VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

TESTOVÁNÍ ÚČINNOSTI ANTIBAKTERIÁLNÍCH PŘÍPRAVKŮ NA BÁZI AG PRO APLIKACE V POLYURETANOVÝCH A EPOXIDOVÝCH SYSTÉMECH

TESTING OF ANTIBACTERIAL COMPOSITIONS BASED ON AG IN PU AND EP FORMULATIONS

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE — Bc. MICHAELA VYHNÁNKOVÁ
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — Mgr. FRANTIŠEK KUČERA, Ph.D.
SUPERVISOR

BRNO 2008

Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce	**FCH-DIP0253/2007**	Akademický rok: **2007/2008**
Ústav	Ústav chemie materiálů	
Student(ka)	**Vyhnánková Michaela Bc.**	
Studijní program	Chemie, technologie a vlastnosti materiálů (N2820)	
Studijní obor	Chemie, technologie a vlastnosti materiálů (2808T016)	
Vedoucí diplomové práce	**Mgr. František Kučera, Ph.D.**	
Konzultanti diplomové práce		

Název diplomové práce:

Testování účinnosti antibakteriálních přípravků na bázi Ag pro aplikace v polyuretanových a epoxidových systémech

Zadání diplomové práce:

- shrnutí současných poznatků
- nalezení a výběr vhodných antimikrobiálních přípravků
- příprava funkčních vzorků podlahových systémů
- testování a hodnocení antimikrobiální účinnosti

Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Michaela Vyhnánková student(ka)	Mgr. František Kučera, Ph.D. Vedoucí práce	Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

V současné době je kladen důraz na antibakteriální vlastnosti různých produktů, i podlahových a nátěrových materiálů. Tato práce se zabývá testováním účinnosti zvolených antibakteriálních přípravků ve vodouředitelných a bezrozpouštědlových podlahových systémech na bázi epoxidové a polyuretanové.
Jako první byly vyselektovány nejvhodnější a nejběžnější reprezentanti jednotlivých skupin podlah, dále zvoleny přípravky na bázi stříbra, respektive stříbrných iontů Ag^+, které by měli po zakomponování do výše uvedených systémů s největší pravděpodobností vykazovat antibakteriální účinek. Vybrán byl Ag/SiO_2, Ag/TiO_2, Ag/Al_2O_3, Ag/ZnO, Ag/BaO, Ag/zeolity, AgI. Nezbytná byla tvorba metodiky pro testování antibakteriální účinnosti, která by poskytovala dostatečně přesné a reprodukovatelné výsledky. Na začátku metoda vycházela z norem ČSN EN ISO 20645 Plošné textilie – Zjišťování antibakteriální aktivity – Zkouška šíření agarovou destičkou, ČSN 79 3880 Zkoušení antimikrobních vlastností materiálů a výrobků kožedělného průmyslu, Antifugální a antibakteriální vlastnosti. Testování touto cestou však přinášelo nereprodukovatelné výsledky. Z výše uvedených norem byly převzaty použité bakteriální kmeny Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus. Poté bylo přistoupenou k testování metodou rekultivace za použití různých koncentrací bakteriálních kultur, jejíž postup je následující: nanesení nátěru na dno Petriho misky, vytvrzení, nanesení roztoku bakteriální kultury, kultivace 24 hodin při 37 °C, rozočkování kultivované kultury na agar, kultivace 24 hodin při 37 °C, vyhodnocení růstu/inhibice bakterií.
Výsledky poskytují přehled o výhodách a nevýhodách jednotlivých anibakteriálních přípravků ve zvolených systémech.

ABSTRACT

Nowdays, an emphasis is plased on an antibacterial properties of various products, including floor and coating materials. This work is about an testing of effectivity of the chosen antibacterial agents in the water born and solvent free floor systems which are epoxide or polyurethane based.
As first step, the most suitable representative of each floor system was chosen, the silver based agents (respectively silver anion Ag^+ based) which should have an antibacterial effect when incorporated into the floor system was chosen. The selected ones are Ag/SiO_2, Ag/TiO_2, Ag/Al_2O_3, Ag/ZnO, Ag/BaO, Ag/zeolite, AgI. The necessary was a creating of the test method which has to offer exact and reproducable outputs. At the begining, the method came out from the norms ČSN EN ISO 20645 Squared textiles – Determination of antibacterial activity – Test of diffusion throught the agar plate, ČSN 79 3880 Testing of antimicrobial properties of material and product of boot industry, Antifugal and antibacterial properties. Testing by this way did not bring repriducable outputs. Only the bacterial strains Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Staphylococcus aureus was used according to the norms. The method of recultivation was used for testing. The process is: an application of the coating on the bottom of the Petri´s dish, curing, appplication of the bacterial solution, cultivation for 24 hours at 37 °C, inoculation onto the agar in the Petri´s dish, cultivation for 24 hours at 37 °C, interpretation of the grow/inhibition of the bacteries.

The results offer the overview about the advantages and disadvantages of each antibacterial agent in the chosen systems.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antibakteriální aditivum, antibakteriální účinek Ag^+, antibakteriální podlahy

KEY WORDS

Antibacterial agent, antibacterial effect of Ag^+, antibacterial floors

VYHNÁNKOVÁ, M. Testování účinnosti antibakteriálních přípravků na bázi Ag pro aplikace v polyuretanových a epoxidových systémech. Brno, 2008. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu chemie materiálů. Vedoucí diplomové práce Mgr. František Kučera Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

……
Michaela Vyhnánková

Poděkování:
Mé poděkování za umožnení práce na tomto projektu, vedení, předané informace a trpělivost patří panu Mgr. Františku Kučerovi Ph.D.
Dále bych ráda poděkovala Laboratoři klinické mikrobiologie s.r.o. paní MUDr. Dagmary Malotové za pomoc při realizaci a cenné rady.

OBSAH

1. Úvod 8
2. Cíle práce 10
3. Teoretická část 11
3.1. Současný stav problematiky 11
3.2. Antibakteriální účinek stříbra 14
3.3. Antibakteriální aditiva na bázi stříbra 15
3.3.1. AgI 16
3.3.2. Ag/zeolity 17
3.3.3 Ag/SiO_2 18
3.3.4. Ag/ZnO 18
3.3.5. Ag/Al_2O_3 19
3.3.6. Ag/TiO_2 20
3.3.7. $Ag/BaSO_4$ 20
3.4. Podlahové systémy 21
3.4.1. Podlahové systémy epoxidové 21
3.4.1.1. Epoxidové pryskyřice 21
3.4.1.2. Síťování epoxidových pryskyřic 23
3.4.1.3. Bezrozpouštědlové epoxidové systémy 24
3.4.1.4. Vodouředitelné epoxidové systémy 24
3.4.2. Podlahové systémy polyuretanové 25
3.4.2.1. Polyoly 25
3.4.2.2. Polyisokyanáty 26
3.4.2.3. Síťování 28
4. Experimentální část 29
4.1. Materiály 29
4.1.1. Epoxidový vodouředitelný nátěr, EPV 29
4.1.2. Epoxidový bezrozpouštědlový nátěr, EPB 29
4.1.3. Polyuretanový vodouředitelný nátěr, PUV 30
4.1.4. Polyuretanový bezrozpouštědlový nátěr, PUB 30
4.1.5 Bakteriální kmeny 31
4.1.5.1. Escherichia coli 31
4.1.5.2. Klebsiella pneumoniae 32
4.1.5.3. Staphylococcus aureus 33
4.1.6. Kultivační půda 34
4.1.7. Další použité látky a chemikálie 34
4.2. Pomůcky a přístroje 35
4.2.1. Pomůcky 35
4.2.2. Přístroje 35
4.3. Metodika 37
4.3.1. Vývoj metodiky 38
4.3.2. Příprava vzorků podlahovin 39
4.3.3. Příprava kultivace 40
4.3.3.1. Příprava bakteriálních roztoků 40

4.3.3.2. Příprava kultivační půdy 41
4.3.4. Kultivace 41
5. Výsledky a diskuse 43
5.1. Výsledky a hodnocení 43
5.2. Hodnocení kultivačních testů v polyuretanovém vodouředitelném systému 52
5.2.1. Ag/Al_2O_3 52
5.2.2. Ag/Ba_2SO_4 52
5.2.3. Ag/SiO_2 53
5.2.4. Ag/ZnO 53
5.2.5. Ag/TiO_2 53
5.2.6. AgI 53
5.2.7. Ag/zeolity 53
5.2.8. Shrnutí 54
5.3. Hodnocení kultivačních testů v polyuretanovém bezrozpouštědlovém systému 54
5.3.1. Ag/Al_2O_3 54
5.3.2. Ag/Ba_2SO_4 55
5.3.3. Ag/SiO_2 55
5.3.4. Ag/ZnO 55
5.3.5. Ag/TiO_2 55
5.3.6. AgI 55
5.3.7. Ag/zeolity 56
5.3.8. Shrnutí 56
5.4. Hodnocení kultivačních testů v epoxidovém bezrozpouštědlovém systému 56
5.4.1. Ag/Al_2O_3 56
5.4.2. $Ag/BaSO_4$ 56
5.4.3. Ag/SiO_2 57
5.4.4. Ag/ZnO 57
5.4.5. Ag/TiO_2 57
5.4.6. AgI 57
5.4.7. Ag/zeolity 57
5.4.8. Shrnutí 58
6. Závěr 59
Seznam použitých literárních zdrojů 60
Seznam použitých zkratek a symbolů 62

1. ÚVOD

V dnešním světě stěrkových či litých podlahových hmot je nepřeberné množství různých variant, kterými lze realizovat podlahu dle rozličných požadavků zákazníka. Počínaje estetickými nároky, žádostí na originalitu, či nároky funkčního charakteru, např. chemickými, tepelnými a mechanickými odolnostmi, odolnostmi vůči povětrnostním vlivům, UV stabilitou nebo odolností proti vodě, snadnou udržovatelností čistoty. Další nároky mohou vyplývat z prostředí, ve kterém má být podlaha aplikována např. aplikovatelnost na vlhký podklad, použitelnost za vysoké relativní vlhkosti vzduchu, možnost pokládky na různé typy povrchů (minerální, kovy), možnost použití na povrch, jež je smáčen vodou, ať už vzlínající z podkladových vrstev, či vodou stojící. Požadavky na užitné vlastnosti se mění s dobou a jsou neustále zvyšovány.

V posledních letech začal být projevován zájem o podlahy s antibakteriální účinností. Podlahy s antibakteriálním účinkem likvidují nebo výrazně omezují množení bakterií či plísní na jejich površích různými mechanismy. Vzhledem ke skutečnosti, že aplikace podlah, na které jsou kladeny nároky na antibakteriální účinek, směřují spíše k podlahám litým, je výhodné zkoumat antibakteriální účinek právě v těchto podlahách. Lité podlahy jsou většinou dvoukomponentní (mohou být však i jedno, troj či čtyř komponentní) systémy. Složka A takového systému představuje pryskyřici s aditivy tzn. s plnivy (křemičité písky různé granulometrie, skleněné vločky, železitá slída), odvzdušňovadly, odpěňovači, rozlivovými činidly, pigmenty, dispergačními prostředky, aditivy snižujícími povrchové napětí, tixotropními činidly, reaktivními ředidly, rozpouštedly, vodou. Složka B je síťovadlo s dalšími ředidly, rozpouštědly, akcelerátory, pryskyřicemi. Lité podlahy jsou dnes obecně, bez zřetele na chemickou příslušnost k dané skupině látek, rozdělovány na rozpouštědlové, bezrozpouštědlové a vodouředitelné. Podlahy na rozpouštedlové bázi jsou snadněji naformulovatelné, do jisté míry i odolnější vůči vnějším vlivům při zpracování a aplikaci. Avšak tento typ podlah je méně vhodný z důvodu odparu rozpouštědel, kterými jsou nejčastěji xylen a butylacetát. Tudíž je použití těchto podlah jednak neekologické a při aplikaci a výrobě obtížně zpracovatelné tak, aby nedošlo k újmě na zdraví. Po aplikaci je nutno prostory dlouho intenzivně větrat. Rozpouštědla se do těchto systému zakomponovávají z důvodu vysoké viskosity pryskyřic a tvrdidel. Druhým jmenovaným typem jsou podlahy bezrozpouštědlové z nichž se při výrobě ani při aplikaci neodpařuje nic v takové míře, aby zápach a zdravotní závadnost nebyli akceptovatelné a měli negativní vliv na zdraví. Jejich viskositu je třeba také snižovat. Bylo nezbytné najít taková ředidla, která vzhledem k tomu, že se neodpaří nebudou ovlivňovat významně síťování a výsledné vlastnosti systému. Pro snížení viskosity pryskyřic se užívá zejména reaktivních ředidel (epoxidové pryskyřice s velmi nízkou viskositou) a pro snížení viskosity síťovadla se používá nejvíce benzylalkohol, jež se ze systému neodpařuje. Třetím typem podlah jsou podlahy vodouředitelné, lépe řečeno vodou emulgovatelné. U tohoto typu podlah do ovzduší uniká jen CO_2 v takové míře, která nijak zdraví lidí ani životní prostředí nezatěžuje.

V principu se u antibakteriálních podlah dosahuje jejich účinku aditivací složky A antibakteriálním přípravkem, ať už na organické či anorganické bázi. Jejich účinek se liší v závislosti na jejich původu. Existuje velké množství látek, jež antibakteriální účinek vykazují, avšak nezbytné je, aby jej vykazovali i po zakomponování do dané polymerní sítě, aby neinteragovali s aditivy či plnivy, aby jejich účinek s časem významně neslábnul a aby v množstvích v jakých se nacházejí v daném systému nebyli nikterak toxické pro lidský

organismus. Podstatné je také najít činidla, jež budou efektivní vůči co nejširšímu spektru mikroorganismů. Byl provedeno již mnoho výzkumů a z organické oblasti byla vyselektována činidla na isothiazolové bázi. Z anorganické oblasti byla vyselektovány činidla s obsahem zinečnatých iontů, měďnatých iontů a stříbrných iontů vykazující velmi dobré anibakteriální vlastnosti. Jako nejvhodnější se postupem času ukázala antibakteriální činidla, kde účinnou látkou jsou stříbrné ionty.

Sloučeniny stříbra mají opravdu zajímavé vlastnosti a jejich účinek je vyhovující. Zakomponovatelnost do již naformulovaných hmot by měla být bezproblémová, a to vzhledem k malému přidávanému množství. Antibakteriální přípravky na bázi stříbra jsou komerčně dostupné a to v několika variantách. Přípravek může být ve formě chemické sloučeniny, ze které se Ag^+ uvolňuje nebo ve formě kdy je Ag^+ navázán na nosiči, na který byl vhodnou technologií nanesen. Antibakteriální přípravek musí být v takové formě, aby se z něj Ag^+ uvolňovalo. Jako vhodné a nejvíce využívané jsou produkty, kde je stříbro navázáno na nosičích zeolitových, oxidu titaničitém či síranu barnatém. Dále hojně využívané je stříbro ve formě chemické sloučeniny AgI. U všech je předpoklad antibakteriálního účinku. Výsledky testů antibakteriálních účinků některých produktů jsou již známy. Většinou se jedná o testy na polyolefinech, tkaninách, kovech. Testy byly většinou pozitivní v různém intervalu účinnosti.

Experimenty v rámci této práce byly prováděny na systémech bezrozpouštědlových a vodouředitelných na bázi epoxidové a polyuretanové. Rozpouštedlové systémy nejsou zahrnuty z důvodu jejich zdravotní a ekologické závadnosti, právě kvůli odparu výše zmiňovaných rozpouštědel. Sledována byla nejen rozdílnost v účincích s ohledem na jednotlivé nosiče, koncentrace bakterií, ale také s ohledem na použitý systém z hlediska chemického tzn. epoxidový či polyuretanový, a také z hlediska skladby systému tzn. vodouředitelný či bezrozpouštědlový.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této práce je nalézt účinné antibakteriální aditivum na bázi stříbra pro polyuretanové a epoxidové podlahové systémy rozpouštědlové a vodouředitelné. Kriteriem výběru je antibakteriální účinnost v daném systému. K dosáhnutí uvedených cílů práce obsahuje:

- ◊ vyhledávání informací a výsledků výzkumů v literatuře
- ◊ příprava vzorků, jejich aditivace antibakteriálním činidlem
- ◊ kultivace a vyhodnocení inhibice rozmnožování bakterií
- ◊ shrnutí a vyhodnocení výsledků výzkumu

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. Současný stav problematiky

V oblasti antibakteriálních aditiv došlo za posledních deset let k velkému rozmachu téměř ve všech sférách, kde je možno antibakteriální vlastnosti využít. Vývoj se podepsal i na chemickém složení aditiv zejména s ohledem na ochranu životního prostředí. Od aditiv převážne organického charakteru se přešlo ve většině případů k aditivům na anorganické bázi. Nejčastěji využívaným aditivem jež má antibakteriální vlastnosti je stříbro.
Stříbro má dlouhotrvající a poutavou historii, jakožto látka s antibiotickým účinkem, v oblasti péče o zdraví. Stříbro bylo zkoumáno pro použití na čištění vody, desinfekci ran, na kostní náhrady, v oblasti rekonstrukční chirurgie, na kardiologického vybavení, na katetry a chirurgické použití. Pokročilé biotechnologie umožnily zakomponování ionizovatelného stříbra do výroby dílů pro klinické použití za účelem snížení rizika infekce a zkvalitnění osobní hygieny. Antimikrobiální aktivita stříbra nebo stříbrných sloučenin je úměrná uvolněným stříbrným iontům Ag^+ a dostupnosti bakterií či buněčných membrán plísní. Kovové stříbro či anorganické sloučeniny stříbra se ionizují v přítomnosti vody, tělních tekutin či tělních exudátů. Stříbrný kationt je biologicky aktivní a připraven interagovat s proteiny, residui aminokyselin, volnými anionty a receptory savčích a eukaryotických buňek. Bakteriální sensitivita vůči stříbru je geneticky determinována a je závislá na množství stříbra jež bylo absorbováno, na jeho schopnosti interagovat a na nevratnosti denaturace klíčových enzymů. Stříbro vykazuje velmi nízkou toxicitu vůči lidskému organismu a je očekáváno jen velmi malé riziko při vdechnutí, požití, kontaktu s pokožkou, či vniknutí urologickou nebo krevní cestou. Stříbro je absorbováno do organismu a cirkuluje tělem ve formě proteinu, který je odbouráván v ledvinách nebo játrech [1]. Princip účinku antibakteriálních aditiv na bázi stříbra je u různých typů bakteriií obdobná. Jako modelový mikroorganismus je většinou uváděna bakterie Escherichia coli. Byl tedy studován baktericidní účinek stříbrných iontů zejména na tuto bakterii. Použitím EF-TEM (transmisní elektronová mikroskopie) bylo sledováno proniknutí Ag^+ do Escherichia coli. Následovně pomocí MALDI-TOF MS (matricí asistovaná laserová desorpce – hmotnostní spektroskopie doby letu) byla indikována inhibice vytlačování ribosomálních proteinových subjednotek účinkem Ag^+. Proteinové podjednotky jsou nezbytné pro syntézu životně důležitého ATP. Právě inhibice vytlačování proteinových podjednotek byla shledána jako klíčová v antibakteriálním účinku stříbra [7].
Podstatnými údaji pro aplikace aditiv na bázi stříbra je znalost vhodného dávkování a velikosti částic stříbra. Provedeno bylo nespočet testů na různých matricích. Při testování v matrici z PVA (polyvinylalkohol) a PVP (polyvinylpyrrolidon) byl obsah stříbra v pevné fázi 0,1 – 1 hm. %, velikost částic byla od 20 do 100 nm, a v matrici byl hmotnostní zlomek PVA : PVP 70:30 [2]. Byla zjištěna dobrá antibakteriální účinnost. Dalším testovaným typem matrice byla ABS (akrylonitril butadien styren) pryskyřice. Tato termoplastická pryskyřice obsahovala 100 hm. dílů transparentní ABS pryskyřice a 0,01 - 5 hm. % antibakteriálního aditiva na bázi stříbra o velikosti částic 400 nm nebo menší [3]. Inhibiční účinnost stříbrných iontů v této matrici byla zjištěna jako dostatečná. V jiném případě při testování inhibiční účinnosti aditiva na bázi stříbra vůči bakterii Escherichia coli a

Staphylococcus aureus bylo použito práškového aditiva o obsahu 2 hm. % Ag^+ jež inhibovalo růst zvolených bakterií úplně. Toto aditivum bylo vyrobeno reakcí vodního roztoku stříbra a roztoku kationtových surfaktantů. Směs byla míchána s anorganickým práškem, na který se stříbro naadsorbovalo. Do směsi byl dále přidán stearyltrimetylamonium chlorid, $NaBH_4$ a diatomit (křemenný minerál), směs byla vysušena za vzniku prášku [4]. Další metodou přípravy antibakteriálního aditiva může být příprava ponořením vláken zvoleného materiálu do vodného roztoku obsahujícího kovové ionty v přítomnosti aniontoměničové pryskyřice. Konkrétním příkladem této metody je ponoření bavlněných vláken do vodného roztoku $AgNO_3$ s obsahem Ag^+ 10 ppm po dobu 5 s při pokojové teplotě, poté přidání aniontoměničové pryskyřice pro odstranění $AgNO_3$. Bavlna se vyjme, vyždíme, vysuší a je připravena pro použití [5]. Bavlna upravená výše uvedeným postupem vykazuje vyhovující antibakteriální vlastnosti.

