

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2025

Bc. Anna Skoupilová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení antimikrobiální účinnosti epoxyesterových nátěrových hmot
s obsahem anorganických pigmentů na bázi oxidů kovů, jejich příprava a
hodnocení
Diplomová práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Academic year: 2024/2025

ASSIGNMENT OF DIPLOMA THESIS

(project, art work, art performance)

Name and surname: **Bc. Anna Skoupilová**
Personal number: **C23321**
Study programme: **N0914P360001 Bioanalytical Laboratory Diagnostics in Medicine**
Work topic: **Stanovení antimikrobiální účinnosti epoxysterových nátěrových hmot s obsahem anorganických pigmentů na bázi oxidů kovů, jejich příprava a hodnocení**
Work topic in English: **Determination of the Antimicrobial Efficiency of Epoxy Ester Coatings Containing Inorganic Pigments Based on Metal Oxides, Their Preparation and Evaluation**
Assigning department: **Department of Biological and Biochemical Sciences**

Theses guidelines

Teoretická část:

S využitím odborné literatury vypracujete rešerši na zadané téma. Popište problematiku antimikrobiální ochrany materiálů vůči mikrobiální kontaminaci včetně tvorby biofilmů, tak i z hlediska vybraných druhů mikroorganismů.

Experimentální část:

Připravte modelové nátěrové hmoty na bázi modifikovaných epoxyesterových pryskyřic s obsahem anorganických pigmentů (MgO, ZnO a ZnS) a plniva (CaCO₃) při OKP/KOKP = konst. a proveďte základní charakterizaci vlastností vybraných druhů anorganických pigmentů a jednotlivých druhů pojiv na bázi epoxyesterové pryskyřice.

Modelové nátěrové hmoty aplikujte na skleněné a ocelové panely a proveďte u výsledných nátěrů hodnocení jejich mechanické, fyzikálně-mechanické a chemické odolnosti dle příslušných ČSN EN ISO norem. Stanovte odolnost jednotlivých nátěrových filmů vůči působení vodného roztoku elektrolytu v závislosti na pH a též i odolnost vůči tvorbě osmotických puchýřků pomocí Sandwich testu.

Porovnejte vliv vybraných druhů pigmentů na antimikrobiální působení jednotlivých nátěrových filmů. Určete antimikrobiální účinnosti organických povlaků na bázi epoxyesterů vůči vybraným bakteriím na základě mikrobiálních zkoušek dle ČSN EN ISO.

Práci zpracujte v souladu s aktuální vyhláškou Univerzity Pardubice týkající se formální úpravy závěrečných prací.

Extent of work report: **35 s.**
Extent of graphics content: **dle potřeby**
Form processing of diploma thesis: **printed**

Recommended resources:

Supervisors of diploma thesis: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Department of Biological and Biochemical Sciences

Consultant of diploma thesis: **prof. Ing. Andréa Kalendová, Dr.**
Institute of Chemistry and Technology of
Macromolecular Materiale

Date of assignment of diploma thesis: **December 20, 2024**
Submission deadline of diploma thesis: **May 9, 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. m.p.
Dean

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. m.p.
Head of Department

In Pardubice February 28, 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Stanovení antimikrobiální účinnosti epoxyesterových nátěrových hmot s obsahem anorganických pigmentů na bázi oxidů kovů, jejich příprava a hodnocení jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Bc. Anna Skoupilová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce, paní doc. Ing. Marcele Pejchalové, Ph.D., za její ochotu, čas, cenné rady a důležité připomínky, které mi byly nápomocné při vypracování této práce. Mé poděkování také patří prof. Ing. Andrée Kalendové, Dr., za odborné konzultace a věcné rady, které mi poskytla. Velmi si vážím i spolupráce s Ing. Karolínou Bošíkovou při experimentální části práce vykonávané na Ústavu chemie a technologie makromolekulárních látek. V neposlední řadě mé velké poděkování patří rodině a přátelům, kteří mě podporovali po celou dobu studia.

ANOTACE

Tato diplomová práce se zabývá stanovením antimikrobiální účinnosti organických povlaků a nátěrových hmot na bázi epoxyesterových pryskyřic modifikovaných vybranými druhy mastných kyselin, které byly funkcionalizovány anorganickými pigmenty MgO, ZnO a ZnS. Začlenění těchto pigmentů s předpokládaným antimikrobiálním působením do epoxyesterových pojiv bylo provedeno procesem dispergace. Objemová koncentrace studovaných pigmentů v modelových nátěrových hmotách byla 10 %. Změny užitných vlastností epoxyesterových nátěrových hmot byly studovány řadou normovaných fyzikálně-mechanických, chemických a mechanických zkoušek. Následně byla antimikrobiální účinnost těchto nátěrů testována podle normy ISO 2196: 2011 proti bakteriálním kmenům *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*.

Teoretická část se zaměřuje na problematiku antimikrobiální ochrany povrchových materiálů, zejména ve zdravotnictví, s důrazem na bakteriální kontaminaci a tvorbu biofilmu. Dále jsou popsány základní znaky a vlastnosti použitých bakteriálních kmenů. Experimentální část zahrnuje provedené mechanické, fyzikálně-mechanické a chemické zkoušky. Cílem této práce bylo stanovení antimikrobiální účinnosti připravených nátěrových hmot na bázi epoxyesterových pryskyřic.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antimikrobiální účinnost, antimikrobiální nátěrové hmoty, bakterie, epoxyesterová pryskyřice, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, nátěrové filmy, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

TITLE

Determination of the antimicrobial efficiency of epoxy ester coatings containing inorganic pigments based on metal oxides, their preparation and evaluation

ANNOTATION

This thesis focuses on determining the antimicrobial efficacy of organic coatings and paints based on modified epoxy ester resins, which have been modified with selected types of fatty acids and functionalized with inorganic pigments MgO, ZnO, and ZnS. The incorporation of these pigments, which are expected to exhibit antimicrobial properties, into epoxy ester binders was carried out through a dispersion process. The volume concentration of the studied pigments in the model paint formulations was 10 %. Changes in the functional properties of the epoxy ester coatings were examined using a series of standardized physicomechanical, chemical, and mechanical tests. Subsequently, the antimicrobial efficacy of these coatings was tested according to ISO 2196:2011 against the bacterial strains *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*.

The theoretical part focuses on the issue of antimicrobial protection of surface materials, particularly in healthcare settings, with an emphasis on bacterial contamination and biofilm formation. It also describes the fundamental characteristics and properties of the bacterial strains used. The experimental part includes mechanical, physico-mechanical, and chemical tests conducted to assess the properties of the prepared coatings. The aim of this study was to determine the antimicrobial efficacy of epoxy ester-based paints.

KEYWORDS

Antimicrobial activity, coating film, bacteria, epoxy ester resin, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, coating films, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	17
SEZNAM ROVNIC.....	18
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	19
ÚVOD	22
1. TEORETICKÁ ČÁST.....	23
1.1. Kontaminace povrchů spojená se zdravotní péčí	23
1.1.1. Mikrobiální Biofilmy	23
1.1.1.1. Struktura biofilmu.....	24
1.1.1.2. Tvorba biofilmu	24
1.1.1.3. Interakce biofilmů s povrchy	25
1.1.1.4. Odolnost biofilmů vůči antibiotikům.....	25
1.1.1.5. Bakteriální infekce spojené s biofilmem.....	26
1.2. Charakteristika použitých mikroorganismů	26
1.2.1. Gram pozitivní bakterie.....	27
1.2.1.1. <i>Enterococcus faecalis</i>	27
1.2.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	29
1.2.2. Gram negativní bakterie	32
1.2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	32
1.2.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
1.3. Nátěrové hmoty	39
1.3.1. Rozdělení nátěrových hmot.....	39
1.3.2. Estery epoxidových pryskyřic	39
1.4. Formulace nátěrových hmot.....	40

1.5.	Nátěry s antimikrobiálními účinky.....	42
1.6.	Antimikrobiální aditiva používaná v antimikrobiálních nátěrech.....	43
1.6.1.	Antimikrobiální polymery.....	43
1.6.2.	Antimikrobiální aditiva na bázi organických sloučenin.....	43
1.6.2.1.	Fenolové sloučeniny	43
1.6.2.2.	Deriváty izothiazolinonu.....	44
1.6.3.	Nanočástice	44
1.6.3.1.	Oxid zinečnatý (ZnO)	45
1.6.3.2.	Oxid hořečnatý (MgO).....	46
1.6.3.3.	Oxid titaničitý TiO ₂	46
1.6.4.	Antimikrobiální aditiva na přírodní bázi	46
1.7.	Mikrobiální kontaminace nátěrových hmot	47
1.8.	Využití antimikrobiálních nátěrových hmot	48
2.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	50
2.1.	Cíl práce	50
2.2.	Přehled chemikálií a použitých surovin pro testování	51
2.2.1.	Pojiva na bázi epoxysterové pryskyřice	51
2.2.2.	Pigmenty a plniva.....	51
2.2.3.	Chemikálie použité při testování.....	52
2.3.	Přístroje a vybavení	52
2.3.1.	Přístroje použité k charakterizaci práškových materiálů.....	52
2.3.2.	Přístroje použité k přípravě a aplikaci nátěrových hmot.....	53
2.3.3.	Přístroje použité pro stanovení fyzikálně-mechanických a mechanických vlastností nátěrových filmů	53
2.3.4.	Přístroje použité k testování antimikrobiální účinnosti organických povlaků	53

2.4.	Základní charakteristika materiálů	53
2.4.1.	Stanovení spotřeby oleje a kritické objemové koncentrace pigmentů	53
2.4.2.	Stanovení hustoty práškových materiálů.....	54
2.5.	Stanovení obsahu sušiny v pojivové složce	55
2.6.	Metody pro hodnocení vlastností práškových materiálů.....	55
2.6.1.	Stanovení hodnoty pH vodné suspenze.....	55
2.6.2.	Stanovení měrné elektrické vodivosti vodné suspenze	56
2.7.	Modelové nátěrové hmoty.....	57
2.7.1.	Formulace modelových nátěrových hmot	57
2.7.2.	Příprava a dispergace modelových nátěrových hmot.....	58
2.7.3.	Příprava zkušebních vzorků pro testování	59
2.7.3.1.	Příprava a aplikace nátěrových hmot	59
2.7.3.2.	Příprava volných nátěrových filmů pro antimikrobiální testování	59
2.7.3.3.	Příprava zkušebních vzorků na polyethylenových fóliích pro antimikrobiální testování	60
2.8.	Metody hodnocení fyzikálně – mechanických vlastností organických povlaků	60
2.8.1.	Zkouška tvrdosti nátěru	60
2.8.2.	Buchholzova vrypová zkouška.....	61
2.8.3.	Stanovení lesku	62
2.8.4.	Stanovení suché tloušťky nátěrového filmu.....	63
2.8.5.	Mřížková zkouška	63
2.8.6.	MEK test	64
2.8.7.	Stanovení odolnosti nátěrového filmu vůči působení vodného roztoku elektrolytu v závislosti na pH	65
2.8.8.	Sandwich test.....	66

2.9.	Mikrobiální zkoušky	68
2.9.1.	Příprava živných půd.....	68
2.9.2.	Příprava pracovních roztoků	70
2.9.3.	Bakteriální kultury.....	70
2.9.4.	Stanovení antimikrobiální účinnosti epoxysterových nátěrů	71
2.9.5.	Stanovení antibakteriální účinnosti epoxysteerových filmů obtiskovou metodou.....	73
3.	VÝSLEDKY A HODNOCENÍ.....	75
3.1.	Charakterizace práškových materiálů	75
3.2.	Stanovení obsahu sušiny v pojivové složce	78
3.3.	Fyzikální vlastnosti práškových materiálů.....	78
3.3.1.	Výsledky stanovení hodnoty pH vodné suspenze	78
3.3.2.	Výsledky měření elektrické vodivosti vodné suspenze.....	79
3.4.	Fyzikálně-mechanické vlastnosti nátěrových povlaků na skleněných panelech.....	79
3.4.1.	Výsledky stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěrových filmů kyvadlovým přístrojem	79
3.4.2.	Výsledky stanovení lesku nátěru.....	80
3.4.3.	Vyhodnocení Buchholzovy vrypové zkoušky.....	81
3.4.4.	Výsledky MEK testu	82
3.5.	Mechanické zkoušky	84
3.5.1.	Výsledky mřížkové zkoušky	84
3.6.	Hodnocení nátěrů vůči působení vodnému elektrolytu a puchýřovatení	84
3.6.1.	Výsledky stanovení odolnosti nátěrového filmu vůči působení vodného roztoku elektrolytu v závislosti na pH.....	84
3.6.2.	Výsledky testování odolnosti nátěrů proti tvorbě puchýřků (Sandwich testu)	88
3.7.	Výsledky mikrobiálních zkoušek	88

3.7.1. Výsledky stanovení antibakteriální účinnosti epoxysterových nátěrů dle normy ISO 22196:2011	89
3.7.2. Výsledky stanovení antimikrobiální účinnosti epoxysterových filmů obtiskovou metodou	92
4. DISKUZE K MECHANICKÝM A ANTIKOROZNÍM VLASTNOSTEM NÁTĚROVÝCH HMOT	95
4.1. Zhodnocení fyzikálně-chemických vlastností práškových materiálů a pojiva.....	95
4.2. Zhodnocení fyzikálně-mechanických vlastností nátěrových filmů na skleněných panelech.....	97
4.3. Zhodnocení mechanické zkoušky na ocelových panelech.....	100
4.4. Zhodnocení nátěrů vůči působení vodnému elektrolytu a puchýřkovatění.....	100
4.5. Vyhodnocení mikrobiálních zkoušek.....	102
5. DISKUZE K MIKROBIÁLNÍM ZKOUŠKÁCH.....	103
5.1. Diskuse k antimikrobiálním vlastnostem nátěrových povlaků	103
5.1.1. Vliv ZnO na antimikrobiální účinnost	103
5.1.2. Vliv hořčíku na antimikrobiální účinnost.....	104
ZÁVĚR	106
POUŽITÁ LITERATURA	108
OBRÁZKOVÁ PŘÍLOHA	116

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Tvorba biofilmu.....	25
Obrázek 2. Mechanismy antimikrobiální rezistence biofilmů	26
Obrázek 3. Struktura grampozitivní a gramnegativní bakterie	27
Obrázek 4. Stavba buněčné stěny grampozitivních organismů	27
Obrázek 5. <i>E. faecalis</i> pod mikroskopem při zvětšení 10x, dle grama barvení.....	28
Obrázek 6. <i>E. faecalis</i> na krevním agaru	28
Obrázek 7. <i>S. aureus</i> pod optickým mikroskopem barveno dle grama, zvětšení 10x ..	30
Obrázek 8. <i>S. aureus</i> na krevním agaru	30
Obrázek 9. Stavba buněčné stěny gram negativních bakterií	32
Obrázek 10. Snímek <i>E. coli</i> pod elektronovým mikroskopem	33
Obrázek 11. <i>E. coli</i> na krevním agaru.....	33
Obrázek 12. <i>E. coli</i> s dlouhými fimbriemi.....	34
Obrázek 13. <i>P. aeruginosa</i> po grama barvení pod optickým mikroskopem.....	36
Obrázek 14. Kolonie <i>P. aeruginosa</i> na agaru produkující zelený pigment	37
Obrázek 15. Schéma přípravy nátěrové hmoty	41
Obrázek 16. Chemické struktury isothiazolu a nejčastěji používaných isothiazolinových biocidů	44
Obrázek 17. Aparatura pro stanovení olejového čísla	54
Obrázek 18. pH metr se skleněnou elektrodou	56
Obrázek 19. Konduktometr WTW Cond 1970i	56
Obrázek 20. Předdpispergační zařízení Dispermat	58
Obrázek 21. Příprava volných filmů v silikonové formě.....	60
Obrázek 22. Kyvadlo typu Persoz.....	61
Obrázek 23. Zařízení pro zhotovení vrypů	62
Obrázek 24. Leskoměr Micro-TRI-gloss	62
Obrázek 25. Magnetický tloušťkoměr	63
Obrázek 26. Řezný nástroj pro zhotovení mřížky.....	63
Obrázek 27. Hodnocení puchýřů dle normy ASTM D714	67
Obrázek 28. Korozní projevy dle normy ASTM D 610-85	68
Obrázek 29. Bakteriální kultura – <i>E. coli</i>	71
Obrázek 30. Bakteriální kultura – <i>E. faecalis</i>	71
Obrázek 31. Bakteriální kultura – <i>P. aeruginosa</i>	71

Obrázek 32. Bakteriální kultura – <i>S. aureus</i>	71
Obrázek 33. Nákres uspořádání připraveného vzorku	72
Obrázek 34. Stupně bakteriální kontaminace	74
Obrázek 35. Oxid zinečnatý	75
Obrázek 36. Sulfid zinečnatý	76
Obrázek 37. Oxid hořečnatý	76
Obrázek 38. Oxid titaničitý	77
Obrázek 39. Uhličitan vápenatý	77
Obrázek 40. Přehled hodnot stanovení pH vodné suspenze	96
Obrázek 41. Přehled hodnot měrné elektrické vodivosti vodné suspenze	96
Obrázek 42. Přehled relativní povrchové tvrdosti nátěrových hmot na bázi epoxyesterové pryskyřice	97
Obrázek 43. Vývoj stupně lesku v závislosti na čase	98
Obrázek 44. Délka vrypů v závislosti na čase	99
Obrázek 45. Mřížky nátěrových filmů	100
Obrázek 46. Tvorba puchýřků po 48 hodinách	101
Obrázek 47. Tvorba puchýřků po 120 hodinách	101

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Tabulka 1. Základní informace o pojivech o pojivech na bázi epoxyesterové pryskyřice.	51
Tabulka 2. Základní informace o pigmentech a plnivech.....	51
Tabulka 3. Základní informace o chemikáliích použitých při testování.....	52
Tabulka 4. Formulace modelových nátěrových hmot s obsahem modifikovaných epoxyesterových pryskyřic a anorganickými pigmenty při OKP = 10% funkčním pigmentem CaCO ₃ při OKP = 10% a vápencem při Q = 45%	57
Tabulka 5. Hodnocení lesku při úhlu 60°	62
Tabulka 6. Klasifikace poškození nátěru po řezu	64
Tabulka 7. Vyhodnocení MEK testu.....	65
Tabulka 8. Příprava pufrů o daném pH.....	65
Tabulka 9. Přehled použitých kultivačních médií.....	69
Tabulka 10. Přehled a složení použitých pracovních roztoků	70
Tabulka 11. Přehled použitých bakteriálních kmenů.....	71
Tabulka 12. Hodnocení bakteriální kontaminace pomocí obtiskové metody	74

SEZNAM ROVNIC

Rovnice 1. Výpočet olejového čísla.....	54
Rovnice 2. Výpočet KOKP	54
Rovnice 3. Stanovení obsahu sušiny	55
Rovnice 4. Stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěru	61
Rovnice 5. Výpočet životaschopných bakterií.....	73
Rovnice 6. Výpočet antimikrobiální aktivity	73

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AS	Agregační látka
ATP	Adenosintrifosfát
CaCO ₃	Uhličitan vápenatý
CF	Cystická fibrózy
CFU	Kolonie tvořící jednotky
DFT	Suchá tloušťka nátěru
DV	Destilovaná voda
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EAEC	Enteroagregativní <i>Escherichia coli</i>
ECM	Extracelulární matrix
EHEC	Enterohemoragická <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvazivní <i>Escherichia coli</i>
EPEC	Enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
EPS	Extracelulární polymerní látky
Esp	Enterokokový povrchový protein
ETEC	Enterotoxigenní <i>Escherichia coli</i>
GTK	Tryptonový agar s kvasničným extraktem
HAI	Infekce spojená se zdravotní péčí
HUS	Hemolyticko-uremický syndrom
KOKP	Kritická objemová koncentrace pigmentu
LPS	Lipopolysacharid
LTA	Kyselina lipoteichoová

MEK	Methyl(ethyl)keton
MgO	Oxid hořečnatý
MK	Mastné kyseliny
MPA	Masopeptonový agar
MPB	Masopeptonový bujón
Mr	Molekulová hmotnost [g·mol ⁻¹]
MRSA	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicilin senzitivní <i>Staphylococcus aureus</i>
NI	Nozokomiální infekce
NP	Nanočástice
OČ	Olejové číslo [g/100 g pigmentu]
OKP	Objemová koncentrace pigmentu [%]
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PVC	Polyvinylchlorid
R	Antimikrobiální aktivita
ROS	Reaktivní formy kyslíku
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCDLP	Bujón se sójovým kaseinem a lecitinem
Stx	Shiga-like toxin
TiO ₂	Oxid titaničitý
TSST1	Toxin toxického šoku
UPEC	Uropatogenní <i>Escherichia coli</i>
UV záření	Ultrafialové záření
WHO	Světová zdravotní organizace

ZnO	Oxid zinečnatý
ZnS	Sulfid zinečnatý
TOFA	Mastná kyselina z talového oleje
LOFA	Mastná kyselina z lněného oleje
EP	Epoxyesterová pryskyřice

ÚVOD

Mikroorganismy hrají v přírodě i v životě člověka důležitou roli, neboť jsou jedním z hlavních činitelů ovlivňujících tvorbu a zachování životního prostředí na naší planetě. Společenství různých druhů organismů jsou totiž schopná rozložit veškeré přirozené organické látky až na jejich úplnou mineralizaci, čímž vracejí chemické prvky, které jsou nezbytnou složkou buněčné hmoty zpátky do koloběhu prvků v přírodě. Nicméně v přírodě existuje i velká řada patogenních mikroorganismů, které mohou mít na život člověka, zvířat i rostlin velmi negativní účinky, a je tedy nezbytné se před nimi chránit. Velmi rychlé rozmnožování patogenních mikroorganismů a nedostatečná hygiena mohou vést až ke vzniku epidemií majících významný vliv na veřejné zdraví. Z tohoto důvodu je nezbytné riziko infekčních onemocnění minimalizovat.

