízkou povrchovou energií ( $<100 \text{ mJ/m}^2$ ) [54]. Přestože tato podmínka byla u našich vzorků splněna, nepodařilo se u všech filmů získat lineární závislosti hodnot  $\cos \theta$  na povrchových napětích. Z toho důvodu jsou v Tab. 11 uvedeny výsledky pouze u vybraných vzorků. Hodnoty kritického napětí jsou ve všech případech spíše vyšší, ovšem nelze z nich určit jednoznačný trend, resp. vliv různé koncentrace a typu emulgátoru na kritické napětí.

*Tab. 11 Hodnoty kritického povrchového napětí chitosanových filmů*

Vzorek	$\gamma_{crit}$ [mN/m]	$R^2$
T20-1	40,6	0,8462
T20-2	73,1	0,7255
T20-6	41,8	0,7276
T80-4	85,9	0,9546
T85-2	35,0	0,9978
T85-6	100,2	0,9695
TEO80-6	39,7	0,8831
TEO85-4	47,2	0,9423



Obr. 11 Zismanův graf chitosanového filmu T85-2 pro stanovení kritického povrchového napětí

## 7.5 SEM analýza filmů

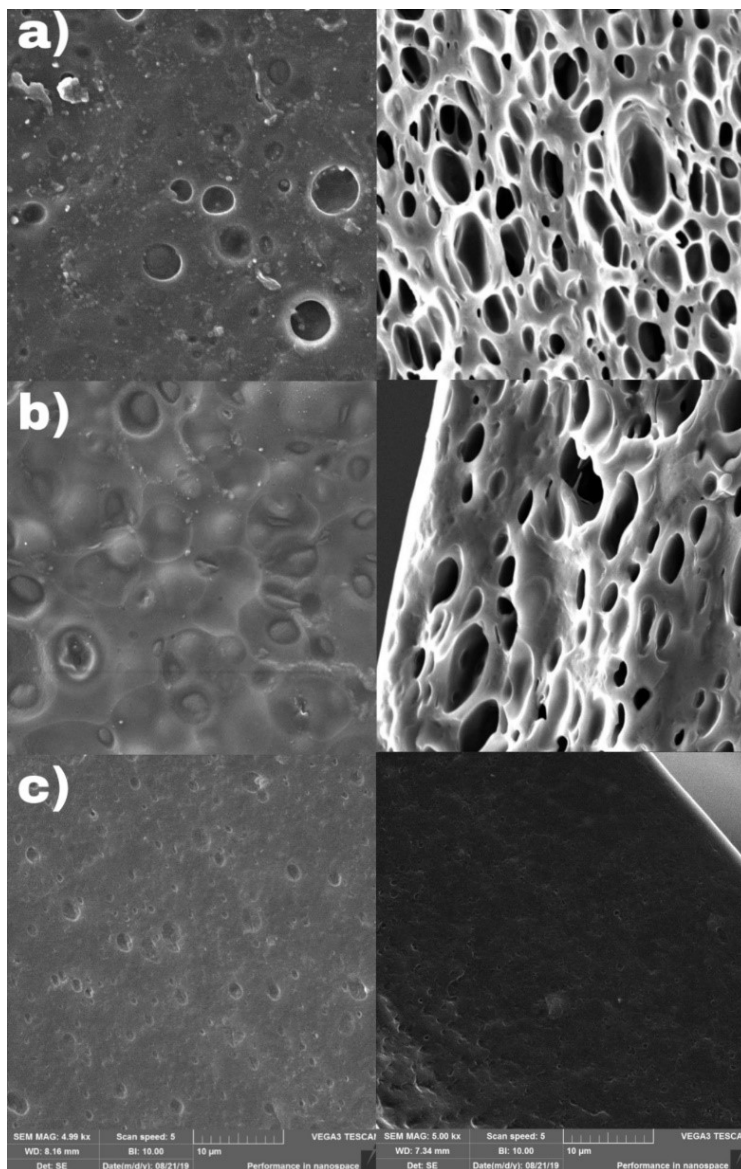
Ke sledování strukturálních změn (homogenita, vznik pórů a prasklin, drsnost povrchu) chitosanových filmů vlivem modifikace různých PAL byla použita analýza skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM). Vliv emulgátorů na morfologii chitosanových filmů lze pozorovat na Obr. 12. Jsou na něm zobrazeny SEM povrchů a příčných řezů filmů bez a s obsahem tymiánového esenciálního oleje a různých typů emulgátorů v koncentraci 0,1 %hm. TEO80, TEO85 a T85.

Testované filmy byly na první pohled bez jakýchkoliv viditelných nerovností. Konečná mikrostruktura filmu po vysušení je ovlivněna strukturálním uspořádáním složek v počáteční disperzi. Zabudováním EO došlo k rozrušení kompaktní filmové struktury a na průřezu lze pozorovat póry připomínající houbovitou strukturu. Lze předpokládat, že tento jev je způsoben složkami tymiánového oleje, které narušují uspořádání polymerní sítě systému. Struktura filmu je ovlivněná koncentrací a typem povrchově aktivní látky a EO.

Na rozdíl od kontrolního chitosanového filmu, který měl kompaktní a homogenní strukturu [76], lze u vzorků modifikovaných prostřednictvím EO pozorovat částice o různé velikosti a distribuci, v závislosti na HLB hodnotě použitého emulgátoru (Obr. 12a, b). Vzorek bez obsahu tymiánového oleje (Obr. 12c) vykazuje kompaktnější strukturu s menšími částicemi emulgátoru (v průměru od 1 až 2  $\mu\text{m}$ ) patrnými zejména na povrchu filmu.

Chen a kol. [86] prokázali vliv HLB hodnot použitých PAL na morfologii polysacharidových filmů na bázi škrobu. Emulgátory s nízkým HLB jsou hůře rozpustné

ve vodné fázi a mohou tak podporovat migraci složek EO během sušení na povrch filmu, čímž se snižuje obsah oleje ve vnitřní části polymerní matrice, což vede ke strukturálním změnám.



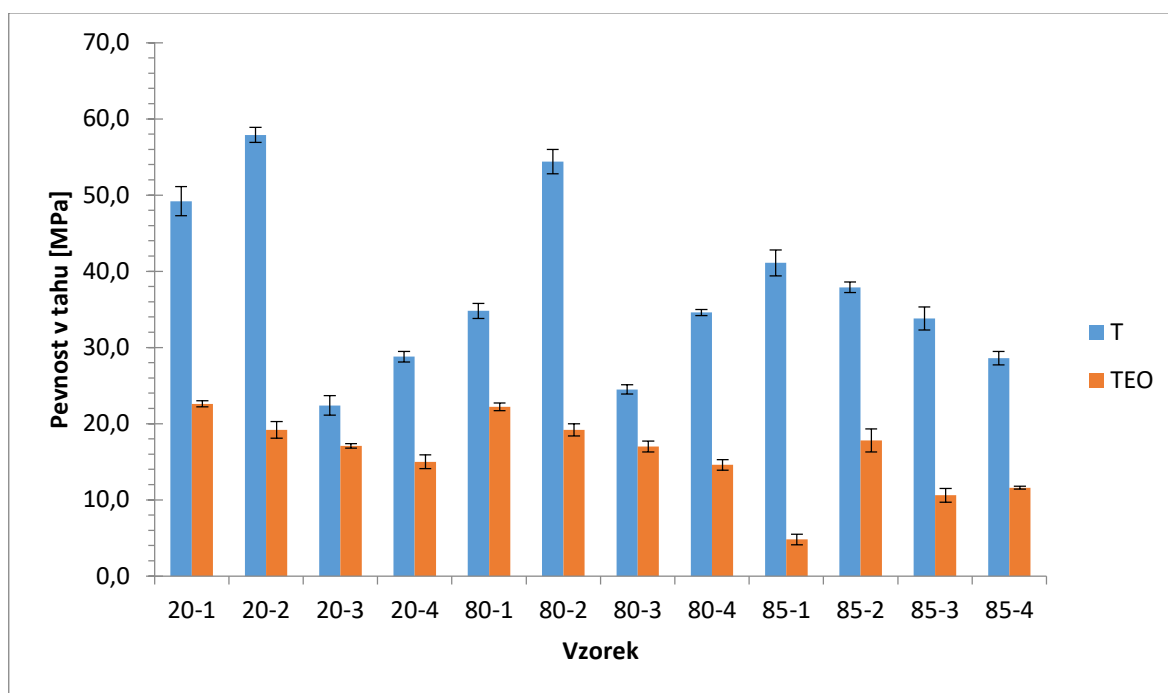
*Obr. 12 SEM povrchů (vlevo) a řezů (vpravo)  
chitosanových filmů s obsahem 0,1 %hm. emulgátoru a)  
TEO80 b) TEO85 c) T85*

## 7.6 Stanovení mechanických vlastností filmů

Dobré mechanické vlastnosti polymerních filmů hrají klíčovou roli pro zajištění dostatečné úrovně integrity během skladování a manipulace s výrobky, které chrání proti vnějším vlivům. V souvislosti s tím byly připravené filmy studovány z hlediska pevnosti, pružnosti a deformace při vpichu.