Důležitým poznatkem načerpaným z již provedených testů je, že stříbro, jakožto účinná antimikrobiální látka, může být do matrice zakomponována ve formě roztoku (na tekutém nosiči) či ve formě pevné látky (na pevném nosiči) [6]. Zvolená forma je odvislá od konkrétní aplikace.

Často používaným nosičem zejména stříbrných iontů je TiO_2. Dopování TiO_2 stříbrem může zabránit krystalizaci TiO_2 a urychlit přeměnu z anatasu na rutil, avšak stejné hmotnostní procento přidaného antibakteriálního aditiva na bázi stříbra pak méně ovlivňuje antibakteriální aktivitu. Nejlepší antibakteriální aktivity je dosaženo pokud poměr Ti : Ag je 20:1 [9]. Anorganické antibakteriální činidlo obsahujícího zeolity či TiO_2 poskytuje deodorizační a antibakteriální vlastnosti [8]. Výroba antibakteriálních aktivovaných uhlíkových vláken se může provádět natřením vláken Ag/TiO_2 [10]. Jinou cestou výroby antibakteriálních vláken je kalcinace TiO_2 s K_2CO_3, následná výměna iontů a dopování Ag^+ a Cu^+. Antibakteriální účinnost byla testována na bakteriích Escherichia coli a Staphylococcus aureus s pozitivními výsledky [11]. Antibakteriální titanová vlákna s velmi dobrou kompatibilitou s pryskyřicemi se mimo jiné vyrábějí z Ag nanočástic výborně rozdispergovaných, které jsou předpřipraveny termální dekompozicí komplexu Ag a oleátu, což je ester kyseliny olejové [12].

Dobrým nosičem Ag^+ jsou zeolity. Studována byla bakteriální aktivita vyvolaná zakomponováním Ag^+ do struktury zeolitu. Stříbrné ionty byly do struktury vpraveny iontoměničovou metodou. Zeolity, kterým byly do struktury vpraveny stříbrné kationty, vykazovali silný baktericidní účinek. Nezbytným faktorem pro objevení se antibakteriální aktivity byl kyslík, protože antibakteriální aktivita se objevila jen v aerobním prostředí.

V průběhu byly vytvářeny reaktivní formy kyslíku: superoxidový aniont, hydrogen peroxid, hydroxylový radikál a singletový kyslík. Bylo zjištěno, že reaktivní formy kyslíku zvyšují antibakteriální aktivitu [13].

Jedním z mnoha možných nosičů je i SiO_2. Antibakteriální činidlo na bázi siliky se používá pro prevenci bakteriální kontaminace papírových obalů na potraviny, dětských plastových hraček a textilií. Výše zmíněné aplikace mají velký význam pro omezení výskytu nemocí způsobených patogenními bakteriemi. Příprava antibakteriálního činidla s SiO_2 není v literatuře často zmiňována. Jeden způsob výroby je následující. Silika s antibakteriální aktivitou se připraví adsorbcí Ag^+ do pórů siliky a poté vypálí při 500 °C, aby došlo k redukci stříbra. Antibakteriální účinnost byla otestována na kmenech bakterie Escherichia coli a Staphylococcus aureus se 100% baktericidní aktivitou [14].

Použití antibakteriálních aditiv na bázi stříbra je velmi široké. Používá se například pro úpravu porézních materiálů. Úprava se provádí impregnací porézního materiálu roztokem obsahujícím nanočástice prekurzoru účinné formy stříbra (vhodná stříbrná sůl). Po zahřátí na 60 °C až 150 °C krystalizuje stříbro na povrchu porézního materiálu. Porézním materiálem může bát porcelán, aktivní uhlí či pórovité sklo. Připravený porézní materiál může být použit k desinfekci, deodorizaci, čištění, filtraci [15]. S výše zmíněnými keramickými materiály jsou spjaty i glazury, které také mohou být modifikovány antibakteriálním činidlem na bázi stříbra. Glazury jsou složeny z mnoha minerálů mezi které patří mimojiné SiO_2, Al_20_3, MgO, CaO, ZnO, BaO, MnO_2 či CuO v různých procentuelních zastoupeních. V případě přidávání antibakteriálního činidla se glazura zapracovává ve výsledné koncentraci 1 – 5 % antibakteriálního aditiva. Antibakteriální činidlo se skládá z jednoho nebo více kovů: Cu, Ag, Sn, Zr, Ca, Zn, B, Ba, Ti a jejich sloučenin, solí či oxidů. Antibakteriální účinnost takové glazury vůči Escherichia coli a Staphylococcus aureus je 92 – 99 % [16]. Antibakteriální úprava pomocí stříbra se též používá do jiného typu povrchových úprav a o to do barev. Jedná se o barvy, které jsou na kyselé bázi a odstíny se realizují na základě červené a žluté barvy. Barvy dále obsahují vlákna jež mají velmi silný antibakteriální efekt [17].

Baktericidního účinku stříbra se využívá i v potravinářství. Účinnou látkou je v tomto případě roztok stříbrných iontů připravený elektrolyticky. Zmíněné aditivum vykazuje velmi vysoký antibakteriální účinek již při koncentraci Ag^+ 0,001 mg/l a se zvyšující se koncentrací účinek výrazně klesá a je nižší nežli požadují sanitární normy. Aditivum je stabilní při skladování, poskytuje přesné dávkování a může být skladováno vysoce koncentrované, připravené ke zředění [18].

Překvapivým použitím Ag^+ jako antibakteriálního činidla je ocelářství. Společnost Kawasaki Steel vyvinula ocel obsahující stříbro, jež má odzkoušené antibakteriální účinky proti bakteriím Escherichia coli, Staphylococcus aureus. Ocel s přídavkem stříbra podléhá korozi ve stejném rozsahu jako běžná ocel [19].

Dnes jsou velmi populárním artiklem textilie s antibakteriálním účinkem. V roce 2006 byl publikován článek zabývající se testováním a přípravou bavlněné textilie. Studována byla inaktivace bakterií Escherichia coli na textiliích s obsahem stříbra za různých podmínek. Připravována byla textilie o obsahu vysoce dispergovaných klastrů Ag o velikosti 2 – 4 nm, jejichž velikost byla zjištěna transmisní elektronovou mikroskopií. Obsah stříbra v bavlněné textilii byl 0,1 hm. %. Po kontaktu textilie s obsahem stříbra a bakterií Escherichia coli nebyl infračervenou spektroskopií detekován žádný defekt textilie, a to díky malému absorpčnímu koeficientu stříbra a nízkému zastoupení kovového stříbra na bavlněné textilii. Růst Escherichia coli byl absolutně potlačen ihned po kontaktu bakterií s testovanou textilií kvůli silnému baktericidnímu účinku vysoce dispergovaných klastrů stříbra na povrchu bavlněné textilie [20].

Použití stříbrných iontů se také uplatnilo v oblasti polymerních hmot. Patent JP 2004068003 z roku 2004 popisuje výrobu antibakteriálních deodorizačních přípravků na bázi polyesterů a polyuretanů. Jedním způsobem výroby polyesterů s antibakteriálním účinkem je postup s použitím polyalkoholů obsahujících mikročástice kovů (zejména stříbra) a anorganických oxidů o průměrné velikosti ≤ 500 nm. Roztok obsahující stříbro byl přidán k tereftalátu a etylenglycolu za vniku polyesteru. Připravený polyester po vytvrzení vykazuje velmi dobrý antibakteriální účinek proti Staphylococcus aureus a Escherichia coli [21]. Polyesterové práškové barvy se také vyskytují v antibakteriální variantě. Antibakteriální aditivum se zde používá v koncentraci 0,6 – 1,9 hm. % [22]. Modifikovat lze i metakrylátové pryskyřice, jež

obsahují trietylentetraminové boční řetězce nebo thiolové skupiny, které vznikly ze zesíťovaného 2,3-epithiopropyl metakrylátu a styren-divinylbenzenu za vzniku kopolymeru. Adsorpcí Ag na kopolymer byla vyrobena pryskyřice obsahující kovové ionty, převážně Ag^+, která byla s úspěchem testována na antibakteriální účinnost proti Escherichia coli a Staphylococcus aureus [23]. Často modifikované se stávají, jak již bylo zmíněno, nátěrové hmoty založené na různých chemických bázích (epoxidové, polyuretanové, akrylátové). Nejčastější přípravou těchto antibakteriálních nátěrů je prosté smíchání předem připravených částic kovového stříbra nebo stříbra naneseného na TiO_2 (Ag/TiO_2). Částice jsou o velikosti 50 nm nebo méně [24].
Další výzkum byl proveden na akrylátových systémech, kdy byl připraven vodný roztok stříbra za přídavku dispergačního činidla na bázi poletylenu. Výsledný systém obsahoval 3-5% tohoto roztoku. Koncentrace samotného stříbra v systému byla 0,8-1,2 %. Připravený systém vykazoval dobrou antibakteriální aktivitu. Dále byl studován vodouředitelný nátěr, který poskytoval antibakteriální efekt, rychlé vytvrzování a schnutí. Systém obsahoval 1 – 6 objemových % antibakteriálního činidla na bázi stříbra, které obsahuje stříbro o velikosti částic 10 – 100 nm. Tento systém se projevoval dostatečnými antibakteriálními vlastnostmi.

3.2. Antibakteriální účinek stříbra

V případě přídavku vysoce koncentrovaných (mM) stříbrných kationů k bakteriální kultuře dojde ve velmi krátkém čase, cca 2 minutách, k inhibici mnoha enzymatických funkcí. V první polovině 20. století se předpokládalo, že hlavní příčinou baktericidního účinku stříbra, je jeho negativní vliv na translokaci kationů H^+ membránou buňky za pomoci NADH a CoQ, kdy se stříbrný kationt naváže na CoQ a tím zablokuje transport kationtů H^+.

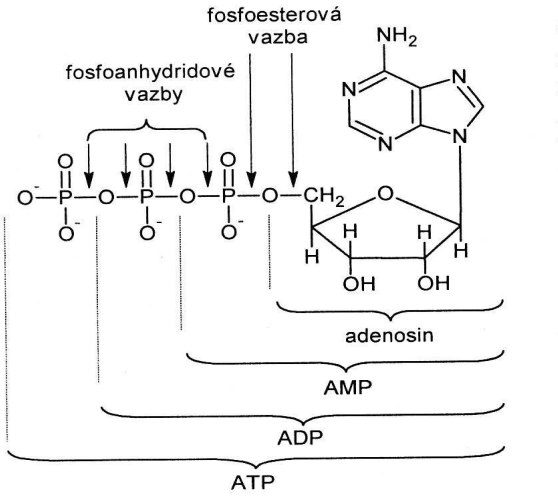
$$NADH + H^+ + CoQ + 4H^+ \rightarrow NAD^+ + CoQH_2 + 4H^+.$$

Výrazně porušená rovnováha kationtů uvnitř a vně buňky je pro její život kritická. Později však bylo zjištěno, že vazba stříbra na CoQ se děje, avšak není primární příčinou baktericidního efektu stříbra.
Více než před 50 lety byl Chappellem a Grevilllem zdokumentován rozpojující vliv Ag^+ na aktivitu enzymu ATPásy a stimulaci buněčné respirace. Toto bylo zjištěno, ještě než P. Mitchell formuloval chemiosmotickou hypotézu, jež odhalila důležitost a význam pohybu protonů v rámci oxidativní fosforylace [25]. V roce 1972 mu byla za vyslovení této teorie udělena Nobelova cena [26]. V kontextu s Mitchellovou chemiosmotickou teorií poznatek Cheppella a Grevilla předpokládal schopnost Ag^+ narušit transport protonů přes mitochondriální membránu [26]. Mitochodrie je buněčná organela, jež je kryta dvěma membránami, vnitří a vnější. V mitochodriích dochází k mnoha životně důležitým procesům buňky (např. buněčné dýchání, syntéza RNA).
U stříbra byla pozdějšími výzkumy nalezena afinita k fosfátům PO_4^{3-} (P_i), se kterými se váže za vzniku

$$3Ag^+ + PO_4^{3-} \rightarrow Ag_3PO_4$$

a dochází tudíž ke kolapsu transportu elektronů a oxidativní fosforylace v buňce. Během tohoto procesu jsou z mitochondrií vypuzovány protony H^+. Volná energie nashromážděná ve výsledném rozdílu pH vně a uvnitř mitochondrie pohání syntézu ATP z ADP a P_i (*Obr.3.1.*).
Snížené pH v mezimembránovém prostoru se promítá v potenciálu vnitřní membrány. Právě elektrochemický gradient protonů pohání syntézu ATP ve složitém transmembránovém

enzymu ATP synthése [27]. Se zvyšující se koncentrací Ag^+ dochází k rychlejšímu a mohutnějšímu blokování buněčné respirace a také k dramatičtějšímu poklesu potenciálu mitochondriální membrány.



Obr. 3.1. Struktura ATP a ADP

Principem oxidativní fosforylace je syntéza ATP z ADP a P_i v membráně mitochondrií za účasti enzymu ATP synthásy. Transport elektronů a oxidativní fosforylace jsou vzájemně spřaženy, avšak ne fyzicky. Volná energie nemůže být tudíž předána přímo, ale je nutno, aby byla uchována ve formě, jež je využitelná ATP synthásou. Energie je tedy uchovávána v makroergických (fosfoanhydridových) vazbách fosfátu (*Obr.3.1.*), jež mají vysokou energii. Při štěpení těchto vazeb dochází k uvolnění velkého množství energie ($ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i$, $\Delta G = -30{,}5 kJ / mol$) [27].

Funkce ATP synthásy spočívá v jejím využívání elektrochemického potenciálu na vnitřní mitochondriální membráně k přeměně ADP na ATP. Rychlost tvorby ATP je regulována poměrem ATP/ADP. Při nadbytku ADP se více elektronů transportuje na kyslík. Tím roste spotřeba kyslíku a vytváří se více ATP. Protože současně dochází k poklesu koncentrace ADP, pochod se zpomalí.

Ag^+ má afinitu k fosfátům a v případě kontaktu buňky s Ag^+ dochází k jejich vazbě, čímž jsou fosfáty blokovány pro oxidativní fosforylaci a ta je velmi zpomalena. Později je zastavena tvorba ATP z ADP a P_i. Postupným poklesem rychlosti oxidativní fosforylace dochází ke snížení koncentrace ATP a ke zvyšování koncentrace ADP. Při nadbytku ADP se více elektronů transportuje na kyslík a roste spotřeba kyslíku - dochází k „dušení“ buňky. Buňka tedy následkem kontaktu s dostatečným množstvím Ag^+ umírá. Většinou jsou pro buňku smrtelné koncentrace již cca 0,001 mg Ag^+/l [28].

3.3. Antibakteriální aditiva na bázi stříbra

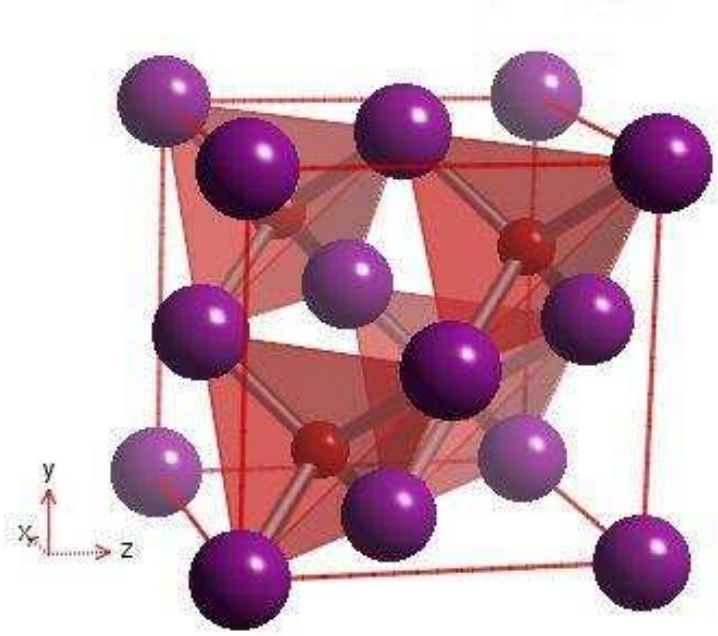
Antibakteriální účinek stříbra je zřejmý, avšak stříbro nemůže být zakomponováno do systému samo o sobě, je nutno mít antibakteriální přípravek s obsahem stříbra ve formě chemické sloučeniny či ve formě Ag^+ přichyceného na vhodném nosiči. V obou případech se musí po zakomponování do systému z přípravku uvolňovat Ag^+. Důvodem nevhodnosti

čistého kovového stříbra je skutečnost, že antibakteriální aktivitu vykazují pouze ionty Ag^+, nikoli kovové stříbro. Praktickým důvodem vhodnosti stříbra ve formě sloučeniny či Ag^+ na nosiči je snadnější dávkování.
Jako antibakteriální přípravky se používají buď sloučeniny stříbra (AgI, AgCl), anebo stříbro, jež je různými způsoby (elektrochemické naprašování, elektrolýza) nanešeno na kýžený nosič, kterým mohou být zeolity, TiO_2, $BaSO_4$, MgO, ZnO_2. U všech výše zmíněných přípravků je již antibakteriální účinnost otestována jako pozitivní. Není však zaručena pro každý systém (ať už podlahový či jiný) a je tedy nutno ji odzkoušet a zjistit účinnost v daném systému a také kompatibilitu se zvoleným systémem. Kompatibilitou se rozumí jistá chemická snášenlivost, která v případě, že je nízká, se může projevit defekty finálního produktu či obtížemi při výrobě a zpracování. Předpokládá se velmi malé množství přidávaného aditiva, tudíž by se případná imkompatibilita neměla výrazně negativně odrazit na funkčních a zpracovatelských vlastnostech.
Jako antibakteriální aditiva pro testování do epoxidových a polyuretanových bezrozpouštědlových a vodouředitelných systému byla zvolena AgI, Ag/zeolity, Ag/TiO_2, Ag/ZnO_2, Ag/MgO, $Ag/BaSO_4$ a Ag/Al_2O_3.