Infekce spojené se zdravotní péčí (HAI) představují vážný problém v moderním zdravotnictví, zejména kvůli rostoucí rezistenci bakterií vůči antibiotikům. Tyto infekce postihují především pacienty s oslabenou imunitou, u nichž mohou vést k vážným komplikacím a prodloužené hospitalizaci či zvýšené úmrtnosti. Bakterie způsobující HAI se šíří především kapénkami mezi návštěvníky a zdravotnickým personálem nebo pomocí biofilmů. Biofilmy umožňují bakteriím přežít nepříznivé podmínky a následně kolonizovat různé povrchy, což významně zvyšuje riziko infekce u hospitalizovaných pacientů. Vzhledem k této schopnosti bakterií přežít na površích je důležité zaměřit se na účinné dezinfekční metody, které zabrání jejich šíření. Jedním z řešení jsou antimikrobiální nátěry, které se aplikují na povrchy s vysokým rizikem kontaminace, jako jsou nemocniční lůžka, operační sály či zdravotnické pomůcky. Kromě běžných dezinfekčních prostředků tak představují dlouhodobější ochranu proti mikrobiální kontaminaci a mohou významně přispět k prevenci nozokomiálních infekcí.

Tato diplomová práce se zaměřuje na testování účinnosti antimikrobiálních nátěrů na bázi epoxyesterové pryskyřice modifikované mastnými kyselinami s přídavkem pigmentů ZnO, ZnS a MgO, které zvyšují antimikrobiální efekt. Testování modelových nátěrů bylo provedeno na vybraných bakteriálních kmenech *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterococcus faecalis*, které patří mezi hlavní původce nozokomiálních infekcí. Kromě hodnocení antimikrobiální účinnosti byly zkoumány také mechanické, fyzikální a chemické vlastnosti těchto nátěrů, aby bylo možné posoudit jejich využití v praxi.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1. Kontaminace povrchů spojená se zdravotní péčí

Infekce spojené se zdravotní péčí (HAI), jsou vázány na nemocniční prostředí. Jsou vyvolány mikroorganismy a viry získanými během hospitalizace. HAI mohou být endogenní (zdrojem infekce je vlastní flóra pacienta) nebo exogenní (zdrojem nákazy je nemocniční prostředí – voda, vzduch či povrchy, pacienti nebo personál). HAI jsou vážným problémem veřejného zdraví. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) se HAI v nemocnicích v průměru nakazí 8,7% pacientů (Aitken a Jeffries 2001; Chaoui et al. 2019).

Kontaminace povrchů závisí na jejich vlastnostech a stavu. Zda jsou hladké, porézní, drsné, suché, mokré, nové nebo staré. Bylo prokázáno, že kontaminace zdravotnických povrchů, hraje významnou roli v přenosu patogenů. Problémem jsou také bakterie, které mohou tvořit biofilmy. Existence bakterií v biofilmu zvyšuje jejich šanci k přežití. Tyto bakterie jsou rizikem pro pacienty, protože mohou na suchém povrchu přežívat dlouhou dobu a to až 90 dnů a vyvolávat infekce (Costa et al. 2019; Chaoui et al. 2019).

1.1.1. Mikrobiální Biofilmy

Biofilmy představují komplexní, složitá společenství, ve kterých rezidentní bakterie koexistují v rámci extracelulární matrice (ECM). Mohou být tvořeny bakteriemi, kvasinkami, viry, řasami nebo houbami. Bakterie, které jsou součástí biofilmu jsou chráněny před řadou nepříznivých podmínek např. UV zářením, obrannými mechanismy hostitele nebo antimikrobiálními látkami. Z medicínského hlediska jsou biofilmy důležité, protože se podílejí na patogenezi bakteriálních infekcí, které často bývají rezistentní na antibiotika (ATB) (Hall a Mah 2017; Harrell et al. 2021; Magana et al. 2018).

Slovo biofil původně označovalo biomateriál na povrchu, ale v poslední době byly jako biofilmy rozpoznány i ne-povrchově připojené agregované bakterie. Chronické biofilmové infekce se dále dělí na infekce spojené s povrchem a infekce nespojené s povrchem. Infekce spojené s povrchem jsou především pozorovány u pacientů s implantáty, oproti tomu infekce nespojené s povrchem zahrnují infekce dýchacích cest nebo přetrvávající infekce měkkých tkání, které jsou spojeny s komorbiditami, jako je diabetes a narušená vaskularizace dolních končetin predisponující k nehojícím se ranám. V případech, kdy se bakteriím podaří vytvořit biofilmy v hostiteli, je infekce často neléčitelná a přechází do chronického stavu. Proto úspěšná léčba antibiotiky závisí na rychlém a přesném určení diagnózy (Sauer et al. 2022).

Kromě nemocí jsou mikrobiální biofilmy spojeny s tvorbou koroze v potrubí pro ropná pole, což má za následek ucpávání potrubí, dále zanáší lodní trup, což způsobuje odpor a zvyšuje náklady na palivo. Snižují přenos tepla do chladících věžích a zanášejí výrobní linky, což vede ke kontaminaci produktu. V těchto případech je snaha o vývoj biocidů, které by kontrolovaly růst na místě. I přesto by biofilm nebyl nikdy zcela eliminován, a proto jsou nutná rutinní čištění a údržba, aby se biologické znečištění udrželo pod kontrolou (Sauer et al. 2022).

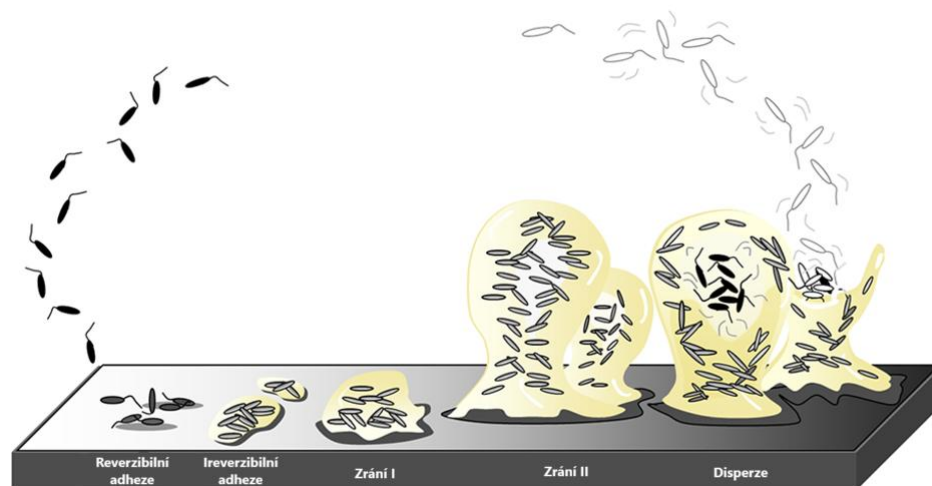
1.1.1.1. Struktura biofilmu

Biofilmy tvoří agregované buňky připevněné na povrchu a obklopené extracelulárními polymerními látkami (EPS), které si samy vytvářejí. Během vývoje se planktonické bakterie přeměňují na agregované formy v EPS matrix. Tvorba biofilmů je ovlivněna faktory, jako jsou změny pH, teploty, hladiny kyslíku nebo dostupnost živin. Bakterie adherují k biotickým nebo abiotickým povrchům a produkují složky EPS, jako jsou proteiny, exopolysacharidy nebo nukleové kyseliny (Harrell et al. 2021; Magana et al. 2018).

Struktura biofilmů je velmi různorodá a závisí na povrchu, na kterém vznikají, a na podmínkách prostředí. Mohou vznikat na biotických i abiotických površích a být exponované nebo ponořené. Významným faktorem je také typ toku, například statický, smykový nebo přímo v hostitelském organismu. Jedním z příkladů komplexních struktur jsou endobronchiální biofilmy *Pseudomonas aeruginosa* obalené sputem, který je obvykle v plicích pacientů s cystickou fibrózou (CF). Tyto biofilmy jsou tvořeny shluky agregovaných bakteriálních buněk, které jsou obklopené polymorfonukleárními leukocyty, enzymy elastázou a kolagenázou (Magana et al. 2018).

1.1.1.2. Tvorba biofilmu

Vznik biofilmů je cyklický proces, ke kterému dochází v určité fázi. Tento proces je zahájen povrchovým kontaktem planktonických buněk. Je známo 5 vývojových fází (viz obrázek č. 1). Cyklus je započat počáteční a sekundární adhezí. V tomto okamžiku bakteriální buňky přisednou k povrchu pomocí bakteriálních adhezínů. Dalším krokem je zrání biofilmu (zrání -I a -II). Stádia zrání biofilmu jsou charakterizována tvorbou buněčných shluků, které mají tloušťku několik buněk a jsou součástí matrice biofilmu. Která následně dozrává do mikrokolonií. V této fázi buňky začnou růst, zesilovat své přichycení k povrchu a produkovat extracelulární matici, která umožňuje zapouzdřit bakteriální buňky. Závěrečným krokem je disperze, při které buňky opustí biofilm (Mirzaei et al. 2020; Sauer et al. 2022).



Obrázek 1. Tvorba biofilmu opraveno z (Sauer et al. 2022)

1.1.1.3. Interakce biofilmů s povrchy

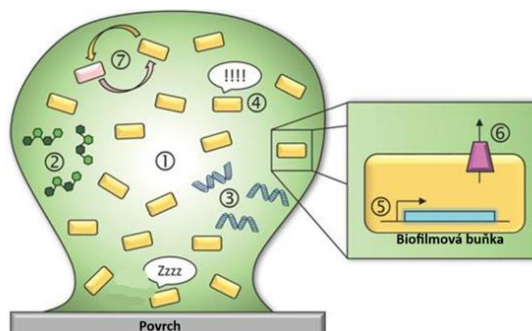
Bylo pozorováno, že biofilmy připojené k pevným povrchům a planktonické bakterie pěstované v kapalných kulturách mají odlišné vzorce genové exprese. Při tvorbě biofilmů mohou hrát významnou roli i povrchové náteř. Tvorba biofilmů je ovlivněna materiálem substrátu, na kterém jsou přichycené. Biofilmy, které si berou živiny přímo z povrchu, na kterém jsou přichycené (např. bakterie na agarových plotnách), jsou také závislé na materiálu substrátu. Mezi materiály podporující tvorbu biofilmu patří polyvinylchlorid (PVC), silikon, polystyren a kov. Například u mikrobiální keratitidy *P. aeruginosa* přednostně adhezuje k polymerním kontaktním čočkám, zatím co u močových katetrů jsou bakterie přilnavé k silikonovým a PVC materiálům (Magana et al. 2018).

1.1.1.4. Odolnost biofilmů vůči antibiotikům

Jak bylo již zmíněno, biofilmy jsou aherující skupiny mikrobiálních buněk, které jsou obaleny v extracelulární matici, což výrazně zmenšuje citlivost na antimikrobiální látky oproti neadherentním planktonickým buňkám. Podle National Institutes of Health až 80 % bakteriálních infekcí je způsobeno bakteriálními biofilmy. Biofilmy jsou rezistentní vůči hostitelskému imunitnímu systému a antibiotikům a proto se infekce s nimi spojené obtížně léčí (Mirzaei et al. 2020).

Rezistence a tolerance biofilmu vůči antibiotikům je multifaktoriální a liší se v závislosti na konkrétním antimikrobiálním agens, bakteriálním kmeni a druhu, věku a vývojovém stádiu biofilmu. Mezi hlavní antimikrobiální mechanismy biofilmů znázorněné na obr. 2. patří: gradient živin, exopolysacharidová matrice, extracelulární DNA, stresové reakce, diskrétní

genetické determinanty, efluxní pumpy pro více léčiv a mezibuněčné interakce (Hall a Mah 2017).



Obrázek 2. Mechanismy antimikrobiální rezistence biofilmů upraveno z: (Hall a Mah 2017)

Gradient živin (1), exopolysacharidová matrice (2), extracelulární DNA (3), stresové reakce (4), diskrétní genetické determinanty (5), efluxní pumpy pro více léčiv (6), a mezibuněčné interakce (7)

1.1.1.5. Bakteriální infekce spojené s biofilmem

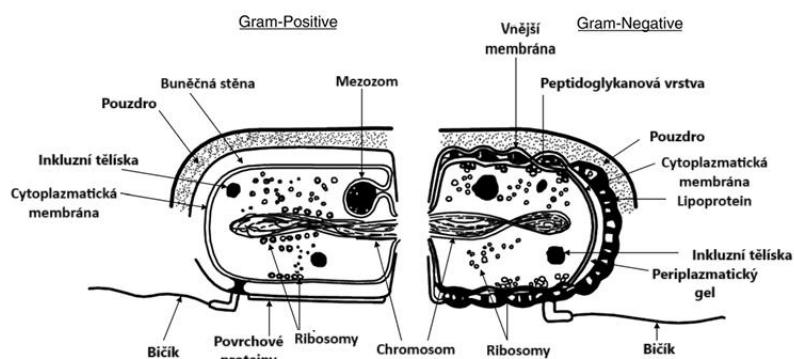
Hrozbu získání infekcí spojených se zdravotní péčí (HAI) představují bakteriální kmeny, které vytvářejí biofilmy na lékařském vybavení, chirurgických nástrojích, implantovaných materiálech, a systému na čištění vody. Nejčastějšími bakteriálními druhy, izolované z klinických implantátů jsou gram pozitivní bakterie – *Enterococcus faecali*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* a *Streptococcus viridans* a gram negativní bakterie: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* nebo *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteriální kolonizace na aplikovaných implantátech se může šířit a usadit i v jiných částech těla, kde vytváří biofilmy. To může vést k infekční endokarditidě, cystické fibróze či bakteriémii (Rajaramon et al. 2023).

1.2. Charakteristika použitých mikroorganismů

K testování antimikrobiální účinnosti byly použity tyto bakterie: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*. Byly vybrány tak, aby zahrnovaly zástupce z grampozitivních i gram negativních bakterií.

Všechny bakterie mají buněčnou stěnu složenou z peptidoglykanu (poly- N - acetylglukosamin a N -acetylmuramová kyselina), který obklopuje buněčnou membránu. Peptidoglykan se nachází mimo buněčnou stěnu. Buněčná stěna zpevňuje buňku, udržuje její tvar a vnitřní tlak. Buněčné stěny všech bakterií nejsou totožné. Naopak složení buněčné stěny je jedním z hlavních faktorů při analýze a diferenciaci bakteriálních druhů. Bakterie lze obecně rozdělit do dvou velkých tříd na Gram pozitivní a Gram negativní. Toto

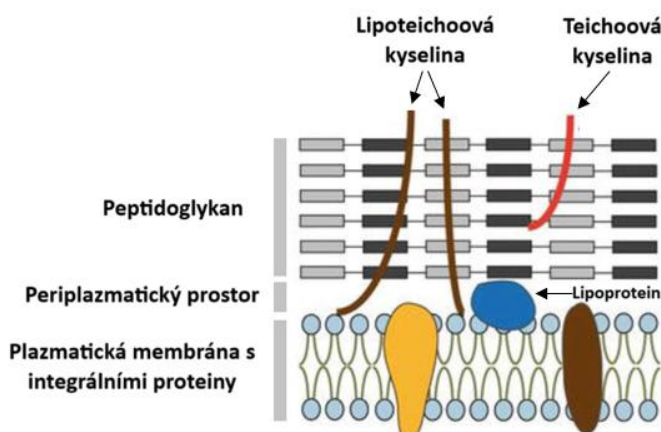
dělení vychází z testů barvení dle Grama, které závisí na složení buněčné stěny bakterií (Vijayaraghavan a Yun 2008).



Obrázek 3. Struktura grampozitivní a gramnegativní bakterie, upraveno z: (Vijayaraghavan a Yun 2008)

1.2.1. Gram pozitivní bakterie

Skupina gram pozitivních bakterií postrádá vnější membránu (viz obrázek 4). Místo toho vrstva peptidoglykanu je mnohonásobně silnější, než je tomu u gramnegativních bakterií (viz obrázek 4). Kyselina teichoová se kovalentně váže buď k peptidoglykanu nebo k cytoplasmatické membráně. Hraje důležitou roli ve fyziologii buněčného obalu ale také v patogenezi. Protože těmto bakteriím chybí vnější membrána, při barvení dle Grama se krystalová violet zachytí ve vrstvě peptidoglykanu a bakterie jsou pod mikroskopem růžové (Silhavy et al. 2010).



Obrázek 4. Stavba buněčné stěny grampozitivních organismů upraveno z: (Zhang et al. 2017)

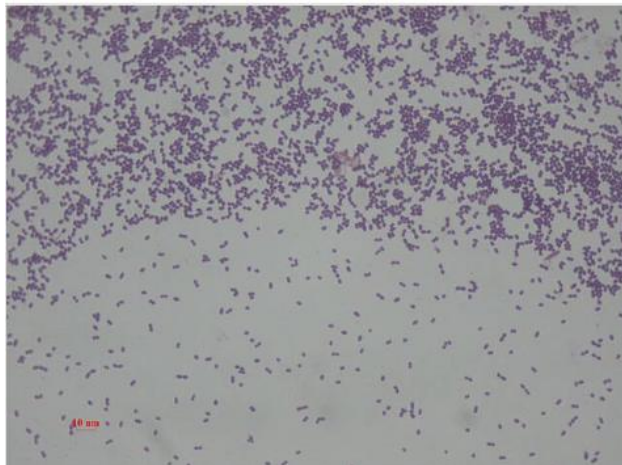
1.2.1.1. *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) z rodu *Enterococcus*, patří mezi komenzální bakterie, které jako jedny z mnoha kolonizují gastrointestinální trakt. Bylo potvrzeno, že jde o

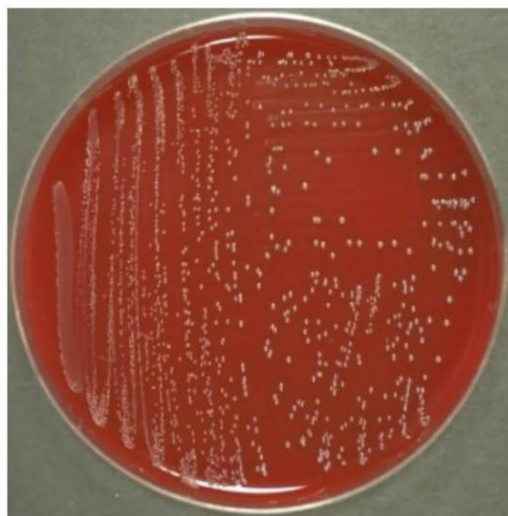
významného nozokomiálního patogena s vysokou antibiotickou rezistencí. Tato bakterie se vyskytuje v půdě, vodě nebo potravinářských produktech. Jedná se tedy o oportunního patogena (Elashiry et al. 2023).

Charakteristika

E. faecalis je grampozitivní, fakultativně anaerobní kok, pozitivní na katalázu. Snadno se kultivuje na krevním agaru, kde roste v drobných šedo bílých koloniích o velikosti 1-3 mm se zónou viridace (viz obr. 6). *E. faecalis* roste v rozmezí 10-45 °C, avšak jeho optimální teplota je mezi 35 až 37 °C, což odpovídá tělesné teplotě. Má velkou schopnost adaptace za nepříznivých podmínek. Roste při pH 4,8-11 a na půdách obsahujících až 6,5 % NaCl (Votava et al. 2003).



Obrázek 5. *E. faecalis* pod mikroskopem při zvětšení 10x, dle grama barvení, převzato z: (Dahal 2023)



Obrázek 6. *E. faecalis* na krevním agaru, převzato z: (Dahal 2023)

Faktory virulence

Cytolizin dříve známý jako hemolyzin je jedním z významných faktorů virulence. Jde o toxin, který vyvolává rozpad (lýzu) erytrocytů a dalších buněk hostitele. Mezi další látky produkované *E. faecalis* patří gelatináza, hyaluronidáza, agregační látka (AS), kyselina lipoteichoová (LTA) a enterokokový povrchový protein (Esp). Želatináza je enzym, který hydrolyzuje kolagen, želatinu a hemoglobin. Hyaluronidáza je také enzym, který působí na kyselinu hyaluronovou. Oba tyto enzymy napomáhají bakterii šíření v organismu a destruovat tkáň hostitele. AS slouží k usnadnění adheze ke střevnímu epitelu. Esp přispívá k patogenezi onemocnění indukované *E. faecalis*. LTA interaguje s imunitními buňkami hostitele a vyvolává zánětlivé reakce (Elashiry et al. 2023).

E. faecalis dokáže interagovat s prostředím pomocí fimbrií a ty se mohou podílet na tvorbě biofilmu, který zvyšuje odolnost vůči antibiotikům (Elashiry et al. 2023).

Patogenita

E. faecalis způsobuje 90 % enterokové infekční endokarditidy a je druhým nejčastějším patogenem způsobující infekci močových cest. Kromě toho, může také vyvolávat infekce ran, nebo bakteriémie. V současné době roste počet případů spojených se zdravotní péčí. Postižení jsou především starší pacienti s mnoha komorbiditami (Herrera-Hidalgo et al. 2023; Lammers 2009).

Léčba

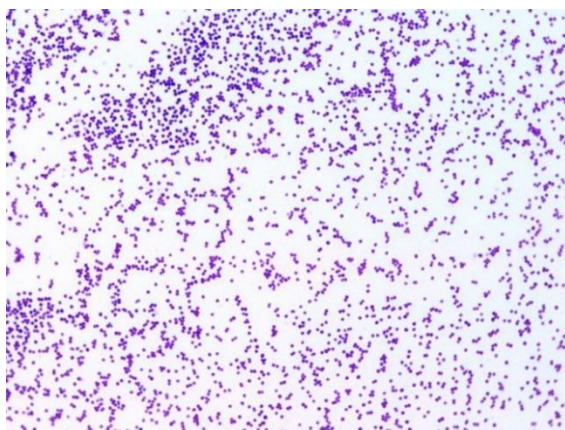
Léčba infekcí způsobených *E. faecalis* je komplikovaná, protože tento patogen je rezistentní vůči antibiotikům, a to převážně na penicilín, beta-laktamová a aminoglykosidová antibiotika. Doporučuje se podávat kombinace dvou antimikrobiálních látek pro dosažení synergie v prodloužené délce 4-6 týdnů (Herrera-Hidalgo et al. 2023).