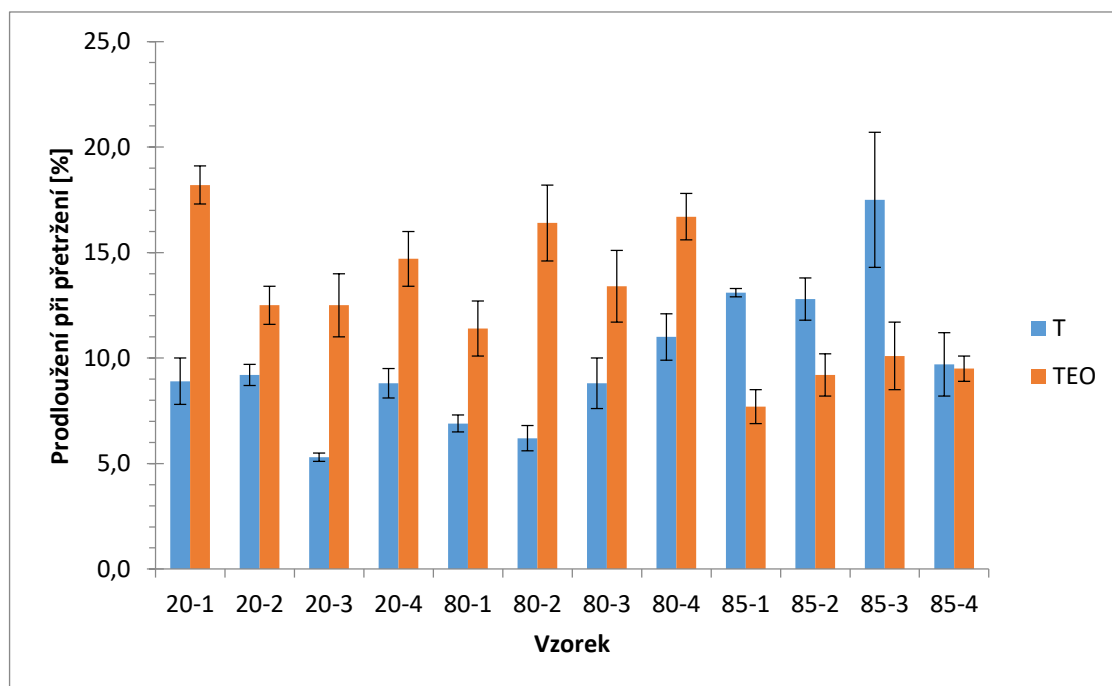
Vliv inkorporace emulgátorů T20, T80 a T85 a tymiánového EO na mechanické vlastnosti chitosanových filmů je patrný z Obr. 13 a Obr. 14. Ve studii [76] byla u samotného chitosanového filmu změřena pevnost v tahu 35,2 MPa. Je tedy zřejmé, že vzorky bez obsahu EO nevykazovaly významné rozdíly, v případě některých vzorků došlo dokonce k nárůstu pevnosti, kdy nejvýznamnější zvýšení (téměř 58 MPa) bylo zaznamenáno u filmu s obsahem 0,2 %hm. emulgátoru T20. Rozdílný trend byl pozorován u filmů s obsahem EO. Z grafu na Obr. 13 je zřejmé, že inkorporace 2 %hm. tymiánového oleje do chitosanové matrice způsobila snížení pevnosti filmů, což je v souladu se změnami morfologie diskutovanými v kapitole 7.5. Tento fakt byl potvrzen i autory Cagri a kol. [87], kteří došli k závěru, že přítomnost aditiv (kromě zahušťovadel) v systému obecně snižuje hodnotu TS. Pevnost v tahu u filmů s obsahem EO se pohybovala v rozmezí od 4,8 do 22,6 MPa, v závislosti na HLB emulgátoru, přičemž nejmenší hodnotu vykazoval vzorek 0,1 %hm. TEO. Největší rozdíl (téměř 67 %) při srovnání filmů bez a s obsahem EO byl zaznamenán při použití 0,2 %hm. Tweenu 20.



Obr. 13 Srovnání hodnot pevnosti v tahu chitosanových filmů

Dalším sledovaným parametrem bylo prodloužení při přetržení, které indikuje pružnost vzorku. Dle výsledků studie [76] lze konstatovat, že pružnost samotného chitosanového filmu byla nízká (5,4 %), pravděpodobně z důvodu absence jakéhokoliv plastifikátoru. Z výsledků na Obr. 14 vyplývá, že přidavek PAL do systému vedl ke zvýšení tažnosti

chitosanových filmů. Testované vzorky obsahující pouze emulgátory T20 a T80 dosahovaly nižších hodnot než v přítomnosti tymiánového EO. Opačný jev byl pozorován u systémů s obsahem T85, vzniklé filmy byly spíše pevnější a málo pružné. Lze tedy říci, že existuje závislost hodnoty prodloužení při přetržení filmu na HLB a zároveň i na koncentraci povrchově aktivní látky.



Obr. 14 Srovnání hodnot prodloužení při přetržení v tahu chitosanových filmů

Účinky různých druhů EO na mechanické vlastnosti filmů na bázi chitosanu byly studovány řadou autorů [67][88][89]. Bylo zjištěno, že ztráta pevnosti v tahu je pravděpodobně způsobena narušením polymerní sítě, k níž dochází inkorporací EO do matrice. Ovšem jako stěžejní faktor se ukázaly také potenciální vzájemné interakce mezi jednotlivými složkami EO a polymerem. Ve studii Peng a Li [90] došlo ke zvýšení pevnosti v tahu vlivem modifikace prostřednictvím různých druhů EO (citronový, tymiánový a skořicový), zatímco při měření prodloužení při přetržení došlo ve všech případech k jeho snížení. Na druhou stranu přidavek bazalkového oleje způsobil významné snížení hodnoty TS a zvýšení E v závislosti na obsahu EO, bez ohledu na techniku homogenizace, ve studii autorů Bonilla a kol. [91]. Změna mechanických vlastností je zde přičítána vzniku nespojitě struktury chitosanové matrice obsahující kapénky oleje, které způsobily ztrátu soudružnosti a mechanické odolnosti.