3.3.1. AgI

Je lehce nažloutlá prášková látka, jež má molekulovou hmotnost 234,77 g/mol. Specifická hmotnost je 5,67 kg/m^3 při teplotě 20°C. Rozpustnost je $3 . 10^{-7}$ g/100 ml studené vody, což odpovídá 3 ppm. Vzhledem k tomu, že je senzitivní na světlo, je nutno AgI skladovat v tmavé místnosti [30]. AgI se jako ve vodě nepatrně rozpustná sloučenina získává ze solanky reakcí:

$$Ag^+ + I^- \rightarrow AgI \downarrow \text{[29]}$$

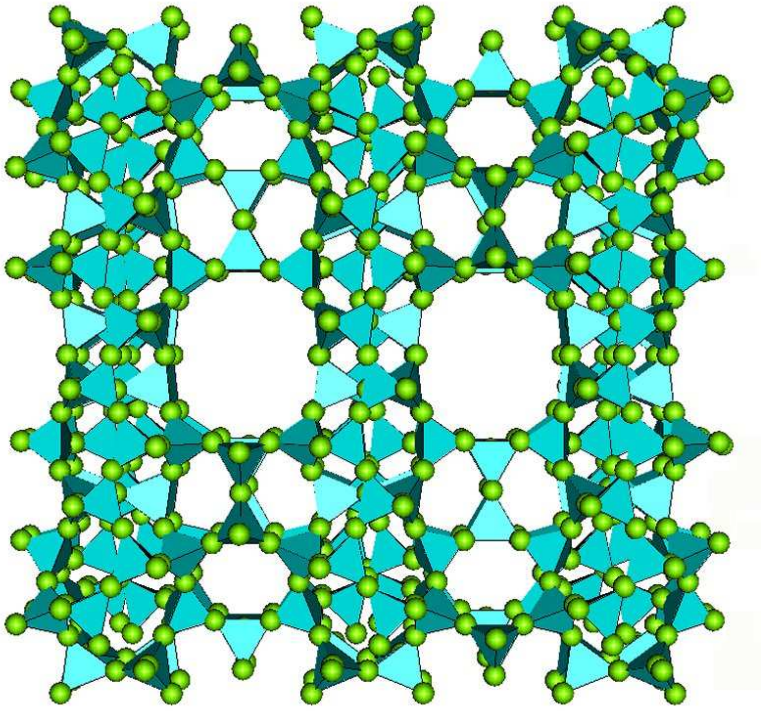


Obr. 3.2 Struktura AgI. Fialová koule=I, červená=Ag.

3.3.2. Ag/zeolity

Krystalová síť zeolitů je tvořena jednotkami, které obsahují dutiny určitých rozměrů, v nichž jsou van der Walsovými silami vázány molekuly vody nebo jiné látky (např. ionty kovů). Jedná se o krystalické látky, jež jsou sestaveny ze SiO_2 a AlO_2 jednotek. Zeolity jsou hydratované hlinito-křemičitany, jež mohou vodu reverzibilně tepelně odstranit ze své struktury, respektive z dutin. Stejně reverzibilně mohou měnit kationty kovů (iontoměniče) [29].

Zeolity existují přírodní a umělé. Přírodních zeolitů je cca 40 (chabazit, analcim, erionit, clinoptilolit, chabazit, ferrierit, heulandit, laumontit, mordonit, philipsit, a další). Syntetických zeolitů existuje přibližně 150 typů. První syntetický zeolit vyrobili v roce 1862 David a Seville. Mezinárodně je domluven třímístný kód k identifikaci jednotlivých typů zeolitů.



Obr. 3.3. Trojrozměrná struktura zeolitů (kuličky=O)

Vlastnosti zeolitů velmi silně ovlivňuje poměr Si:Al. V případě nízkého poměru Si:Al je zvýšená afinita k různým interakcím s okolními látkami. Vysoký poměr Si:Al znamená pro zeolit větší hydrofobicitu a organofilitu. Dále vysoký poměr Si:Al zapříčiňuje časově náročnější růst krystalů a tepelnou stabilitu. Příkladem takového zeolitu s vysokým poměrem Si:Al je zeolit se zkratkou ZSM-5, jehož poměr Si:Al odpovídá hodnotě 20 až 30 : 1. Používány jsou tedy spíše zeolity s poměrem vyšším [31].

Antibakteriální aktivita zeolitů je vysvětlována principem iontoměniče, kdy v přítomnosti bakterií dochází k vymývání Ag^+ z dutin zeolitů. Je nezbytně nutné, aby Ag/zeolit přišel do přímého kontaktu s bakterií. Teprve tehdy může vyvinout antibakteriální účinnost. Pokud se v prostředí bakterií vyskytují Ag/zeolity, ale nemůže dojít k přímému kontaktu, potom nedojde k hubení bakterií. Ag/zeolity také aktivuje rozpuštěný kyslík ve formě ROS (tzn. reaktivní forma kyslíku): hydroxylový radikál, superoxidový aniont, hydrogenperoxid a singletový kyslík. Antibakteriální aktivita je u Ag/zeolit regenerativní [32], což znamená, že je obnovitelná tehdy, pokud jsou Ag^+ navráceny zpět do dutin zeolitu.

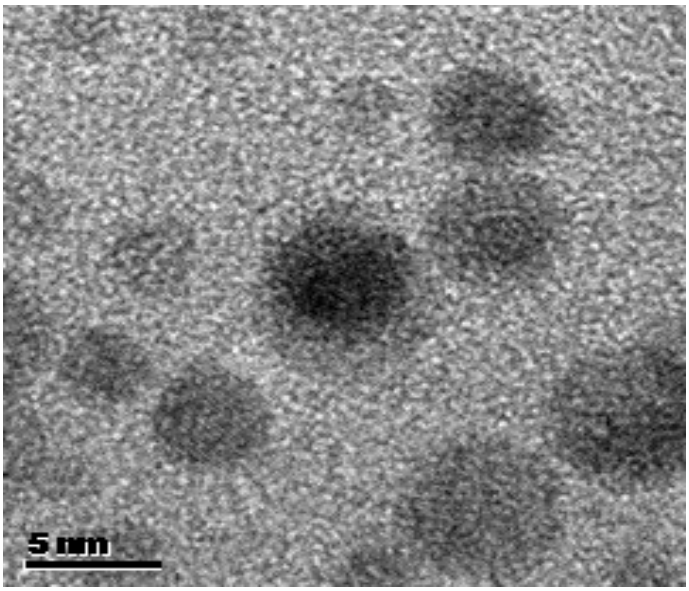
Obr. 3.4. Zeolity makroskopicky (nahoře) a mikroskopicky (elektronový mikroskop)

3.3.3 Ag/SiO_2

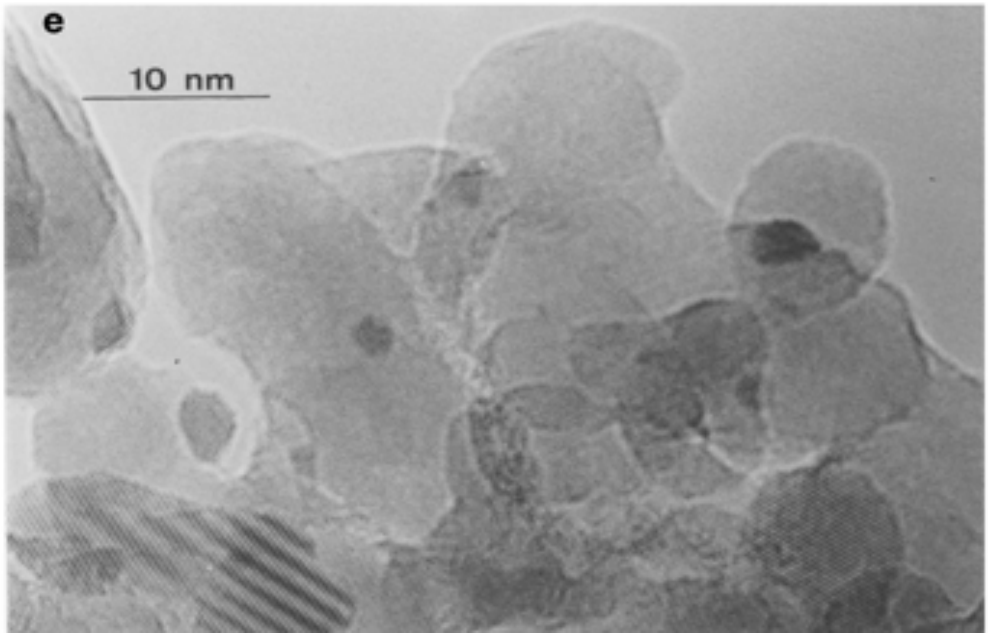
Ag/SiO_2 je pevná fotosenzitivní ve vodě nerozpustná látka ve formě bílého prášku, která je bez zápachu. Ag^+ ionty jsou na SiO_2 matrici naneseny termální oxidací. Ag^+ se v matrici nacházejí ve formě klastrů, jež je možno vidět na *Obr. 3.5.*

3.3.4. Ag/ZnO

Ag/ZnO je pevná fotosenzitivní ve vodě nerozpustná látka ve formě bílého prášku, která je bez zápachu. Příprava se provádí rozdispergováním ZnO v Ag a vzniká kýžený Ag/ZnO, který má šupinkovitou strukturu (viz. *Obr. 3.6.*)



Obr. 3.5. Ukázky klastrů Ag (tmavá místa) v SiO_2 matrici z elektronového mikroskopu



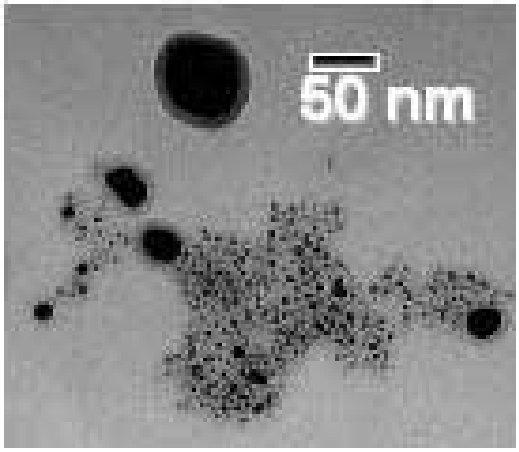
Obr. 3.6. Šupinkovitá stavba Ag/ZnO z elektronového mikroskopu

3.3.5. Ag/Al_2O_3

Je pevná fotosenzitivní ve vodě nerozpustná látka ve formě bílého prášku, která je bez zápachu. Ag/Al_2O_3 se připravuje impregnační metodou, kdy práškový Al_2O_3 je rozpuštěn v odpovídajícím množství vodného roztoku $AgNO_3$. Vzorek je poté sušen při teplotě 120 °C po 3 hodiny a kalcinován při teplotě 600°C po 3 hodiny na vzduchu.

3.3.6. Ag/TiO_2

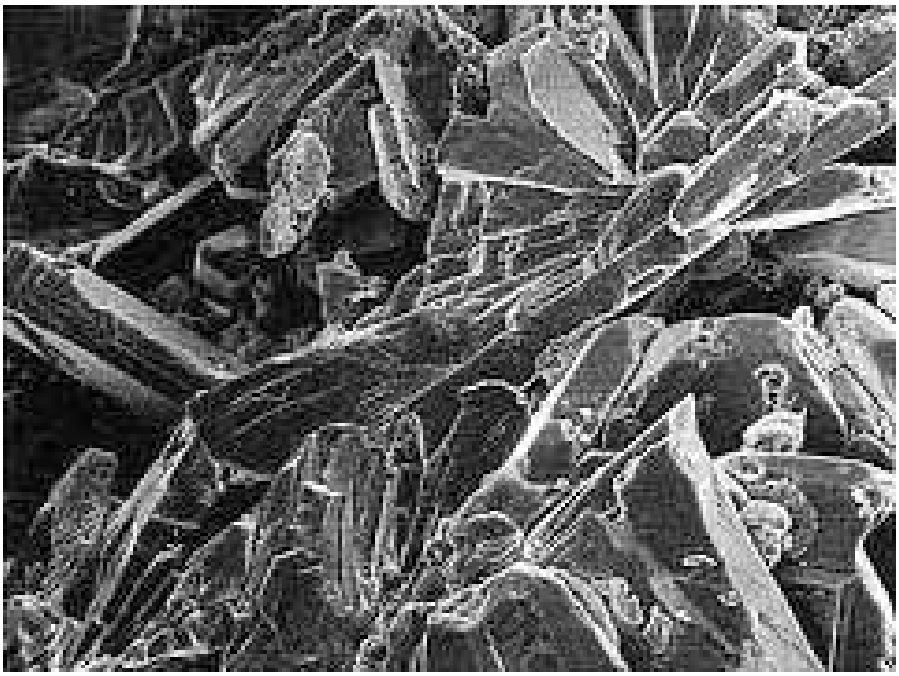
Je pevná fotosenzitivní ve vodě nerozpustná látka ve formě bílého prášku, která je bez zápachu. Práškový Ag/TiO_2 bývá připravován z různých kyslíkatých prekurzorů (H_2TiO_3 či H_4TiO_4), které se ponoří do vodného roztoku $AgNO_3$.



Obr. 3.7. Struktura Ag/TiO_2 (černá místa=Ag klastry, šedá místa = TiO_2 obal) z elektronového mikroskopu

3.3.7. $Ag/BaSO_4$

Je pevná fotosenzitivní ve vodě nerozpustná látka ve formě bílého prášku, která je bez zápachu.

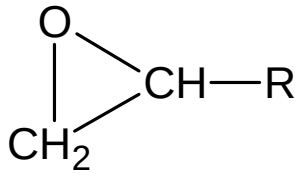


Obr. 3.8. Struktura $BaSO_4$ z elektronového mikroskopu

3.4. Podlahové systémy

3.4.1. Podlahové systémy epoxidové

Pod pojmem epoxidové pryskyřice zahrnujeme sloučeniny obsahující více než jednu epoxidovou (oxiranovou) skupinu (*Obr. 3.9.*) v molekule. Nejběžnější typy pryskyřic obsahují glycidilovou (2,3-epoxypropylovou) skupinu [33]. Jev síťování diepoxidů s diaminy byl popsán v roce 1934 P. Schlackem. Až v roce 1938 však švédský vědec P. Castan realizoval jako první použití epoxidů jakožto plastových hmot [34]. Epoxidové hmoty vykazují malé smrštění při polymerizaci, nedochází k uvolňování nebezpečných látek během vytvrzování, mají výborné mechanické, chemické a tepelné odolnosti.



Obr. 3.9. Struktura oxiranové skupiny

3.4.1.1. Epoxidové pryskyřice

Vlastnosti epoxidových pryskyřic je nutno charakterizovat parametry, které by vhodně vystihovaly požadované vlastnosti pryskyřice dle požadavků na výsledný (vytvrzený) produkt. Je důležité mít tyto faktory při výběru pryskyřice na zřeteli. Pro charakteristiku epoxidových pryskyřic se používají tyto termíny:

◊ epoxidový ekvivalent E.E. = takové množství pryskyřice, které obsahuje jeden epoxidový ekvivalent, tzn. jednu epoxidovou skupinu

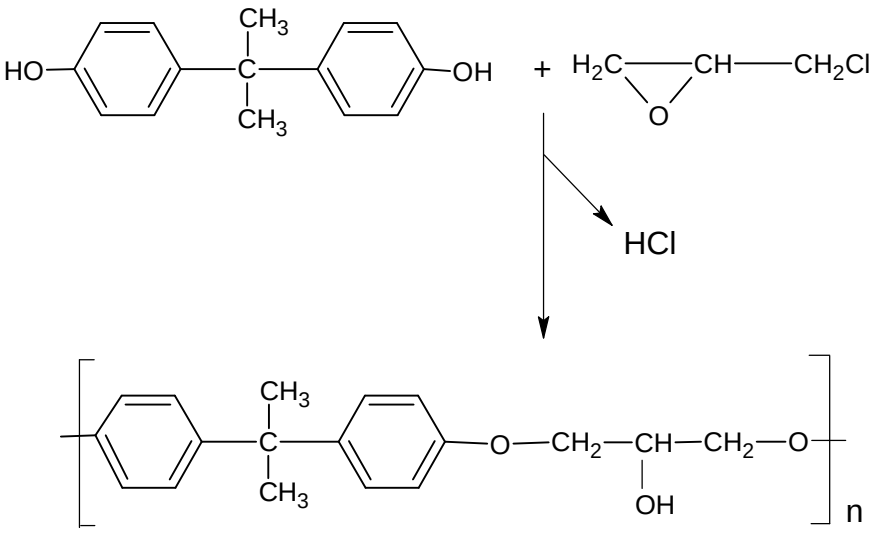
◊ epoxidový index E.I. = počet epoxidových ekvivalentů v 1 g pryskyřice

◊ hydroxylový ekvivalent H.E. = takové množství pryskyřice, která obsahuje jeden hydroxilový ekvivalent, tzn. jednu hydroxylovou skupinu

◊ molekulová hmotnost M.H. = $\frac{2\times 1000}{E.I.}$, kde *E.I.* je epoxidový index

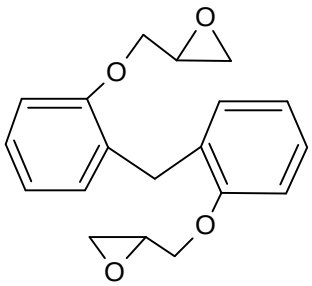
◊ epoxidová funkčnost pryskyřice E.F. = $\frac{M.H.}{E.E.}$, kde *M.H.* je molekulová hmotnost a *E.E.* je epoxidový ekvivalent.

Asi 85% světové produkce epoxidových pryskyřice se vztahuje na reakci 2,2-bis(4-hydroxyfenyl)propanu (známého jako bisfenol A) a epichlorhydrinu. Samotný bisfenol A můžeme získat kysele katalyzovanou reakcí 2 molů acetonu a fenolu. Epichlorhydrin vzniká reakcí propylenu s chlorem [34].

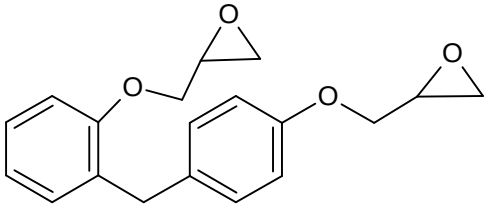


Obr. 3.10. Syntéza bisfenol A epoxidové pryskyřice z bisfenolu A(vlevo nahoře) a epichlorhydrinu

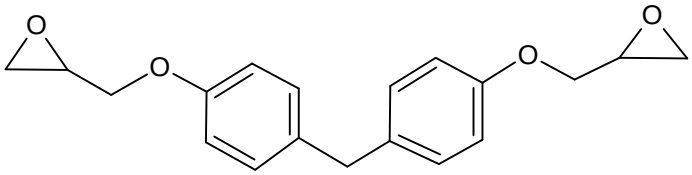
Pro úspěšný vznik bisfenol A epoxidové pryskyřice je nutno, aby zreagoval 1 mol bisfenolu A s alespoň 2 moly epichlorhydrinu. Reakce je ukončena tehdy, když není ve směsi již žádná fenolická skupina bisfenolu A. Reakce se děje přes chlorhydrinové meziprodukty a v ideálním případě končí vznikem bisfenol A diglycidylether (DGEBA), čili bisfenol A epoxidové pryskyřice. Molekulovou hmotnost vzniklého DGEBA lze korigovat a to poměrem bisfenolu A a epichlorhydrinu. Výsledné produkty jsou lineární polyethery s terminálními epoxidovými skupinami a hydroxylovými skupinami podél nově vzniklého řetězce.
Bisfenol F je vyráběn reakcí fenolu s formaldehydem. Výsledkem reakce je směs izomerních kondenzovaných produktu o,o-(bisglycidyloxyfenyl)-methanu (viz. *Obr. 3.11.*), o,p-(bisglycidyloxyfenyl)-methanu (viz. *Obr. 3.12.*) a p,p-(bisglycidyloxyfenyl)-methanu (viz. *Obr. 3.13.*).