1.2.1.2. *Staphylococcus aureus*

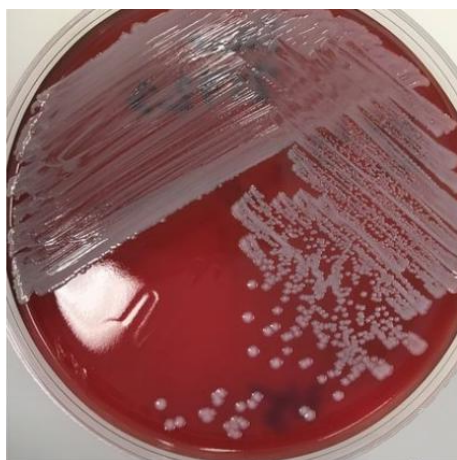
Staphylococcus aureus (*S. aureus*) přezdíváný také jako „zlatý stafylokok“ je lidský komenzál, který se nachází na kůži nebo sliznici a u zdravých jedinců nevyvolává žádné potíže. Na druhou stranu jde o jednu z nejrozšířenější bakterií, která způsobuje velké množství onemocnění od středně závažných až po smrtelné jako je zápal plic nebo sepse. Léčba je komplikovaná, protože *S. aureus* disponuje řadou faktorů virulence, včetně vylučování toxinů (Lister a Horswill 2014; Cheung et al. 2021).

Charakteristika

S. aureus je gram pozitivní patogen patřící do čeledi *Staphylococcaceae*. Má tvar koku (viz obr. 7) a tvoří shluky připomínající trsy hroznového vína. Na kultivačních médiích kolonie mají žlutou barvu (viz obr. 8) a mohou růst až v 10 % soli. *S. aureus* může růst aerobně i anaerobně při teplotách 18°C – 40°C. Typické biochemické identifikační testy vykazují pozitivní katalázu, koagulázu i manitolovou fermentaci (Gherardi 2023).



Obrázek 7. *S. aureus* pod optickým mikroskopem barveno dle grama, zvětšení 10x, převzato z: (Jumaah et al. 2014)



Obrázek 8. *S. aureus* na krevním agaru, upraveno z: (Lainhart et al. 2018)

Faktory virulence

S. aureus může exprimovat velké množství faktorů virulence, mezi které patří povrchové proteiny, enzymy, toxiny nebo tvorba biofilmu. Biofilm je jedním z mnoha mechanismů, který zodpovídá za lékovou rezistenci (Pérez et al. 2020).

Mezi enzymy produkované *S. aureus* patří koaguláza, hyaluronidáza, deoxyribonukleáza a lipáza. Díky těmto enzymům se může šířit v hostitelských buňkách a destruovat je (Ahmad-Mansour et al. 2021).

Na povrchu *S. aureus* je více než 20 proteinů. Jsou kovalentně připojeny k peptidoglykanu. Tyto proteiny ukotvené k buněčné stěně lze rozdělit do mnoha strukturních a funkčních skupin. Největší skupinou je rodina MSCRAMM, která má opakující se struktury podobné imunoglobulinům IgG a váže peptidové ligandy pomocí mechanismu „dock-lock“ nebo tzv. kolagenového sevření (Foster et al. 2014).

S. aureus produkuje velké množství extracelulárních toxinů, které zvyšují patogenitu. Jsou to enterotoxiny, alfa a beta hemolyziny, toxin syndromu toxického šoku 1 (TSST-1), exfoliativní toxiny (ET) a Panton-Valentinův leukocidin (PVL). Všechny tyto toxiny nejen podporují infekci, ale některé jsou i termostabilní což znamená, že zůstávají aktivní i po tepelném zpracování (Ahmad-Mansour et al. 2021).

Patogenita

Jde o běžný patogen, který způsobuje infekce kůže a měkkých tkání. Vyvolává širokou škálu onemocnění, která se liší závažností. Nejčastější jsou kožní infekce a mezi nejzávažnější infekce vyvolané *S. aureus* patří sepse, bakteriémie, zápal plic, infekce postihující respirační trakt, kostní dřeň a kardiovaskulární systém. Odhaduje se, že více jak 60 % bakteriálních infekcí pochází z biofilmů. Biofilm se může nacházet na povrchu implantátů a tím při operacích vyvolat infekci u zcela zdravého jedince (Guo et al. 2022; Sabat et al. 2021).

Epidemiologie

S. aureus se přirozeně nachází na kůži a sliznicích. Infekce vyvolané touto bakterií jsou problematické především kvůli často se vyskytující rezistenci na antibiotika. Klinicky nejvýznamnějším izolátem *S. aureus* rezistentním na antibiotika je *S. aureus* rezistentní na meticilin (MRSA) (Cheung et al. 2021).

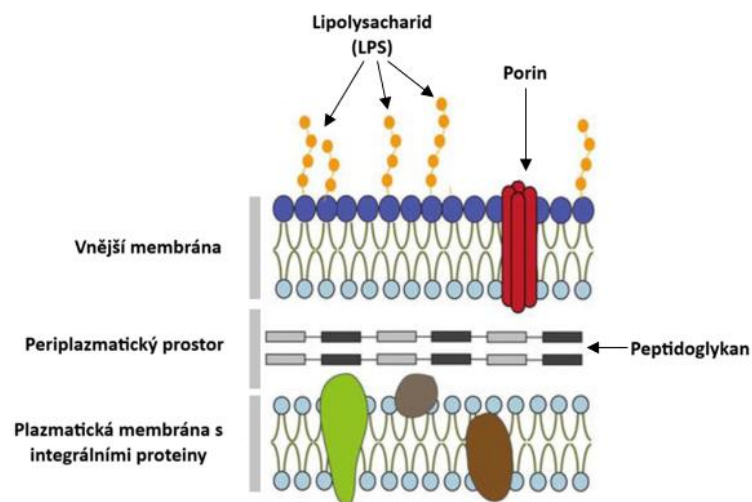
Léčba

Léčba infekcí způsobených *S. aureus* závisí na typu infekce. U methicilin-senzitivních kmenů (MSSA) jsou první volbou beta-laktamová antibiotika. U MRSA je zlatým standardem vankomycin v kombinaci s betalaktamy. Délka podávání antibiotik je závislá na závažnosti infekce. U nekomplikované kožní infekce je to 5–10 dní, zatímco u komplikovaných případů

jako je bakteriémie, osteomyelitida či endokarditida léčba vyžaduje minimálně 4–6 týdnů. V některých případech může být nutný i chirurgický zásah (Tong et al. 2015).

1.2.2. Gram negativní bakterie

Do této skupiny patří bakterie se dvěma membránami – vnitřní a vnější (viz obr. 9). Mezi membránami, které regulují vstup látek do buňky a z buňky je buněčná stěna. Ta je tvořena peptidoglykanem a podílí se na udržení tvaru a mechanické integrity buňky. Charakteristické pro tuto skupinu je, že během Gramova barvení nezadrží krystalovou violet, což je způsobeno tenkou vrstvou peptidoglykanu a přítomností vnější membrány. Následně se bakterie dobarví Ligulovým roztokem a pod mikroskopem jsou zbarveny modře (Blount 2015).



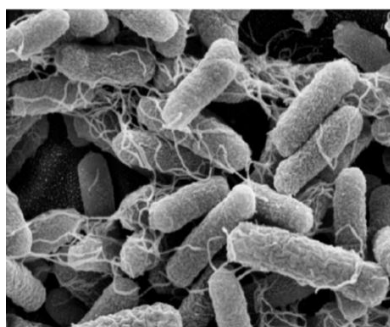
Obrázek 9. Stavba buněčné stěny gram negativních bakterií, upraveno z: (Zhang et al. 2017)

1.2.2.1. *Escherichia coli*

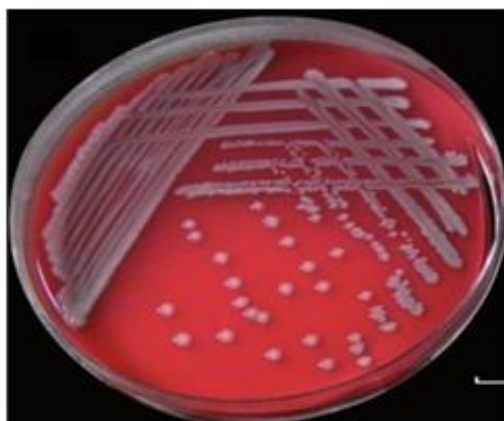
Escherichia coli (*E. coli*) je velmi rozmanitá bakterie a často slouží jako modelový organismus. Díky tomu, že byla intenzivně studována, patří mezi nejlépe pochopené organismy na světě. *E. coli* je komenzál, který kolonizuje lidské střevo, ale může způsobit i širokou škálu střevních infekcí (Blount 2015).

Charakteristika

E. coli je gram negativní fakultativně anaerobní bakterie tvaru tyčinky (viz obr. 10) netvořící spory. Měří jen 1 μm na délku a 0,35 μm na šířku. Odolává extrémním teplotám a pH. Některé kmeny mají bičík nebo pily, což umožňuje bakterii pohyb. Ze základních biochemických testů fermentuje laktózu (roste na agaru MacConkey), je kataláza pozitivní a oxidáza negativní (Blount 2015).



Obrázek 10. Snímek *E. coli* pod elektronovým mikroskopem, převzato z: (Blount 2015)



Obrázek 11. *E. coli* na krevním agaru, upraveno z: (Basavaraju et al. 2022)

Faktory virulence

Na povrchu *E. coli* se nachází řada antigenů. Konkrétně somatické O-antigeny, bičíkové H-antigeny a kapsulární K-antigeny. Na základě přítomnosti a kombinaci těchto antigenů se *E. coli* dělí do séro skupin a sérotypů (Kaper et al. 2004).

O-antigen je lipopolysacharid na povrchu plazmatické membrány bakterií. Je složený z mnoha opakujících se oligosacharidových jednotek. V současnosti je známo více jak 181 typů O-antigenů u *E. coli* (Liu et al. 2019). K-antigeny neboli kapsulární polysacharidy jsou hlavními povrchovými antigeny *E. coli*. Jak z názvu vyplývá, jsou většinou tvořeny polysacharidy bakteriálního pouzdra. Je popsáno přes 80 K-antigenů a ty jsou klasifikovány do 4 skupin (Yang et al. 2018). Bičík bakterií je tvořený proteinovou podjednotkou flagelinem, která nese specifitu H-antigenu. Do posud je známo přes 54 H-antigenů (Wang et al. 2003).

Existuje několik klonů *E. coli*, které se liší svými virulenčními vlastnostmi. Tyto rozdíly jim umožňují adaptovat se na různá prostředí v organismu a způsobovat tak široké spektrum onemocnění (Kaper et al. 2004; Pakbin et al. 2021).

Enteropatogenní E. coli (EPEC)

Typické pro tuto skupinu je přítomnost adherentních faktorů tzv. fimbrií (viz obr. 12). Což umožňuje bakterii kolonizovat místa jako je tenké střevo a močová trubice (Kaper et al. 2004). Také EPEC produkuje toxin, který může vést k nekróze epitelálních buněk. Způsobuje převážně průjemová onemocnění u kojenců a projevují se v oblastech se špatnou hygienou (Pakbin et al. 2021).



Obrázek 12. *E. coli* s dlouhými fimbriemi, převzato z: (Kaper et al. 2004)

Enterohemoragická E. coli (EHEC)

Tato skupina je vybavená toxinem shiga-like toxin (stx) známý také jako verotoxin. Stx štěpí ribosomální RNA, což zabraňuje syntéze proteinů. Jedná se o termo stabilní toxin. Dále obsahuje adhesinové proteiny podílející se na kolonizaci a tvorbě biofilmu. Typickým projevem je průjem s hemoragickou kolitidou, krvavým průjmem a hemolyticko-uremickým syndromem (HUS). Hlavním rezervoárem je střevní trakt skotu (Pakbin et al. 2021).

Enterotoxigenní E. coli (ETEC)

ETEC uvolňuje dva typy enterotoxinů v tenkém střevě u lidí. Jde o sekreční toxiny, které jsou kódované na plasmidech a mohou být tepelně stabilní nebo tepelně labilní. Oba typy toxinů způsobují ztrátu chloridů a následnou sekreci vody do střevního lumen, což je hlavní příčinou průjmu vzniklých při cestování a u dětí v rozvojových zemích (Pakbin et al. 2021).

Enteroagregativní E. coli (EAEC)

Je jednou z hlavních příčin střevních infekcí u pacientů s HIV/AIDS. Příznaky EAEC jsou zvracení, nauzea, anorexie a tenesmus. Často způsobuje vodnatý průjem, občas doprovázený příměsí krve nebo hlenu. Ke střevním buňkám se přichycují pomocí agregativních

adherentních fimbrií. Kolonizují sliznici tlustého střeva a dochází k sekreci enterotoxinů a cytotoxinů (Kaper et al. 2004; Pakbin et al. 2021).

Enteroinvazivní E. coli (EIEC)

EIEC jsou geneticky i patogenně blízce podobné *Shigella spp.* Liší se od ostatních klonů *E. coli* tím, že nemá adherentní ani bičíkové faktory. Vyvolává vodnatý průjem a způsobuje invazivní zánětlivou kolitidu (Kaper et al. 2004).

Adherentní invazivní E. coli (AIEC)

Tento patotyp primárně postihuje tenké střevo a je nejdůležitějším původcem idiopatických zánětlivých poruch. Může být i součástí normální mikroflóry lidského střeva (Pakbin et al. 2021).

Uropatogenní E. (UPEC)

Tato skupina způsobuje nekomplikovanou cystitidu a akutní pyelonefritidu. Produkuje několik toxinů včetně hemolyzinu a cytotoxického nekrotizujícího faktoru (Kaper et al. 2004).

Patogenita

E. coli je bakterie běžně se vyskytující ve střevech lidí a teplokrevných zvířat. Většina kmenů je tedy neškodná. Kmeny, které produkují Shiga toxin (STEC) mohou způsobit závažné onemocnění projevující se průjmy, které mohou být krvácivé nebo s příměsí hlenu. Dále se objevuje horečka i zvracení. Může se rozvinout život ohrožující onemocnění, jako je HUS. Podle světové organizace WHO se odhaduje, že až u 10 % pacientů s infekcí STEC se může rozvinout HUS, přičemž úmrtnost se pohybuje od 3 do 5 % (WHO 2018).

Epidemiologie

EPEC, EIEC, EPEC jsou převážně příčinami průjmu u dětí v rozvojových zemích. V rozvinutých zemích jsou nejrozšířenější střevní patogeny *E. coli* EHEC a nejběžnější je sérotyp O157:H7. Ten je získán v komunitě prostřednictvím kontaminované vody nebo potravin. Rizikovými potravinami je nepasterizované mléko a nedostatečně upravené hovězí maso. Sérotypu O104:H4 nese rysy EHEC i EAEC. Tento sérotyp byl zodpovědný za masivní propuknutí krvavého průjmu, HUS a úmrtí v roce 2011 v Německu (Riley 2014).

Léčba

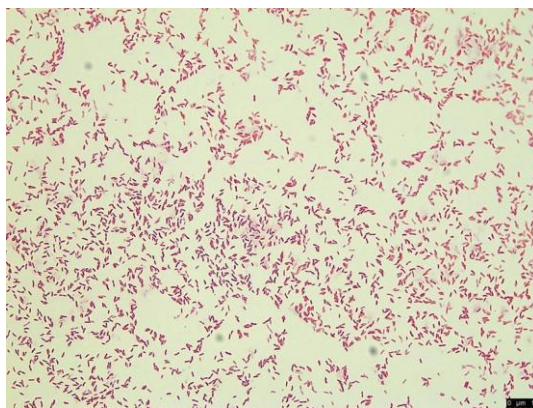
Léčba je odvozená od závažnosti onemocnění. Z počátku se volí symptomatická léčba. Doporučuje se rehydratace a léky proti průjmům. Pokud je infekce velmi závažná a pacient netoleruje perorální příjem je zahájena intravenózní hydratace. Antibiotická léčba se doporučuje, pokud průjem přetrvává déle než sedm dní nebo se jedná o krvavý průjem. Naopak se antibiotika nedoporučují podávat pacientům s podezřením na EHEC, především u dětí, kde hrozí riziko vzniku HUS (Mueller a Tainter 2023).

1.2.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) je jedním z hlavních oportunních patogenů s multirezistencí, který způsobuje závažná onemocnění. Ve formě biofilmu dokáže přežít v extrémních podmínkách (Qin et al. 2022).

Charakteristika

P. aeruginosa je oxidáza pozitivní, glukóza nefermentující gramnegativní patogen, který se vyskytuje v půdě a vodním prostředí. Jde o aerobní nefermentující bakterii tvaru tyčinky (viz obr. 13). Má bičíky, díky kterým se může nejen pohybovat (Grimwood et al. 2014). Na krevním agaru kolonie mají perleťový lesk, nepravidelný okraj a mohou se jevit jako mukoidní. *P. aeruginosa* produkuje pigment pyocyanin (viz obr. 14.), což způsobuje na krevním agaru tmavě zelené zbarvení kolonií. Kultivace probíhá při teplotě 42 °C po dobu 24 – 48 hodin (Schwartz et al. 2024).



Obrázek 13. *P. aeruginosa* po grama barvení pod optickým mikroskopem, převzato z: (Seaton et al. 2021)



Obrázek 14. Kolonie *P. aeruginosa* na agaru produkující zelený pigment, převzato z: (Mubbunu et al. 2023)

Faktory virulence

P. aeruginosa je schopná přizpůsobit se nepříznivému prostředí v hostiteli vylučováním různých faktorů virulence jako jsou: Lipopolysacharid (LPS), membránové proteiny (OMP) nebo alginát, který usnadňuje tvorbu biofilmů. Krom těchto faktorů virulence *P. aeruginosa* disponuje bičíkem a pili. Ty slouží nejen k pohybu ale i k adhezi a kolonizaci povrchů. LPS napomáhá bakterií přežít v hostitelském organismu a souvisí s tvorbou biofilmu a tolerancí na ATB. OMP napomáhá k výměně živin, adhezi a rezistenci vůči ATB (Qin et al. 2022).

P. aeruginosa produkuje také řadu extracelulárních toxinů včetně pigmentu pyocyaninu, kyseliny kyanovodíkové, fosfolipázy, exotoxinu A a alginátu. Tyto toxiny napomáhají bakterii napadat hostitelské buňky a způsobují řadu patologických projevů např. leukopenii, acidózu, nekrózu jater, oběhové selhání, renální tubulární nekrózu a řadu dalších závažných poškození (Qin et al. 2022).

Patogenita

P. aeruginosa se podílí na vzniku různých infekcí, které se objevují jak v komunitě, tak i v nemocničním prostředí. Způsobuje zápal plic, cystickou fibrózu, infekci močových cest, nebo infekce popálenin. U pacientů s poškozenou epiteální bariérou nebo narušenou imunitní funkcí způsobuje život ohrožující infekce, vedoucí k bakteriémii. Jelikož má schopnost tvořit biofilm, spousta antimikrobiálních látek je neúčinná a komplikuje tak léčbu (Grimwood et al. 2014; Yin et al. 2022).

Epidemiologie

Předpokládá se, že prevalence *P. aeruginosa* mezi všemi infekcemi spojenými se zdravotní péčí je 7,1–7,3 %. Podle databáze International Networ for Optimal Resistance

Monitoring se aktuální prevalence multirezistentní *P. aeruginosa* pohybuje v rozmezí 11,5 až 24,7 % z celkového počtu izolovaných kmenů tohoto druhu (Schwartz et al. 2024).

Nejvíce jsou ohroženi pacienti s imunodeficity, oslabenou imunitou a hospitalizovaní pacienti s jinou diagnózou, která nesouvisí s *P. aeruginosa*. Komunitní infekce způsobené *P. aeruginosa* jsou vzácné. Dle studie tento patogen způsobuje 16,2 % infekcí na jednotce intenzivní péče a je druhou nejčastější příčinou ventilátorové pneumonie (Schwartz et al. 2024).

Léčba

P. aeruginosa má velkou schopnost vytvořit si přirozenou rezistenci vůči lékům pomocí různých mechanismů. Dle studie nové antimikrobiální peptidy mají naději stát se novou generací antimikrobiálních látek. Jde o krátké proteinové řetězce narušující bakteriální membrány. Doporučuje se využívat kombinovanou terapii např. beta-laktam v kombinaci s aminoglykosidem, což zvyšuje účinnost léčby a snižuje riziko vzniku rezistence (Qin et al. 2022).

Další slibnou technikou jsou nanočástice, které byly testovány v řadě terapeutických aplikací jako nosiče léků, genů a vakcín. Kromě přímého zabíjení bakterií mají nanočástice schopnost propíchnout membránu bakterie a tím ji usmrtit. Nano částice mohou být také zacílené na biofilmy (Qin et al. 2022).

Alternativou k antibiotické léčbě, je fágová terapie hlavně při léčbě multirezistentních kmenů *P. aeruginosa*. Bakteriofágy jsou viry, které specificky infikují a ničí bakterie. Nevýhodou je, že imunitní systém pacienta může fágovou terapii neutralizovat a také je potřeba vybrat specifické fágy, které jsou účinné proti danému kmenu *P. aeruginosa*. Naopak výhodami je specifičnost, nízké riziko vzniku rezistence, účinnost proti biofilmům a možnost kombinace s antibiotiky (Qin et al. 2022).

1.3. Nátěrové hmoty

Nátěrové hmoty jsou souhrnným označením pro veškeré materiály obsahující filmotvorné složky, které se nanášejí v tekutém, těstovitém nebo práškovém stavu na předmět, s cílem vytvořit ochranný nebo dekorativní povlak s požadovanými vlastnostmi (Kalendová a Kalenda 2004). Nátěrové hmoty se skládají z několika tisíců složek, ale hlavní složky nátěrových hmot se dají rozdělit do 6 základních skupin: filmotvorné složky, pigmenty, plniva a barviva, těkavé složky a aditiva. Nátěry jsou tenké vrstvy materiálu nanesené na povrch pro zlepšení jeho vlastností a ochranu před vnějšími vlivy. Akrylové a epoxidové polymery jsou běžně používané nátěrové materiály, které chrání povrchy a prodlužují jejich životnost. Epoxidové povlaky brání korozi kovů, ale mohou obsahovat póry, kterými pronikají korozivní látky. Akrylové povlaky zase mají nízkou chemickou odolnost a většina polymerních nátěrů degraduje pod UV zářením. Přidávání přísad do nátěru pomáhá tyto nedostatky eliminovat (Ong et al. 2021).