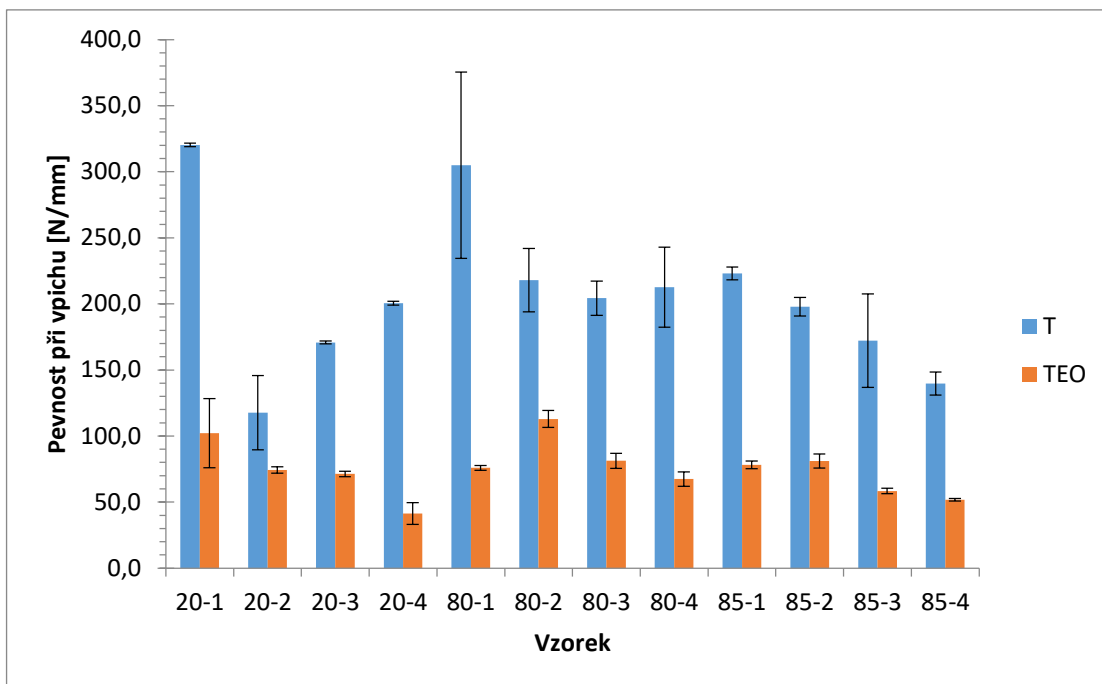
Pevnost a pružnost chitosanových filmů závisí nejen na složkách filmotvorného roztoku, ale také na typu a koncentraci použitého rozpouštědla. Například filmy vyrobené s kyselinou chlorovodíkovou, mravenčí a octovou jsou většinou pevné a křehké, s vysokými hodnotami pevnosti v tahu, ale použitím kyseliny citronové nebo mléčné lze získat filmy měkké a tažné respektive s větší hodnotou prodloužení při přetržení [92].

Jak již bylo zmíněno, přidavkem EO do chitosanové matrice vznikaly pevné a zároveň křehké filmy. Mechanické vlastnosti jsou ovlivněny změkčovadly, která snižují intermolekulární síly v polymerním řetězci, a díky tomu dochází ke zvýšení pružnosti filmu. Data související s odolností filmů proti vpichu lze pozorovat na Obr. 15 a 16. Vlivem inkorporace EO a emulgátorů došlo k výrazným změnám obou sledovaných charakteristik, tj. pevnosti a deformaci při vpichu.

Pokud opět vezmeme v úvahu výsledky kontrolního chitosanového filmu ze studie [76], kde hodnota pevnosti při vpichu činila necelých 240 N/mm, lze konstatovat, že v případě vzorků s EO došlo k výraznému snížení. Nejnižší hodnota (41 N/mm) byla zaznamenána u filmu TEO20 (0,6 %hm.). Podobný trend v přítomnosti oreganového EO a Tweenu 20 byl potvrzen v experimentu autorů práce [93][98]. S rostoucí koncentrací daného typu emulgátoru nebyly zaznamenány výrazné změny deformace při vpichu. U filmů bez obsahu tymiánového oleje nedošlo k tak zásadním změnám oproti referenčnímu vzorku, v některých případech byly hodnoty naopak zvýšeny (u vzorků s nejvyšší koncentrací T20 a T80) (Obr. 15).

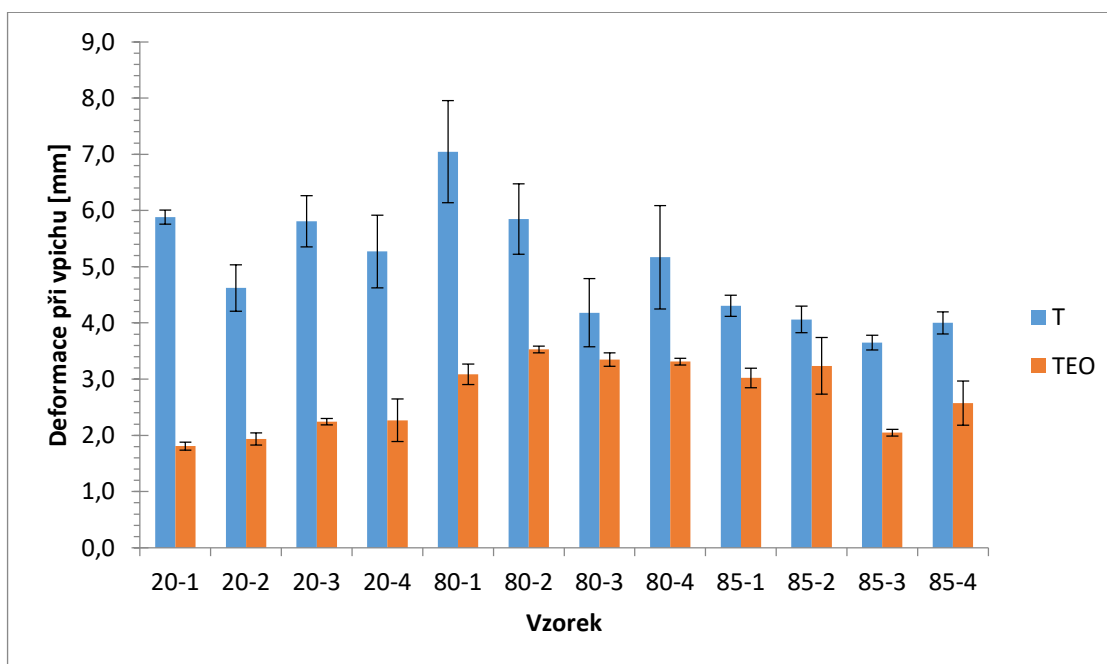
Zakomponováním hřebíčkového EO do chitosanového filmu došlo k výraznému poklesu hodnoty pevnosti při vpichu, kdy je tato ztráta mechanické pevnosti přičítána rozpadu mikrostruktury polymerní sítě filmu způsobené přidavkem oleje. Směs chitosanu a skořicového oleje nevykazovala žádnou změnu v pevnosti ve srovnání se samotným chitosanovým filmem, jelikož kompatibilita tohoto systému byla daleko větší [94]. Je tedy zjevné, že je pevnost ovlivněna především složkami esenciálního oleje, které interagují s chitosanovou maticí za vzniku méně či více kompaktní struktury.

Mechanické vlastnosti lze modifikovat pomocí směsí polymerů. V práci Zivanovic a kol. [95] byly testovány filmy na bázi chitosanu a polyethylenoxidu (PEO). Bylo prokázáno, že přidavek chitosanu přispěl ke zlepšení pevnosti v tahu a při vpichu PEO polymeru, který běžně vykazuje špatné mechanické vlastnosti. Jako optimální byla vybrána kombinace v poměru 90/10 chitosan/PEO.



Obr. 15 Pevnost při vpichu chitosanových filmů s různými typy emulgátorů

Na Obr. 16 lze vidět výsledky měření deformace při vpichu. Podobně jako v předchozím případě, došlo u vzorků s obsahem EO k poklesu hodnot oproti referenci (4 mm, [76]), i když filmy s emulgátorem Tweenem 80 se výrazně nelišily. U filmů bez obsahu tymiánového oleje bylo opět pozorováno zvýšení hodnot deformace při vpichu (největší nárůst 44 %, u nejnižší koncentrace T80).