Obr. 3.11. o,o-(bisglycidyloxyfenyl)-methan



Obr. 3.12. o,p-(bisglycidyloxyfenyl)-methan

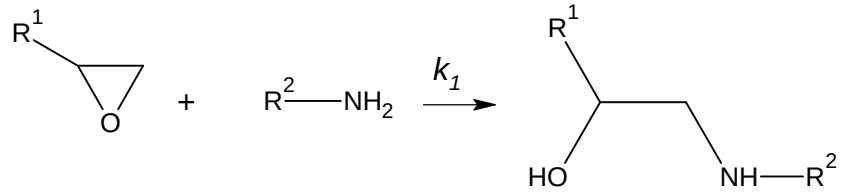


Obr. 3.13. p,p-(bisglycidyloxyfenyl)-methan

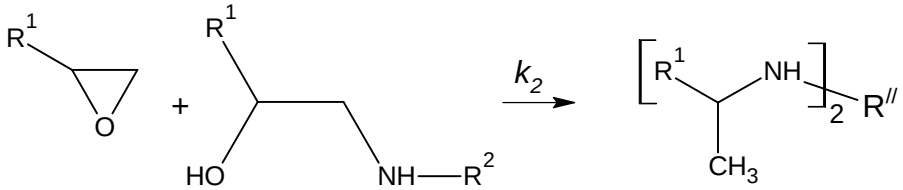
Ve srovnání s nemodifikovanou bisfenol A epoxidovou pryskyřicí má bisfenol F epoxidová pryskyřice mnohem nižší viskositu, vyšší epoxidový index a vyšší epoxidovou funkčnost. Z hlediska technické aplikace je hlavním výsledkem těchto odlišností horší rozpustnost pryskyřic na bázi bisfenolu F v rozpouštědlech. Stejně jako bisfenol A pryskyřice i bisfenol F pryskyřice má tendenci krystalizovat. Smícháním obou těchto pryskyřic dochází k tvorbě nekrystalizující pryskyřice s modifikovanou viskositou, která našla výborné uplatnění zejména ve stavebnictví [34].

3.4.1.2. Síťování epoxidových pryskyřic

Během vytvrzování epoxidových pryskyřic látkami, jež obsahují volný elektronový pár je chemická vazba tvořena dle schématu AI + B ↔ A-B, kde A donor nukleofilního charakteru (př. amin) a B je akceptor elektrofilního charakteru (př. epoxidová skupina). Epoxidové skupiny reagují také s látkami elektrofilního charakteru, jež napadají jejich kyslíkový atom, který má potom nukleofilní charakter.
Reakce mezi epoxidovou a aminovou skupinou probíhá dle *Obr. 3.14. a 3.15.*



Obr. 3.14. Reakce epoxidové skupiny s primárním aminem



Obr. 3.15. Reakce epoxidové skupiny se sekundárním aminem

Dvě výše uvedené reakce jsou reakcemi konkurenčními. V první reakci (*Obr. 3.14.)* vzniká sekundární amin s hydroxylovou skupinou v poloze α k dusíku. Dále reaguje s další epoxidovou skupinou za vzniku terciárního aminu, který již nemá žádný další vodík. Může pouze katalyzovat polymeraci epoxidové skupiny samotné, což v některých případech nastává. Principem této katalýzy je adice epoxidové skupiny na hydroxylovou skupinu reakčního produktu.
Jednotlivé reakce se velmi liší v reakční rychlosti, která je závislá jak na struktuře epoxidové pryskyřice, tak aminu. Reakce epoxidů s aminy má autokatalytický efekt. Vzrůst rychlosti je

přičítán katalytickému vlivu vznikajících hydroxylů. Látky obsahující hydroxylovou skupinu mají vliv na reakční rychlost a často se některé z nich, zejména kyseliny a fenoly, používají jako akcelerátory, které jsou donory vodíkového atomu. Akceptory vodíku pak mají na rychlost reakce retardační charakter (př.: ethery, estery).

Průběh reakce mezi epoxidovou a aminovou skupinou byl již uveden výše na *Obr. 3.14.* a *3.15.*. Aminy jsou nejpoužívanější síťovadla do epoxidových systémů vůbec. Existuje jich celá řada. Liší se nejen reaktivitou, která je odvislá od umístění aminové skupiny na struktuře, typu struktury a přítomnosti okolních substituentů, ale také od množství aminových skupin na jedné molekule. U aminových tvrdidel je tedy nutno, stejně jako u epoxidových pryskyřic, stanovit parametry, které budou zobecňovat reaktivitu a vhodnost daných aminů pro cílové aplikace. Důležité jsou termíny:

◊ aminový ekvivalent = takové množství aminu, které obsahuje jeden aminový ekvivalent, tzn. jednu aminovou skupinu

◊ vodíkový ekvivalent = takové množství aminu, které obsahuje jeden vodík

◊ vodíková funkčnost V.F. = $\frac{M.H.}{E.E.}$, kde *M.H.* je molekulová hmotnost a *V.E.* je vodíkový ekvivalent.

Nejčastěji používanými aminovými síťovadly do epoxidových pryskyřic jsou 1,3-bis(aminomethyl)benzen, 3-aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin [36], 2,2,4-trimethylhexamethylendiamin.

Množství tvrdidla přidaného k určitému množství epoxidové pryskyřice není hodnotou experimentálně zjištěnou, nýbrž je možno a hlavně nutno ji přesně vypočítat dle vzorce, který vychází ze stechiometrie reakcí mezi epoxidy a aminy.

Pro zjednodušení procesu výpočtu dávkování síťovadel, tvorby receptur a orientace v recepturách byl zaveden systém dávkování, který počítá s hmotnostními díly tzv. pbw (parts by weight). Množství síťovadla lze vypočítat dle vztahu $pbw_{síťovad} = \frac{V.E.}{H.E.} \times 100$, kde *V.E.* je vodíkový ekvivalent tvrdidla a *H.E.* je hydroxylový ekvivalent pryskyřice. Výsledná hodnota je počet hmotnostních dílů síťovadla, jež se mají přidat ke 100 hmotnostním dílům zvolené pryskyřice. Nejčastěji se dávky síťovadla pohybují v intervalu 25 - 60 pbw.

3.4.1.3. Bezrozpouštědlové epoxidové systémy

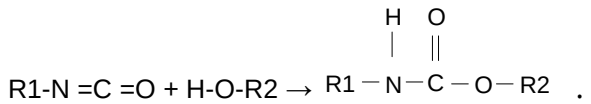
Pryskyřice a síťovadla pro bezrozpouštědlové epoxidové systémy mají vysokou molekulovou hmotnost a viskositu. Na snížení viskosity pryskyřic se používají tzv. reaktivní ředidla. Reaktivními ředidly jsou myšleny epoxidové pryskyřice o velmi nízké viskozitě. Pro snížení viskosity síťovadel se používají neodpařující se ředidla. Nejčastěji používaným neodpařujícím se ředidlem je benzylalkohol. Benzylalkohol a reaktivní ředidla do obsahu cca 8 hm.% neovlivňují významně vlastnosti produktu, nad touto hladinou však dochází k významnému poklesu mechanických vlastností, zejména pevnosti v tlaku, a ve vyšších množstvích působí zvláště benzylalkohol jako inhibitor polymerizace. Bezrozpouštědlové systémy jsou typické kompaktní epoxidové systémy.

3.4.1.4. Vodouředitelné epoxidové systémy

Cílem technologie vodouředitelných epoxidových systémů je ohleduplnost k životnímu prostředí. Jako základní komponenty, tj. pryskyřice a síťovadlo, se používají stejné látky jako pro bezrozpouštědlové systémy, které jsou ve vodě nerozpustné a proto se musejí emulgovat. Emulgace se provádí mechanickým rozptýlením dvou vzájemně nemísitelných kapalin. Základní rozdělení vodouředitelných systémů je na systémy, kde se používá emulze pryskyřice a na systémy kde se používá emulze síťovadla. U prvního způsobu dochází po přidání síťovadla do emulze pryskyřice k emulgaci síťovadla, u druhého způsobu je tomu přesně naopak. Podmínkou je, že emulze výborně emulguje fázi nezemulgovanou [37].
V systému nedochází k chemické reakci mezi vodou a ostatními složkami. Tvrdidlo ani jiné části systému nejsou ve vodě rozpustné. Při síťování dochází k reakci aminových skupin tvrdidla s epoxidovými skupinami pryskyřice *Obr. 3.14., 3.15.*. Od dosažení jistého stupně zesíťování se začne voda, jež tvořila emulzi, odpařovat. V tomto okamžiku je již však struktura dostatečně zesíťovaná a má tvarovou stálost. Voda, která se odpařuje se nachází v kavitách tvořených prostorovou sítí polymeru. Po odpaření vody je tvar částečně zesíťovaného polymeru zachován, kavity po vodě v systému zůstávají a polymer dále síťuje.

3.4.2. Podlahové systémy polyuretanové

Vysoce molekulární polymery založené na chemii isokyanátů poskytují nepřeberné množství vlastností od měkkých po tvrdé, plastické, elastické či termosety, kompaktní či pěny. Jejich vlastnosti mohou být libovolně měněny na základě volby složek.
Polyuretany vznikají polymerizací – polyadicí. Základní princip chemie polyuretanů objevil roku 1937 Otto Bayer. V rámci polyadičního procesu dochází k reakci dvou až poly-funkčních hydroxylových či amino skupin s di- až polyisokyanáty. Obecně se pojem polyuretany užívá pro velké množství polymerů vznikajících principem polyadiční polyisokyanátové reakce. Charakteristickým strukturním prvkem je pro většinu polyuretanů uretanová skupina, která je formována v poyladiční reakci:

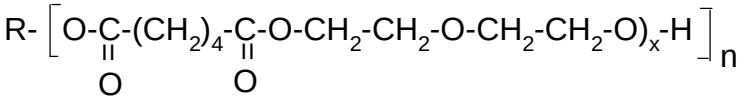


V porovnání s ostatními funkčními skupinami nacházejícími se ve struktuře polyuretanů jako ethery-, estery-, jsou uretanové skupiny ve velmi malém zastoupení. Z toho vyplývá že výsledné vlastnosti nejsou ovlivňovány převážně uretanovými skupinami.

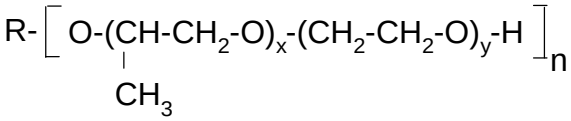
3.4.2.1.Polyoly

Sloučeniny s obsahem několika hydroxylových skupin jsou vedle isokyanátů nezbytné pro tvorbu polyuretanů. Níže viskózní polyoly slouží spíše jako extendry řetězců než jako síťovadla. Výše viskózní polyoly jsou základními stavebními dílci polyuretanů. Právě jejich struktura se nejvýznamněji podepisuje na konečných vlastnostech polyuretanů. Základními typy polyolů dle původu jsou polyesterové a polyéterové polyoly.
Polyesterové polyoly (*Obr. 3.16.*) měli velký význam zvláště v počátku chemie polyuretanů. Jsou vyráběny klasickou esterovou kondenzací diolů či polyolů a dikarboxylových kyselin. Reaktanty se volí dle nároků na konečný produkt. Produkty jsou velmi elastické a po objevení jejich reakce s vodou byly hojně využívány pro tvorbu pěn.

Polyéterové polyoly (*Obr. 3.17.*) jsou vyráběny alkalicky katalyzovanou polyadicí epoxidů na nízkomolekulární dioly či polyoly. Polyesterové polyoly byly poprvé použity v USA a staly se velmi důležité v celosvětové produkci polyuretanů.



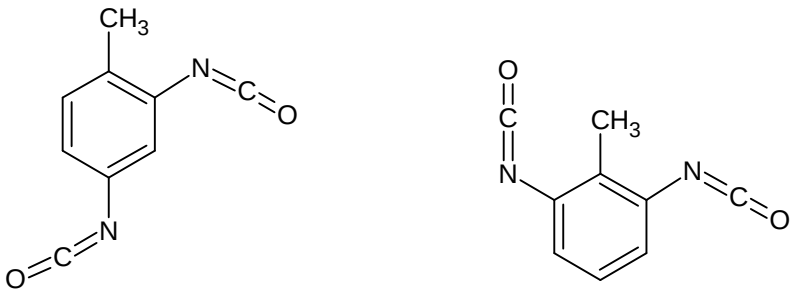
Obr. 3.16. Obecně polyester polyol



Obr. 3.17. Obecně polyéter polyol

3.4.2.2. Polyisokyanáty

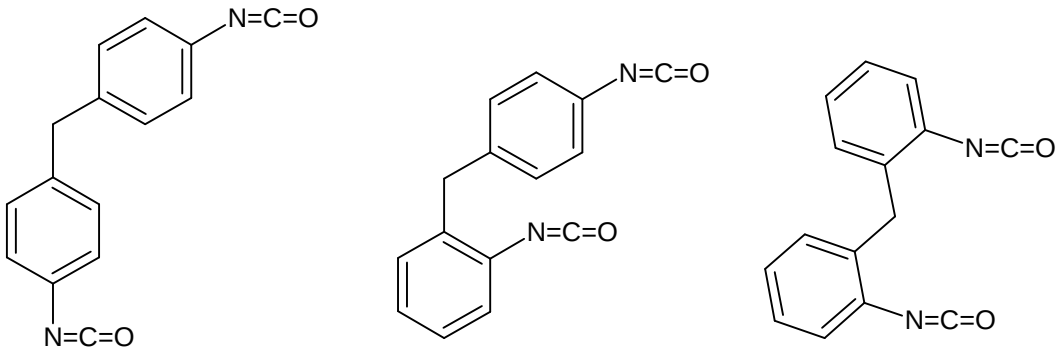
Isokyanáty se dvěma či více –NCO skupinami v molekule jsou nezbytné pro syntézu polyuretanů. Používají se aromatické, alifatické a cykloalifatické di- či polyisokyanáty.
Aromatické isokyanáty jsou více používané a považují se za nejdůležitější typ. Důvodem je, že aromaticky spojené isokyanátové skupiny jsou reaktivnější než ty, jež jsou spojeny alifaticky. Nevýhodou aromatických polyisokyanátů je jejich UV nestabilita. Alifaticky spojené polyisokyanáty se používají tehdy, kdy je potřeba docílit speciálních vlastností finálních produktů (např. pro aplikace vyžadující UV stabilní materiál).
U polyisokyanátů nacházíme významné odlišnosti v reaktivitě. Tyto odlišnosti vyplývají z jejich struktury, z vlivu substituentů a také ze sférických vlivů.
Výroba polyisokyanátů je v dnešní době nejčastěji realizována fosgenací. Některé aromatické polyisokyanáty se často vyrábějí hydrogenací vhodných nitrosloučenin. Alifatické polyisokyanáty jsou vyráběny speciálními procesy, např. HDA (hexametylendiamin) se vyrábí katalytickou redukcí adiponitrilu. Cykloalifatické polyisokyanáty se vyrábějí zejména hydrogenací aromatického kruhu daného aromatického polyisokyanátu.
Všechny níže uvedené typy diisokyanátů se dále modifikují za vzniku jejich polymerních struktur, například aduktů [35].TDI, název IUPAC 2,4-diisocyanato-1-methyl-benzene, jiný název metylfenylen diisokyanát či tolylen diisokyanát. TDI byl v 80. letech 20. stol. nejdůležitější isokyanát. Skládá se ze směsi 2,4 – a 2,6 – diisokyanát toluen izomerů. Nejdůležitější produkt je TDI-80, který se skládá z 80% 2,4-izomeru a 20% 2,6-izomeru.



2,4-TDI *2,6-TDI*

Obr.3.18. Izomery TDI

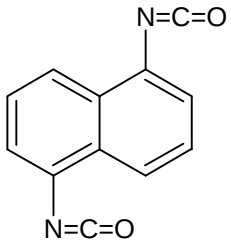
MDI, název dle IUPAC 1-isocyanato-4-[(4-isocyanatophenyl)metyl] benzene, nebo také 4,4'-metylendifenyl diisokyanát je aromatický polyisokyanát, který je v dnešní době na světě nejvíce produkován. MDI se vyrábí kondenzací anilinu s formaldehydem a následnou fosgenací. Kondenzace anilinu s formaldehydem nevede k tvorbě čistého 4,4´- MDI, ale tvoří se tři izomery viz *Obr. 3.19.*



4,4´-MDI *2,4´-MDI* *2,2´-MDI*

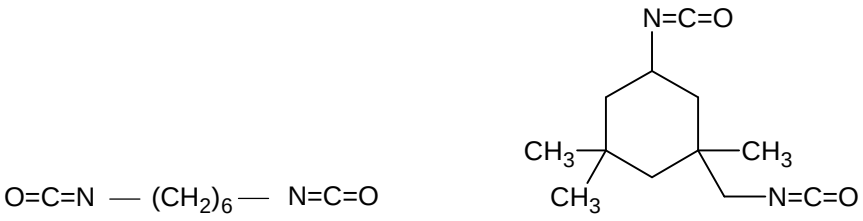
Obr. 3.19. Izomery MDI

Čistý 4,4´- MDI se často používá k tvorbě vysoce pevných polyuretanových polymerů. Pro tvorbu flexibilních polyuretanových pěn se využívá zejména produktů s vysokým obsahem 2,4´- MDI isomeru. Dle zastoupení jednotlivých isomerů jsou vlastnosti jednotlivých produktů velmi variabilní.
Dalším typem aromatických diisokyanátů je NDI (naftalen -1,5-diisokyanát), který se používá zvláště pro výrobu odlitků se zvýšeným nárokem na dlouhou životnost[35].



Obr.3.20. Struktura NDI

Nejvýznamnějším z alifatických a cykloalifatických diisokyanátů je HDI, název IUPAC 1,6-diisocyanato hexane, jiný název 1,6-hexan diisokyanát, a IPDI, název IUPAC 5-isocyanato-1-(isocyanatomethyl)-1,3,3-trimethyl-cyklohexane, jiný název je isoforodiisokyanát.



HDI *IPDI*

Obr.3.21. Struktura HDI a IPDI

Tyto diisokyanáty se nejčastěji používají v nátěrových hmotách pro jejich dobrou odolnost vůči povětrnostním vlivům a dobré UV stabilitě [35].