1.3.1. Rozdělení nátěrových hmot

Nátěrové hmoty lze klasifikovat podle několika kritérií. Z hlediska vlastností se dělí na transparentní, které vytvářejí průhledný až polopráhledný film, a pigmentované, které zajišťují neprůhledný povrch. Podle způsobu použití se rozlišují vnitřní, venkovní a speciální nátěry, přičemž závisí i na typu materiálu, na který jsou určeny (kov, dřevo atd.). V rámci nátěrového systému lze hmoty rozdělit na napouštěcí, základní, vyrovnávací, podkladové, vrchní či maskovací. Další dělení je možné podle způsobu zasychání nebo druhu pojiva. Mezi ně patří například asfaltové, celulózové, olejové, epoxydové, polyurethanové, silikonové či polyesterové nátěry. Nátěrové hmoty lze také rozlišit podle typu rozpouštědla, a to na lihové, vodou ředitelné, bezrozpouštědlové a další (Kalendová a Kalenda 2004).

1.3.2. Estery epoxidových pryskyřic

Estery epoxidových pryskyřic (epoxyestery) vznikají reakcí epoxidových pryskyřic s mastnými kyselinami nebo alkoholy. Konkrétně se jedná o esterifikaci části hydroxylových skupin a adici MK na epoxidové skupiny při teplotě 200-220 °C. Jde tedy o modifikaci epoxidové pryskyřice, která obsahuje esterové skupiny (-COO-) (Kalendová a Kalenda 2024).

Jedním z postupů je příprava kyselých esterů. Vlastnosti kyselých esterů jsou ovlivňovány typem epoxidové pryskyřice, typem a množstvím použitých kyselin, reakčními podmínkami, množstvím a typem rozpouštědla, činidlem a podobně. Technické uplatnění našly především dva typy rozpustných epoxyesterů. Jedním je kyselý polyester s malým až

středním obsahem MK, modifikovaný anhydridy polykarboxylových kyselin na poloester a druhým typem jsou dlouhé estery z aduktů α , β -ethylenických nenasyčených dikarboxylových kyselin s nenasyčenými MK (Lidařík a kol. 1983).

Typ mastných kyselin ovlivňuje viskozitu esteru ale i rozpustnost produktu ve vodě a vlastnosti výsledného filmu. Nejpoužívanějšími MK s dobrými výsledky jsou z dehydratovaného ricinového a lněného oleje kdežto u produktů obsahující MK ze sojového oleje mají horší rozpustnost ve vodě i horší vlastnosti vytvrzení filmů (Lidařík a kol. 1983).

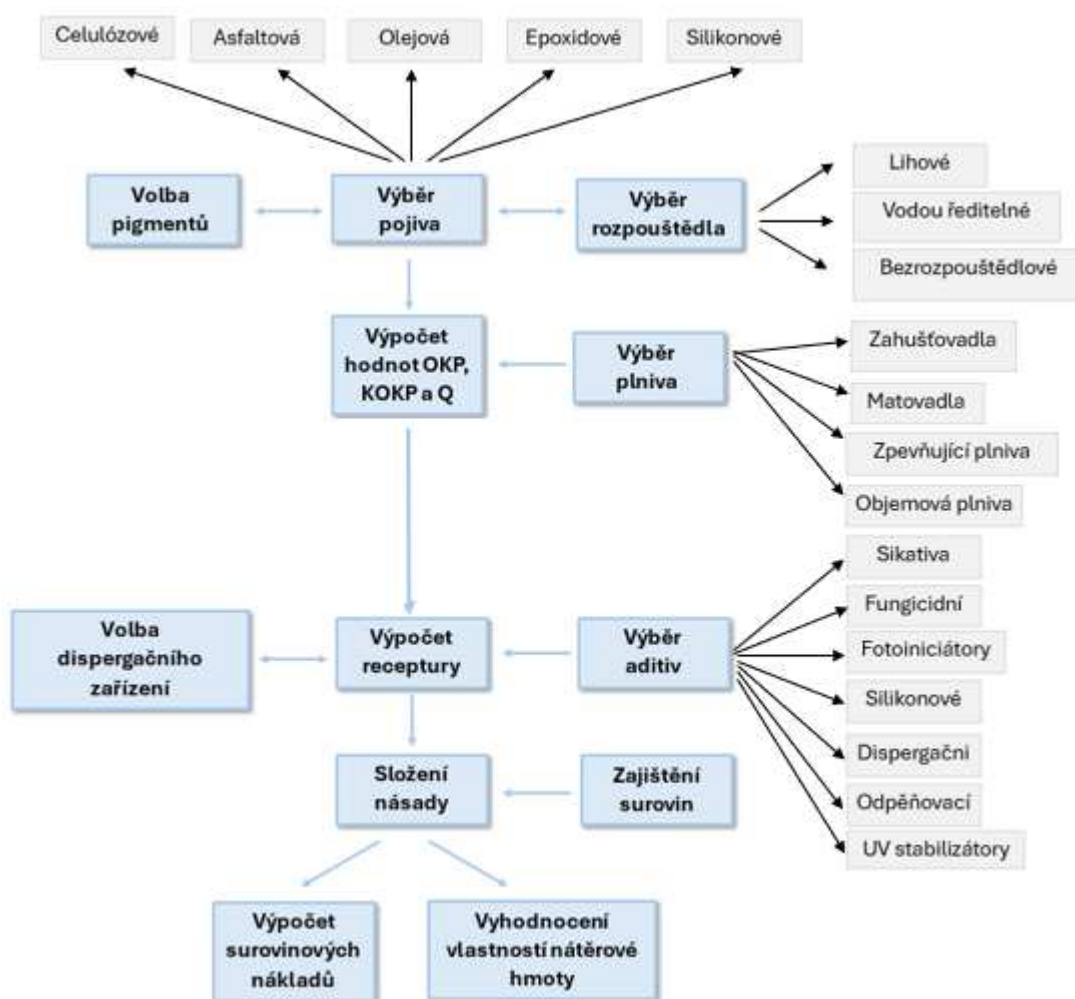
1.4. Formulace nátěrových hmot

Při vývoji nových nátěrových hmot je nezbytné zohlednit několik klíčových faktorů. Na začátku výzkumných prací je nutné znát, pro jaké použití je nátěrová hmota určena a jakou technikou bude barva nanášena na podklad. Dále je potřeba znát požadavky na výsledný povlak, způsob zasychání a typu nátěru (např. podkladová vrstva, základní nátěrová hmota a jiné). Po zadání požadavku na nátěrovou hmotu následuje výběr vhodného pojiva (vodou ředitelné nebo rozpouštědlové) a rozhodnutí kolik složek bude výsledná nátěrová hmota obsahovat (jednosložkový systém – dekorativní účely, dvousložkový systém – průmysl) (Kalendová a Kalenda 2004; Pšeničková a Milčík 2024).

Schéma postupu přípravy a ovlivňujících faktorů je naznačeno viz obrázek 15. Následuje výběr vhodné kombinace složek: pojiva, pigmentu a rozpouštědla. Pigment se volí s ohledem na požadovaný barevný odstín, krycí schopnost a index lomu. Dalším krokem je výpočet objemové koncentrace pigmentu (OKP), kritické objemové koncentrace pigmentu (KOKP) a kvocientu nátěrové hmoty (Q).

$$Q = \frac{OKP}{KOKP} \cdot 100 \quad [\%]$$

Objemová koncentrace pigmentu ovlivňuje vlastnosti nátěrové hmoty. Většina nátěrových systémů zajišťuje úplné smočení pigmentů a plniv pojivem, což zaručuje soudržnost vrstvy a její mechanickou, chemickou i korozní odolnost. Čím menší jsou částice pigmentu, tím větší mají měrný povrch a tím více pojiva je potřeba. K určení této potřeby slouží tzv. spotřeba oleje – množství lněného oleje nutné ke smočení 100 g pigmentu. Tato hodnota pomáhá udržet obsah pigmentu pod kritickou objemovou koncentrací, jejímž překročením dochází ke zhoršení vlastností nátěru (Kalendová a Kalenda 2004; Pšeničková a Milčík 2024).



Obrázek 15. Schéma přípravy nátěrové hmoty upraveno z: (Kalendová a Kalenda 2004)

Při výběru plniv a pigmentu taktéž hraje velkou roli funkce, kterou bude nátěr plnit. Od základních nátěrů se očekává především funkce ochranná, u vrchních nátěrů i především funkce mechanická, chemická odolnost a také estetická. Pigmenty a plniva jsou materiály syntetického a přírodního původu dodávané ve formě prášku nebo past v tekutém médiu. Rozdíl mezi pigmentem a plnivem je v indexu lomu světla, který určuje kryvost materiálu (tloušťku nátěru). Estetickou stránku v nátěrové hmotě právě zajišťují pigmenty, ale kromě toho také plní další funkce jako je např. antikoroziční účinek. Plniva tvoří v některých případech „výplň“, která snižuje výslednou cenu barvy. Vhodný výběr plniva v mnoha případech také výrazně zlepšuje mechanické i optické vlastnosti nátěru (Pšeničková a Milčík 2024).

Aditivum je látka přidávaná do nátěrových hmot za účelem úpravy jejich fyzikálních, chemických nebo aplikačních vlastností. Existuje široké spektrum přísad, které ovlivňují například antikoroziční, antimikrobiální, antivegetativní, samoopravné nebo UV stínící vlastnosti nátěru (Ong et al., 2021). K běžně používaným aditivům patří dispergační činidla,

kteřá usnadňují rozptýlení pigmentů, a odpeňovače, jež eliminují vzduchové bubliny vznikající při míchání. Rozlivová aditiva zlepšují vzhled povrchu nátěru a zabraňují vzniku defektů jako jsou krátery, dolíky či stopy po štětcí. Dále se využívají urychlovače zasychání, inhibitory koroze, UV absorbéry, vosky pro povrchovou úpravu a modifikátory viskozity, které umožňují tzv. tixotropní chování – barva je v klidu hustá, při míchání snadno tekutá. Vzájemné působení aditiv však může být komplikované, protože některá si odporují, a nevhodné dávkování může vést ke vzniku povrchových vad (Pšeničková a Milčík 2024).

Rozpouštědla jsou klíčovou složkou nátěrových hmot, protože ovlivňují jejich zpracovatelnost, schnutí i výsledný vzhled. Tradičně používaná aromatická rozpouštědla jako toluen nebo xylen jsou postupně omezována kvůli zdravotním a ekologickým rizikům. I u vodou ředitelných nátěrů se často vyskytují organická rozpouštědla, která fungují jako koalescenty – pomáhají spojit dispergované částice polymeru do souvislého filmu. Množství těkavých organických látek ve výrobku se sleduje pod označením VOC (Volatile Organic Compounds) a stává se důležitým parametrem z hlediska legislativy i marketingu (Pšeničková a Milčík 2024).

1.5. Nátěry s antimikrobiálními účinky

Léčba bakteriálních infekcí se stává stále obtížnější kvůli rostoucí rezistenci mikroorganismů a pacientům, u nichž antibiotika již nezabírají. Proto je nutné hledat alternativy k antibiotické léčbě. Existují dva hlavní způsoby prevence mikrobiální kontaminace povrchů – dezinfekce a antimikrobiální povrchy. Dezinfekce chemickými prostředky však zatěžuje životní prostředí a může přispět k rozvoji rezistence (Siedenbiedel a Tiller 2012).

Antimikrobiální povrchy zabraňují růstu bakterií i biofilmů tím, že odpuzují mikroorganismy nebo je přímo likvidují. Odpuzování mikroorganismů je dosaženo povrchy s biocidním nábojem. Ačkoli tyto povrchy fungují poměrně efektivně, jejich biocidní účinek se postupně snižuje. Antimikrobiální materiály působí třemi hlavními způsoby – odpuzením mikroorganismů, kontaktním zabíjením a usmrcováním prostřednictvím uvolňování biocidních látek. Odpudivý mechanismus nedovolí bakteriím přilnout k povrchu, což snižuje riziko mikrobiální kontaminace, avšak bakterie přímo neničí. Při usmrcování a uvolňování dochází k postupné migraci antimikrobiální látky z povlaku a následné deaktivaci patogenu. V případě kontaktního zabíjení se mikroorganismy dostanou do kontaktu s antimikrobiálním povlakem a jsou inaktivovány. Dochází k tomu, jelikož jsou na povrchu povlaku přítomny antimikrobiální

látky. Tyto mechanismy se však často kombinují, aby se zvýšila životnost a prodloužila životnost materiálů (Siedenbiedel a Tiller 2012).

1.6. Antimikrobiální aditiva používaná v antimikrobiálních nátěrech

Antimikrobiální aditiva jsou látky, přidávané do různých materiálů s cílem inhibovat růst mikroorganismů. Tato aditiva nacházejí široké uplatnění v průmyslu, zdravotnictví a dalších oblastech, kde je důležitá hygiena a čistota. Jsou součástí spousty produktů, jako jsou dezinfekce, kosmetické přípravky, konzervační látky, pesticidy nebo antiseptika (Shrivastava 2018).

Antimikrobiální nátěry se od běžných nátěrů odlišují obsahem speciálních aditiv, která mají antimikrobiální vlastnosti. Mezi tato aditiva patří organické bioicidy, koloidní částice nebo nanočástice stříbra, organické polymery s reaktivními antibakteriálními skupinami a také fotokatalytické oxidy, převážně oxid titaničitý a zinečnatý (Hochmannová a Vytřasová 2010).

1.6.1. Antimikrobiální polymery

Za novou generaci antimikrobiálních látek jsou považovány antimikrobiální polymery, které lze různě modifikovat s cílem zvýšit jejich účinnost a specifické vlastnosti. Mnohé studie tvrdí, že antimikrobiální polymery bakterie si na antimikrobiální polymery obtížně vyvíjejí rezistenci. Tyto modifikace mohou zahrnovat začlenění přírodních antimikrobiálních peptidů, halogenaci (např. chloraci nebo fluoraci) nebo přidání funkčních skupin, jako jsou fosforové a sulfonové deriváty. Další variantou jsou fenolové a benzoové deriváty, organokovové polymery či polymery s inkorporovanými kovovými nanočásticemi, jako je stříbro nebo měď. Tyto prvky poskytují antimikrobiální aktivitu. Specifickou skupinu tvoří dendrimery, vysoce větvené polymery, které mohou samy vykazovat antimikrobiální účinky nebo sloužit jako nosiče aktivních látek. Významnou roli hrají také polymery na bázi guanidinu. Ty narušují buněčnou stěnu mikroorganismu. Tyto inovativní úpravy polymerů otevírají nové možnosti v boji proti multirezistentním patogenům a představují slibnou alternativu k tradičním antibiotikům (Chen et al. 2019; Kamaruzzaman et al. 2019).

1.6.2. Antimikrobiální aditiva na bázi organických sloučenin

1.6.2.1. Fenolové sloučeniny

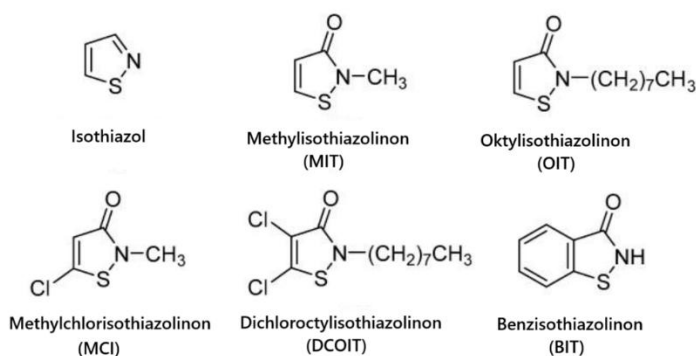
Fenolové sloučeniny obsahují hydroxylovou skupinu navázanou na jeden nebo více aromatických benzenových kruhů. Díky svým antioxidačním vlastnostem představují významnou skupinu metabolitů v rostlinách a vykazují široké spektrum biologických účinků.

Fenolické materiály se uplatňují také v potravinářském průmyslu, zejména v obalových materiálech. Například 2-fenylfenol (PE) je známý svými antimikrobiálními vlastnostmi proti gramnegativním i grampozitivním bakteriím a plísním. Proto se využívá jako konzervační prostředek pro dezinfekci povrchů, ošetření dřeva, potravinových obalů, textilií a kosmetiky (Costa et al. 2023).

Kromě antibakteriálních účinků byla u fenolových sloučenin popsána také antivirová a antifungální aktivita. Studie prokázaly, že 2-fenylfenol a jeho deriváty mohou působit proti různým virům, včetně viru lidské imunodeficiency (HIV), viru herpes simplex (HSV) a viru hepatitidy B (Costa et al. 2023).

1.6.2.2. Deriváty izothiazolinonu

Deriváty izothiazolinonu jsou sloučeniny obsahující pětičlenné heterocyklické kruhy, které se uplatňují v různých průmyslových odvětvích. Isothiazol a jeho deriváty (viz obrázek 17) vykazují antimikrobiální, antibakteriální, antifungální, antivirové a protizánětlivé vlastnosti. Díky těmto účinkům se široce využívají jako biocidy při úpravě vody k omezení mikrobiálního růstu a biologického znečištění. Jsou také doporučovány jako konzervační prostředky proti plísním v průmyslových výrobcích, například v emulzních barvách, lacích na dřevo a dalších materiálech (Silva et al. 2020).



Obrázek 16. Chemické struktury isothiazolu a nejčastěji používaných isothiazolinových biocidů, upraveno z: (Silva et al. 2020)

1.6.3. Nanočástice

Nanočástice (NP) jsou částice s rozměry menšími než 100 nm, což jim poskytuje jedinečné vlastnosti využitelné v medicíně, potravinářství nebo textilní průmyslu. Díky své malé velikosti snadno pronikají do buněk, což umožňuje efektivní detekci onemocnění a cílené

dodávání léků. Nanomateriály se nacházejí v opalovacích krémech, zubních pastách, nátěrech sanitární keramiky, povlacích textilních vláken, katalyzátorech, palivových přísadách i v potravinářských produktech (Medic et al. 2024; Spirescu et al. 2021; Zhang et al. 2010).

Nejčastěji používané nanomateriály s antimikrobiálními vlastnostmi zahrnují kovové nanočástice, jako jsou zlato, stříbro a měď, a také oxidy kovů například oxid zinečnatý, oxid titaničitý a oxid hořečnatý. Každý z těchto materiálů vykazuje specifické vlastnosti, které ovlivňují jejich antimikrobiální účinnost. Například nanočástice stříbra jsou známé svým širokospektrálním působením díky schopnosti uvolňovat ionty, které narušují mikrobiální buňky. Oxidy kovů, jako je oxid zinečnatý nebo oxid titaničitý, zase mohou generovat reaktivní formy kyslíku, které přispívají k destrukci patogenních mikroorganismů (Spirescu et al. 2021).

Vzhledem k rostoucí rezistenci bakterií vůči antibiotikům nabízejí nanomateriály slibnou alternativu pro vývoj nových antimikrobiálních terapií. Nicméně je třeba řešit otázky jejich bezpečnosti, toxicity a dopadu na životní prostředí (Spirescu et al. 2021).

1.6.3.1. Oxid zinečnatý (ZnO)

Nanočástice oxidu zinečnatého (ZnO) jsou známé svou fotoaktivní povahou a schopností generovat reaktivní formy kyslíku (ROS), které mají antimikrobiální účinky při vystavení UV záření. Tyto ROS poškozují buněčné membrány bakterií a vedou k jejich degradaci. Mezi další výhody ZnO patří vysoká chemická stabilita, optická transparentnost a mechanická pevnost, což je činí ideálními pro biomedicínské aplikace, jako jsou antimikrobiální povlaky na lékařských zařízeních (Puspasari et al. 2022).

Primární antibakteriální mechanismus nanočástic ZnO není dosud plně objasněn. Nicméně je známo, že antibakteriální aktivita ZnO souvisí s jejich fotokatalytickými vlastnostmi, které zahrnují tři klíčové mechanismy: generaci reaktivních forem kyslíku, uvolňování zinečnatých iontů (Zn^{2+}) a přímou interakci ZnO nanočástic s bakteriálními buňkami prostřednictvím elektrostatických sil. Všechny tyto mechanismy vedou k usmrcení bakterií (Puspasari et al. 2022).

Kladně nabitá nanočástice ZnO interagují se záporně nabitými buněčnými stěnami mikroorganismů prostřednictvím elektrostatických sil. Po přilnutí na povrch bakteriální buňky nanočástice ZnO narušují membránovou strukturu, což vede ke ztrátě buněčné integrity a úniku intracelulárních složek, což obvykle končí buněčnou smrtí. Po interakci mohou nanočástice ZnO uvolňovat ionty Zn^{2+} , které narušují metabolické enzymatické procesy a přispívají k

buněčné smrti, nebo mohou generovat ROS, což způsobuje oxidační stres, narušení replikace DNA a poškození DNA, energetického metabolismu a inhibici buněčného dýchání. (Spirescu et al. 2021).

1.6.3.2. Oxid hořečnatý (MgO)

Nanočástice oxidu hořečnatého (MgO) jsou netoxické, snadno se získávají a vykazují antimikrobiální vlastnosti proti širokému spektru bakterií, houbám i virům. MgO nanočástice lze syntetizovat řadou metod jako je spalování, kalcinace sol-gelu, hydrotermální metody, kooxidace a mokré srážení (Spirescu et al. 2021).

Antimikrobiální účinek MgO nanočástic je založen na disociaci iontů Mg^{2+} při zvýšených hodnotách pH, které jsou charakteristické pro bakteriální a kvasinkové kultury. Podobně jako ZnO nanočástice generují reaktivní formy kyslíku, které indukují peroxidaci lipidů a poškození proteinů a fosfolipidů, což narušuje membránu a způsobuje buněčnou smrt. U nanočástic MgO byly prokázány antibakteriální vlastnosti vůči *S. aureus*, *P. aeruginosa* a *E. coli*. Rovněž inhibovaly tvorbu biofilmů *E. coli*, *K. pneumoniae* a *S. aureus* (Spirescu et al. 2021).

1.6.3.3. Oxid titaničitý TiO_2

TiO_2 je sloučenina schválená úřadem pro kontrolu potravin (FDA) a proto se používá v potravinářství, léčivech, kosmetice i balení potravin. Existuje ve třech polymorfních formách: anatas, rutil a brookit. Antibakteriální mechanismus TiO_2 je podobný jako u předchozích zmíněných nanočástic. Dochází k produkci ROS a následné buněčné smrti. Antibakteriální vlastnosti TiO_2 byly popsány u *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* a dalších bakterií. Antibakteriální účinek ovlivňuje několik faktorů, včetně morfologie, velikostí, krystalové struktury a povrchového náboje nanočástic. Rovněž existují rozdíly v účinnosti mezi gram pozitivními a gram negativními bakteriemi, které souvisí se strukturou buněčné stěny (Spirescu et al. 2021).