Obr. 16 Deformace při vpichu chitosanových filmů s různými typy emulgátorů

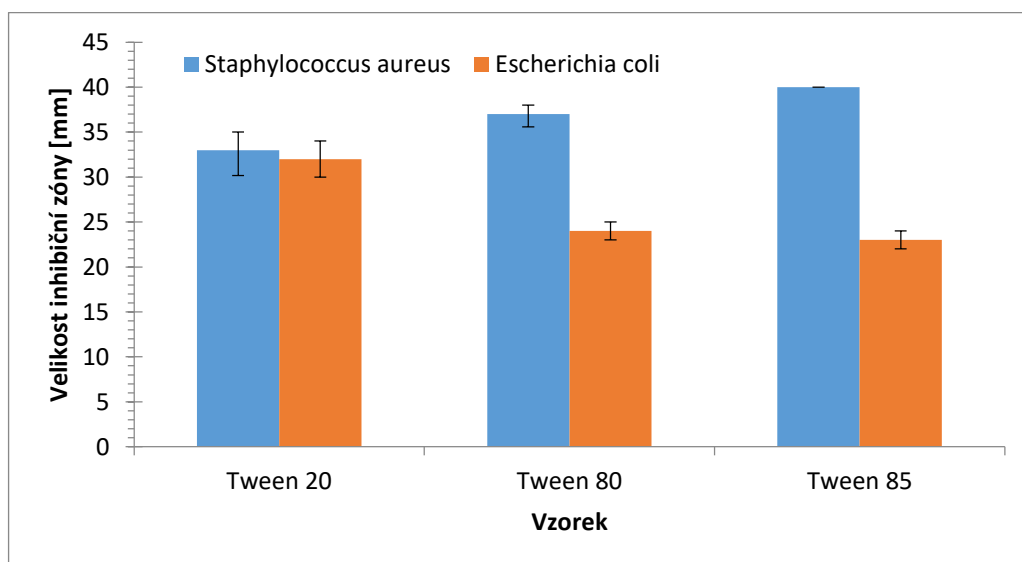
## 7.7 Stanovení antibakteriálních účinků filmů

Při agar difúzním testu se vzorek umístí na agar s mikrobiální suspenzí a po kultivaci se vyhodnotí velikost inhibiční zóny, která je považována za měřítko antimikrobiálního účinku [42]. Je však prokázáno, že difúzní metody jsou užitečné pouze při kvalitativním stanovení inhibice [96]. Při tomto stanovení lze narazit na řadu problémů. Silné inhibitory, které mají nízkou rozpustnost ve vodě, mohou vykazovat špatné nebo dokonce negativní výsledky. Je však mylné dospět k závěru, že pokud se při ADT neprojeví inhibiční zóna, je EO bez antimikrobiální aktivity. Dalším problémem je interpretace velikosti inhibičních zón, na kterých závisí jak difúzní koeficient, tak antimikrobiální aktivita každé sloučeniny přítomné v oleji. Kromě všeobecně neznámých koeficientů složek EO je velikost inhibiční zóny ovlivňována několika dalšími faktory a to těkavost esenciálního oleje, velikost disku, počáteční množství oleje na disku, adsorpce EO diskem, typ agaru a jeho objem, pH a testované mikrobiální kmeny [97].

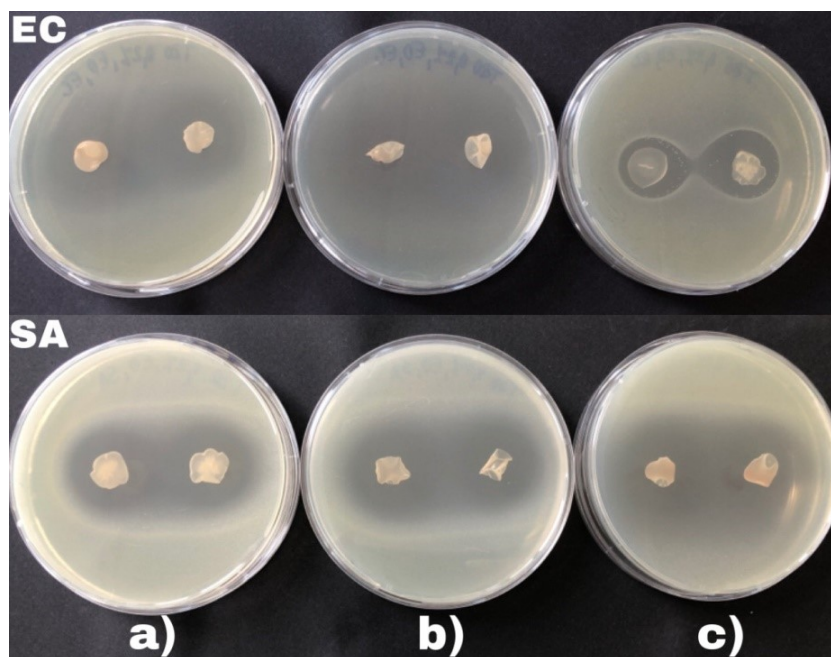
Samotný chitosan vykazuje antibakteriální účinek vůči mnoha G<sup>+</sup> (*S. aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*) a G<sup>-</sup> (*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*) bakteriím [98]. Přesný mechanismus antibakteriální aktivity chitosanu není zcela znám, ale jedna z teorií naznačuje, že antimikrobiální účinek chitosanu způsobuje jeho polykationická povaha. V kyselém prostředí způsobuje chitosan strukturální změny v buněčných membránách mikroorganismů, což vede k jejich následnému usmrcení [27]. Avšak, navzdory předpokládané přirozené antimikrobiální aktivitě chitosanu v kyselém prostředí, nebyla pozorována na samotném chitosanovém filmu žádná inhibiční zóna. Na druhou stranu, přídavek EO výrazně ovlivnil antibakteriální účinky. Podobně tomu bylo ve studii autorů Pranoto a kol. [89], kdy antimikrobiální účinnost proti bakteriím *Escherichia coli* (EC) a *Staphylococcus aureus* (SA) byla dosažena až teprve po inkorporaci česnekového oleje. Obr. 17 znázorňuje velikost inhibiční zóny testovaných vzorků obsahujících 2 %hm. tymiánového oleje a 0,2 %hm. emulgátoru daného typu. Je patrné, že antibakteriální účinek vůči G<sup>+</sup> bakterii SA se zvyšoval s klesající HLB hodnotou emulgátoru. Opačný trend byl zaznamenán proti G<sup>-</sup> bakterii EC. Z Obr. 18 je také zřejmé, že chitosanové filmy s tymiánovým olejem vykazovaly lepší inhibiční účinky proti G<sup>+</sup> bakterii SA. Stejný antibakteriální účinek EO byl potvrzen ve studii Pelissari a spol. [99], kteří připravili filmy na bázi tapiokového škrobu a chitosanu s oreganovým EO. Inhibiční zóna se zvětšovala s ohledem na rostoucí koncentraci oleje ve filmu. G<sup>-</sup> bakterie obecně vykazují větší

odolnost vůči esenciálním olejům, ta je pravděpodobně částečně způsobena větší složitostí jejich buněčné stěny, v kontrastu s poměrně jednoduchou membránovou strukturou G+ bakterií [100]. Výsledky agar difuzního testu s viditelnými inhibičními zónami kolem vzorků proti vybraným mikroorganismům jsou zobrazeny na Obr. 18. Průměr inhibiční zóny závisí na schopnosti testovaných vzorků rovnoměrně rozptylovat sloučeniny v agarovém médiu. Většina EO a jejich aktivní sloučeniny jsou vysoce těkavé a špatně rozpustné ve vodné fázi, i přes to mnoho studií prokázalo, že tymiánový esenciální olej patří mezi inhibitory s největším antimikrobiálním účinkem [95]

Peng a Li [90] studovali chitosanové filmy obsahující směsi různých druhů EO (citronový, tymiánový a skořicový). Bylo zjištěno, že u testovaných kombinací nebyl prokázán synergický účinek při srovnání s aktivitou jednotlivých olejů. Rozdíly ve velikosti inhibiční zóny je možné přičíst jednotlivým chemickým složkám EO (limonen, thymol, cinamaldehyd), které mohou narušit a proniknout lipidovou strukturou buněčné membrány bakterií, což vede k její destrukci a usmrcení mikroorganismů. Chemické složky esenciálních olejů (stejných druhů) mohou být ovlivněny původem plodiny, včetně výrobního procesu oleje, úrovně čistoty a konverze. Tyto faktory s velkou pravděpodobností vedou k variabilitě antimikrobiálních aktivit esenciálních olejů.