3.4.2.3. Síťování

Určení mísícího poměru pro polyisokyanát a polyol, který zajistí ideální zesíťování, se provádí výpočtem dle vzorce $\frac{2{,}47 \times \%OH}{\%NCO} \times 100 = polyisokyanát[g]$. Množství polyisokyanátu vypočítané dle uvedeného vzorce je vztaženo na 100 g polyolu. Hodnota 2,47 ve vzorci je poměr hodnot molární hmotnosti NCO a OH skupiny, čili 42:17.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Materiály

4.1.1. Epoxidový vodouředitelný nátěr, EV

Složka A, EV A
Složení:

- nízko viskózní modifikovaná bisfenol A/F epichlorhydrinová pryskyřice

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- světle žlutá
- viskosita dynamická při 25 °C – 900 mPa.s
- hustota při 25 °C – 1,13 g/cm^3
- epoxidový ekvivalent – 188

Složka B, EV B
Složení:

- isolovaný aminový adukt

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- světle žlutá
- viskosita při 25 °C – 12000 mPa.s
- hustota při 25 °C - 1,07 g/cm^3
- aminový ekvivalent – 220

4.1.2. Epoxidový bezrozpouštědlový nátěr, EP

Složka A, EP A
Složení:

- bisfenol A epichlorhydrinová epoxidová pryskyřice

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- čirá
- viskosita při 25 °C - 10000 – 12000 mPa.s
- hustota při 23 °C - 1,16 g/cm^3
- epoxidový ekvivalent – 184

Složka B, EP B
Složení:

- aminové tvrdidlo na bázi isoforodiaminu

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- světle žlutá
- viskosita dynamická při 25 °C - 70 – 150 mPa.s
- hustota - 1,96 g/cm^3
- aminový ekvivalent – 95

4.1.3. Polyuretanový vodouředitelný nátěr, PV

Složka A, PV A
Složení:

- akrylová polyolová disperze

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- bílá
- viskosita dynamická při 25 °C – 1,05 mPa.s
- hustota při 25 °C – 1,05 g/cm^3
- obsah OH skupin – 3,2 %

Složka B, PV B
Složení:

- alifatický polyisokyanát

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- čirá
- viskosita při 25 °C – 1400 mPa.s
- hustota při 25 °C - 1,13 g/cm^3
- obsah NCO skupin – 21,61 %

4.1.4. Polyuretanový bezrozpouštědlový nátěr, PB

Složka A, PB A
Složení:

- rozvětvený polyol s esterovými a etherovými skupinami

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- nažloutlá
- viskosita dynamická při 23 °C – 3500 mPa.s
- hustota při 20 °C – 1,01 g/cm^3
- obsah OH skupin – 7,1 %

Složka B, PB B
Složení:

- alifatický polyisokyanát na bázi HDI

Fyzikální a chemické vlastnosti:

- stav- kapalina
- barva- čirá až nažloutlá
- viskosita při 23 °C – 1200 mPa.s
- hustota při 20 °C – 1,16 g/cm^3
- obsah NCO skupin – 23 %

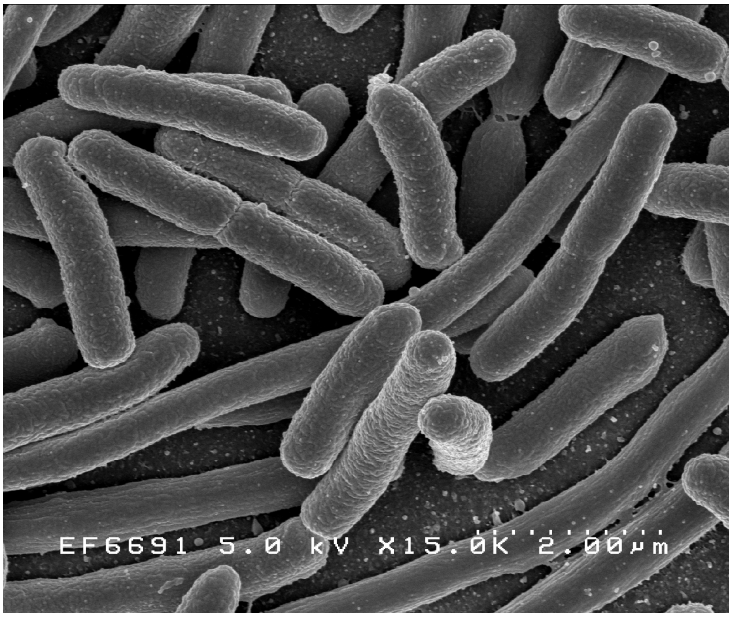
4.1.5 Bakteriální kmeny

Bakteriální kmeny byly čerpány ze dvou bakteriálních sbírek, které se od sebe odlišují písmenným prefixem CCM (bakteriální sbírka Brno) a ATCCC (bakteriální sbírka Praha). Bakteriální kmeny byly vybrány na základě normy ČSN EN ISO 20645[38].

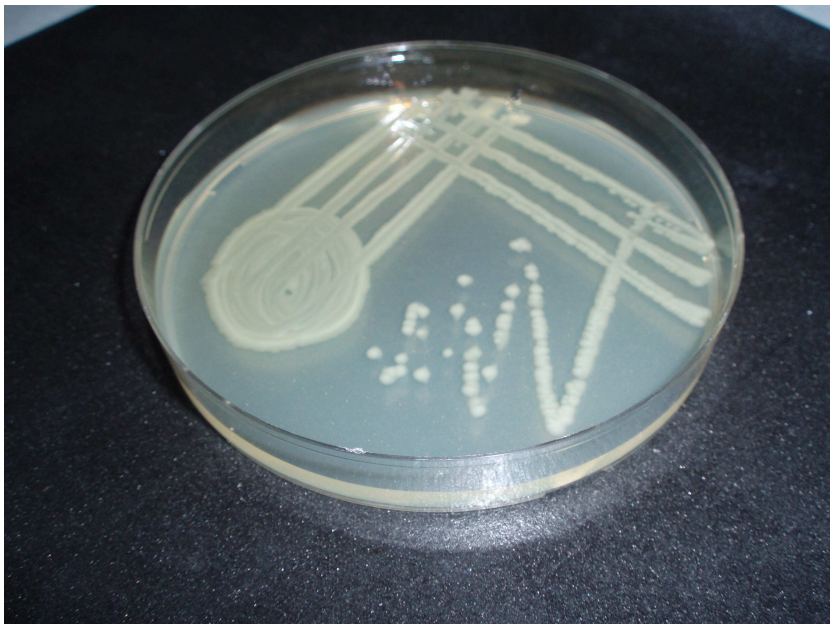
4.1.5.3.1. Escherichia coli

Je tyčinkovitá gram negativní bakterie. E. coli je modelovým organismem, který se užívá pro fyziologické, biochemické a genetické výzkumy. Je podmíněně patogení a běžne se vyskytuje v trávicím ústrojí člověka a u teplokrevných organismů a je zde pro své hostitele užitečná. Syntetizuje důležité vitamíny a přispívá k rovnováze mikroorganismů přítomných ve střevech, neboť zabraňuje růstu škodlivých bakterií tím, že s nimi soutěží o živiny a kyslík. Může vyvolat onemocnění močových cest a průjmová onemocnění.

Použitý kmen: Escherichia coli CCM: 3954, ATCCC: 25922



Obr. 4.1. Fotografie bakterií Escherichia coli pod elektronovým mikroskopem

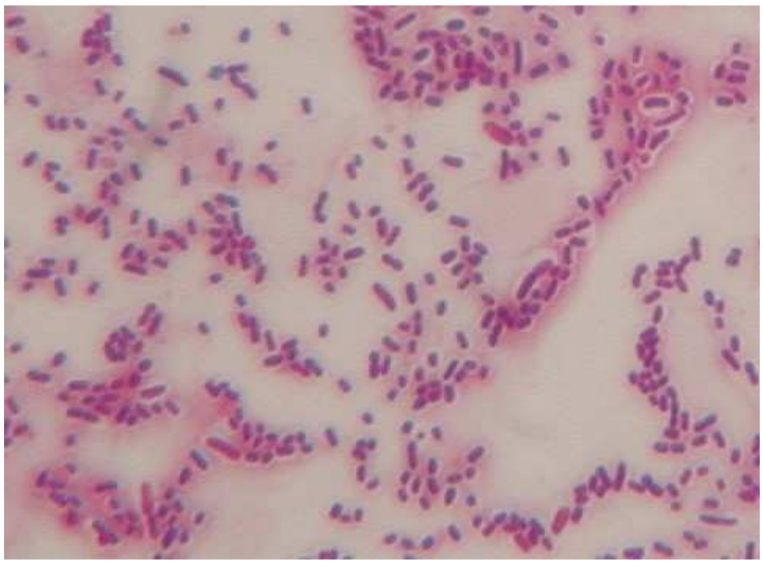


Obr. 4.2. Bakterie Escherichia coli narostlé na půdě Mueller Hiltonův agar, typ M 173

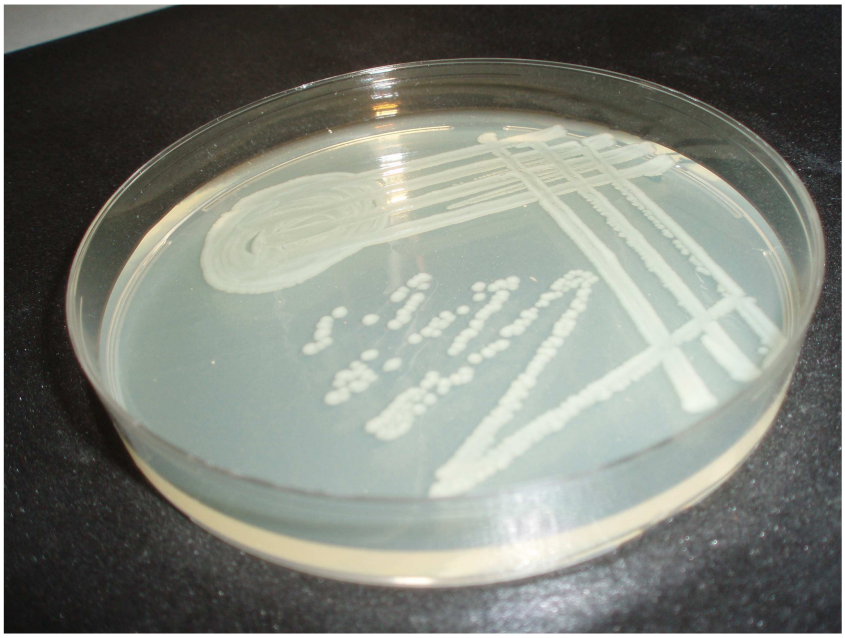
4.1.5.2. Klebsiella pneumoniae

Je gram negativní tyčinka. Vyskytuje se fyziologicky v dutině ústní, na kůži a ve střevech, kde je součástí mikroflóry. Nejčastější onemocnění, které způsobuje je pneumonie. Také může způsobit záněty močových cest, atrofie nosní sliznice, chronická plicní onemocnění, atd.

Použitý kmen: Klebsiella pneumoniae CCM: 4415, ATCCC: 10031



Obr. 4.3. Bakterie Klebsiella pneumoniae nabarvené dle Grama, světelný mikroskop zvětšení 550krát



Obr. 4.4. Bakterie Klebsiella pneumoniae narostlé na půdě Mueller Hiltonův agar, typ M 173

4.1.5.3. Staphylococcus aureus

Také se nazývá Staphylococcus pyogenes nebo zlatý stafylokok. Je považován za striktní patogen. Způsobuje hnisavé procesy v organismu člověka i zvířat, od lokalizovaných onemocnění (folikulitida, furunkl, karbunkl,aj.) až po nemoci invazivní (artritida, pneumonie, sepse, aj).

Použitý kmen: Staphylococcus auresus CCM: 3953, ATCCC: 25923

Obr. 4.5. Fotografie bakterií Staphylococcus aureus pod elektronovým mikroskopem

Obr. 4.6. Bakterie Staphylococcus aureus narostlé na půdě Mueller Hiltonův agar, typ M173

4.1.6. Kultivační půda

Komerčně dostupný Mueller Hiltonův agar:
Mueller Hilton Agar, firma HIMEDIA, typ: M 173.

Tab. 4.1. Složení Mueller Hiltonova agaru, typ M 173.

Složení:	**g/l**
Hovězí masová infuze	300,0
Kyselý hydrolyzát kaseinu	17,5
Škrob	1,5
Agar	17,0

Při 25 °C je konečné pH agaru 7,3±0,2.

4.1.7. Další použité látky a chemikálie

Aceton

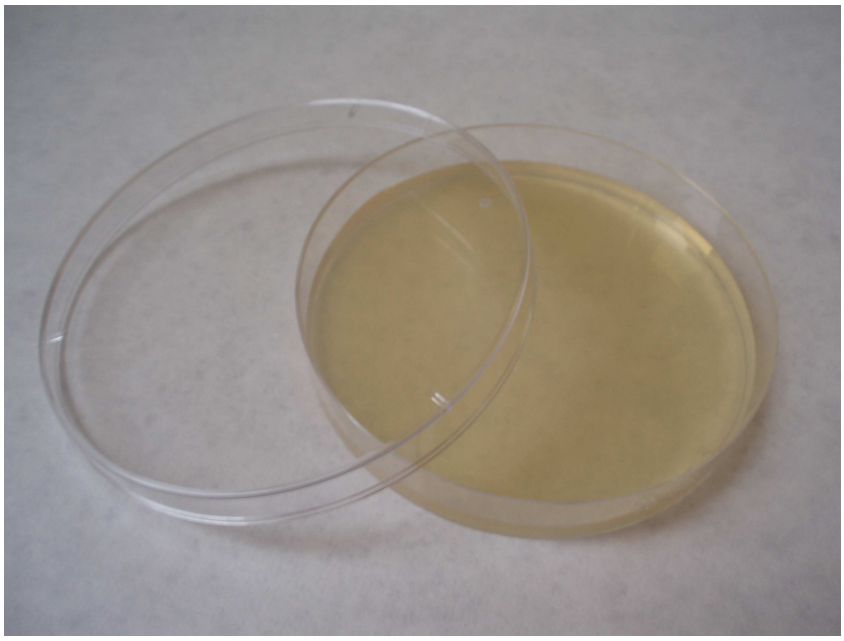
Destilovaná voda

Fyziologický roztok:
0,9 % NaCl. Do 1 l fyziologického roztoku se přidá 1 g glukózy.

4.2. Pomůcky a přístroje

4.2.1. Pomůcky

Petriho misky polyetylenové, průměr 9 cm.
Plastové lžičky
Plastové špachtle
Plastové kelímky
Malířské štětce
Zkumavky
Sterilní tampóny
Sterilní Pasteurovy pipety o objemu 3 ml kalibrované po 0,5 ml.
Sterilní buničitá vata



Obr. 4.7. Petriho miska polyetylenová, průměr 9 cm, s 20 ml Mueller-Hiltonova agaru typ: M 173

4.2.2. Přístroje

Nefelometr Densimat BioMérieux

Obr. 4.8. Nefelometr densimat BioMérieux

Sušárna, typ Horkovzdušný sterilizátor HS 61A, firma BMT

Obr. 4.9. Horkovzdušný sterilizátor HS 61A

Termostat, typ Biological Thermostat BT 50, firma BMT

Obr. 4.10. Biological Thermostat BT 5

Autokláv, typ Sterilizátor parní AUT 26/3, firma BMT

Obr. 4.11. Sterilizátor parní AUT 26/3

4.3. Metodika

4.3.1. Vývoj metodiky

Při vývoji metodiky bylo nejprve významně vycházeno z normy ČSN 79 3880 a zejména z normy ČSN EN ISO 20645. Jako první byla vyvíjena metoda Inhibiční zóny. Metoda spočívá v tom, že na vhodnou agarovou půdu se aplikuje fyziologický roztok se zvolenou koncentrací daného bakteriálního kmene, na tuto půdu se přiloží forma ve tvaru kolečka o průměru 25±5 mm s plně polymerizovaným podlahovým systémem nebo kolečko o průměru 25±5 mm z plně polymerizovaného materiálu a po 24 hodinové kultivaci při 37°C se zjistí nárůst bakterií, který se vyhodnotí dle tabulky *Tab.4.2.*.
Z testovaných podlahových systémů nebylo možno vyrobit předmět o definovaném průměru, jehož půdorys by byl kruhový. Důvodem byla skutečnost, že hmoty jsou poměrně křehké a při vylupování z pevné formy (kovové, skleněné) docházelo k praskání testované hmoty. Při použití flexibilních plastových forem však hmoty vykazovali vysokou přilnavost k materiálu formy a během polymerace přilnula na jejich povrch část plastové formy, což výsledky negativně ovlivňovalo. Dalším faktorem je schopnost epoxidů a polyuretanů leptat některé plasty (rozleptat zcela formu) a v neposlední řadě špatná polymerace vodouředitelných podlahových systémů v silné vrstvě, jelikož v silné vrstvě nedochází k dostatečnému odparu vody a materiál z důvodu přítomnosti vody nesíťuje dokonale, deformuje se, vypění, atd., a v tenkých vrstvách jsou materiály zase velmi křehké a nelze s nimi manipulovat.

Tab.4.2. Hodnocení výsledků metody Inhibiční zóny

Inhibiční zóna (mm)	Růst	Popis	Závěr
>1	ne	inhibiční zóna přesahuje 1 mm, žádný růst	Dobrý efekt
1-0	ne	inhibiční zóna dosahuje 1 mm, žádný růst	
0	ne	žádná inhibiční zóna, žádný růst	
0	lehký	žádná inhibiční zóna, pár slabých kolonií, téměř úplně potlačen růst	Dostatečný efekt
0	tlumený	žádná inhibiční zóna, v porovnání s kontrolou je růst poloviční	Nedostatečný efekt
0	silný	žádná inhibiční zóna, v porovnání s kontrolou je růst redukován úplně či se vyskytuje silně redukovaný růst	

Druhým testovaným způsobem přípravy vzorků bylo nanesení podlahového materiálu na kruhový nosič o průměru 25±5 mm v tenké vrstvě. Problém se vyskytl již ve volbě takového nosiče, který by byl inertní, a který by byl i lehce a snadno obstaratelný i v případě aplikace této metodiky v praxi. Nalezeno bylo ocelové kolečko, které svým průměrem plně

vyhovovalo kladeným požadavkům. Avšak, přineslo hned dvě nevýhody a to, že ve vlhkém prostředí korodovalo a kolečko s aplikovaným podlahovým systémem po agarové kultivační půdě klouzalo. Dále bylo nalezeno ocelové kolečko, které nekorodovalo, vyhovovalo svými rozměry a po agaru téměř neklouzalo, jelikož bylo težší. Nevýhodou však byla právě jeho váha, která způsobovala falešně negativní výsledky, jelikož tíhou kolečka bakterie pod ním nerostly. Nevýhodou metody Inhibiční zóny byla také skutečnost, že nemohla být dodržena podmínka kultivace „dnem vzhůru Petriho misky" kvůli kondenzaci vody vypařující se z agarové půdy během kultivace, která může mít na výsledky kultivace rovněž negativní dopad. Důvodem je, že materiál na ocelovém kolečku (či jiném nosiči) díky své váze na agar dostatečně nepřilnul a nemohl být tudíž kultivován v Petriho misce dnem vzhůru, jelikož odpadával.
Po provedených pokusech a neúspěšném hledání vhodného nosiče, který by byl snadno dostupný při opakování testů v praxi, bylo od metody měření Inhibičních zón upuštěno. Bylo přistoupeno k metodě, která je popsána níže.

4.3.2. Příprava vzorků podlahovin

Navážení jednotlivých komponent do celkové hmotnosti vzorku 200 g dle tabulky *Tab. 4.3.* do plastového kelímku. Plastový kelímek před použitím vytřít hadříkem navlhčeným v acetonu. Plastovou špachtlí míchat vzorek 3 minuty. Čistým malířským štětcem natřít namíchaný vzorek na dno a stěny Petriho misky o průměru 9 cm. Petriho misku je třeba zavřít, aby nedošlo ke kontaminaci, a vzorek nechat 7 dní při pokojové teplotě polymerizovat. Po 7 dnech je vzorek plně zpolymerizovaný a připravený ke kultivaci. U vodouředitelných vzorků se po natření nesmí Petriho miska zavřít, jelikož by nedocházelo k odparu vody do ovzduší a voda by kondenzovala na stěnách misky a na povrchu vzorku, což má za následek narušení žádané polymerizace a defekty vzorku (zkroucení vzorku). Vzorek se nechá 48 hodin otevřený a poté je již možno jej zavřít horním dílem Petriho misky. Během zmíněných 48 hodin dojde k odparu vody. Vzorky musí být během polymerace ve sterilním prostředí.
Připraveno bylo v každé ze 4 sérií (1. – 4. série) 210 vzorků. V každé sérii byla testována jiná koncentrace antibakteriálních aditiv (10%, 5%, 2,5%, 1%). V sérii se vždy testovaly 3 sady vzorků, kdy sada byla vždy tvořena jedním typem podlahového systému. Sada obsahuje 7 typů vzorků, jež se liší antibakteriálním aditivem, které se přidávalo v koncentraci odpovídající příslušné sérii. U každého typu vzorku byla testována antibakteriální účinnost vůči třem bakteriálním kmenů (Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphyloccocus aureus) ve třech různých koncentracích-ředěních (ředění I., II., III.) těchto bakteriálních kmenů viz. *Tab. 4.3*

Tab. 4.3. Hmotnostní mísící poměry testovaných vzorků. A= složka A, B = složka B, C = antibakteriální aditivum. EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, EV = epoxidový vodouředitelný systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém. Série jsou v tabulce seřazeny chronologicky.