1.6.4. Antimikrobiální aditiva na přírodní bázi

K zajištění antimikrobiálních vlastností povrchů se často využívají syntetické chemikálie, které však mohou představovat zdravotní riziko pro osoby přicházející s nimi do kontaktu. Kromě toho je jejich výroba nákladná a zatěžuje životní prostředí. V důsledku toho roste zájem o přírodní antimikrobiální látky, které lze aplikovat na různé materiály. Přírodní antimikrobiální složky jsou obecně považovány za bezpečné a jejich použití je

v některých zemích regulováno a povoleno. Studie doporučují preferovat přírodní konzervační látky před těmi syntetickými (Querido et al. 2022).

V poslední době se výzkum zaměřuje především na rostlinné extrakty, které se přidávají do nátěrových systémů díky své netoxicitě, ekologičnosti, nízké ceně, snadné dostupnosti a absenci těžkých kovů. Navíc jsou snadno aplikovatelné. Tyto extrakty lze získat z různých částí rostlin, jako jsou kořeny, listy, kůra, ovoce, slupky či semena. Obsahují bioaktivní složky s antioxidačními účinky, které mohou zároveň zlepšit vlastnosti nátěrových hmot. Některé studie naznačují, že rostlinné extrakty mohou mít také antikorozi a antimikrobiální účinky (Ong et al. 2021).

Nejvýznamnější skupinou přírodních antimikrobiálních aditiv jsou esenciální oleje, které patří mezi sekundární metabolity s aromatickými vlastnostmi. Bylo prokázáno, že mají jak antimikrobiální, tak antioxidační účinky (Karnwal a Malik 2024). Mezi nejznámější účinné látky patří thymol, karvakrol, eugenol a guajakol, které se přirozeně vyskytují v bylinách a koření, jako je tymián, oregano, hřebíček nebo skořice. Tyto rostliny jsou dlouhodobě známé pro své antibakteriální a antifungální účinky (Pérez et al. 2015).

Navzdory mnoha výhodám přírodních extraktů existují i určitá omezení. Jedním z hlavních problémů je jejich nestabilita. Rostlinné extrakty jsou biologicky odbouratelné, což omezuje jejich skladovatelnost a dlouhodobé použití. Mohou být degradovány slunečním zářením a některé jejich bioaktivní složky jsou náchylné k oxidaci nebo odpařování. Další výzvou je výběr vhodného rozpouštědla pro extrakci účinných látek. Správná volba extrakčního procesu je zásadní pro dosažení maximální účinnosti rostlinných extraktů (Ong et al. 2021).

1.7. Mikrobiální kontaminace povrchů

Ke kontaminaci povrchů může dojít různými způsoby, závislými na typu mikroorganismu a druhu materiálu. Například u bakterií je znečištění v uzavřených prostorech podmíněno jak přímým kontaktem s infikovanou osobou, tak nepřímým přenosem. U jiných mikroorganismů se šíření většinou realizuje nepřímou cestou. Jedním z nejčastějších způsobů ochrany povrchů a zároveň prevence šíření mikroorganismů na stavebních konstrukcích je použití organických povlaků obsahujících účinnou antimikrobiální látku (Kalendová 2001).

Bakteriální kontaminace povrchů ve zdravotnických zařízeních, zejména na jednotkách intenzivní péče (JIP), představuje závažný problém přispívající k šíření nozokomiálních infekcí. Studie publikovaná v *Journal of Intensive Care* zdůrazňuje, že neživé povrchy

a vybavení na JIP mohou být kontaminovány bakteriemi, včetně multirezistentních kmenů, což zvyšuje riziko infekcí získaných v nemocnici (Chaoui et al. 2019; Vijayaraghavan a Yun 2008).

Výzkum provedený v Provincionalním nemocničním centru v Mohammedia, Maroko, identifikoval nejčastějšími izolovanými bakteriemi z povrchů *Klebsiella pneumoniae* (26,5 %), *Acinetobacter baumannii* (23,5 %) a *Pseudomonas aeruginosa* (20,6 %). Tyto patogeny jsou známé svou schopností přežít na suchých površích po dlouhou dobu a často vykazují rezistenci vůči více antibiotikům, což komplikuje léčbu infekcí, které způsobují (Vijayaraghavan a Yun 2008).

Kontaminace povrchů v nemocničním prostředí může pocházet jak z rukou zdravotnického personálu, tak přímým uvolňováním bakterií od pacientů. Nedostatečná hygiena rukou a nedostatečné čištění a dezinfekce povrchů mohou vést k přenosu patogenů na pacienty, což zvyšuje riziko nozokomiálních infekcí. Vysoká míra multirezistence mezi izolovanými kmeny, jak ukázala studie z Maroka, zdůrazňuje naléhavou potřebu implementace účinných strategií prevence a kontroly infekcí ve zdravotnických zařízeních. Pravidelné monitorování, důsledná hygiena rukou, správné čištění a dezinfekce povrchů a racionální používání antibiotik jsou nezbytné kroky k omezení šíření multirezistentních bakterií a ke zlepšení bezpečnosti pacientů (Chaoui et al. 2019; Vijayaraghavan a Yun 2008).

1.8. Využití antimikrobiálních nátěrových hmot

Antimikrobiální nátěrové hmoty jsou chemické látky aplikované na povrchy, které brání růstu mikroorganismů. Tyto nátěry nacházejí uplatnění v různých odvětvích včetně zdravotnictví, potravinářství a stavebnictví. Antimikrobiální nátěry doplňují rutinní postupy hygieny rukou, čištění a dezinfekce.

Ve zdravotnictví se antimikrobiální nátěry využívají nejen k ochraně a sterilizaci zdravotnických zařízení – aplikují se například na implantáty, katétry, chirurgické nástroje a další přístroje, aby se minimalizovalo riziko infekcí a tvorby biofilmu – ale také k prevenci nozokomiálních infekcí, které jsou často spojené s kontaminací povrchů, jako jsou lůžka, kliky či stoly. Speciálně formulované nátěry dokážou účinně redukovat výskyt patogenů, například *Staphylococcus aureus* rezistentního na meticilin (MRSA) či *Enterokoků* rezistentních na vankomycin (VRE), což potvrzují i studie. Zároveň tyto nátěry zvyšují biokompatibilitu a prodlužují životnost materiálů, čímž se snižuje potřeba jejich časté výměny či oprav. Pokročilé inovace v oblasti organických a anorganických nátěrů s antimikrobiálními přísadami umožňují jejich nasazení i v aplikacích, kde je nutné kombinovat ochranu proti

mikroorganismům se specifickými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, například u sterilních obalů či specializovaných implantátů (Dunne et al. 2017).

V potravinářském průmyslu se antimikrobiální nátěry staly důležitým nástrojem pro prevenci křížové kontaminace, která by mohla vést k závažným onemocněním spotřebitelů. Tyto nátěry, často založené na kvartérních amoniových sloučeninách, byly prokázány jako účinné proti významným patogenům, například *Escherichia coli* a *Listeria monocytogenes*, což je klíčové při ochraně potravin před bakteriální kontaminací. Studie publikovaná v podrobně zkoumá jejich antimikrobiální vlastnosti a uvádí, že při správném použití mohou tyto povrchové úpravy významně snížit riziko šíření mikroorganismů. Navzdory své účinnosti však nátěry vykazují omezenou trvanlivost, což je způsobeno zejména rutinním čištěním a mechanickým opotřebením, které mohou snižovat jejich antimikrobiální aktivitu. Díky své flexibilitě lze tyto nátěry aplikovat na různé materiály, jako jsou PVC, sklo či nerezová ocel, což umožňuje jejich využití na široké škále povrchů v provozech, kde je vyžadována maximální hygienická kontrola. Tato univerzálnost přispívá k celkovému zvýšení bezpečnosti potravinářských výrobků, přičemž kombinace pravidelného údržby a moderních antimikrobiálních technologií vytváří efektivní obranu proti patogenům (Bento de Carvalho et al. 2023).

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Cíl práce

Mikroorganismy hrají v přírodě i v životě člověka významnou roli, neboť jsou schopny rozložit veškeré přirozené organické látky až k jejich úplné mineralizaci, čímž vracejí chemické prvky, které jsou nezbytnou složkou buněčné hmoty, do koloběhu prvků v přírodě (Šilhánková 2008). Jejich působení nicméně může mít i negativní účinek, neboť mohou být příčinou řady infekčních onemocnění. Kromě infekčních onemocnění, mikroorganismy také dokážou znehodnocovat různé druhy povrchů, na kterých rostou, neboť z těchto povrchů čerpají živiny a tvoří na nich biofilmy (Bakke et al. 2001). Ke kontaminaci povrchů mikroorganismy může docházet různými způsoby v závislosti na jejich druhu a typu materiálu. Jednou z nejúčinnějších forem ochrany povrchů vůči kolonizaci povrchů mikroorganismy řadíme bezesporu využívání organických povlaků s obsahem antimikrobiálních látek, které omezují či zabraňují v jejich růstu (Kalendová 2001). Pro dosažení optimální antimikrobiální účinnosti nátěrových filmů je tedy zásadní vhodný výběr účinné látky s vhodnou koncentrací, v závislosti na prostředí a typu materiálu, kde bude daný antimikrobiální nátěr aplikován (Smith 1990).

V experimentální část dané diplomové práce byla zaměřena studium a testování modifikovaných epoxyesterových nátěrových hmot s obsahem anorganických pigmentů s předpokládaným antimikrobiálním působením (MgO, ZnO a ZnS) při OKP = 10 %, a doplněných CaCO₃ na konstantní podíl pevných látek v systému OKP/KOKP = 0,45. Začátkem práce byla provedena základních charakterizace vlastností anorganických pigmentů a byla stanovena sušina u jednotlivých druhů pojiv na bázi epoxyesterové pryskyřice. Modelové nátěrové hmoty byly připraveny pomocí dispergačního zařízení a následně aplikovány pomocí krabicového nanášecího pravítka na skleněné a ocelové substráty. Po zaschnutí nátěrových hmot byly na organických povlacích hodnoceny jejich fyzikálně-mechanické a chemické vlastností pomocí řady normovaných zkoušek a též i působení elektrolytu v závislosti na pH. Dále byl studován vliv morfologie a distribuce vybraných druh pigmentů ať už samotných či v antimikrobiálních nátěrových filmech pomocí skenovací elektronové mikroskopie SEM. Pro testování antimikrobiálních vlastností organických povlaků byly vybrány 4 bakteriální kmeny *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* pomocí normované zálivové a obtiskové metody.

2.2. Přehled chemikálií a použitých surovin pro testování

2.2.1. Pojiva na bázi epoxysterové pryskyřice

V tabulce č.1 jsou uvedeny základní informace o použitých pojivech na bázi epoxysterové pryskyřice, která byla použita na přípravu nátěrových hmot.

Tabulka 1. Základní informace o pojivech o pojivech na bázi epoxysterové pryskyřice

Pojivo *	Hustota [g·cm ⁻³]	Sušina [%]	Viskozita [mPa·s ⁻¹]	Výrobce
EP1	0,941	60,3	2002	Univerzita Pardubice
EP2	0,965	61,9	1689	Univerzita Pardubice
EP3	1,038	57,2	1424	Univerzita Pardubice
EP4	0,982	60,3	1378	Univerzita Pardubice
Worlée Dur D46	1,062	59,9	4200	Worlée-chemie, GmbH, Německo

* EP1-EP4 – epoxysterové pryskyřice modifikované vybranými druhy mastných kyselin (TOFA, LOFA, Linol, Linol + 10% kyselina benzoová)

Worlée Dur D46 – komerční epoxysterová pryskyřice (60% epoxid, 40% konjugované MK tungového oleje a ricinového oleje)

2.2.2. Pigmenty a plniva

V tabulce č.2 jsou uvedeny základní informace o pigmenty a plnivech, které byly použity při přípravě modelových nátěrových hmot.

Tabulka 2. Základní informace o pigmentech a plnivech

Pigmenty a plniva	Vzorec	Hustota [g·cm ⁻³]	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Výrobce
Oxid zinečnatý	ZnO	5,61	81,39	Slovlak Košeca, a.s., Slovensko
Sulfid zinečnatý	ZnS	4,10	97,47	Sigma Aldrich, s.r.o., USA
Oxid hořečnatý	MgO	3,58	40,30	Sigma Aldrich, s.r.o., USA
Oxid titaničitý	TiO ₂	3,87	79,90	Precheza a.s., Česká republika
Uhličitan vápenatý	CaCO ₃	2,72	100,09	Omega CZ s.r.o.

2.2.3. Chemikálie použité při testování

V následující tabulce jsou uvedeny základní údaje o chemikáliích, které byly použity při testování nátěrových hmot.

Tabulka 3. Základní informace o chemikáliích použitých při testování

Chemikálie	Vzorec	Hustota [g·cm ⁻³]	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Výrobce
Chloroform	CHCl ₃	1,48	119,38	Penta s.r.o., Česká republika
Methylketon	C ₄ H ₈ O	0,81	72,11	Penta s.r.o., Česká republika
Aceton	C ₃ H ₆ O	0,78	58,08	Penta s.r.o., Česká republika
Kyselina fosforečná 85 %	H ₃ PO ₄	1,70	98,00	Lech-Ner s.r.o., Česká republika
Kyselina octová 99 %	CH ₃ COOH	1,05	60,05	Penta s.r.o., Česká republika
Xylen směs izomerů p.a.	C ₈ H ₁₀	0,87	106,17	Penta s.r.o., Česká republika
Chlorid sodný	NaCl	58,44	58,44	Lech-Ner s.r.o., Česká republika
Kyselina trihydrogen boritá p.a.	H ₃ BO ₃	1,51	61,83	Lech-Ner s.r.o., Česká republika
Hydroxid sodný	NaOH	2,13	2,13	Penta s.r.o., Česká republika

2.3. Přístroje a vybavení

2.3.1. Přístroje použité k charakterizaci práškových materiálů

- laboratorní váhy (Krn & Sohn GmbH, Německo)
- analytické váhy (OHAUS, Švýcarsko)
- sušárna (Mettler, Německo)
- heliový pyknometr (accuPyc II 1320 Micromeritics, USA)
- pH metr (WTW 32, Německo)
- konduktometr (WTW Cond 1970i)
- byreta a miska s tloučkem ke stanovení olejového čísla
- skenovací elektronový mikroskop (Lyra3, Tescan, Česká republika)

2.3.2. Přístroje použité k přípravě a aplikaci nátěrových hmot

- dispergační zařízení typu Disolvu (Dispermat, Donventa AG, Švýcarsko)
- nanášecí pravítka se šterbinou 150-300 μ m (Česká republika)
- polyamidová tkanina Nhelon 45S s velikostí oka 162 μ m (Česká republika)

2.3.3. Přístroje použité pro stanovení fyzikálně-mechanických a mechanických vlastností nátěrových filmů

- tloušťkoměr (MINITEST 1100, ElektroPhysik, Německo)
- leskoměr (Micro Tri-gloss, Byk-Gardner, Německo)
- optický mikroskop (NIKON Česká republika)
- kyvadlový přístroj (typ Persoz, Elcometer 500, Německo)
- řezací nůž (Cross cut, Elcometr)
- Bucholzův vrypový přístroj (BYK Grander, GmbH Německo)

2.3.4. Přístroje použité k testování antimikrobiální účinnosti organických povlaků

- sterilizátor (STERIMAT 5104.2, Česká republika)
- termostat (POL-EKO, Polsko)
- autokláv (Sterilab BMT, Česká republika)
- počítačka kolonií (LBK 2002), UV lampa (Biosan, Litva)
- vortex (BioTech, Česká republika)
- denzitometr (Biosan, Litva)

2.4. Základní charakteristika materiálů

2.4.1. Stanovení spotřeby oleje a kritické objemové koncentrace pigmentů

Stanovení spotřeby oleje bylo provedeno metodou „miska-tlouček“ (viz obr 17). Tato metoda spočívá v postupném přikapávání lněného oleje k vybranému pigmentu za současného tření, dokud nevznikne pasta požadovaných vlastností. Nejprve bylo na laboratorních vahách odváženo 5 g pigmentu do třecí misky. Pomocí tloučku byl vzorek pigmentu jemně roztírán, zatímco z byrety byl po kapkách přidáván lněný olej do doby, dokud veškerý pigment neulpěl na spodní straně tloučku a třecí miska zůstala zcela prázdná. Nakonec byla z byrety odečtena hodnota spotřeby oleje a dosazena do rovnice 1 pro výpočet olejového čísla.

$$\text{olejové číslo (OČ)} = \frac{100 \cdot V_{L_0} \cdot \rho_{L_0}}{m_{PIG}}$$

Rovnice 1. Výpočet olejového čísla

OČ – Olejové číslo [g/100 g], V_{L_0} – Spotřeba lněného oleje [ml], m_{PIG} – hmotnost naváženého pigmentu [g],
 ρ_{L_0} – hustota lněného oleje [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$]



Obrázek 17. Aparatura pro stanovení olejového čísla

KOKP představuje hodnotu objemové koncentrace pigmentu, při níž je prostor mezi částicemi pigmentu zcela zaplněn pojivem a po překročení této hodnoty dochází k výrazné změně některých vlastností nátěrových hmot. Ke změnám zejména dochází u těchto vlastností: tvorba puchýřků, tvrdost, lesk nebo propustnost pro vodní páru (Kalendová 2003). Hodnotu KOKP lze vypočítat na základě znalosti hustoty jednotlivých pigmentů a pomocí výpočtu olejového čísla.

$$KOKP = \frac{\frac{10\,000}{\rho_{pigm}}}{\frac{100}{\rho_{pigm}} + \frac{\text{ol. číslo}}{\rho_{ol}}}$$

Rovnice 2. Výpočet KOKP

ρ_{ol} – hustota lněného oleje [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$], ρ_{pigm} – hustota lněného oleje [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$]

2.4.2. Stanovení hustoty práškových materiálů

Stanovení hustoty pigmentů je jedním z hlavních ukazatelů jejich použitelnosti v nátěrových hmotách. Kromě toho také slouží k posouzení druhu a čistoty daného pigmentu.

(Kalendová 2003). Měrná hmotnost byla měřena pomocí plynového pyknometru, a to na základě objemu plynu (helium), který je vytěsněn vzorkem pigmentu. Před použitím pyknometru je vždy nutná kalibrace pomocí kalibračních kovových kuliček o známém objemu. Následně bylo na analytických vahách zváženo konkrétní množství pigmentu a na základě rozdílných objemů přístroj vyhodnotil hodnoty hustot jednotlivých pigmentů.

2.5. Stanovení obsahu sušiny v pojivové složce

Dle normy ČSN EN ISO 3251 byl stanoven obsah sušiny u vybraných druhů pojiv na bázi epoxyesterové pryskyřice. Na kovová víčka potažená alobalem o přesně zvážené hmotnosti byly nanášeny 3 vzorky daného pojiva. Víčka byla zvážena na analytických vahách před a po nanášení epoxyesterové pryskyřice. Následně byla víčka vložena do sušárny vyhřáté na 105 °C na 24 hodin. Po vyndání ze sušárny, byla víčka vložena do exikátoru. Po zaschnutí do konstantní hmotnosti byla víčka opět znovu zvážena a obsah sušiny byl stanoven dle následující rovnice.

$$S = \frac{c - a}{b - a} \cdot 100$$

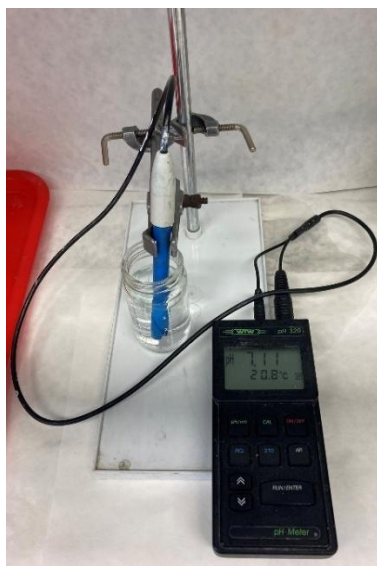
Rovnice 3. Stanovení obsahu sušiny

S – sušina ([%]), a – hmotnost víčka bez vzorku [g], b – hmotnost víčka s látkou před sušením [g], c – hmotnost víčka se vzorkem po sušení [g]

2.6. Metody pro hodnocení vlastností práškových materiálů

2.6.1. Stanovení hodnoty pH vodné suspenze

Hodnoty pH vodných suspenzí jednotlivých pigmentů byly stanoveny podle normy ČSN EN ISO 787–9. Stanovení pH vodných výluhů z pigmentů slouží k technologické kontrole promytí pigmentů, jelikož nedostatečné promytí může mít vliv na kvalitu následného nátěrového filmu (ISO 787-9:2019). Dle hodnoty pH vodných výluhů pigmentů můžeme posoudit přítomnost kyselých nebo zásaditých složek. Pro stanovení byly připraveny suspenze, které obsahovaly 10 g pigmentů a 90 ml redestilované vody. pH bylo u vodných suspenzí měřeno 7., 14., 21. a 28. den za pomoci pH metru se skleněnou elektrodou. pH metr byl před každým měřením kalibrován pomocí pufrů o známých hodnotách pH.



Obrázek 18. pH metr se skleněnou elektrodou

2.6.2. Stanovení měrné elektrické vodivosti vodné suspenze

Podle normy ČSN EN ISO 787-14 byla stanovena měrná elektrická vodivost vodných výluhů pigmentů. Hodnota měrné elektrické vodivosti je závislá na množství vodou rozpustných látek pigmentu, a také na jeho chemickém složení. Platí tedy, že čím více vodou rozpustných látek pigment obsahuje, tím vyšší má měrnou elektrickou vodivost (ISO 787-14:2019). Stejně jakou u měření pH byly připraveny suspenze obsahující 10 g pigmentu a 90 ml redestilované vody. Vodivost vodných suspenzí byla měřena 7., 14., 21. a 28. den pomocí konduktometru WTW Cond 1970i.