Obr. 17 Antibakteriální aktivita (inhibiční zóna) chitosanových filmů obsahující tymiánový EO a emulgátor typu Tween proti G+ a G- bakterii



Obr. 18 Antibakteriální působení chitosanových filmů proti *E. coli* (horní) a *S. aureus* (spodní) a) T20-2 b) T80-2 c) T85-2

## ZÁVĚR

Cílem diplomové práce byla příprava a charakterizace chitosanových roztoků a filmů s obsahem tymiánového oleje a různých typů emulgátorů, které se vzájemně lišily hodnotou HLB.

Praktická část byla věnována přípravě chitosanových roztoků o různé koncentraci emulgátoru Tween 20, Tween 80 a Tween 85, anebo směsi emulgátoru a 2% hm. tymiánového esenciálního oleje (TEO). U roztoků byl následně měřen průměr velikosti částic, který klesal s přidavkem emulgátoru, resp. směsi TEO. Nejmenší částice byly pozorovány u vzorků s obsahem emulgátoru o nejnižší HLB hodnotě, tedy Tweenu 85 a největší částice naopak u emulgátoru s vysokou hodnotou HLB Tweenu 20. Filmy s obsahem TEO obsahovaly různě velké částice o různé distribuci v závislosti na použitém typu emulgátoru, což bylo potvrzeno i při SEM analýze. Zeta potenciál byl dalším sledovaným parametrem chitosanových roztoků, který je využíván pro stanovení elektrostatické stability disperzních soustav a intenzity náboje. Inkorporace povrchově aktivní látky do filmotvorného roztoku způsobila pokles zeta potenciálu u všech vzorků ve srovnání s hodnotou samotného chitosanového roztoku (+58,7 mV). Ve většině případů se ovšem hodnoty stále pohybovaly nad hranicí +30 mV, což dokládá významný podíl elektrostatické stabilizace.

Z chitosanových roztoků byly odlévací technikou připraveny filmy, které byly podrobeny dalším analýzám. Pro praktické využití hraje významnou roli smáčivost polymerních filmů, která byla zjišťována měřením kontaktního úhlu chitosanových filmů v přítomnosti tymiánového oleje a emulgátoru Tween 20, 80 a 85. S přidavkem TEO došlo ke zvýšení hydrofobicity filmu, což lze vzhledem k charakteru tymiánového oleje očekávat. Měření také prokázalo vliv povrchově aktivní látky na velikost úhlu smáčení, kdy zvýšení koncentrace emulgátoru ve filmu vedlo ke snížení úhlu smáčení. Zvýšení hydrofility povrchu bylo potvrzeno také měřením povrchové energie a stanovením polární a disperzní složky dle modelu OWRK/Fowkes a Wu.

Inkorporace TEO do chitosanové matrice způsobila významné změny v mechanických vlastnostech, došlo k poklesu pevnosti v tahu, prodloužení při přetržení (pouze u emulgátoru Tween 80), a dále pevnosti a deformaci při vpichu. Přídavek povrchově aktivní látky způsobil nárůst prodloužení při přetržení, pevnosti a deformace při vpichu ve srovnání s referenčním vzorkem.



Dále byla sledována antibakteriální účinnost chitosanových filmů vůči grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* a gramnegativní bakterii *Escherichia coli*. U všech vzorků byl antibakteriální účinek pozorován teprve až po inkorporaci TEO, přičemž největší aktivita byla zaznamenána proti *S. aureus*. V rámci antibakteriálního testu byl prokázán vliv HLB hodnoty použitého emulgátoru, kdy s rostoucí hydrofilitou molekuly byl pozorován vyšší účinek vůči gramnegativní bakterii, zatímco vůči grampozitivní bakterii *E. coli* byl zaznamenán opačný trend.

Závěrem lze říci, že inkorporace vybraných emulgátorů a aktivních látek do chitosanové matrice může zásadně ovlivnit její fyzikální, mechanické i antibakteriální vlastnosti. Vzhledem ke stabilitě připravených systémů by mohly nalézt uplatnění ve formě aktivních obalových materiálů.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] PETER, M. Martin ed. *Handbook of Deposition Technologies for Films and Coatings: Science, Applications and Technology, 3rd Edition* [online]. Published by Elsevier, 2010, s. 912. ISBN 978-0-8155-2031-3
- [2] EMBLEM, Anne a Henry Emblem ed. *Packaging technology: Fundamentals, materials and processes* [online]. Woodhead Publishing, 2012, s. 579. ISBN 978-1-84569-8
- [3] EMBUSCADO, M. E., K. C. Huber ed. *Edible Films and Coatings for Food Applications* [online]. Springer, 2009, s. 403. ISBN 978-0-387-92823-4
- [4] BOURTOM, T. Edible films and coatings: Characteristics and properties. *International Food Research Journal* [online]. 2008, **15** (3), s. 237–248. ISSN 2231-7546.
- [5] ŠUPUT, Danijela, Lazić V., Popović S., N. Hromiš. Edible films and coatings – sources, properties and application. *Food and Feed Research* [online]. 2015, **42** (1), s. 11–22. ISSN 2217-5660. Dostupné z: doi:10.5937/FFR1501011S
- [6] GONTARD, Nathalie a Stephane Guilbert. *Bio-packaging: Technology and properties of edible/or biodegradable material of agricultural origin* [online]. Université de Montpellier, France, 1992, s. 30. Dostupné z: <https://agritrop.cirad.fr/594149/1/ID594149.pdf>
- [7] SEDLAŘÍKOVÁ, Jana. *Chemie a technologie tenzidů II*. Učební text, Fakulta technologická UTB ve Zlíně. Registrační číslo CZ. 1.07/2.2.00/28.0132
- [8] Český lékopis 2017, Evropská část 1. díl. Grada publishing: Praha, 2017. ISBN 978-80-271-0500-7
- [9] BARTOVSKÁ, Lidmila, Šišková Marie. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav, 5. vydání* [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2005, s. 244. ISBN 80-7080-579-X
- [10] ERBIL, H. Yildirim. *Surface Chemistry of Solid and Liquid Interfaces* [online]. Blackwell Publishing, 2006, s. 364. ISBN 978-1-405-11968-9

- [11] KODÍČEK, Milan. *Biochemické pojmy: měření úhlu smáčení* [online]. Ve *Vydavatelství VŠCHT Praha*. [cit. 2021-03-05] Dostupné z: [https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/mereni\\_uhlu\\_smaceni.html](https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/mereni_uhlu_smaceni.html)
- [12] KAMPER, S. L. a O. Fennema. Water Vapour Permeability of an Edible, Fatty Acid, Bilayer Film. *Journal of Food Science* [online]. 1984, **49** (6), s. 1481–1485. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.1984.tb12826.x
- [13] BOZIARIS, Ioannis S. ed. *Novel Food Preservation and Microbial Assessment Techniques, 1st Edition* [online]. CRC Press, 2014, s. 468. ISBN 978-1-4665-8076-3
- [14] BRODY, Aaron, E. Strupinsky a Lauri Kline. *Active Packaging for Food Applications, 1st Edition* [online]. CRC Press, 2001, s. 236. ISBN 1-58716-045-5
- [15] JANJARASSKUL, Theeranun a Jihn M. Krochta. Edible Packaging Materials. *Annual Review of Food Science and Technology* [online]. 2010, **1** (1), s. 415–448. ISSN 1941-1413. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.food.080708.100836
- [16] BARAN, Robert a Howard I. Maibach ed. *Textbook of Cosmetic Dermatology, 5th Edition* [online]. CRC Press, 2017, s. 606. ISBN 978-1-4822-5734-2
- [17] SMOLINSKE, Susan C. ed. *Food, Drug, and Cosmetic Excipients, 1st Edition* [online]. CRC Press, 1992, s. 448. ISBN 0-8493-3585-X
- [18] BAREL, André O., Marc Paye, Howard I. Maibach ed. *Handbook of Cosmetic Science and Technology, 3rd Edition* [online]. Informa Healthcare USA, 2009, s. 869. ISBN 978-1-4200-6963-1
- [19] RATNER, Buddy, Allan Hoffman, Frederick Schoen a Jack Lemons ed. *Biomaterials science: An Introduction to Materials in Medicine, 2nd Edition* [online]. Elsevier, 2004, s. 864. ISBN 0-12-582463-7
- [20] KALARIKKAL, N., R. Augustine, O. Oluwafemi, Joshy K. S. ed. *Nanomedicine and Tissue Engineering: State of the Art and Recent Trends, 1st Edition* [online]. Apple Academic Press, 2016, s. 562. ISBN 978-1-4987-2642-9
- [21] PATEL, Hetal, Minal Bonde a Ganga Srinivasan. Biodegradable Polymer Scaffold for Tissue Engineering. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs* [online]. 2011, **25** (1), s. 20–29. ISSN 09711198.