Typ vzorku	**Série**	**0.**	**1.**	**2.**	**3.**	**4.**
	%C	**0**	**10**	**5**	**2,5**	**1**
EP	A:B:C	2:1:0	2:1:0,34	2:1:0,20	2:1:0,08	2:1:0,03
EV	A:B:C	2,3:1:0	-	-	-	-
PB	A:B:C	1,79:1:0	1,79:1:0,31	1,79:1:0,15	1,79:1:0,07	1,79:1:0,03
PV	A:B:C	2,73:1:0	2,73:1:0,41	2,73:1:0,16	2,73:1:0,10	2,73:1:0,04

4.3.3. Příprava kultivace

4.3.3.1. Příprava bakteriálních roztoků

Od každého bakteriálního druhu tj. Escherichia coli, Staphylococcus aureus a Klebsiella pneumoniae se připraví tři bakteriální roztoky, každý o jiném zákalovém stupni McFarlanda (dále jen McF): 0,5 McF, 0,25 McF a 0,125 McF viz *Tab. 4.4.* Koncentrace bakteriálních roztoků byly zvoleny se zřetelem na výskyt bakterií v reálném životě. Koncentrace 1,5 – 3 x 10^2 bakterií/ml není infekční ani pro kojence. Koncentrace 1,5 – 3 x 10^4 bakterií/ml může být infekční pro oslabeného jedince a koncentrace 1,5 – 3 x 10^8 bakterií/ml je infekční pro neoslabeného jedince.

Tab. 4.4. Koncentrace použitých ředění dle McFarlandovy zákalové stupnice

Ředění	Zákalový stupeň dle McFarlanda	Koncentrace bakteriálních buněk [počet buňek/ml]
I	0,500	1,5 – 3 x 10^8
II	0,250	1,5 – 3 x 10^4
III	0,125	1,5 – 3 x 10^2

Příprava základního roztoku o zákalovém stupni 1 McF se provádí za pomoci nefelometru Densimat BioMérieux tak, že do zkumavky se přidá 1 ml fyziologického roztoku, zkumavka se zasune do přístroje a přidává se příslušný bakteriální kmen do dosažení požadovaného zákalu. Připravený základní roztok 1 McF se zředí přidáním 9 ml fyziologického roztoku na 0,5 McF. Bakteriální roztok 0,25 McF se připraví smícháním 1 ml 0,5 McF a 9 ml fyziologického roztoku, bakteriální roztok 0,125 McF se připraví smícháním 1 ml 0,25 McF a 9 ml fyziologického roztoku. Po připravení bakteriálního roztoku je nutno tento do 15 minut

přelít na Petriho misku a zahájit kultivaci, jelikož po 15 minutách při pokojové teplotě počet bakteriálních buněk v roztoku výrazně klesá.
Před každou sérií vzorků se musí nefelometr Densimat BioMérieux kalibrovat pomocí 5 standardů obsažených v ATB DENSITOMETER KONTROL KIT. Zákalové standardy jsou uzavřeny neprodyšně v ampulích o zákalech 0 McF, 0,5 McF, 3 McF, 6 McF a >7,5 McF. Pokud výsledky nevyhovují hodnotám uvedeným na obalech ampulí je nutno kontaktovat výrobce.

4.3.3.2. Příprava kultivační půdy

Jako kultivační půda se připraví Mueller Hintonův agar typ: M 173, který je vhodný pro kultivaci všech tří kultivovaných bakterií (Escherichia coli, Staphylococcus aureus a Klebsiella pneumoniae).
Naváží se 38,0 g přípravku a přidá se do 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Před nalitím do Petriho misek se připravený agar důkladně promíchá. Do každé Petriho misky o průměru 9 cm se nalije 20 ml agaru. Půda se nechá 5 minut tuhnout při teplotě 20 °C. Před použitím se půda dosuší v horkovzdušném sterilizátoru, typ HS 61A, po dobu 5 minut při 55 °C.

4.3.4. Kultivace

Na Petriho misku s plně vytvrzenou podlahovinou se Pasteurovou pipetou přenesou 2 ml příslušného bakteriálního roztoku. Dokonalého přelití celého povrchu plotny se docílí jejím nakláněním ze strany na stranu. Přebytek roztoku se odsaje Pasteurovou pipetou. Petriho miska se uzavře a kultivuje se dnem vzhůru (pro zabránění kondenzace vody) po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C v termostatu. Takto se postupuje u všech vzorků. Poté se sterilním vatovým tampónem setře povrch kultivované podlahoviny a stěr se přenese a naočkuje na připravený Mueller Hintonův agar. Ihned po naočkování agaru se uzavře Petriho miska a dnem vzhůru se kultivuje po dobu 24 hodin při 37 °C. Výsledná kultivace se vizuálně vyhodnotí dle stupnice viz. *Tab. 4.5.* Každá série byla provedena dvakrát. V případě neshody výsledků byly dané vzorky opakovány dokud nedošlo po dvakrát ke shodě.

Tab. 4.5. Stupnice pro makroskopické vizuální hodnocení růstu bakterií [39]

Popis vzhledu	**Hodnocení**	
	Stupeň růstu	**Slovní popis výsledku kultivace**
Agarová plotna bez růstu bakteriálních kolonií	Negativní □	Vysoká účinnost antibakteriálního aditiva
Agarová plotna porostlá bakteriálními koloniemi do 25% plošného obsahu	Slabě pozitivní ●	Slabá účinnost antibakteriálního aditiva
Agarová plotna porostlá bakteriálními koloniemi do 50% plošného obsahu	Středně pozitivní ●●	Velmi slabá účinnost antibakteriálního aditiva
Agarová plotna plně porostlá bakteriálními koloniemi	Silně pozitivní ●●●	Žádná nebo minimální účinnost antibakteriálního aditiva

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1. Výsledky a hodnocení

Výsledky kultivace pro zjištění růstu bakterií na podlahách bez přídavku antibakteriálního aditiva (0. série) byly hodnoceny dvěma stupni : růst X žádný růst. Pro kultivace kontrolních vzorků bylo použito bakteriálního roztoku o koncentraci bakterií 1,5 – 3 x 10^8 buněk/ml.

Tab.5.1. Výsledky kultivace vzorků 0.série. EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, EV = epoxidový vodouředitelný systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

Vzorky bez přídavku aditiva 0. série	**EP**	**EV**	**PB**	**PV**
Staphylococcus aureus	růst	žádný růst	růst	růst
Klebsiela pneumoniae	růst	žádný růst	růst	růst
Escherichia coli	růst	žádný růst	růst	růst
Kontrolní - volný	žádný růst	žádný růst	žádný růst	žádný růst

Výsledky kultivace vodouředitelného podlahového systému nejsou uvedeny, jelikož k testům s antibakteriálními aditivy nebylo vůbec přistoupeno. Vodouředitelný podlahový systém vykazoval úplnou antibakteriální účinnost bez přídavku antibakteriálních aditiv při koncentraci bakterií 1,5 – 3 . 10^8 bakterií/ml viz. *Tab. 5.1.*

Výsledky kultivace byly hodnoceny dle tabulky *Tab. 4.5.*

Tab. 5.2. Výsledky kultivace Série 1. Koncentrace antibakteriálního aditiva byla v této sérii vždy 10 hm .%. Použito bylo bakteriálních roztoků o koncentracích bakteriálních buněk 1,5 – 3 . 10^8 bakteriálních buněk/ml (I. ředění), 1,5 – 3 . 10^4 bakteriálních buněk/ml (II. ředění), 1,5 – 3 . 10^2 bakteriálních buněk/ml (III. ředění). EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

Sada	Typ	I. ředění			II. ředění			III. ředění		
		E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus
EP	EP1	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	EP2	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	EP3	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	EP4	□	□	●	□	□	●	□	□	□
	EP5	□	□	●●	□	□	□	□	□	□
	EP6	□	□	●	□	□	□	□	□	□
	EP7	□	□	●	□	□	□	□	□	□
PV	PV1	●●●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV2	●●●	□	●●●	□	□	●	□	□	□
	PV3	●●	□	●●●	□	□	●	□	□	□
	PV4	●	□	●●	□	□	□	□	□	□
	PV5	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV6	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV7	□	●	□	□	□	□	□	□	□
PB	PB1	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB2	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB3	●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB4	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB5	□	□	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB6	□	●	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB7	●●●	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□

Tab. 5.3. Výsledky kultivace Série 2. Koncentrace antibakteriálního aditiva byla v této sérii vždy 5 hm. %. Použito bylo bakteriálních roztoků o koncentracích bakteriálních buněk 1,5 – 3 . 10^8 bakteriálních buněk/ml (I. ředění), 1,5 – 3 . 10^4 bakteriálních buněk/ml (II. ředění), 1,5 – 3 . 10^2 bakteriálních buněk/ml (III. ředění). EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

Sada	Typ	I. ředění			II. ředění			III. ředění		
		E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus
EP	EP1	□	□	●●	□	□	●	□	□	□
	EP2	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	EP3	□	□	●	□	□	●	□	□	□
	EP4	□	□	●	□	□	●	□	□	□
	EP5	□	□	●	□	□	□	□	□	□
	EP6	□	□	●	□	□	□	□	□	□
	EP7	□	□	●	□	□	□	□	□	□
PV	PV1	●●●	□	●●●	□	□	●●●	□	□	●
	PV2	□	●	●●●	●	□	●●●	□	●	●
	PV3	●●●	●	●●●	●	□	●●●	□	●	□
	PV4	●●●	●	●●●	□	●	●●	□	□	□
	PV5	●●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PV6	□	●●	●●●	□	●	●	□	□	●
	PV7	□	●	□	●	□	□	□	□	□
PB	PB1	●	□	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB2	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB3	●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB4	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB5	□	□	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB6	□	●	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB7	●●●	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□

T*ab. 5.4. Výsledky kultivace Série 3.Koncentrace antibakteriálního aditiva byla v této sérii vždy 2,5 hm %. Použito bylo bakteriálních roztoků o koncentracích bakteriálních buněk 1,5 – 3 . 10^8 bakteriálních buněk/ml (I. ředění), 1,5 – 3 . 10^4 bakteriálních buněk/ml (II. ředění), 1,5 – 3 . 10^2 bakteriálních buněk/ml (III. ředění). EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systému*

Sada	Typ	I. ředění			II. ředění			III. ředění		
		E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus
EP	EP1	□	□	●●	□	□	●●	□	□	□
	EP2	□	□	●●	□	□	●●	□	□	□
	EP3	□	□	●	□	□	●	□	□	□
	EP4	□	□	●	□	□	●	□	□	□
	EP5	□	□	●	□	□	□	□	□	□
	EP6	□	□	●	□	□	●	□	□	□
	EP7	□	□	●	□	□	□	□	□	□
PV	PV1	●●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV2	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV3	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV4	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV5	□	●	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV6	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV7	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
PB	PB1	●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB2	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB3	●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB4	●	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB5	●	□	●●●	●	□	●●●	□	□	□
	PB6	●	●	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB7	●●●	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□

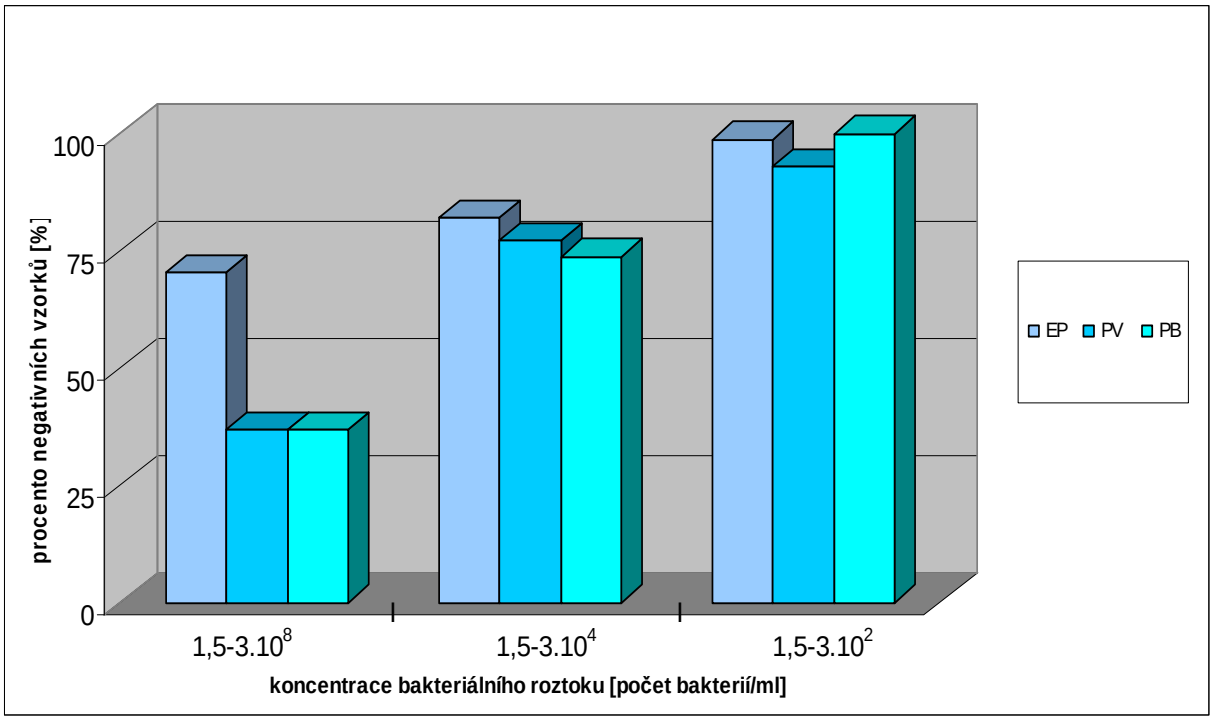
Tab. 5.5. Výsledky kultivace Série 4. Koncentrace antibakteriálního aditiva byla v této sérii vždy 1 hm. %. Použito bylo bakteriálních roztoků o koncentracích bakteriálních buněk 1,5 – 3 . 10^8 bakteriálních buněk/ml (I. ředění), 1,5 – 3 . 10^4 bakteriálních buněk/ml (II. ředění), 1,5 – 3 . 10^2 bakteriálních buněk/ml (III. ředění). EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém

Sada	Typ	I. ředění			II. ředění			III. ředění		
		E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus	E.coli	K.pneumoniae	S.aureus
EP	EP1	□	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□
	EP2	□	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□
	EP3	□	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□
	EP4	□	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□
	EP5	□	●●●	●●●	□	□	●●●	□	□	●●
	EP6	□	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□
	EP7	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
PV	PV1	□	□	●●	□	□	●●	□	□	□
	PV2	□	□	●●	□	□	●	□	□	□
	PV3	□	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PV4	●	●●	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PV5	●●	□	●●	●●	□	●●	●●	□	□
	PV6	●●	●●	●●●	□	□	□	□	□	□
	PV7	●	□	●	□	□	□	□	□	□
PB	PB1	●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB2	□	□	●●●	□	□	□	□	□	□
	PB3	●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB4	●●	□	●●●	□	□	●●	□	□	□
	PB5	●●	●	●●●	●	□	●●●	□	□	□
	PB6	●●●	●	●●●	□	□	●	□	□	□
	PB7	●●●	□	●●●	□	□	●●●	□	□	□

V reálném životě se bakterie vyskytují v široké škále koncentrací, které jsou různě infekční. Koncentrace bakterií řádově 10^2 bakterií/ml (III. ředění) není infekční ani pro kojence, kteří mají slabší imunitu nežli dospělý jedinec. Koncentrace řádově 10^4 bakterií/ml (II. ředění) není infekční pro zdravé dospělé jedince, ale může být infekční pro oslabené dospělé jedince. Koncentrace řádově 10^8 bakterií/ml (I. ředění) je infekční i pro zdravého dospělého jedince. Z těchto údajů bylo vycházeno i při volbě koncentrací bakteriálních roztoků tak, aby postihly celou škálu od neinfekčního, slabě infekčního až po silně infekční prostředí. Jednou ze sledovaných hodnot byl právě vliv koncentrace bakterií na inhibiční účinek daného aditiva v dané koncentraci a materiálu. Z výsledků provedených kultivačních testů je vidno, že 100 % antibakteriálního účinku při koncentraci bakteriálních roztoků řádově 10^8 bakterií/ml je dosahováno jen zřídka. Vztáhnuto na všechny provedené vzorky je procentuelní zastoupení 100% anibakteriálních efektů 48,41 % při koncentraci řádově 10^8 bakterií/ml, 77,8 % při koncentraci řádově 10^4 bakterií/ml a 97,2 % při koncentraci řádově 10^2 bakterií/ml. Z čehož jasně vyplývá, že výsledná účinnost antibakteriálního aditiva v epoxidovém či polyuretanovém systému je silně odvislá od použité koncentrace bakterií a tedy výsledky testování aditiv při jedné zvolené koncentraci bakterií mohou být velmi zavádějící. Vztáhneme li procentuelní zastoupení úplného inhibičního efektu na jednotlivé použité podlahové systémy viz. *Tab. 5.6.* je i zde patrný jev klesající inhibiční účinností se stoupající koncentrací bakterií. Na polyuretanových systémech nedošlo při koncentraci bakterií řádově 10^8 bakterií/ml ani v jednom případě k úplné inhibici růstu bakterií zřejmě proto, že ve struktuře polyuretanů se nacházejí nejen uhlíkové, ale zejména dusíkové atomy, které jsou velmi cenné pro metabolismus bakteriální buňky. Při koncentraci bakterií řádově 10^8 bakterií/ml došlo úplné inhibici růstu bakterií na epoxidových površích v 70,2 % vzorků. Epoxidy obsahují ve struktuře pouze uhlíkové atomy a bakterie na epoxidech rostou, ovšem již ne tak ochotně jako v případě polyuretanů. Polyuretanové systémy a epoxidové systémy, jakožto organické polymerní materiály, jsou tedy živnou půdou pro bakterie. Z hodnot v *Tab. 5.6.* je možno vyčíst, že vůbec nejvyšší úspěšnost úplné inhibice byla pozorována na vzorcích bezrozpouštědlového polyuretanu, kde procento úplné inhibice bakterií řádově 10^2 bakterií/ml dosáhlo 100 %, což znamená že ve všech koncentracích (10 %, 5 %, 2,5 % a 1 %) u všech použitých antibakteriálních aditiv došlo k úplné inhibici růstu bakterií. Nejlepších výsledků bylo dosaženo na epoxidových bezrozpouštědlových systémech, kde i při koncentraci bakterií 10^8 bakterií/ml bylo dosaženo ze 70,2 % úplného antibakteriálního účinku, zatímco u obou polyuretanových systémů bylo dosaženo úplného antibakteriálního účinku při koncentraci bakterií 10^8 bakterií/ml ze 36,9 %. U vodouředitelného polyuretanu došlo k nejrychlejšímu nástupu inhibiční účinnosti s klesající koncentrací aditiva. Ze získaných dat dále vyplývá, že obecně účinek antibakteriálních aditiv je v polyuretanových systémech, ať už vodouředitelných či bezrozpouštědlových, nižší než v systémech epoxidových bezrozpouštědlových. U polyuretanů při určité koncentraci bakterií převáží fakt, že jsou polyuretany výbornou živnou půdou, nad faktem, že bylo do materiálu zakomponováno antibakteriální aditivum o poměrně vysoké koncentraci. Jinými slovy, nutriční hodnota polyuretanu přehluší antibakteriální efekt aditiva.