Obrázek 19. Konduktometr WTW Cond 1970i

2.7. Modelové nátěrové hmoty

2.7.1. *Formulace modelových nátěrových hmot*

Formulace modelových nátěrových hmot byla provedena v programu „Formul“, dle kterého byly zadány základní parametry charakterizující fyzikální vlastnosti jak pojivové složky, tak i pevných částic nátěrového systému (tj. hustoty a hodnoty KOKP jednotlivých pigmentů a plniv a u pojivové složky hodnota sušiny). Jednotlivá množství pigmentů, plniv a pojiv jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4. Formulace modelových nátěrových hmot s obsahem modifikovaných epoxyesterových pryskyřic a anorganickými pigmenty při OKP = 10 % funkčním pigmentem TiO₂ při OKP = 10 % a vápencem při Q = 45%

Pojivo na bázi epoxyesterové pryskyřice*	Pigment	Pigment [hm. %]	TiO ₂ [hm. %]	CaCO ₃ [hm. %]	Pojivo [hm. %]
EP1	ZnS	16,48	18,13	10,44	54,95
	ZnO	21,28	18,09	7,45	53,19
	MgO	2,71	6,62	7,24	83,43
EP2	ZnS	15,47	18,16	9,89	56,21
	ZnO	20,72	17,67	7,09	54,53
	MgO	6,58	17,84	14,08	61,50
EP3	ZnS	14,98	17,48	9,27	58,28
	ZnO	19,81	16,98	6,62	56,59
	MgO	6,12	16,83	13,46	63,49
EP4	ZnS	15,79	18,05	9,76	56,4
	ZnO	21,34	17,29	7,35	54,02
	MgO	6,48	17,59	14,2	61,73
Worleé Dur D46	ZnS	15,07	17,39	9,57	57,97
	ZnO	19,97	16,87	6,92	56,24
	MgO	6,32	17,07	13,4	63,21

* EP1-EP4 – epoxyesterové pryskyřice modifikované vybranými druhy mastných kyselin (TOFA, LOFA, Linol, Linol + 10% kyselina benzoová)

Worleé Dur D46 – komerční epoxyesterová pryskyřice (60% epoxid, 40% konjugované MK tungového oleje a ricinového oleje)

2.7.2. Příprava a dispergace modelových nátěrových hmot

Modelové nátěrové hmoty na bázi epoxyesterové pryskyřice byly připraveny procesem dispergace na dispergačním zařízení typu Disolver. Před vlastní dispergací byly nejprve jednotlivé práškové materiály a pojiva naváženy na laboratorních vahách dle příslušné formulace. Veškeré práškové materiály (pigmenty a plniva) byly nejprve umístěny do velké třecí misky a pomocí tloučku míchány tak dlouho, dokud nebyla výsledná směs pigmentů a plniv zhomogenizována. Před vlastní dispergací byly nátěrové hmoty předdispergovány pomocí ozubeného diskového míchadla. Předdispergace byla prováděna v nerezové nádobě, která byla z vnější strany chlazená. Do nerezové nádoby bylo aplikováno pojivo, které bylo mícháno při nízkých otáčkách (500 ot. /min) a postupně k němu byla přisypávána zhomogenizovaná prášková směs pigmentů a plniv. Po přisypání veškerých práškových materiálů byla zvýšena rychlost míchání nátěrové hmoty na 2000 ot. /min a předdispergace pokračovala po dobu 20 min. Během této doby byla viskozita nátěrové hmoty upravena přidávkem xylenu. Po ukončení procesu předdispergace bylo do nerezové nádoby s nátěrovou hmotou přisypáno 30 g skleněných kuliček (tzv. balotiny o průměru 2,6 – 3 mm) a nerezová nádoba s nátěrovou hmotou byla umístěna pod vlastní dispergační zařízení Dispermat Donveta AG s tříúrovňovým vertikálním míchadlem a směs byla následně dispergována po dobu 40 min při 1600 ot. /min. Po ukončení procesu dispergace byly výsledné modelové nátěrové hmoty zfiltrOVány pomocí polyamidové tkaniny (Uhelon 45 S o velikosti ok 162 μm) a skladovány v uzavíratelných skleněných nádobách.



Obrázek 20. Předdispergační zařízení Dispermat

2.7.3. Příprava zkušebních vzorků pro testování

2.7.3.1. **Příprava a aplikace nátěrových hmot**

Pro studium fyzikálně-mechanických, chemických a antikorozních vlastností byly jednotlivé nátěrové hmoty aplikovány na skleněné, ocelové a hliníkové panely pomocí krabicového nanášecího pravítka s velikostí štěrbin 150 μm . Z kovových podkladů byly použity panely z nízkouhlíkaté oceli třídy 11 vyhovující ISO 1514 a hliníkové panely, vyrobené ze slitiny 3003 H14, které před aplikací nátěrových hmot řádně odmaštěny pomocí chloroformu. Skleněné panely o rozměrech 200 \times 100 \times 5 mm byly před aplikací nátěrových hmot nejprve omyty vodou se saponátem a následně též odmaštěny pomocí chloroformu. K testování byly použity standardizované ocelové a hliníkové panely od společnosti Q-Lab o rozměrech uvedených zde v tabulce. Po aplikaci nátěrových hmot byly veškeré panely následně umístěny do klimatizované místnosti, kde byly ponechány zaschnout po dobu 3 týdnů při teplotě 23 ± 2 °C a vlhkosti 50 ± 5 %.

Tabulka 5. Specifikace jednotlivých Q panelů

Označení panelu	Materiál panelu	Rozměry panelu [mm]	Drsnost povrchu [μm]
S 46	Nízkouhlíkatá ocel	152x102x0,81	0,51 – 1,14
A 46	Hliník	152x102x0,81	Hladký povrch
ZQD	Nízkouhlíkatá ocel	200x60x0,55	0,51 – 1,14

2.7.3.2. **Příprava volných nátěrových filmů pro antimikrobiální testování**

K testování antimikrobiálních vlastností nátěrové hmoty aplikovány pomocí krabicového nanášecího pravítka se štěrbinou 150 μm na polyethylenové fólie a též i byly připraveny volné nátěrové filmy vylitím nátěrové hmoty do silikonové formy o rozměrech 100 x 50 x 2 mm (viz obrázek 21). Nátěrové hmoty na polyethylenových fóliích byly ponechány schnout v klimatizované místnosti při teplotě 23 ± 2 °C a vlhkosti 50 ± 5 % po dobu 3 týdnů a následně byly použity ke stanovení antimikrobiální účinnosti nátěrových filmů pomocí zálivové metody. Volné nátěrové filmy určené pro stanovení antimikrobiální účinnosti pomocí obtiskové metody byly ponechány schnout na vzduchu po dobu 7 dní při teplotě 23 ± 2 °C a

vlhkosti $50 \pm 5 \%$ a následně byly umístěny do vakuové sušárny, kde byly ponechány zaschnout do konstantní hmotnosti.



Obrázek 21. Příprava volných filmů v silikonové formě

2.7.3.3. Příprava zkušebních vzorků na polyethylenových fóliích pro antimikrobiální testování

Pro přípravu nátěrových filmů na polyethylenových fóliích byly použita krabicová pravítka se štěrbinou $150 \mu\text{m}$. Pomocí krabicových pravítek byly nátěrové hmoty nanesené na polyethylenové fólie. Takto připravené vzorky, se nechaly schnout při laboratorní teplotě taktéž 3 týdny. Takto připravené nátěry, byly použity ke stanovení antimikrobiální účinnosti pomocí zálivové metody.

2.8. Metody hodnocení fyzikálně – mechanických vlastností organických povlaků

2.8.1. Zkouška tvrdosti nátěru

Principem tohoto měření je uvést kyvadlo do pochybu a měří se doba, za kterou se sníží amplituda výkyvu z původní hodnoty na hodnotu uvedenou v normě ČSN EN ISO 1522, podle které byla provedena tato zkouška. Měřilo se pomocí kyvadlového přístroje typu Persoz viz obrázek 22.



Obrázek 22. Kyvadlo typu Persoz

Před samotným měřením bylo kyvadlo nakalibrováno pomocí standardu, který odpovídá 100% tvrdosti. Skleněné panely s nátěrem byly vloženy na podložku nátěrem vzhůru a kyvadlo se položilo na povrch vzorku. Po spuštění přístroje se kyvadlo vychýlilo do polohy 12° a konec měření byl při útlumu na 4°. Měření bylo prováděno na třech různých místech vzorku. Na závěr byly tyto hodnoty zprůměrovány a výsledek byl vztažen k hodnotě standardu podle rovnice č. 4.

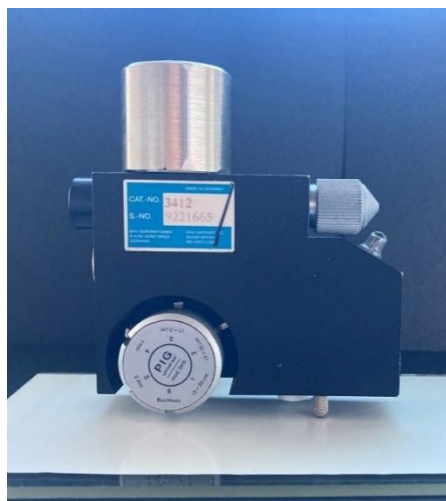
$$\tau = \frac{t_1}{t_0} \cdot 100$$

Rovnice 4. Stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěru

τ – relativní povrchová tvrdost [%], t_1 – počet kmitů vzorku, t_0 – počet kmitů standardu

2.8.2. Buchholzova vrypová zkouška

Zkouška byla provedena dle normy ČSN EN ISO 2815. Zařízení ke zhotovení vrypu (viz obrázek 23) se skládá z pravoúhlého bloku, vrypového kolečka, zvětšujícího zařízení, závaží o hmotnosti 500 g a dvou špičatých podstavních hrotů. Toto specifické zařízení bylo položeno bez bočních pohybů na skleněný panel potažený nátěrem. Vrypové kolečko bylo na vzorku ponecháno 30 s a následně opatrně sejmuto. Vždy byly provedeny 2 vrypy na jednom vzorku. Vrypy byly prováděny 1., 3., 7., 14., 21., 28., a 60. den a následně se pomocí optického mikroskopu měřila délka vrypů.



Obrázek 23. Zařízení pro zhotovení vrypů

2.8.3. Stanovení lesku

Stanovení lesku nátěrových filmů bylo provedeno dle normy ČSN 67 3063. Jde o optickou vlastnost povrchu materiálu, projevující se pravidelným odrazem světelných paprsků (Kalendová a Kalenda 2004). Změna lesku značí destruktivní změny nátěru. Měření bylo provedeno pomocí leskoměru (Micro-TRI-gloss), který byl před měřením nakalibrován. Samotné měření lesku bylo vždy provedeno na třech místech nátěrového filmu, který byl nanesen na skleněném panelu pod úhly 20°, 60° a 85°. Výsledná hodnota je uvedena v číslech lesku. Měření probíhalo 1., 3., 7., 14., 21., 28. a 60. den, aby se výsledky mohly porovnat v čase. Lesk byl hodnocen při úhlu 60° podle tabulky 6.



Obrázek 24. Leskoměr Micro-TRI-gloss

Tabulka 6. Hodnocení lesku při úhlu 60° (ISO 2813:2014)

Číslo lesku	Povrch nátěru
0-10	Matný
10-70	Středně lesklý
<70	Vysoce lesklý

2.8.4. Stanovení suché tloušťky nátěrového filmu

Pomocí magnetického tloušťkoměru (viz obrázek 25) byla stanovená suchá tloušťka nátěru (DFT) na ocelových panelech dle normy ISO 2808. Jedná se o nedestruktivní metodu. Před samotným měřením byl magnetický tloušťkoměr nakalibrován pomocí ocelového standardu. Následně byl tloušťkoměr pokládán kolmo na nátěr a na displeji se zobrazila hodnota suché tloušťky nátěrového filmu. Tento proces byl opakován na 10 místech nátěru. Na závěr byl ze všech hodnot vypočítán aritmetický průměr.



Obrázek 25. Magnetický tloušťkoměr

2.8.5. Mřížková zkouška

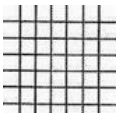

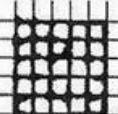
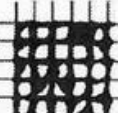
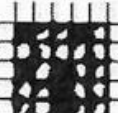
Tato zkouška byla provedena podle normy ČSN ISO 2409. Slouží k určení přilnavosti nátěru. Principem je vytvoření řezu ve tvaru mřížky na nátěrovém filmu pomocí řezného nástroje (viz obrázek 26) s šesti čepeli s rozestupem čepelí 2 mm.



Obrázek 26. Řezný nástroj pro zhotovení mřížky

Před samotným provedením mřížky, byla u nátěru zjištěna tloušťka pomocí tloušťkoměru a podle toho zvolen nůž s potřebným rozestupem čepelí. Na závěr byla mřížka vizuálně hodnocena podle následující tabulky.

Tabulka 7. Klasifikace poškození nátěru po řezu (ISO 2409:2020)

Stupeň poškození	Vzhled povrchu mřížky	Poškozená plocha	Slovní hodnocení poškození
0		0 %	Hrany řezu jsou bez známek odloupení nátěru
1		<5 %	Dochází k odloupení malých šupinek nátěru v místě střetů řezů
2		5-15 %	Nátěr je odloupen po celé délce hran řezů v místech jejich křížení
3		15-35 %	Nátěr je částečně nebo úplně odloupen ve velkých pásech nejen podél hran řezů, ale i na různých částech čtverců
4		35-65 %	Nátěr je odloupen ve velkých pásech podél hran řezů a většina čtverců je také částečně nebo zcela odloupená
5	-	>65 %	Nátěr je poškozen více než 4

2.8.6. MEK test

Tento test byl proveden dle normy ASTM D4752-10. Slouží ke stanovení chemické odolnosti organických povlaků. Test je založen na principu přímého působení methylethylketonu za vyvinutí tlakové síly na testovaný organický nátěr za laboratorních podmínek. Použity byly předem připravené nátěrové hmoty nanesené na skleněných panelech. Test byl proveden pomocí vatové tyčinky, která byla namočena v methylethylketonu. Po celé šířce panelu, byly prováděny tzv. dvojtahy (1 dvojtah se rovnal 1 sekundě). Dvojtahy byly prováděny do doby, dokud nedošlo k obnažení podkladu nejdéle však 300 sekund. Po obnažení podkladu nebo po uplynutí 300 sekund, byl test chemické odolnosti vyhodnocen dle tabulky 8.

Tabulka 8. Vyhodnocení MEK testu (ASTM D4752-10)

Stupeň poškození filmu	Hodnocení MEK testu
0	Úplné obnažení podkladu
1	Značné hloubkové narušení nátěrového filmu, nikoli však podkladu
2	Viditelné poškození/poškrábání nátěrového filmu
3	Lehké poškození/poškrábání nátěrového filmu
4	Nátěr je nepoškozený je pouze vyleštění, na nátěrové gáze je minimální množství pigmentu uvolněného z nátěru
5	Není viditelné ani vyleštění a na gáze nejsou žádné zbytky pigmentu

2.8.7. Stanovení odolnosti nátěrového filmu vůči působení vodného roztoku elektrolytu v závislosti na pH

Tento test slouží k určení korozní odolnosti nátěrů v prostředí o různém pH. Na dlouhé ocelové panely s nátěrem, byly pomocí epoxysterové pryskyřice nalepeny skleněné válečky (6 válečku na jeden panel). Po zaschnutí pryskyřice byl do každého válečku nalit pufr o známém pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12. Pufry byly připraveny smísením $0,2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ NaOH roztoku s roztokem $0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ H_3PO_4 , H_3BO_3 a CH_3COOH . Poměry smísení roztoků viz tabulka 9. Pufry byly z válečku byly po 5. dnech vylity, ponechány, aby se k nátěrům dostal kyslík a následně byly pozorovány změny na nátěrovém filmu. Hodnotily se vzniklé puchýře a prokorodování nátěru. Tento proces byl opakován 3x a po 21 dnech bylo vyhodnocené prokorodování k podkladu a koroze v ploše.

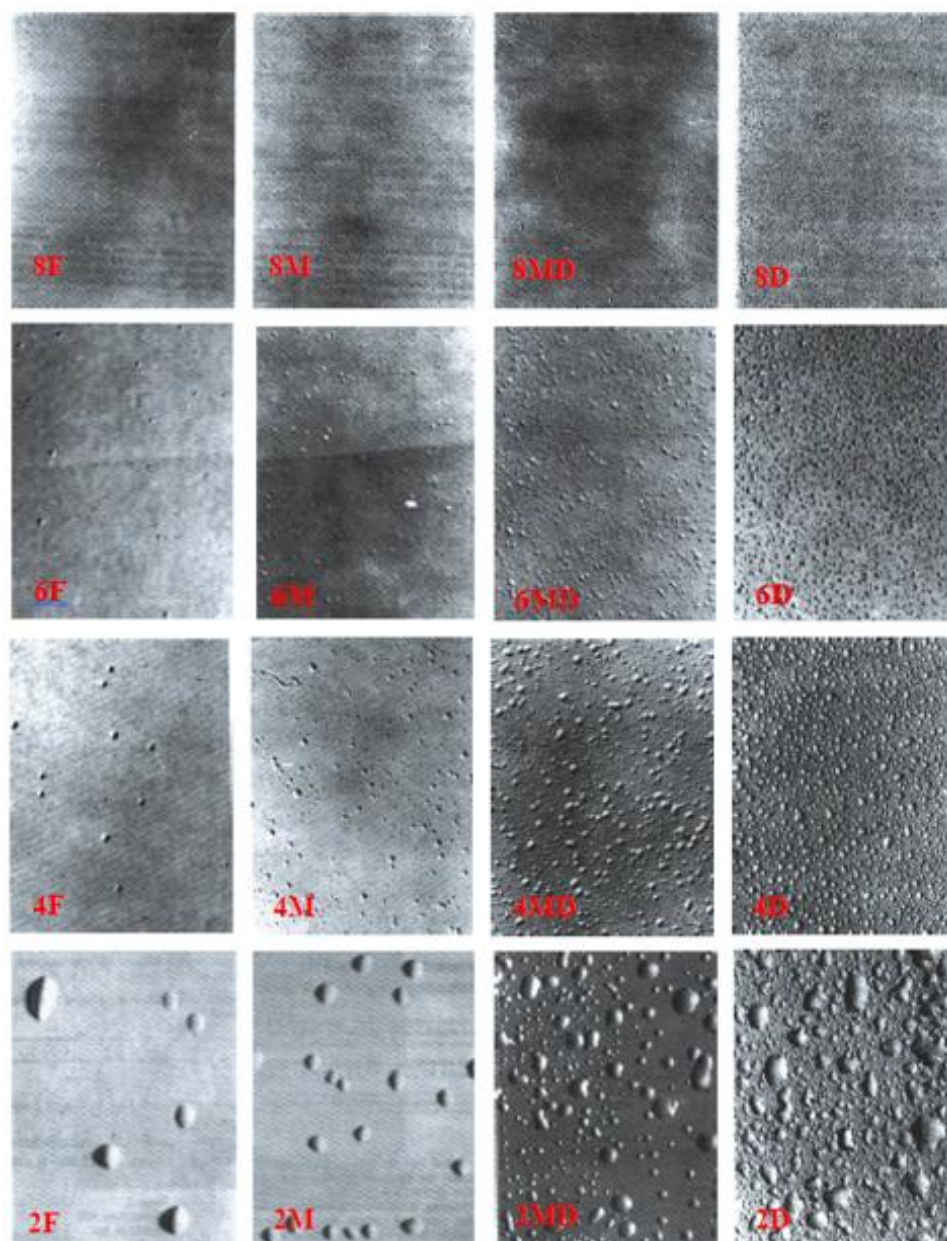
Tabulka 9. Příprava pufrů o daném pH

pH	Směs 0,04 M roztoků H_3PO_4 , H_3BO_3 a CH_3COOH [ml]	0,2 M NaOH [ml]
2	100	5
4	100	25
6	100	42,5
8	100	60
10	100	80
12	100	100

2.8.8. *Sandwich test*

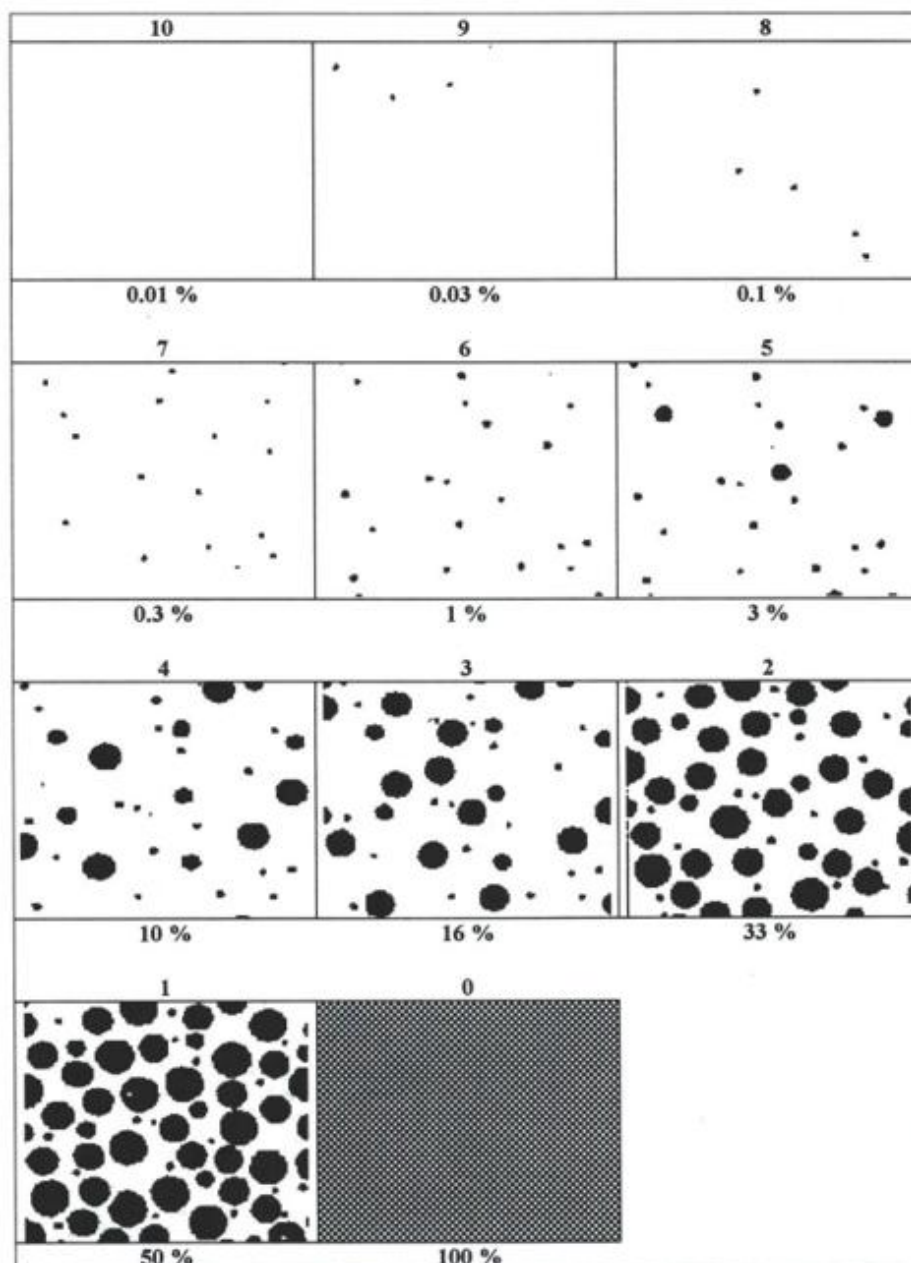
Pomocí této zkoušky se ověřuje odolnost nátěru včetně vlivu předběžné úpravy povrchu podkladu proti vzniku osmotických puchýřů v prostředí s vysokou relativní vlhkostí. Nejedná se však o zkoušku korozní. Zkouška byla provedena dle normy ISO ČSN 67 3086. Na nátěr na hliníkovém panelu byl položen navlhčený filtrační papír tak, aby byl pokrytý celý nátěr. Takto připravený nátěr byl vložen do polyethylenového sáčku a řádně uzavřený a převázaný gumičkou, aby se zamezilo přísunu vzduchu. Vložen do sušárny o teplotě 40 °C po dobu 24 hodin. Po 24, 48 a 120 hodinách bylo provedeno vyhodnocení. Hodnotila se velikost a počet puchýřů, které vznikly působením vlhkosti a zvýšené teploty. Při zkoušce nebyly hodnoceny korozní projevy, jako je prorezavění nebo podkorodování nátěru.