- [22] VENUGOPAL, Vazhiyil ed. *Marine Polysaccharides: Food Applications, 1st Edition* [online]. CRC Press, 2011, s. 396. ISBN 978-1-4398-1527-4
- [23] PIERGIOVANI, Luciano a Sara Limbo ed. *Food Packaging Materials* [online]. Springer, 2016. ISBN 978-3-319-24730-4
- [24] JUNG, H. Han ed. *Innovations in Food Packaging, 1st Edition* [online]. Elsevier, 2005, s. 503. ISBN 978-0-12-311632-5
- [25] THOMAS, S., S. Gopi a A. Amalraj ed. *Biopolymers and Their Industrial Applications: From Plant, Animal, and Marine Sources, to Functional Products* [online]. Elsevier, 2020, s. 398. ISBN 978-0-12-819240-5
- [26] DUMITRIU, Severian ed. *Polymeric Biomaterials, 2nd Edition* [online]. Marcel Dekker, Inc., 2001, s. 1184. ISBN 0-8247-0569-6
- [27] RAMAWAT, Kishan Gopal a Jean-Michel Mérillon ed. *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology* [online]. Springer, 2015, s. 2241. ISBN 978-3-319-16297-3
- [28] BANKER, G., A. Gore a J. Swarbrick. Water vapor transmission of free polymers films. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. 2000, **18** (7), s. 173–176. ISSN 2042-7158. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1966.tb07906.x
- [29] BALDWIN, Elizabeth, Robert Hagenmaier a Jinhe Bai ed. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, 2nd Edition* [online]. CRC Press, 2011, s. 460. ISBN 978-1-4200-5962-5.
- [30] SHUKLA, Rishi a Munir Cheryan. Zein: The industrial protein from corn. *Industrial Crops and Properties* [online]. 2001, **13** (3), s. 171–192. ISSN 0926-6690. Dostupné z: doi:10.1016/S0926-6690(00)00064-9
- [31] SIONKOWSKA, Alina. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. *Progress in Polymer Science* [online]. 2011, **36** (9), s. 1254–1276. ISSN 0079-6700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.05.003
- [32] VARGAS, M., A. Perdonés, A. Chiralt a kol. Effect of homogenization conditions on physicochemical properties of chitosan-based film-forming dispersions and films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2011, **25** (5), s. 1158–1164. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2010.11.002

- [33] KROCHTA, J. M. a C. De Mulder-Johnston. Edible & biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technology* [online]. 1997, **51** (2), s. 61–74. ISSN 0015-6639.
- [34] BANKER, Gilbert S. Film Coating Theory and Practice. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. **55** (1), 1966, s. 81–89. ISSN 0022-3549. Dostupné z: doi:10.1002/jps.2600550118
- [35] GONTARD, Nathalie, Stéphane Guilbert a Jean-Louis Cuq. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. *Journal of Food Science* [online]. **58** (1), s. 206–211. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x
- [36] GENNADIOS, Aristippos ed. *Protein-Based Films and Coatings, 1st Edition* [online]. CRC Press, 2002, s. 672. ISBN 978-1-4200-3198-0
- [37] DANGARAN, Kirsten L. a John. M. Krochta. Preventing the loss of tensile, barrier and appearance properties caused by plasticizer crystallisation in whey protein films. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2007, **42** (9), s. 1094–1100. ISSN 1365-2621. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01355.x
- [38] MADHAVI, D. L., S. S. Deshpande, D. K. Salunkhe ed. *Food antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives, 1st Edition* [online]. CRC Press, 1996, s. 512. ISBN 9780429081859
- [39] KAŠPÁRKOVÁ, Věra. *Chemie a technologie tuků II*. Učební text, Fakulta technologická UTB ve Zlíně. Registrační číslo CZ.1.07/2.2.00/28.1132
- [40] KODÍČEK, Milan. *Biochemické pojmy: glukosaoxidas* [online]. Ve *Vydavatelství VŠCHT Praha*. [cit. 2021-03-06] Dostupné z: [https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid\\_es-002\\_v1/hesla/glukosaoxidas.html](https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/hesla/glukosaoxidas.html)
- [41] PARK, Su-il, M. A. Daeschel a Yanding Zhao. Functional Properties of Antimicrobial Lysozyme-Chitosan Composite Films. *Journal of Food Science* [online]. 2004, **69** (8), s. 215–221. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb09890.x

- [42] BASER, K. Hüsnü Can, Buchbauer Gerhard, ed. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and application, 3rd Edition* [online]. CRC Press, 2020, s. 1120. ISBN 9781351246460
- [43] BONILLA, Jeannine, L. Artés, M. Vargas, A. Chiralt. Physicochemical properties of chitosan-essential oils film-forming dispersions. Effect of homogenization treatments. *Procedia Food Science* [online]. 2011, **1**, s. 44–49. ISSN 2211-601X. Dostupné z: doi:10.1016/j.profoo.2011.09.008
- [44] OJAGH, S. M., M. Rezaei, S. H. Razavi, S. M. H. Hosseini. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry* [online]. 2010, **120** (1), s. 193–198. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.006
- [45] PERDONES, Ángela Montero. *Antifungal Chitosan-Based Films and Coatings Containing Oils for Fruit Applications* [online]. Doctoral Thesis, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, 2015.
- [46] FARN, Richard J. ed. *Chemistry and Technology of Surfactants* [online]. Blackwell Publishing, 2006, s. 315. ISBN 978-14051-2696-0
- [47] MYERS, Drew. *Surfactant Science and Technology, 3rd Edition* [online]. Published by John Wiley & Sons, Inc., 2006, s. 380. ISBN-13 978-0-471-68024-6
- [48] GADHAVE, Ashish. Determination of Hydrophilic-Lipophilic Balance Value. *International Journal of Science and Research* [online]. 2014, **3** (4), s. 573–575. ISSN 2319-7064.
- [49] OKÁČOVÁ, Ladislava, David Vetchý, Aleš Franc a Miloslava Rabišková. Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpuštění. *Chemické listy* [online]. 2011, **105**, s. 34–40. ISSN 1213–7103.
- [50] WHITEHURST, Robert J. ed. *Emulsifiers in Food Technology* [online]. Blackwell Publishing, 2004, s. 247. ISBN 1-2051-1802-4.
- [51] TAKAMURA, Akira, Tomoko Minowa, Shun'ichi Noro a Tadamachi Kubo. Effects of Tween and Span Group Emulsifiers on the Stability of o/w Emulsions. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* [online]. 1979, **27** (12), s. 2921–2926. ISSN 1347-5223. Dostupné z: doi:10.1248/CPB.27.2921