Tab. 5.6. Procentuelní zastoupení 100% inhibičních efektů vztažených na jednotlivé použité podlahové systémy. EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

Materiál ↓	**Koncentrace bakterií řádově [bakterie/ml]** →	**10^8**	**10^4**	**10^2**
EP		70,2%	82,1%	98,8%
PV		36,9%	77,4%	92,9%
PB		36,9%	73,8%	100%



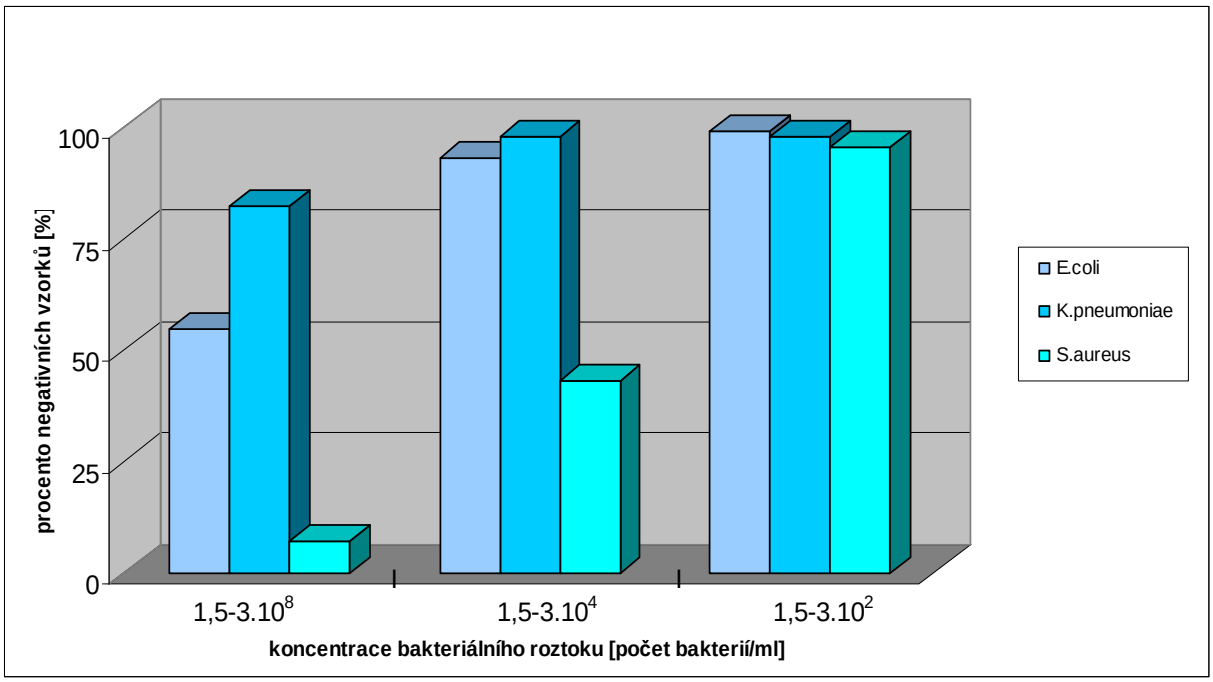
Graf 5.1. Procento negativních vzorků vztažených na jednotlivé použité podlahové systémy. EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

K experimentům byli dle normy ČSN EN ISO 20645 použity bakteriální kmeny Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae a Staphylococcus aureus. Obecně lze ze získaných dat vysledovat, která bakterie je na působení antibakteriálního aditiva na bázi stříbra nejsenzitivnější.

Tab. 5.7. Procentuelní zastoupení úplných antibakteriálních efektů antibakteriálních aditiv u jednotlivých použitých druhů bakterií ve zvolených podlahových systémech. EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

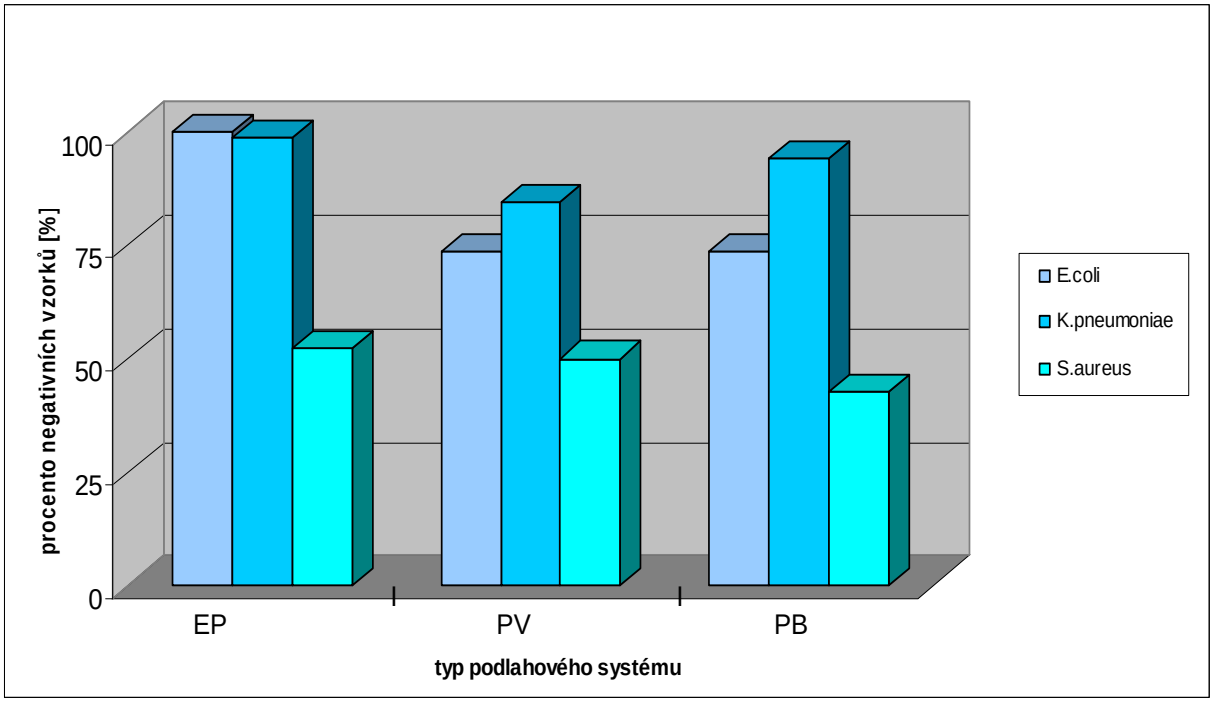
Podlahový systém ↓	**Bakterie →**	**E.coli**	**K.pneumoniae**	**S.aureus**
EP		100%	98,8%	52,4%
PV		73,8%	84,5%	50,0%
PB		73,8%	94,0%	42,9%

Z tabulky *Tab. 5.7.* je zřejmé, že nejsenzitivnější na účinek antibakteriálních aditiv je bakteriální kmen Klebsiella Pneumoniae, kde procento úplné inhibice růstu dosáhlo průměrné hodnoty 92,4%. S o málo horším výsledkem se shledáváme u Escherichia coli. Nejhůře reaguje na účinek antibakteriálního aditiva Staphylococcus aureus, kde nacházíme procento úplné inhibice růstu kolem 50%. Tyto výsledky odpovídají prvotním předpokladům. Staphylococcus aureus je jedna z nejvíce rezistentních bakterií, která není příliš náročná na růstové podmínky. Oproti tomu jsou Escherichia coli a Klebsiella pneumoniae růstově náročnější a nejsou tak silně rezistentní.



Graf 5.2. Procentuelní zastoupení negativních vzorků vztažených na jednotlivé bakteriální kmeny a na koncentrace těchto bakteriálních kmenů

S klesající koncentrací bakterií stoupá antibakteriální účinek použitých aditiv a to ve všech případech. Nejvíce je stoupající koncentrací bakterií ovlivněn antibakteriální účinek vůči bakterii Staphylococcus aureus. Nejmenší odezvu na změnu koncentrace bakterií mají antibakteriální aditiva v případě použití bakterie Escherichia coli.
V případě vývoje antibakteriálního podlahového systému je nutno mít na paměti mimo jiné i skutečnost, jaké koncentrace bakterií se budou na povrchu výsledné podlahy vyskytovat. K tomuto faktu je nutno přihlédnout jak z důvodu ekonomického (s množstvím použitého antibakteriálního aditiva roste cena) tak z důvodu technického (UV stabilita, mechanické a chemické odolnosti, atd.) a zvolit pro danou aplikaci nejvhodnější systém.
Hodnocena byla dále závislost růstu bakterií na typu použitého podlahového systému. Nejúspěšněji se bakterie rozmnožují na polyuretanových systémech, na kterých tudíž bakterie vykazují nejnižší senzitivitu vůči antibakteriálním aditivům na bázi stříbra, a je tedy nutno pro dosažení stejného inhibičního efektu, jako např. u epoxidu bezrozpouštědlového, přidat do polyuretanů více antibakteriálního aditiva. Escherichia coli roste na obou polyuretanech se shodnou intenzitou. Klebsiella pneumoniae roste snadněji na vodouředitelném polyuretanu a Staphylococcus roste snáze na bezrozpouštědlovém polyuretanu. Nejméně rostou bakterie na bezrozpouštědlovém epoxidu, kde aditiva vykazují nejvyšší účinek v porovnání s testovanými polyuretanovými systémy.



Graf 5.3. Závislost růstu bakterií na typu podlahového systému. EP = epoxidový bezrozpouštědlový systém, PB = polyuretanový bezrozpouštědlový systém, PV = polyuretanový vodouředitelný systém.

Na výsledný antibakteriální efekt podlahového systému nemá vliv jen typ aditiva, bakteriální kmen, ale významný vliv má i typ podlahového systému. Pravděpodobně, však nejde o chemické ovlivňování aditiva matricí, do které je aditivum zakomponováno. Rozdílná účinnost aditiva v různých podlahových systémech je jen zdánlivá. Vlastní účinnost aditiva zůstává stejná, avšak účinnost celého systému ovlivňuje vhodnost matrice, jakožto růstového

média. Polyuretany jsou oproti epoxidům lepším zdrojem uhlíku a dusíku, a proto je snadnější inhibovat růst bakterií na epoxidu nežli na polyuretanech, kde mají bakterie lepší přísun prvků nezbytných pro jejich metabolismus.

5.2. Hodnocení kultivačních testů v polyuretanovém vodouředitelném systému

V 0. sérii bylo zjištěno, že na polyuretanovém vodouředitelném systému rostou opakovaně všechny tři testované bakteriální kmeny. Následnými testy bylo zjištěno, že nejsilněji je inhibována Klebsiella pneumoniae a nejslaběji je inhibován Staphylococcus aureus. Staphylococcus aureus je nejvíce inhibován v koncentracích antibakteriálních aditiv 10% a 2,5%.
Při kultivaci již aditivovaných vzorků (vzorky s obsahem antibakteriálního aditiva) nejúspěšněji rostl (a tudíž nebyl inhibován růst) Staphylococcus aureus. Pravidelně rostl vždy při I. ředění (1,5 – 3 . 10^8 bakterií/ml) a to zejména s výsledkem Silně pozitivní, tj. ●●●. Při II. ředění (1,5 – 3 . 10^4 bakterií/ml) rostl Staphylococcus aureus zřídka a při III. ředění (1,5 – 3 . 10^2 bakterií/ml) rostl jen ojediněle. Klebsiella pneumoniae rostla ojediněle při všech třech ředěních bakteriálního roztoku. Escherichia coli rostla nejsilněji při prvním ředění a při dalších již rostla ojediněle. Na vzorcích vodouředitelného polyuretanového podlahového systému rostly bakterie nejvíce ze všech tří testovaných podlahových systémů.
Z výsledků dále vyplývá, že pokud je koncentrace bakterií 1,5 – 3 . 10^8 bakterií/ml a vyšší tak všechna testovaná aditiva ve vodouředitelném polyuretanovém systému selhávají. Vztaženo na jednu celou provedenou sérii, je možno říci, že jako nejúspěšnější se jeví Série 3 s obsahem 2,5 hm.% antibakteriálního aditiva. V této sérii jsou výsledky kultivace při II. a III. ředění ve všech případech negativní. Při I. ředění je nárůst Staphylococcus aureus vždy pozitivní, nárůst Escherichia coli je pozitivní zřídka a Klebsiella pneumoniae je pozitivní v jednom případě.
Výsledky lze sumarizovat, že pokud je koncentrace bakterií do 1,5 – 3 . 10^4 bakterií/ml, potom jsou při koncentraci 2,5 hm.% vhodná všechna použitá antibakteriální aditiva.

5.2.1. Ag/Al_2O_3

Při použití Ag/Al_2O_3 bylo dosaženo dobrých výsledků. 100 % antibakteriálního účinku bylo dosaženo při koncentraci Ag/Al_2O_3 2,5 hm. % a 10 hm. %, ale pouze do koncentrace 1,5 – 3 . 10^4 bakterií/ml včetně. Při vyšších koncentracích bakterií antibakteriální aditivum selhává a to kvůli Escherichia coli a Staphylococcus aureus. Klebsiella pneumoniae je negativní i při koncentraci 1,5 – 3 . 10^8 bakterií/ml.

5.2.2. Ag/Ba_2SO_4

Do koncentrace bakterií 1,5 – 3 . 10^2 bakterií/ml jsou 100% antibakteriálně účinné koncentrace 10 hm. % a 1 hm. % Ag/Ba_2SO_4. Při koncentraci bakterií 1,5 – 3 . 10^4 bakterií/ml je 100% antibakteriálně účinná koncentrace 2,5 hm.% Ag/Ba_2SO_4.

5.2.3. Ag/SiO_2

Nejhorší antibakteriální účinek ze čtyř testovaných sérií má Série 2, kde je koncentrace Ag/SiO_2 5 hm. %. Koncentrace bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je plně zahubena koncentrací 10 hm. % a 1 hm. % Ag/SiO_2. Při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně jsou tyto plně hubeny koncentrací 2,5 hm. % Ag/SiO_2. V případě koncentrací bakterií do $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml včetně dochází ke selhávání aditiva Ag/SiO_2 a to díky Escherichia coli a Staphylococcus aureus.

5.2.4. Ag/ZnO

Ag/ZnO je v koncentracích 10 hm. % a 2,5 hm. % plně antibakteriálně účinný vůči třem testovaným bakteriálním kmenům pokud se tyto vyskytují do koncentrace $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně. V případě koncentrace bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je antibakteriálně plně účinná i koncentrace 1 hm. % a 5 hm. % Ag/ZnO.

5.2.5. Ag/TiO_2

Ag/TiO_2 v koncentraci 5 hm. % vykazuje 100 % antibakteriální účinek vůči všem třem testovaným bakteriím v koncentraci do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně. Při koncentraci bakerií do $1,5 –3 . 10^4$ bakterií/ml včetně je plně antibakteriálně účinný Ag/TiO_2 o koncentraci 10 hm. % a 2,5 hm. % Ag/TiO_2. Ag/TiO_2 selhává v koncentraci 1 hm. % při koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml a to díky Escherichia coli, která je v tomto případě Středně pozitivní, tj. ●●.

5.2.6. AgI

AgI je účinným antibakteriálním aditivem, které plně hubí bakterie v koncentracích 1 hm.%, 2,5 hm. % a 10 hm. %, při koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml. V 5 hm. % AgI selhává již při koncentraci $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml a to kvůli slabě pozitivnímu nárůstu Staphylococcus aureus.

5.2.7. Ag/zeolity

Ag/zeolity je 100 % antibakteriálně účinné aditivum v koncentraci 1 hm. %, 2,5 hm. % a 10 hm. % při koncentraci $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml. Při koncentraci do $5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je Ag/zeolity plně antibakteriálně účinný v koncentraci 5 hm. %.

5.2.8. Shrnutí

Z výsledků kultivace vodouředitelného polyuretanu nelze vyvodit obecnou závislost koncentrace antibakteriálního aditiva na koncentraci bakteriálních roztoků. Je zřejmé, že výsledky kultivace jsou neočekávatelně ovlivňovány drobnými změnami podmínek kultivace, které není možné monitorovat. Hlavním vlivem byl pravděpodobně fakt, že připravené vzorky musely zůstat v Petriho misce nezakryté po dobu 48 hodin, aby došlo k odparu vody a nedošlo ke kondenzaci vody v uzavřené Petriho misce a tím k defektům vzorků. Během této doby zřejmě docházelo ke kontaminaci, i když kontrolní vzorky vyšly negativní a vzorky byly uloženy ve sterilním prostředí, ve kterém jsou uloženy na tuhnutí u mikrobiologické kultivační půdy. Tyto půdy se však po tuhnutí dále sterilizují v autoklávu při teplotě 121°C. Vzorky však nemohly být sterilizovány v autoklávu, kvůli vysoké teplotě, jež by vzorek poškodila, ani nemohly být sterilizovány chemicky kvůli možným vlivům na vzorek či aditivum. Navíc jsou vodouředitelné polyuretany pórovité, čili dochází k průniku nečistot a bakterií i do struktury materiálu. Další faktor, jež mohl ovlivnit výsledky kultivace je, že vodouředitelný polyuretan je natolik výbornou živnou půdou pro bakterie, že i sebemenší odchylka metodiky (např. slabé kolísání pokojové teploty, McFarlandův zákal bližší horní hranici intervalu $1,5 – 3 . 10^x$ bakterií/ml , atd.) významně kladně ovlivňuje růst bakterií.
Jako nejefektivnějším antibakteriálními činidly ve vodouředitelném polyuretanu se zdají být AgI a Ag/zeolity v koncentraci 1 hm. % , kdy koncentrace bakterií je do hodnoty řádově 10^4 bakterií/ml.

5.3. Hodnocení kultivačních testů v polyuretanovém bezrozpouštědlovém systému

Na bezrozpouštědlovém polyuretanovém systému se projevuje trend poklesu antibakteriálního efektu s klesající koncentrací použitého antibakteriálního činidla, avšak tento efekt je velmi slabý a projevuje se jen u některých aditiv. Častým jevem je shodná úroveň antibakteriálního efektu aditiva ve všech čtyřech sériích. Nedochází k výraznému nárůstu bakterií se snižující se koncentrací aditiv. Na bezrozpouštědlovém polyuretanu rostou všechny tři testované bakteriální kmeny. Nejsilněji roste nejodolnější Staphylococcus aureus. V koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml došlo ve všech čtyřech sériích u všech použitých aditiv k úplnému úhynu všech třech bakterií. Ani v jednom případě nedošlo k úhynu všech třech bakterií působením jednoho z použitých bakteriálních aditiv při koncentraci $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml.

5.3.1. Ag/Al_2O_3

Aditivum Ag/Al_2O_3 je 100 % antibakteriálně účinné v koncentraci 10 hm. % vůči všem třem testovaným bakteriím a to do koncentrace $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně. V případě, že se bakterie vyskytují v koncentraci do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně, je antibakteriálně účinná koncentrace 5 hm. %, 2,5 hm. % a 1 hm. %.

5.3.2. Ag/Ba_2SO_4

Za použití tohoto aditiva rostla pouze bakterie Staphylococcus aureus, a to ve všech sériích pouze při ředění $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml v intenzitě Silně pozitivní dle *Tab. 4.5*.. Escherichia coli a Klebsiella pneumoniae byli tímto aditivem plně zahubeny ve všech použitých koncentracích aditiva. Nejefektivnější je toto aditivum v koncentraci 1 hm. %.