Hodnocení tvorby puchýřků byly provedeno podle normy ASTM D 714. Puchýře byly posuzovány vizuálně a jejich vzhled byl porovnán se standardy viz obrázek 27. Při hodnocení se sledovaly dva hlavní parametry: velikost a četnost. Velikost puchýřů byla označena čísly 8 až 2, kde 8 značí velmi malé a 2 největší. Četnost výskytu byla vyjádřena pomocí písmen F (nízká hustota), M (střední hustota), MD (středně husté pokrytí) a D (husté pokrytí).



Obrázek 27. Hodnocení puchýřů dle normy ASTM D714

Stupeň koroze v ploše zkušebního podkladu byl hodnocen podle normy ASTM D 610-85. Výskyt koroze signalizuje selhání ochranné funkce organického povlaku. Zkušební vzorky byly porovnány se standardy uvedeny na obrázku 28. Míra koroze zkušebních povrchů byla vyjádřena v procentech.



Obrázek 28. Korozní projevy dle normy ASTM D 610-85

2.9. Mikrobiální zkoušky

2.9.1. Příprava živných půd

Bylo naváženo požadované množství látky do daného objemu destilované vody. Níže v tabulce 10 jsou uvedena použitá kultivační média, jejich složení a potřebné množství pro jejich přípravu, které výrobce uvádí na obalu. Takto připravené roztoky, byly umístěny do autoklávu, kde došlo ke sterilizaci při tlaku 103 kPa a teplotě 121 °C. Po vychladnutí agarů na 45 °C, byly agary nality do Petriho misek. Až agary ztuhly, byly uchovávány v ledničce při

teplotě 2–5 °C. Bujóny byly připraveny stejně, jen se po sterilizaci nechaly vychladnout na laboratorní teplotu (23–25 °C) a následně byly taktéž uchovány v chladničce.

Tabulka 10. Přehled použitých kultivačních médií od výrobce HiMedie, Indie

Kultivační média	Množství na 1000 ml H ₂ O	Složení	
Masopeptonový agar (MPA)	40 g	Agar	15 g/l
		NaCl (chlorid sodný)	5 g/l
		Hovězí extrakt	10 g/l
		Masový pepton	10 g/l
Masopeptonový bujón (MPB)	25 g	NaCl (chlorid sodný)	5 g/l
		Hovězí extrakt	1,5 g/l
		Pepton	5 g/l
		Kvasničný extrakt	1,5 g/l
Tryptonový agar s kvasničným extraktem (GTK)	22,5 g	Agar	14 g/l
		Glukóza	1 g/l
		Kvasničný extrakt	2,5 g/l
		Kasein	5 g/l
Bujón se sójovým kaseinem a lecitinem (SCDLP)	35,7 g	Tween 80	5 g/l
		Lecitin	0,7 g/l
		Glukóza	2,5 g/l
		KH ₂ PO ₄ (dihydrogenfosforečnan draselný)	2,5 g/l
		NaCl (chlorid sodný)	5 g/l
		Trypton	17 g/l
		Sójový pepton	3 g/l

2.9.2. Příprava pracovních roztoků

Roztoky byly připraveny navážením přesného množství láky a následným rozpuštěním v daném množství destilované vody. Potřebné informace o použitých roztocích jsou uvedeny v tabulce číslo 11. Takto připravené roztoky byly sterilizovány v autoklávu při tlaku 103 kPa a teplotě 121 °C. Následně se nechaly vychladnou při laboratorní teplotě (23-25 °C) a uchovány v lednici při teplotě 2-5 °C.

Tabulka 11. Přehled a složení použitých pracovních roztoků

Pracovní roztoky	Složení	Množství
Fyziologický roztok	NaCl	8,5 g
	Destilovaná voda	1000 ml
Fosfátový tlumivý pufr	Destilovaná voda	1000 ml
	KH ₂ PO ₄ (dihydrogenfosforečnan draselný)	2,5 g
	Fyziologický roztok	10000 ml
Fyziologický fosfátový	Fosfátový tlumivý pufr	1,25 ml

2.9.3. Bakteriální kultury

K testování antimikrobiální účinnosti byly použity bakteriální kmeny *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* a *P. aeruginosa* (viz obr. 29–32) z České sbírky mikroorganismů. Na MPA agar byly kultivovány při 37 °C a 24 hodin zásobní bakteriální kultury. Z těchto kultur byla připravena bakteriální suspenze o výchozí koncentraci 1. stupně McFarlandovy stupnice. 1. stupeň McFarlandovy stupnice odpovídá koncentraci $3 \cdot 10^8$ CFU/ml. Bakteriální kultury byly uchovány v lednici při teplotě 2–5 °C a jednou za týden byly přeočkovány.



Obrázek 29. Bakteriální kultura – *E. coli*



Obrázek 30. Bakteriální kultura – *E. faecalis*



Obrázek 31. Bakteriální kultura – *P. aeruginosa*



Obrázek 32. Bakteriální kultura – *S. aureus*

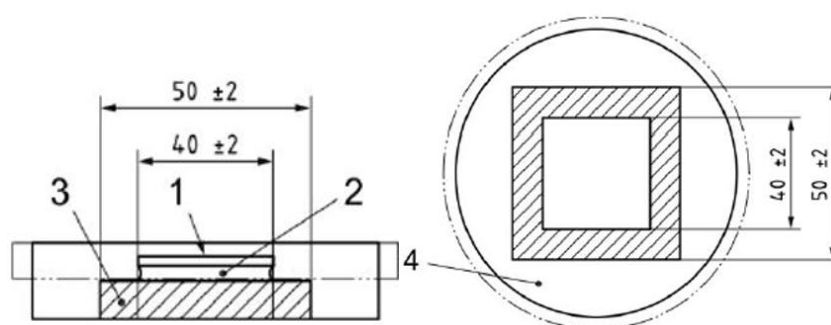
Tabulka 12. přehled použitých bakteriálních kmenů

Bakteriální kmen	Sbírkové číslo
<i>Enterococcus faecalis</i>	CCM 7930
<i>Escherichia coli</i>	CCM 4517
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CCM 3956
<i>Staphylococcus aureus</i>	CCM 2022

2.9.4. Stanovení antimikrobiální účinnosti epoxysterových nátěrů

Stanovení bylo provedeno dle normy ISO 22196:2011. Z předem připravené bakteriální kultury staré 24 hodin, bylo odebráno malé množství kultury a rozptýleno s 10 ml sterilní vody a 20 μ l MPB ve skleněné zkumavce. Z takto připravené suspenze byl připraven 1. stupeň McFarlandovy zákalové stupnice a z něj byla připravena koncentrační řada. Pro testování antimikrobiální účinnosti byla používaná bakteriální suspenze s koncentrací $3 \cdot 10^5$ CFU/ml.

Polyethylenové fólie s testovaným nátěrem o rozměru 5x5 cm byly vysterilizovány pod UV lampou po dobu 20 minut. Po sterilizaci byly fólie položeny na Petriho misku s MPA agarem nátěrem vzhůru a bylo aplikováno 400 μ l bakteriální suspenze o koncentraci $3 \cdot 10^5$ CFU/ml, tak aby bakteriální suspenze byla pouze na fólii a nepřetékala. Následně vzorky byly překryty polyethylenovou fólií o rozměrech 4x4 cm. Schéma uspořádání vzorku je znázorněno na obrázku 33. Krycí fólie byla předem vydezinfikována v 70 % ethanolu a před použitím byla usušena. Aby takto připravené vzorky nevyschly, byl na ně položen malý kousek navlhčené buničiny sterilní destilovanou vodou. Následovala 24hodinová inkubace při 37 °C. Pro každou bakterii byl vzorek testován dvakrát, a to i vzorek bez nátěru (čistá polyethylenová fólie).



Obrázek 33. Nákres uspořádání připraveného vzorku, převzato z normy ISO 2216:2011

1 – krycí fólie, 2 – inkulum, 3 – fólie s nátěrem, 4 – MPA, 5 – Petriho miska

Po uplynutí 24 hodin, byla ze vzorku odstraněna buničina i krycí fólie. Polyethylenová fólie s testovaným nátěrem byla pomocí pinzety přenesena na čistou Petriho misku s MPA agarem. Na tuto misku bylo přidáno 10 ml SCDLP a 9 ml fyziologického tlumivého roztoku. Tím to roztokem pomocí pipety byla fólie 4x promytá. Tlumivý fyziologický roztok byl připraven smícháním fyziologického roztoku s tlumivým roztokem v poměru 1:800.

Následně byl roztok dále ředěn, až do přípravy desetkrát zředěného roztoku bakteriální suspenze. Z takto připravené ředící řady byl z každé zkumavky odpipetován vždy 1 ml do prázdné Petriho misky a zalit GTK agarem o teplotě 45 °C. Krouživým pohybem byla miska promíchána. Po ztuhnutí byly misky vloženy do termostatu při 37 °C na dobu 48 hodin.

Po uplynutí inkubace byly odečteny narostlé kolonie. Vždy byla z deseti misek vybrána taková, která obsahovala 30-300 kolonií a ta byla spočítaná. Pomocí rovnic 5 a 6 byla spočítána antimikrobiální účinnost nátěrů a životaschopnost bakterií. Když na žádné misce nebyla narostlá ani jedna kolonie, do rovnice se dosadilo nejmenší ředění a počet kolonií 1. Pomocí hodnot antimikrobiální aktivity R, byla určena účinnost nátěru. Nátěr je antimikrobiálně účinný, pokud byla hodnota $R > 2$.

$$N = \frac{100 \cdot C \cdot D \cdot V}{A}$$

Rovnice 5. Výpočet životaschopných bakterií

N – počet životaschopných bakterií na cm², C – průměrný počet kolonií, D – hodnota ředění, V – objem SCDLP bujónu [ml], A – povrchová plocha krycí fólie [mm²]

$$R = U_t - A_t$$

Rovnice 6. Výpočet antimikrobiální aktivity

R – antimikrobiální aktivita, U_t – průměr logaritmické hodnoty životaschopných bakterií na fóliích bez nátěru, A_t – průměr logaritmické hodnoty životaschopných bakterií na fóliích s nátěrem

2.9.5. Stanovení antibakteriální účinnosti epoxyesteerových filmů obtiskovou metodou

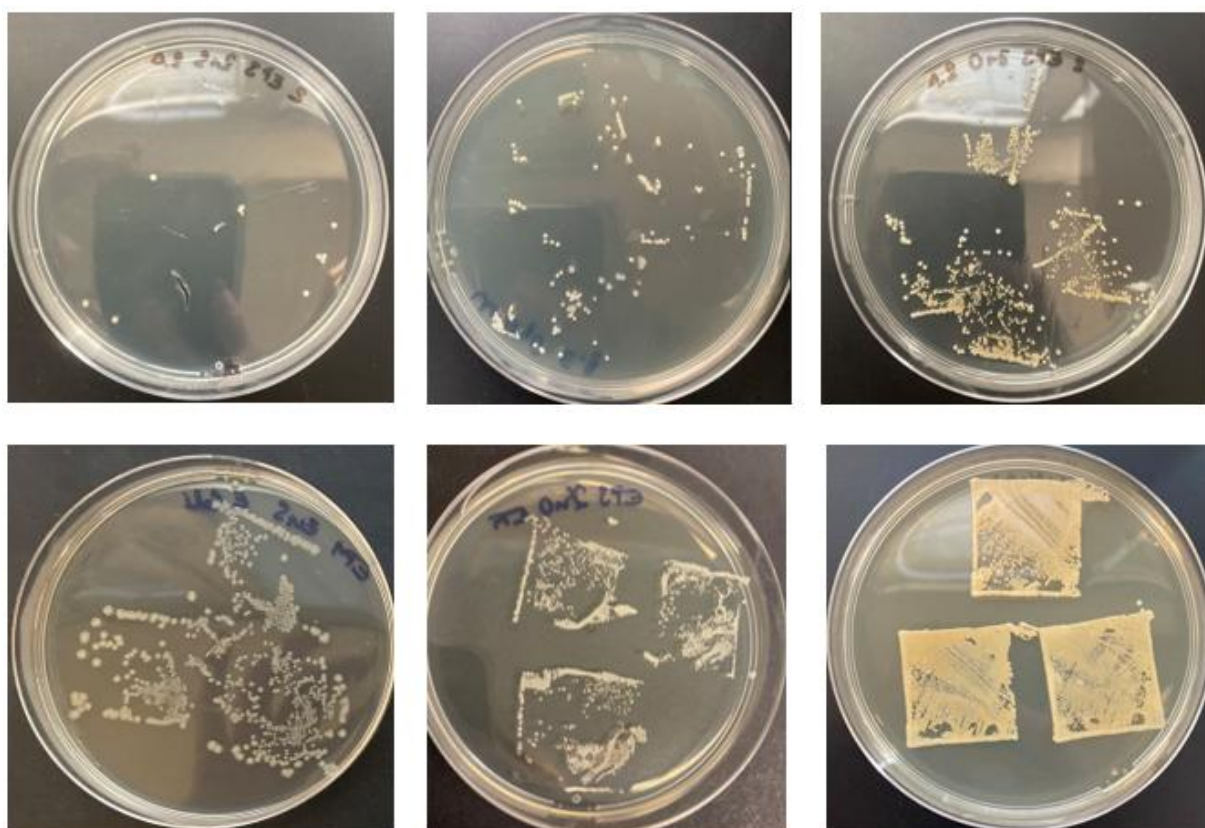
Testování antimikrobiální účinnosti obtiskovou metodou bylo provedeno dle normy 22196:2011. Pro práci je potřeba mít předem připravenou 24hodinovou bakteriální suspenzi, ze které bylo odebráno malé množství kultury, které bylo rozmícháno ve zkumavce s 10 ml sterilní vody a 20 µl MPB. Následně byl připraven roztok se zákalem 1. stupně McFarlandovy stupnice a z něj koncentrační řada. Pro práci byl použit roztok o koncentraci 3 · 10⁶ CFU/ml.

Zkušební nátěry ve formě volných filmů byly nastříhány na čtverce o velikosti 2,5x2,5 cm. Pro každý vzorek byly potřeba 3 na jednu bakterii. Čtverečky byly sterilizovány pod UV lampou po dobu 20 minut. Následně se po 3 vložily na Petriho misku s MPA agarem. 100 µl bakteriální suspenze o koncentraci 3·10⁶ CFU/ml, tak aby suspenze byla pouze na fólii a nepřetékala. Vzorky se přikryly vydezinfikovanou polyethylenovou fólií o rozměrech 2x2 cm. Dezinfekce byla provedená namočením krycích fólií do 70 % ethanolu a následným osušením. Nakonec na krycí fólii byla položena navlhčená buničina, aby nedocházelo k vysychání bakteriální suspenze. Takto připravené vzorky se nechaly inkubovat při 37 °C po dobu 24 hodin.

Po uplynutí inkubace byla odstraněná buničina i krycí fólie a každý čtverec s nátěrem byl třikrát obtisknut na novou Petriho misku s MPA agarem. Následně proběhla další inkubace 24 hodin při 37 °C. Po inkubaci se hodnotil nárůst kolonií tedy bakteriální kontaminace podle tabulky 13. Největší antimikrobiální účinnost měly vzorky s nejmenším počtem narostlých kolonií.

Tabulka 13. Hodnocení bakteriální kontaminace pomocí obtiskové metody (ISO 22196:2011)

Stupeň kontaminace	Vizuální hodnocení kontaminace
0	Není patrný žádný nárůst
1	Nárůst jednotlivých kolonií (odečitatelné množství)
2	Nárůst spojených kolonií (odečitatelné množství)
3	2. obtisk rozeznatelné kolonie, 3. obtisk odečitatelné množství
4	3. obtisk rozeznatelné kolonie
5	Nárůst souvislého filmu



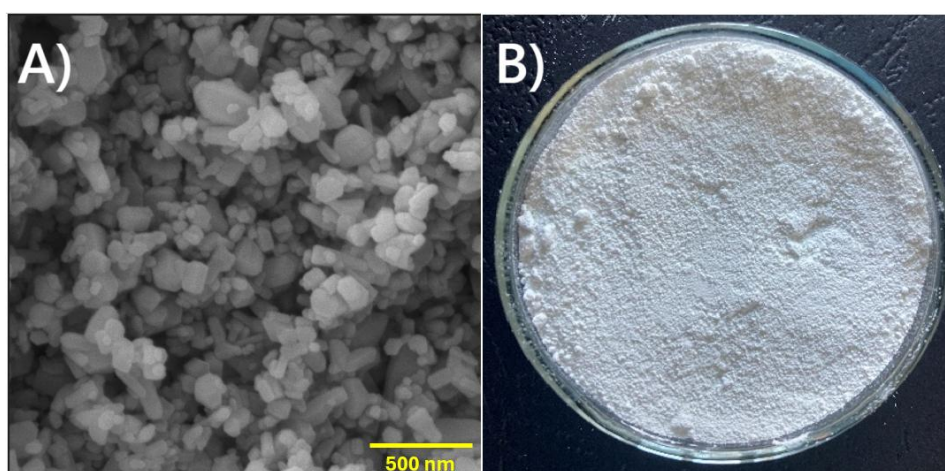
Obrázek 34. Stupně bakteriální kontaminace (seřazeno od stupně 0 po stupeň 5)

3. VÝSLEDKY A HODNOCENÍ

3.1. Charakterizace práškových materiálů

Tabulka 14. Pigment ZnO – hodnoty hustoty, KOKP a olejového čísla

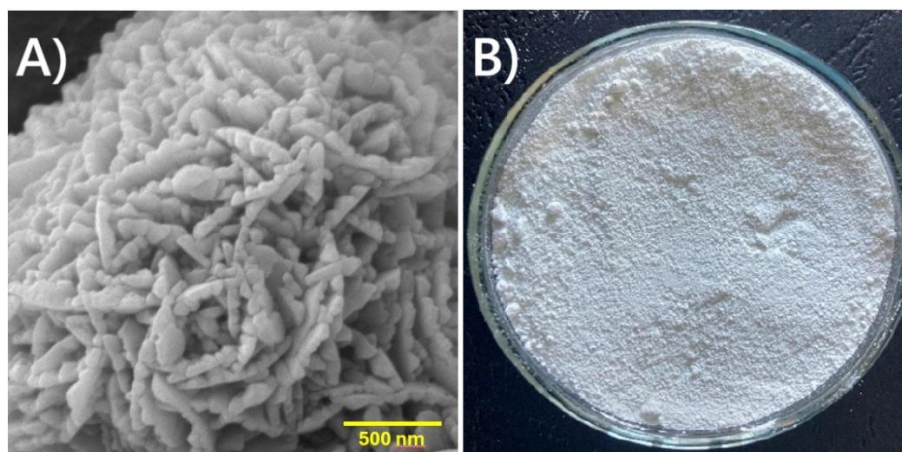
Oxid zinečnatý	
Chemický vzorec	ZnO
Hustota [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$]	5,54
KOKP	5,09
Olejové číslo [g/100 g]	16,20



Obrázek 35. Oxid zinečnatý a) mikrostruktura b) makrostruktura

Tabulka 15. Pigment ZnS – hodnoty hustoty, KOKP a olejového čísla

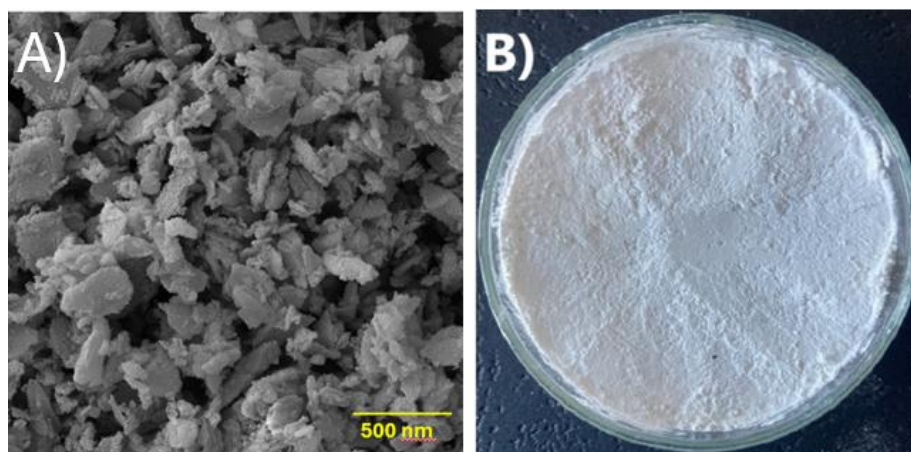
Sulfid zinečnatý	
Chemický vzorec	ZnS
Hustota [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$]	4,03
KOKP	60,77
Olejové číslo [g/100 g]	14,90