- [52] BRAVIN, B., D. Peressini a A. Sensidoni. Development and application of polysaccharide–lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *Journal of Food Engineering* [online]. 2006, **76** (3), s. 280–290. ISSN 0260-8774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.05.021
- [53] ELSABEE, Maher Z. a Enstar S. Abdou. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2013, **33** (4), s. 1819–1841. ISSN 0928-4931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2013.01.010
- [54] CASARIEGO, A., B. W. S. Souza, A. A. Vicente, J. A. Teixeira a kol. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. *Food Hydrocolloids* [online]. 2008, **22** (8), s. 1452–1459. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2007.09.010
- [55] CHOI, W., H. Park, D. Ahn, J. Lee a C. Lee. Wettability of Chitosan Coating Solution ‚Fuji‘ Apple Skin. *Journal of Food Science* [online]. 2002, **67** (7), s. 2668–2672. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb08796.x
- [56] SE-KWON, Kim ed. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivates: Biological Activities and Applications* [online]. CRC Press, 2011, s. 666. ISBN 978-1-4398-1603-5
- [57] BERGER, J., M. Reist, J. M. Mayer, O. Felt, N. A. Peppas. R. Gurny. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2004, **57** (1), s. 19–34. ISSN 0939-6411. Dostupné z: doi:10.1016/s0939-6411(03)00161-9
- [58] SE-KWON, Kim ed. *Marine Nutraceuticals: Prospects and Perspectives, 1st Edition* [online]. CRC Press, 2013, s. 464. ISBN 978-1-4665-1352-5.
- [59] SINGH, Rita, Kirti Shitz a Antaryami Singh. Chitin and chitosan: biopolymers for wound management. *International Wound Journal* [online]. 2017, **14** (6), s. 1276–1289. ISSN 1742-4801. Dostupné z: doi:10.1111/iwj.12797
- [60] ONG, Shin-Yeu, Jian Wu, Shabbir Moochhla, Mui-Hong, Jia Lu. Development of chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial

- properties. *Biomaterials* [online]. 2008, **29** (32), s. 4323–4332. ISSN 0142-9612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2008.07.034
- [61] AIDER, Mohammed. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT – Food Science and Technology* [online]. 2010, **43** (6), s. 837–842. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2010.01.021
- [62] BHALE, S., W. Prinyawiwatkul a kol. Chitosan Coatings Improves Shelf Life of Eggs. *Journal of Food Science* [online]. 2003, **68** (7), s. 2378–2383. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb05776.x
- [63] DUTTA, Pradip Kumar, Joydeep Dutta, V. S. Tripathi. Chitin and Chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research* [online]. 2004, **63** (1), s. 20–31. ISSN 0975-1084. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2010.08.008.
- [64] AFONSO, C. R., R. S. Hirano a kol. Biodegradable antioxidant chitosan films useful as an anti-aging skin mask. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, **132**, s. 1262–1273. ISSN 0141-8130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.04.052
- [65] BUDI, Arifin, Purwantiningsih – Sugita a Dery Ermawam Masyudi. Chitosan and Lauric Acid Addition to Corn Starch-Film Based Effect: Physical Properties and Antimicrobial Activity Study. *International Journal of Chemical Science* [online]. 2016, **14** (2), s. 529–544. ISSN 0972-768X.
- [66] SALLEH, E. a I. I. Muhamad. Starch-based Antimicrobial Films Incorporated With Lauric Acid And Chitosan. *AIP Conference Proceedings* [online]. 2010, **1217** (1), s. 1–6. ISSN 1551-7616. Dostupné z: doi:10.1063/1.3377861
- [67] OJAGH, Seyed Mahdi, Masoud Rezaei, Seyed Hadi Razavi, Seyed Mohamad Hashem Hosseini. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry* [online]. 2010, **122** (1), s. 161–166. ISSN 1520-5118. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2010.02.033
- [68] HAN, Chunran, Y. Zhao, S. W. Leonard, M. Traber. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries



- (*Fragaria × ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). *Postharvest Biology and Technology* [online]. 2004, **33** (1), s. 67–78. ISSN 0925-5214. Dostupné z: doi:10.1016/j.postharvbio.2004.01.008
- [69] SZYMAŃSKA, E. a K. Winnicka. Stability of Chitosan – A Challenge of Pharmaceutical and Biomedical Application. *Marine Drugs* [online]. 2015, **13** (4), s. 1819–1846. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md13041819
- [70] KIM, S. H., H. K. No a W. Prinyawiwatkul. Plasticizer Types and Coatings Method Affect Quality and Shelf Life of Eggs Coated with Chitosan. *Journal of Food Science* [online]. 2008, **73** (3), s. 111–117. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00650.x
- [71] ABUGOCH, L. a C. Tapia a kol. Characterization of quinoa protein-chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2011, **25** (5), s. 879–886. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2010.08.008
- [72] STEPHEN, Alistar, Glyn Phillips a Peter William ed. *Food Polysaccharides and Their Applications, 2nd Edition* [online]. CRC Press, 2006, s. 752. ISBN 978-1-4200-1516-4.
- [73] VÁSZONEZ, María B. a kol. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International* [online]. 2009, **42** (7), s. 762–769. ISSN /963-9969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2009.02.026
- [74] KANATT, Sweetie, M. Rao, A. Chawla, Arun Sharma. Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids* [online]. 2012, **29** (2), s. 290–297. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2012.03.005
- [75] BONILLA, J., L. Aterés, M. Vargas, A. Chiralt. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2012, **26** (1), s. 9–16. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2011.03.015
- [76] SEDLAŘÍKOVÁ, J., M. Janalíková, O. Rudolf, J. Pavlačková, P. Egner, P. Peer, V. Varad'ová aj. Krejčí. Chitosan/Thyme Oil Systems as Affected by Stabilizing Agent: Physical and Antimicrobial Properties. *Coatings* [online]. 2019, **9** (3). ISSN 2079-6412. Dostupné z: doi:10.3390/coatings9030165

- [77] HEURTAULT, B., P. Saulnier, B. Pech, J-E Proust a J-P Benoit. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials* [online]. 2003, **24** (23), s. 4283–4300. ISSN 0142-9612. Dostupné z: doi:10.1016/s0142-9612(03)00331-4
- [78] Autor neznámý. *Technical Note: Zeta Potential An Introduction in 30 Minutes* [online]. Malvern Instrument Limited, 2015. [cit. 2021-05-01] Dostupné z: <https://www.research.colostate.edu/wp-content/uploads/2018/11/ZetaPotential-Introduction-in-30min-Malvern.pdf>
- [79] IBRAHIM, N., I. A. Raman a M. R. Yusop. Effect of functional group of non-ionic surfactants on the stability of emulsion. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* [online]. 2015, **19** (1), s. 261–267. ISSN 1394-2506.
- [80] HONG, I. K., S. I. Kim, S. B. Lee. Effect of HLB value on oil-in-water emulsions: Droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* [online]. 2018, **67**, s. 123–131. ISSN 1226-086X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiec.2018.06.022
- [81] HOSSEINI, M. H., S. H. Razavi, M. A. Mousavi. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 2008, **33** (6), s. 727–743. ISSN 1745-4549. Dostupné z: doi:10.1111/j.1745-4549.2008.00307.x
- [82] TAN, Y. M., S. H. Lim, B. Y. Tay, M. W. Lee a E. S. Thian. Functional chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food packaging technology. *Materials Research Bulletin* [online]. 2015, **69**, s. 142–146. ISSN 0025-5408. Dostupné z: doi:10.1016/j.materresbull.2014.11.041
- [83] LIAN, Huan, Yong Peng, Jingying Shi, Qingguo Wang. Effect of emulsifier hydrophilic-lipophilic balance (HLB) on the release of thyme essential oil from chitosan films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2019, **97**, article 105213. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105213
- [84] ZENKIEWICZ, M. Methods for the calculation of surface free energy of solids. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering* [online]. 2007, **24** (1). ISSN 1734-8412.