5.3.3. Ag/SiO_2

S aditivem Ag/SiO_2 narůstaly bakterie Escherichia coli a Staphylococcus aureus ve všech čtyřech sériích v naprosto shodné intenzitě, tj. Escherichia coli Středně pozitivní a Staphylococcus aureus Silně pozitivní. Nejefektivnější je toto aditivum v koncentraci 1 hm. %.

5.3.4. Ag/ZnO

S tímto aditivem docházelo k růstu bakterií Escherichia coli a Staphylococcus aureus a se zvyšující se hladinou aditiva docházelo pouze k lehkému zvyšování se intenzity růstu bakterií. Při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně je nejvhodnější koncentrace 2,5 hm. % a při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je plně antibakteriálně účinná koncentrace 1 hm. % Ag/ZnO.

5.3.5. Ag/TiO_2

Z výsledků kultivačních testů vyplývá, že při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně jsou plně antibakteriálně účinné všechny použité koncentrace aditiva. Při koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml a $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml toto aditivum selhává

5.3.6. AgI

U tohoto aditiva je možné pozorovat výrazné snížení antibakteriální účinnosti s klesajícím množstvím aditiva. Při koncentraci AgI 10 hm. % dochází k nárůstu Staphylococcus aureus a Klebsiella pneumoniae v koncentraci bakterií řádově 10^8 bakterií/ml, od 2,5 hm. % AgI dochází k růstu i Escherichia coli při koncentraci bakterií řádově 10^4 bakterií/ml a 10^8 bakterií/ml. Při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně jsou plně antibakteriálně účinné všechny použité koncentrace aditiva. Při koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml a $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml toto aditivum selhává.

5.3.7. Ag/zeolity

Ag/zeolity vykazuje ve všech čtyřech sériích naprosto shodné kultivační výsledky. Dochází k nárůstu Staphylococcus aureus v koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml a $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml a k nárůstu Escherichia coli v koncentraci bakterií $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml. Nejefektivnější je tudíž koncentrace 1 hm. %.

5.3.8. Shrnutí

Pro použití v polyuretanových bezrozpouštědlových podlahových systémech se jako nejefektivnější antibakteriální aditivum jeví $Ag/BaSO_4$ v koncentraci 1 hm. % při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně.

5.4. Hodnocení kultivačních testů v epoxidovém bezrozpouštědlovém systému

V bezrozpouštědlovém epoxidovém systému se projevuje trend poklesu antibakteriálního efektu s klesající koncentrací použitého antibakteriálního činidla a to u všech použitých aditiv Na bezrozpouštědlovém epoxidu nejvíce roste, tudíž i nejméně reaguje na přítomnost antibakteriálního aditiva, bakterie Staphylococcus aureus. Ostatní bakterie jsou všemi použitými antibakteriálními aditivy s úspěchem plně zahubeny až na jednu výjimku a tou je Klebsiella pneumoniae v koncentrace $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml při koncentraci Ag/TiO_2 1 hm. %. Důvodem velmi úspěšného úhynu bakteriálních kmenů Escherichia coli a Klebsiella pneumoniae je fakt, že zmíněné kmeny na bezrozpouštědlovém epoxidovém systému rostou, avšak ten jim není příliš dobrou živnou půdou. Proto se bakteriální kolonie příliš nerozšiřují a jsou citlivější na negativní změnu růstových podmínek, tedy i na přítomnost antibakteriálního aditiva.

5.4.1. Ag/Al_2O_3

Aditivum Ag/Al_2O_3 je 100 % antibakteriálně účinné v koncentraci 10 hm. % vůči všem třem testovaným bakteriím a to do koncentrace $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml včetně, čili do takové koncentrace, která je pro lidský organismus silně infekční. S klesajícím hmotnostním % antibakteriálního aditiva dochází ke zvyšujícímu se růstu Staphylococcus aureus.

5.4.2. $Ag/BaSO_4$

$Ag/BaSO_4$ vykazuje také 100 % antibakteriální účinek v koncentracích 10 hm. % a 5 hm. % při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml včetně. Se snižující se hladinou antibakteriálního aditiva dochází k rovnoměrně se zvyšujícímu nárůstu bakteriálního kmenu

Staphylococcus aureus, při koncentraci aditiva 2,5 hm. % a 1 hm. % je $Ag/BaSO_4$ plně antibakeriálně účinný při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně. Zbylé dva testované bakteriální kmeny v žádném ředění při žádné koncentraci nerostou.

5.4.3. Ag/SiO_2

Ag/SiO_2 je také aditivum, které při koncentraci 10 hm. % a při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml včetně vykazuje 100 % antibakteriální účinek u všech třech testovaných bakteriálních kmenů. S klesající hladinou aditiva Ag/SiO_2 stoupá nárůst bakterie Staphylococcus aureus, při koncentraci aditiva 5 hm.% je Ag/SiO_2 plně antibakeriálně účinný při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně, při koncentraci aditiva 2,5 hm. % a 1 hm. % je Ag/SiO_2 plně antibakeriálně účinný při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně. Zbylé dva bakteriální kmeny ani v jednom případě nenarůstají.

5.4.4. Ag/ZnO

Ve všech 4. sériích, tzn. při všech čtyřech testovaných koncentracích aditiva, dochází k úplnému úhynu pouze při koncentraci do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně. Bakteriální kmeny Escherichia coli a Klebsiella pneumoniae nenarůstají na žádném vzorku.

5.4.5. Ag/TiO_2

Ag/TiO_2 působí 100 % inhibičně při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně pokud je aditivum v podlahovém epoxidovém bezrozpouštědlovém systému v koncentraci 10 hm. %, 5 hm. % a 2,5 hm. %. V koncentraci 1 hm. % aditivum Ag/TiO_2 selhává a to z důvodu nárůstu Staphylococcus aureus ve všech ředěních. V I. ředění 4. série došlo k nárůstu i Klebsiella pneumoniae a to v intenzitě klasifikované dle *Tab. 4.5.* jako silně pozitivní.

5.4.6. AgI

AgI je plně antibakteriálně účinné v koncentraci 10 hm. % a 5 hm.% pokud koncentrace bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně. V případě koncentrace bakterií do $1,5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je toto aditivum spolehlivě antibakteriální proti všem použitým kmenům v koncentraci 2,5 hm. % a 1 hm .%.

5.4.7. Ag/zeolity

Při koncentraci Ag/zeolity 10 hm. %, 5 hm. %, 2,5 hm. % a 1 hm. % dochází ke 100 % antibakteriálnímu efektu při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně .

5.4.8. Shrnutí

Nejefektivnějším aditivem pro bezrozpouštědlový epoxidový podlahový systém je v případě koncentrace bakterií $1{,}5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml včetně aditivum $Ag/BaSO_4$ v koncentraci 5 hm. %, v případě koncentrace bakterií $1{,}5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně je nejefektivnější aditivum Ag/TiO_2 a Ag/zeolity v koncentraci 2,5 hm. % a v případě koncentrace bakterií $1{,}5 – 3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je nejefektivnější aditivum Ag/Al_2O_3, $Ag/BaSO_4$, Ag/ZnO, Ag/SiO_2 a AgI v koncentraci 1 hm. %

6. ZÁVĚR

V rámci této práce bylo testováno sedm druhů antibakteriálních aditiv na bázi stříbra (Ag/Al_2O_3, $Ag/BaSO_4$, Ag/SiO_2, Ag/ZnO, Ag/TiO_2, AgI a Ag/zeolity) v kombinaci se třemi druhy podlahovin na bázi epoxidů a polyuretanů (epoxid bezrozpouštědlový, epoxid vodouředitelný, polyuretan bezrozpouštědlový a polyuretan vodouředitelný). Pro kultivace byly dle normy ČSN EN ISO 20645 [38] použity bakteriální kmeny Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae a Staphylococcus aureus. Metodika kultivace byla vytvořena a otestována v rámci této práce. Výsledkem výzkumu je otestování činidel na zvolených materiálech a nalezení optimálních koncentrací pro dostatečnou účinnost.

Z provedených testů bylo zjištěno, že na vodouředitelném epoxidovém systému bakterie v koncentraci 10^8 bakterií/ml zcela hynou, čili tento systém má antibakteriální účinek i bez přídavku antibakteriálního aditiva. Pro epoxidový bezrozpouštědlový systém je nejefektivnější v případě koncentrace bakterií $1,5 – 3 . 10^8$ bakterií/ml včetně aditivum $Ag/BaSO_4$ v koncentraci 5 hm.%, v případě koncentrace bakterií $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně je nejefektivnější aditivum Ag/TiO_2 a Ag/zeolity v koncentraci 2,5 hm.% a v případě koncentrace bakterií $1,5 –3 . 10^2$ bakterií/ml včetně je nejefektivnější aditivum Ag/Al_2O_3, $Ag/BaSO_4$, Ag/ZnO, Ag/SiO_2 a AgI v koncentraci 1 hm.%. Pro polyuretanový bezrozpouštědlový systém je nejefektivnější $Ag/BaSO_4$ v koncentraci 1 hm.% při koncentraci bakterií do $1,5 – 3 . 10^4$ bakterií/ml včetně. V případě vodouředitelného polyuretanového systému není možno důvěryhodně usoudit na nejvhodnější aditivum. Z provedených testů se však jako nejvhodnější zdá být AgI a Ag/zeolity v koncentraci 1 hm.% , kdy koncentrace bakterií je do hodnoty řádově 10^4 bakterií/ml.

Z výše uvedených výsledků je zřejmé, že provedenými testy nebylo nalezeno univerzální antibakteriální aditivum. Je vždy nutné výběr aditiva do příslušného podlahového systému přizpůsobit konečným požadavkům na produkt.

Testovány byly pouze základní báze podlahových systémů, tzn. pryskyřice a síťovadla, které byly zjištěny jako průmyslově nejpoužívanější. Přídavek aditiv, plniv a i použití jiných typů pryskyřic či síťovadel může mít vliv na konečný antibakteriální efekt. Je tedy nezbytné vždy provést kultivační testy a ověřit tak předpokládané výsledky.

SEZNAM POUŽITÝCH LITERÁRNÍCH ZDROJŮ

[1] Lansdow, Alan B. G.: Silver in health care: Antimicrobial effect and safety data use. *Current problems in dermatology*, 2006. vol. 33, pp. 17-34. ISSN 0070-2064

[2] Yu, Haijun: Preparation of antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containg silver nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 2007. vol. 103, no. 1, pp.125-133. ISSN 0021-8995

[3] Patent No. KR 2006076792. Cheil Industries Inc., Kongkae Teaho Kongbo. Antibacterial thermplastic resin composition employing transparent abs resin and silver nanoparticle antibacterial agent. Inventor: Jeong, Bong Jae. North Korea.

[4] Patent No. JP 2002293705. Ministry of economy, trade and industry, Tokyo. Silver base antibacterial agents and their manufacture. Inventor: Nakao, Yukimichi. Japane.

[5] Patent No. JP 2000248463. Catalysts and Chemicals Industries Co., Tokyo. Antibacterial finishing fiber products with washfast high antibacterial properties by contacting fiber products with aqueous solutions containing antibacterial metal ions. Inventor: Tanaka, Atsushi. Japan.

[6] Patent No. JP 2000016904. Tokuriki Chemical Research Co., Tokyo. Antibacterial and antifungal agents containing compounds composed of nucleic acid bases and silver. Inventor: Kitamura, Kenji. Japane.

[7] Yamanaka, Mikihiro: Characterization of the interaction between silver ions and Escherichia coli by proteomic analysis. *Shapu Giho*, 2006. vol. 93, pp. 30-34. ISSN 0285-0362

[8] Patent No. KR 2006034604. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo. Synthetic method of manufacturing inorganic anti-bacterial agent by using natural mineral ore, concerned with synthetic zeolite and titan dioxide as photocatalyst powder formed by substitution of colloidal silver. Inventor: Jung, Chung Sik. North Korea.

[9] Ju, Jian-feng: Antibacterial activity of nanocomposite Ag/TiO_2 material. Jingxi Huagong, vol. 22, no. 1, pp. 59 – 61. ISSN 1003-5214.

[10] Ni, Ping: Preparation and characterization of activated carbon fibers supported with TiO_2 / Ag for anibacterial behaivour. *Cailiao Kexue Yu Gongcheng Xuebao*, 2004. vol. 22, no. 6, pp. 816-819. CODEN: CKYGAS

[11] Ling, Yunhan: Preparation and characterization of antibacterial titanate whiskers. *Materials Science Forum*, 2005. pp. 475-479, 1177-1180. ISSN 0255-5476

[12] Patent No. KR 2006019150. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo. Method for preparing Ag and Ag-TiO_2 nanoparticles and method for preparing master batch using the same nanoparticles. Inventor: Kung, Young Soo. North Korea.

[13] Inoue, Yoshihiro: Bactericidal acitivity of Ag-zeolite mediated by reactive oxygen species under aerated conditions. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2002. vol. 92, no. 1, pp. 37-42. ISSN: 0162-0134

[14] Chi, Guang-jun: Preparation of precipitated SiO_2 with antibacterial activity and its antibacterial activity performance. *Ziran Kexue Yu Gongchend Jishuban*, 2002. vol. 35.,no.,2. pp. 247–249. CODEN: TDXZAE

[15] Patent No. US 2006240980. U.S. Pat. Appl. Publ.. Silver nanoparticles on polyporous material and its use.
[16] Patent No. CN 1843995. Peop. Rep. China. Manufacture of antibacterial enamel for resisting Escherichia coli and Staphylococcus. Inventor: Ding, Wenzhan. Peop. Rep. China.
[17] Patent No. KR 2006002365. Kolon Indutries Inc. Acidic antibacterial dye using silver-ontaining sulfonamide based antibacterial agent, to which dye intermediate is coupled ia diazo coupling reaction, method for preparation the same, and antibacterial fiber sing the same. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo.
[18] Patent No. RU 2164072. Tovarishchestvo S Ogranichennoi Otvestvennosťyu Predpriyatie Kuban´agrotok". Silver ion as antibacterial preservative. Inventor: Russia.
[19] Yokota, Takeshi: Silver dispersed stainless steels with antibacterial property. *awasaki Seitetsu Giho*, 2001. vol. 33, no. 2, pp. 88 – 91. ISSN: 0368-7236.
[20] Yuranova, T.: Performance and characterization of Ag-cotton and Ag/TiO_2 loaded textiles during the abatement of E. coli. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2006. vol. 181. no. 2 – 3, pp. 363-369. ISSN: 1010-6030.
[21] Patent No. JP 2004068003. Catalysts and Chemicals Industries Co.. Manufacture of antimicrobial deodorant polyesters or polyurethanes. Inventor: Tanaka, Atsushi. Japan.
[22] Patent No. CN 1746238. Shanghai Shenglum Chemical Co., 2006. Inventor: Wu, Guangfa. People Republica China.
[23] Nonaka, Takamasa: Antibacterial activity of resin –conatining triethylenetetramine side chains and/or thiol groups-metal complexes. Journal of Applied Chemistry, 1996. vol. 62, no. 10, pp. 1651-1659. ISSN: 0021-8995.
[24] Patent No. KR 2005089304. Nanopoly Co., 2005. Antibacterial paint using silver metal and /or titanium dioxide nanoparticles to be sprayed to form antibacterial coat, and its preparation method. Inventor: Jeong, Gu Wan. Republica Korean Kongae Teaho Kongbo.
[25] Pavel Dibrov et al., *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 46, 2668-2670, 2002
[26] Shangtong Zahng at al., *Toxic effects of Ag(I) and Hg(II) on Candida albicans and C.maltosa:a flow cytometric evaluation,* Environmental research center, Department of Biology, 2002
[27] Pavel Klouda, *Základy biochemie.*1. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2000
[28] K.I. Ivsavtsev et al., *Silver ion antibacterial food preservative*, Russia, 2001
[29] F. Kašpárek at al., *Anorganická chemie*, Univerzita Palackého v Olomouci, 2001
[30] Material safety data sheet, Section I – IV, H&S Chemical Co Inc., Convigton (2006)
[31] N. Heldt, *The potencional application of silver zeolites for use as antibacterial agent in packaging*, Clarkson Univerzity, 2004
[32] A. M. P. Mc Donell, *Hydrophilic and antimicrobial zeolite coatings for gravity-independent water separation,* Advances functional materials, 2005
[33] M. Lidařík, *Epoxidové pryskyřice*, Nakladatelství technické literatury, 1983
[34] Epoxy resines and their curing mechanisms, Ciba Speciality Chemicals, Switzerlan (1997)
[35] G. Oertel , *Polyurethane handbook*, Hanser Gardner Publications, 1993
[36] Properties&Handling Vestamin IPD Vestamin TMD, Coatings&Colorants, Degussa,

Germany (2006)
[37] Vodou ředitelné epoxidové systémy pro stavebnictví, Norco, Praha (2006)
[38] ČSN EN ISO 20645: 2005. Plošné textilie – Zjišťování antibakteriální aktivity – Zkouška šíření agarovou destičkou. Praha: Český normalizační institut, 2005. 13 s.
[39] ČSN 79 3880: 1992.Zkoušení antimikrobních vlastností materiálů kožedělného průmyslu. Antifugální a antibakteriální vlastnosti. Praha: Český normalizační institut, 1992. 11 s.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ABS	akrylonitril butadien styren
ADP	adenosindifosfát
ATCCC	písmenný prefix bakteriální sbírky Praha
ATP	adenosintrifosfát
CCM	písmenný prefix bakteriální sbírky Brno
CoQ	koenzym Q
DGEBA	diglycidylether bisfenolu A
E.E.	epoxidový ekvivalent
E.F.	epoxidová funkčnost
EF-TEM	transmisní elektronová mikroskopie
E.I.	epoxidový index
EP	epoxidový bezrozpoštědlový systém/nátěr
EP A	epoxidová hmota bezrozpouštědlová složka A
EP B	epoxidová hmota bezrozpouštědlová složka B
EV	epoxidová vodouředitelný systém/nátěr
EV A	epoxidová hmota vodouředitelná složka A
EV B	epoxidová hmota vodouředitelná složka B
ΔG	změna Gibbsovy energie
HDA	hexamethylendiamin
HDI	1,6 – diisocyanato hexane dle IUPAC
H.E.	hmotnostní ekvivalent
IPDI	5 – isocyanato – 1 – (isocyanatomethyl) – 1,3,3 – trimethyl - cyklohexane dle IUPAC
IUPAC	mezinárodní organizace pro čistou a přesnou chemii (International Union for pure and Accurate Chemistry)
MALDI-TOF MS	matricí asistovaná laserová desorpce - hmotnostní spektroskopie doby letu
McF	McFarlandův zákalový stupeň
MDI	1 – isocyanato – 4 – [(4-isocyanatophenyl)methyl] benzene dle IUPAC
M.H.	molekulová hmotnost
NADH	nikotinamidadenindinukleotid oxidovaná forma
NAD^+	nikotinamidadenindinukleotid redukovaná forma
NDI	naftalen – 1,5 - diisokyanát
P_i	fosfátová skupina PO_4^{3-}
PV	polyuretanový vodouředitelný systém/nátěr
PV A	polyuretanová hmota vodouředitelná složka A
PV B	polyuretanová hmota vodouředitelná složka B
PB	polyuretanový bezrozpouštědlový systém/nátěr
PB A	polyuretanová hmota bezrozpouštědlová složka A
PB B	polyuretanová hmota bezrozpouštědlová složka B
pbw	hmotnostní díly (parts by weight)
PVP	polyvinylpyrrolidon
ROS	reaktivní formy kyslíku

RNA	ribonukleová kyselina
V.E.	vodíkový ekvivalent
V.F.	vodíková funkčnost
TDI	2,4 – diisocynanato – 1 –methyl – benzene dle IUPAC