- [85] *Surface tension values of some common test liquids for surface energy analysis* [online]. [cit. 2021-05-01] Dostupné z: <http://www.surface-tension.de>
- [86] CHEN, Chien-Hsien, Wen-Shiuh Kuo a Lih-Shiuh Lai. Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca/decolorized hsian-tsaio leaf gum films. *Food hydrocolloids* [online]. 2009, **23** (3), s. 714–721. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2008.06.006
- [87] CARGI-MEHMETOGLU, A., Z. Ustunol a E. T. Ryser. Antimicrobial, Mechanical, and Moisture Barrier Properties of Low pH Whey Protein-based Edible Films Containing p-Aminobenzoic or Sorbic Acids. *Journal of Food Science* [online]. 2001, **66** (6), s. 865–870. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb15188.x
- [88] SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Laura, Maite Cháfer, Amparo Chiralt a Chelo González-Martínez. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2010, **82** (2), s. 277–283. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2010.04.047
- [89] PRANOTO, Y., S. K. Rakshit, V. M. Salohke. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT – Food Science and Technology* [online]. 2005, **38** (8), s. 859–865. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2004.09.014
- [90] PENG, Yong a Yunfei Li. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2014, **36**, s. 287–293. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2013.10.013
- [91] BONILLA, Jeannine, Maria Vargas, Lorena Atarés a Amparo Chiralt. Physical properties of chitosan-basil oil edible films as affected by oil content and homogenization. *Procedia Food Science* [online]. 2011, **1**, s. 50–56. ISSN 2211-601X. Dostupné z: doi:10.1016/j.profoo.2011.09.009
- [92] BÉGIN, André a Marie-Rose Van Calsteren. Antimicrobial films produced from chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 1999, **26** (1), s. 63–67. ISSN 0141-8130. Dostupné z: doi:10.1016/s0141-8130(99)00064-1

- [93] ZIVANOVIC, Svetlana, Shuang Chi a Ann F. Draughon. Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *Journal of Food Science* [online]. 2005, **70** (1), s. 45–51. ISSN 1750-3841. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb09045.x
- [94] WANG, L., F. Liu, Y. Jiang, Z. Chai, P. Li, Y. Cheng, H. Jing a X. Leng. Synergistic Antimicrobial Activities of Natural Essential Oils with Chitosan Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2011, **59** (23), s. 12411–12419. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf203165k
- [95] ZIVANOVIC, S., J. Li, M. Davidson a K. Kit. Physical, Mechanical, and Antibacterial Properties of Chitosan/PEO Blend Films. *Biomacromolecules* [online]. 2007, **8** (5), s. 1505–1510. ISSN 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm061140p
- [96] MANOU, I., L. Bouillard, M. J. Devleeschouwer a A. O. Barel. Evaluation of the preservative properties of Thymus vulgaris essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 1998, **84** (3), s. 368–376. ISSN 1264-2672. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2672.1998.00353.x
- [97] JANSSEN, A.M., J. J. C. Scheffer a Baerheim-Svendsen. Antimicrobial activity of essential oils: A 1976–1986 literature review on possible applications. *Pharmaceutisch Weekblad* [online]. 1987, **9** (4), s. 193–197. ISSN 0167-6555. Dostupné z: doi:10.1007/BF02029329.
- [98] VAVŘÍKOVÁ, Eva a Jarmila Vinšová. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. *Chemické listy* [online]. 2009, **103** (1), s. 56–65. ISSN 1213–7103.
- [99] PELISSARI, F. M., V. E. Grossmann, F. Yamashita a E. A. G. Pineda. Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch-Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2009, **57** (16), s. 7499–7504. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf9002363
- [100] HOLLEY, Richard A. a Dhaval Patel. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology* [online]. 2005, **22** (4), s. 273–292. ISSN 0740-0020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2004.08.006

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ADT	Agar difúzní test
AMK	Aminokyselina
CMC	Kritická micelární koncentrace
E	Elongation at Break; Prodloužení při přetržení, elongace
EC	<i>Escherichia coli</i>
EO	Esenciální olej
G-	Gramnegativní
G+	Grampozitivní
HDPE	High Density Polyethylene; vysokohustotní polyethylen
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha
MH	Muller-Hintonův agar
MK	Mastná kyselina
LDPE	Low Density Polyethylene; Nízkohustotní polyethylen
LLDPE	Linear Low Density Polyethylene; Lineární nízkohustotní polyethylen
PAL	Povrchově aktivní látka
PD	Puncture deformation; Deformace při vpichu
PE	Polyethylen
PEG	Polyethylenglykol
PET	Polyethylentereftalát
PP	Polypropylen
PS	Puncture strength; Deformace při vpichu
PVA	poly(vinyl alkohol)
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEM	Analýza skenovacím elektronovým mikroskopem
TS	Tensile strength; Pevnost v tahu

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1 Třífázový systém pevná látka-kapalina-plyn</i> .....	14
<i>Obr. 2 Kapka kapaliny na pevném povrchu [9, s. 25]</i> .....	15
<i>Obr. 3 Systém měření kontaktního úhlu metodou přisedlé kapky [11]</i> .....	16
<i>Obr. 4 Koncept aplikace antimikrobiálních látek [upraveno podle 13, s. 238]</i> .....	18
<i>Obr. 5 Struktura kompozitních filmů na bázi lipidů [upraveno podle 3, s. 139]</i> .....	31
<i>Obr. 6 Velikost částic chitosanových roztoků s různými typy emulgátorů</i> .....	62
<i>Obr. 7 Vzhled chitosanových filmů s obsahem 0,2 %hm. emulgátoru</i> .....	65
<i>Obr. 8 Tloušťka chitosanových filmů</i> .....	65
<i>Obr. 9 Hodnoty polární složky povrchové energie získané OWRK/Fowkesovou metodou</i> .	68
<i>Obr. 10 Hodnoty polární složky povrchové energie získané Wuovou metodou</i> .....	69
<i>Obr. 11 Zismanův graf chitosanového filmu T85-2 pro stanovení kritického povrchového napětí</i> .....	71
<i>Obr. 12 SEM povrchů (vlevo) a řezů (vpravo) chitosanových filmů s obsahem 0,1 %hm. emulgátoru a) TEO80 b) TEO85 c) T85</i> .....	72
<i>Obr. 13 Srovnání hodnot pevnosti v tahu chitosanových filmů</i> .....	73
<i>Obr. 14 Srovnání hodnot prodloužení při přetržení v tahu chitosanových filmů</i> .....	74
<i>Obr. 15 Pevnost při vpichu chitosanových filmů s různými typy emulgátorů</i> .....	76
<i>Obr. 16 Deformace při vpichu chitosanových filmů s různými typy emulgátorů</i> .....	76
<i>Obr. 17 Antibakteriální aktivita (inhibiční zóna) chitosanových filmů obsahující tymiánový EO a emulgátor typu Tween proti G+ a G- bakterii</i> .....	78
<i>Obr. 18 Antibakteriální působení chitosanových filmů proti E. coli (horní) a S. aureus (spodní) a) T20-2 b) T80-2 c) T85-2</i> .....	79

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1 Přehled materiálů používaných k výrobě jedlých filmů a obalů [5][24, s. 243].....</i>	<i>23</i>
<i>Tab. 2 Přehled fyzikálních vlastností tenzidu Span [50, s. 167] .....</i>	<i>40</i>
<i>Tab. 3 Přehled fyzikálních vlastností tenzidu Tween [50, s. 169].....</i>	<i>41</i>
<i>Tab. 4 Složení vzorků T obsahující emulgátor.....</i>	<i>58</i>
<i>Tab. 5 Složení vzorků TEO obsahující směs esenciálního oleje a emulgátoru.....</i>	<i>58</i>
<i>Tab. 6 Srovnání zeta potenciálu chitosanových roztoků s různými typy emulgátorů .....</i>	<i>64</i>
<i>Tab. 7 Hodnoty kontaktních úhlů chitosanových filmů bez EO pro různé kapaliny (W destilovaná voda, E ethylenglykol, DI diiodomethan) .....</i>	<i>66</i>
<i>Tab. 8 Hodnoty kontaktních úhlů chitosanových filmů s EO pro různé kapaliny (W destilovaná voda, E ethylenglykol, DI diiodomethan) .....</i>	<i>67</i>
<i>Tab. 9 Hodnoty povrchové energie získané OWRK/Fowkesovou metodou.....</i>	<i>68</i>
<i>Tab. 10 Hodnoty povrchové energie získané Wuovou metodou .....</i>	<i>69</i>
<i>Tab. 11 Hodnoty kritického povrchového napětí chitosanových filmů.....</i>	<i>70</i>