Obrázek 36. Sulfid zinečnatý a) mikrostruktura b) makrostruktura

Tabulka 16. Pigment MgO – hodnoty hustoty, KOKP a olejového čísla

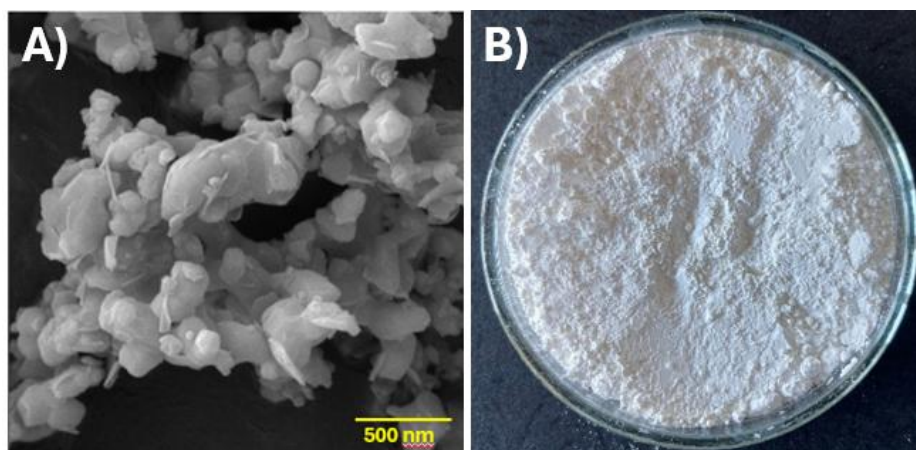
Oxid hořečnatý	
Chemický vzorec	MgO
Hustota [g·cm⁻³]	3,23
KOKP	36,31
Olejové číslo [g/100 g]	50,50



Obrázek 37. Oxid hořečnatý a) mikrostruktura b) makrostruktura

Tabulka 17. Funkční pigment TiO₂ – hodnoty hustoty, KOKP a olejového čísla

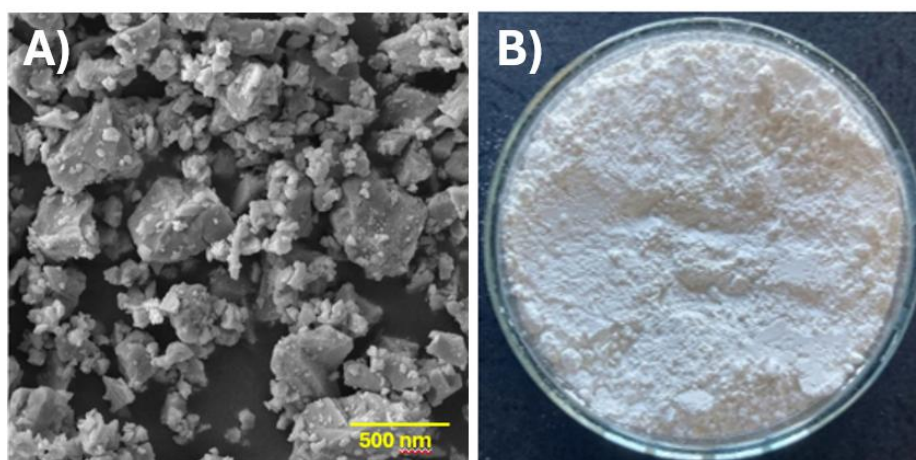
Oxid titaničitý	
Chemický vzorec	TiO ₂
Hustota [g·cm⁻³]	3,81
KOKP	51,16
Olejové číslo [g/100 g]	23,3



Obrázek 38. Oxid titaničitý a) mikrostruktura b) makrostruktura

Tabulka 18. Plnivo CaCO₃ – hodnoty hustoty, KOKP a olejového čísla

Uhličitan vápenatý	
Chemický vzorec	CaCO ₃
Hustota [g·cm⁻³]	2,69
KOKP	65,14
Olejové číslo [g/100 g]	18,50



Obrázek 39. Uhličitan vápenatý a) mikrostruktura b) makrostruktury

3.2. Stanovení obsahu sušiny v pojivové složce

Tabulka 19. Hodnoty stanovení sušiny epoxyesterových pryskyřic

Pojivo	Obsah sušiny [%]
EP1	65,30
EP2	64,86
EP3	63,05
EP4	65,01
Worlée Dur D46	62,07

* EP1-EP4 – epoxyesterové pryskyřice modifikované vybranými druhy mastných kyselin (TOFA, LOFA, Linol, Linol + 10% kyselina benzoová)

Worlée Dur D46 – komerční epoxyesterová pryskyřice (60% epoxid, 40% konjugované MK tungového oleje a ricinového oleje)

3.3. Fyzikální vlastnosti práškových materiálů

V této kapitole jsou uvedeny výsledky pH vodné suspenze a hodnoty měrné elektrické vodivosti anorganických pigmentů a plniv. Tyto veličiny byly měřeny ve vodných výluhů z práškových materiálů 7. 14. 21. a 28. den.

3.3.1. *Výsledky stanovení hodnoty pH vodné suspenze*

Tabulka 20. Výsledky stanovení pH z vodných výluhů anorganických pigmentů při OKP = 10 %, TiO₂ při OKP = 10 % a CaCO₃ při Q = 45%

Pigment	pH (odchylka ± 0,01)			
	7. den	14. den	21. den	28. den
ZnO	7,23	7,44	7,55	7,67
ZnS	7,57	7,66	7,68	7,84
MgO	10,76	10,76	10,98	11,00
TiO ₂	7,98	8,01	8,03	8,07
CaCO ₃	7,96	8,80	8,81	8,88
Red. voda	6,48	6,93	7,15	7,16
Destil. voda	7,13	7,45	7,46	7,59

3.3.2. Výsledky měření elektrické vodivosti vodné suspenze

Tabulka 21. Výsledky stanovení měrné elektrické vodivosti z vodných výluhů anorganických pigmentů při OKP = 10 %, TiO₂ při OKP = 10 % a CaCO₃ při Q = 45%

Měrná elektrická vodivost (odchylka ± 0,5 %)				
Pigment	7. den [μmS·cm ⁻¹]	14. den [μmS·cm ⁻¹]	21. den [μmS·cm ⁻¹]	28. den [μmS·cm ⁻¹]
ZnO	44,3	44,5	48,0	48,8
ZnS	77,3	78,4	79,0	79,8
MgO	47,4	48,3	50,6	54,0
TiO ₂	77,2	83,9	86,5	88,1
CaCO ₃	19,3	29,5	37,5	39,1
Red. voda	0,8	5,3	5,9	6,4
Destil. voda	6,0	7,6	8,2	8,2

3.4. Fyzikálně-mechanické vlastnosti nátěrových povlaků na skleněných panelech

V následujících tabulkách jsou uvedeny výsledky fyzikálně-mechanických vlastností nátěrových hmot na skleněných panelech. Stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěrového filmu, stupeň lesku, stanovení Buchholzovy vrypové zkoušky a stanovení chemické odolnosti vůči působení methyl(ethyl)ketonu. Všechny zkoušky byly prováděny 1., 3., 7., 14., 21., 28. a 60. den po natažení nátěrů na skleněné panely.

3.4.1. Výsledky stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěrových filmů kyvadlovým přístrojem

Tabulka 22/I. Hodnoty stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěrových filmů v závislosti na čase, DFT = 55 ± 10 μm

Relativní povrchová tvrdost (odchylka 0,5 %)								
Pojivo	Pigment	1.den [%]	3.den [%]	7.den [%]	14.den [%]	21.den [%]	28. den [%]	60.den [%]
EP1	ZnS	12,16	18,66	24,70	35,70	39,41	44,17	48,06
	ZnO	16,46	31,22	42,65	46,45	48,03	48,17	48,29
	MgO	15,72	30,98	42,53	51,47	53,20	53,30	60,92
EP2	ZnS	11,06	15,49	19,52	26,65	39,41	39,90	47,09
	ZnO	15,72	21,59	25,66	43,52	51,48	52,12	57,77
	MgO	16,22	20,24	25,06	35,94	47,04	48,45	51,21

Tabulka 23/II. Pokračování tabulky 22/I: Hodnoty stanovení relativní povrchové tvrdosti nátěrových filmů v závislosti na čase, DFT = 55 ± 10µm

EP3	ZnS	14,25	26,34	38,80	45,84	47,17	49,22	50,33
	ZnO	14,74	20,37	30,96	45,23	45,81	48,17	64,81
	MgO	15,23	20,24	26,27	39,61	47,66	48,90	54,85
EP4	ZnS	15,36	25,12	34,22	43,15	44,95	46,37	48,06
	ZnO	19,16	27,80	40,96	46,70	47,54	49,27	51,21
	MgO	21,87	34,63	46,02	48,90	49,38	49,88	50,51
Worleé	ZnS	9,21	14,27	20,00	28,12	30,17	36,79	37,19
	ZnO	10,32	18,05	25,42	32,89	34,11	37,16	40,29
	MgO	9,46	19,27	25,66	32,89	35,22	38,14	40,53

3.4.2. *Výsledky stanovení lesku nátěru*

V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty stupňů lesku nátěrových filmů při úhlech měření 20°, 60° a 85°.

Tabulka 24/I. Hodnoty lesku nátěrových filmů s obsahem modifikovaných epoxysterových pryskyřic, anorganickými pigmenty a CaCO₃ při Q = 45 %, DFT = 55 ± 10µm

		Stupeň lesku							
Pojivo	Pigment	Úhel	1.den	3.den	7.den	14.den	21.den	28.den	60.den
EP1	ZnS	20°	36,8	32,4	33,0	30,4	30,3	30,0	28,8
		60°	77,1	73,5	73,2	71,7	71,6	71,3	70,7
		85°	87,8	86,0	86,7	85,8	85,4	85,8	85,6
	ZnO	20°	13,3	13,1	13,0	12,4	12,4	12,0	11,8
		60°	52,4	52,3	51,9	51,3	51,3	50,8	50,0
		85°	71,3	71,0	71,1	71,0	70,8	70,2	69,9
	MgO	20°	79,1	78,3	79,2	76,2	76,2	76,4	74,0
		60°	96,5	96,4	96,4	95,4	95,1	95,2	94,2
		85°	95,5	95,9	95,2	95,7	95,1	94,8	95,0
EP2	ZnS	20°	71,5	67,1	65,3	64,7	64,2	62,2	62,1
		60°	92,7	90,2	90,0	89,7	89,2	88,2	88,5
		85°	94,8	94,5	94,7	94,5	94,3	93,7	93,8
	ZnO	20°	38,6	37,1	37,3	36,9	36,3	36,4	35,1
		60°	78,8	77,9	77,5	77,3	77,0	76,9	75,9
		85°	88,5	88,2	88,3	88,2	87,7	87,4	87,1
	MgO	20°	19,6	18,8	17,9	17,3	17,4	17,0	16,7
		60°	63,1	62,4	61,2	60,7	60,7	60,2	59,6
		85°	80,1	80,4	79,7	80,3	79,7	79,6	78,5

Tabulka 25/II. Pokračování tabulky 23/I: Hodnoty lesku nátěrových filmů s obsahem modifikovaných epoxyesterových pryskyřic, anorganickými pigmenty a CaCO₃ při Q = 45 %, DFT = 55 ± 10μm

EP3	ZnS	20°	40,5	39,0	67,8	37,0	35,9	35,8	35,2
		60°	80,7	80,1	78,4	78,0	77,3	77,2	76,3
		85°	88,0	84,6	87,5	86,8	86,8	86,4	86,1
	ZnO	20°	34,5	33,5	32,4	31,0	31,2	30,8	30,1
		60°	76,3	75,6	75,0	73,9	73,7	73,3	72,9
		85°	86,4	86,3	86,9	85,9	85,8	85,7	85,4
	MgO	20°	31,2	30,4	29,3	27,7	28,0	22,2	20,4
		60°	74,6	73,9	73,1	72,9	71,2	65,3	63,6
		85°	86,8	86,6	86,9	86,7	86,0	81,7	80,7
EP4	ZnS	20°	30,8	28,5	27,7	27,0	26,3	26,0	25,8
		60°	73,8	72,1	71,0	70,9	69,7	69,7	69,3
		85°	84,9	84,3	84,0	83,9	83,6	83,7	82,8
	ZnO	20°	14,3	13,4	13,1	12,6	12,4	12,3	11,9
		60°	54,7	53,7	53,2	52,1	51,9	51,7	51,1
		85°	72,8	73,5	72,6	71,9	72,2	72,3	71,3
	MgO	20°	13,8	12,2	11,5	11,3	11,1	10,8	10,5
		60°	55,0	51,8	50,7	50,1	49,8	48,8	48,2
		85°	75,7	73,9	73,5	73,0	73,1	72,3	72,4
Worleé	ZnS	20°	59,0	58,1	58,2	56,4	56,1	55,6	25,8
		60°	87,1	86,8	86,6	85,8	85,7	85,3	85,2
		85°	92,4	92,1	92,2	91,1	90,9	89,9	82,8
	ZnO	20°	47,2	47,9	47,5	45,9	45,7	45,3	11,9
		60°	81,4	81,9	81,6	80,8	80,5	80,4	79,5
		85°	89,5	89,7	89,7	89,1	88,8	88,3	71,3
	MgO	20°	44,8	44,2	43,2	41,0	40,8	39,4	10,5
		60°	81,6	81,9	80,1	79,5	79,6	78,5	76,5
		85°	88,8	88,5	88,2	87,8	87,3	87,3	72,4

3.4.3. *Vyhodnocení Buchholzovy vrypové zkoušky*

Tabulka 26/I. Hodnoty průměrných délek vrypů v nátěrových filmech, DFT = 55 ± 10μm

		Průměr vrypů						
Pojivo	Pigment	1.den [mm]	3.den [mm]	7.den [mm]	14.den [mm]	21.den [mm]	28. den [mm]	60.den [mm]
EP1	ZnS	2,33	1,82	1,66	1,37	1,20	1,16	1,03
	ZnO	2,69	1,64	1,25	1,14	1,05	0,97	0,84
	MgO	2,65	2,27	1,66	1,53	1,49	1,25	1,08
EP2	ZnS	2,41	2,25	2,10	1,87	1,44	1,28	1,13
	ZnO	2,29	2,01	1,82	1,59	1,40	1,21	1,17
	MgO	2,12	1,86	1,77	1,48	1,29	1,08	1,01

Tabulka 27/II. Pokračování tabulky 24/I: Hodnoty průměrných délek vrypů v nátěrových filmech, DFT = 55 ± 10μm

EP3	ZnS	2,66	1,96	1,50	1,24	1,21	1,09	0,99
	ZnO	2,14	2,02	1,90	1,60	1,50	1,19	0,92
	MgO	2,34	2,11	1,87	1,58	1,34	1,01	0,91
EP4	ZnS	2,17	1,92	1,89	1,67	1,38	1,27	1,07
	ZnO	2,25	1,94	1,88	1,49	1,39	1,17	1,00
	MgO	2,16	1,93	1,85	1,57	1,17	1,06	1,01
Worleé	ZnS	2,38	1,95	1,70	1,46	1,41	1,38	1,23
	ZnO	2,00	1,81	1,69	1,53	1,33	1,29	1,13
	MgO	1,99	1,87	1,76	1,59	1,51	1,34	1,16

3.4.4. *Výsledky MEK testu*

Tabulka 28. Výsledné hodnoty chemické odolnosti nátěrových filmů pigmentovaných anorganickými pigmenty s pojivem EP1 s obsahem CaCO₃ při Q =45 % vůči působení ethyl(methyl)ketonu, DFT = 55 ± 10μm

Pigment EP1	1. den		3. den		7. den		14. den		21. den		28.den		60. den	
	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]
ZnS	0	6	0	8	0	13	0	31	0	67	0	42	0	76
ZnO	0	4	0	7	0	9	0	17	0	31	0	41	0	42
MgO	0	5	0	11	0	13	0	22	0	54	0	55	0	56

Tabulka 29. Výsledné hodnoty chemické odolnosti nátěrových filmů pigmentovaných anorganickými pigmenty s pojivem EP2 s obsahem CaCO₃ při Q =45 % vůči působení ethyl(methyl)ketonu, DFT = 55 ± 10μm

Pigment EP2	1. den		3. den		7. den		14. den		21. den		28.den		60. den	
	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]
ZnS	0	6	0	12	0	12	0	24	0	53	0	74	0	77
ZnO	0	5	0	9	0	10	0	23	0	40	0	46	0	48
MgO	0	5	0	7	0	11	0	21	0	34	0	40	0	44

Tabulka 30. Výsledné hodnoty chemické odolnosti nátěrových filmů pigmentovaných anorganickými pigmenty s pojivem EP3 s obsahem CaCO₃ při Q =45 % vůči působení ethyl(methyl)ketonu, DFT = 55 ± 10μm

Pigment EP3	1. den		3. den		7. den		14. den		21. den		28.den		60. den	
	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]
ZnS	0	4	0	6	0	11	0	26	0	40	0	40	0	42
ZnO	0	6	0	10	0	12	0	21	0	43	0	56	0	70
MgO	0	12	0	7	0	11	0	18	0	44	0	43	0	46

Tabulka 31. Výsledné hodnoty chemické odolnosti nátěrových filmů pigmentovaných anorganickými pigmenty s pojivem EP1 s obsahem CaCO₃ při Q =45 % vůči působení ethyl(methyl)ketonu, DFT = 55 ± 10μm

Pigment EP4	1. den		3. den		7. den		14. den		21. den		28.den		60. den	
	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]
ZnS	0	5	0	7	0	10	0	19	0	40	0	46	0	47
ZnO	0	5	0	6	0	7	0	12	0	22	0	29	0	39
MgO	0	7	0	8	0	10	0	12	0	27	0	37	0	39

Tabulka 32. Výsledné hodnoty chemické odolnosti nátěrových filmů pigmentovaných anorganickými pigmenty s pojivem Worlée Dur D s obsahem CaCO₃ při Q =45 % vůči působení ethyl(methyl)ketonu, DFT = 55 ± 10μm

Pigment Worlée	1. den		3. den		7. den		14. den		21. den		28.den		60. den	
	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]	St.	Čas [s]
ZnS	0	25	0	50	0	49	0	62	0	64	0	65	0	78
ZnO	0	23	0	32	0	62	0	67	0	83	0	100	0	113
MgO	0	26	0	59	0	96	0	98	0	100	0	101	0	109

3.5. Mechanické zkoušky

3.5.1. Výsledky mřížkové zkoušky

Tabulka 33. Vyhodnocení mřížkové zkoušky u nátěrových filmů pigmentovaných anorganickými pigmenty při $OKP_{pig} = 10\%$ a s obsahem plniva při $Q = 45\%$, $DFT = 55 \pm 10\mu m$

Pojivo	Pigment	Stupeň poškození nátěru
EP1	ZnS	5
	ZnO	5
	MgO	3
EP2	ZnS	1
	ZnO	0
	MgO	0
EP3	ZnS	5
	ZnO	5
	MgO	1
EP4	ZnS	4
	ZnO	0
	MgO	2
Worleé	ZnS	5
	ZnO	5
	MgO	3

3.6. Hodnocení nátěrů vůči působení vodnému elektrolytu a puchýřovatení

3.6.1. Výsledky stanovení odolnosti nátěrového filmu vůči působení vodného roztoku elektrolytu v závislosti na pH

V následující tabulkách 31–33 jsou uvedeny výsledky odolnosti nátěrových filmů vůči působení vody při pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12. Vyhodnocení proběhlo po 120, 240 a 360 hodinách působení na nátěrový film. Hodnotily se puchýře v ploše nátěrového filmu a koroze v ploše panelu.

Tabulka 34. Hodnocení korozní odolnosti u nátěrových filmů pigmentovaných organickými pigmenty a s obsahem CaCO₃ při Q = 45 % v závislosti na čase v přítomnosti pufrů o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12 po 120 hodinách, DFT = 55±10μm

Pojivo	Pigment	Hodnocení odolnosti nátěrů v prostředí pufrů o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12 po 120 hodinách											
		Hodnocení puchýřů v ploše po 120 hodinách						Hodnocení koroze v ploše po 120 hodinách [%]					
		2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
EP1	ZnS	8MD	8F	8D	6MD	6F	6M	-	-	-	-	-	-
	ZnO	8MD	8MD	-	8M	8MD	8MD	-	1	-	0,1	0,3	0,3
	MgO	8F	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
EP2	ZnS	8F	8F	8MD	8MD	6M	6M	-	-	0,3	-	-	0,3
	ZnO	-	-	8MD	8MD	6M	8F	0,1	-	0,03	0,1	0,01	0,1
	MgO	8M	8F	-	-	6F	6F	10	3	0,1	1	3	3
EP3	ZnS	8D	8F	8M	8MD	6M	6MD	-	-	0,1	1	0,3	3
	ZnO	8M	-	-	8MD	6M	6M	0,1	-	0,03	0,1	-	-
	MgO	8M	8F	8F	8F	6M	6M	10	10	0,1	3	3	3
EP4	ZnS	8M	8F	8F	8F	8MD	6M	-	-	0,03	0,03	1	1
	ZnO	8F	8M	8F	8MD	8M	8M	10	-	0,1	0,3	0,1	0,03
	MgO	8F	8F	-	8F	6F	6F	33	16	0,03	1	1	1
Worlée	ZnS	8F	8F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ZnO	8F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MgO	8F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka 35. Hodnocení korozní odolnosti u nátěrových filmů pigmentovaných organickými pigmenty a s obsahem CaCO₃ při Q = 45 % v závislosti na čase v přítomnosti pufrů o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12 po 240 hodinách, DFT = 55±10μm

Pojivo	Pigment	Hodnocení odolnosti nátěrů v prostředí pufrů o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12 po 240 hodinách											
		Hodnocení puchýřů v ploše po 240 hodinách						Hodnocení koroze v ploše po 240 hodinách [%]					
		2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
EP1	ZnS	8MD	8F	8D	8D	6F	6M	-	0,1	0,1	3	10	10
	ZnO	8MD	8M	-	8M	8MD	8MD	3	0,3	0,03	1	3	3
	MgO	8F	8F	8F	-	-	8F	1	0,3	0,3	-	-	-
EP2	ZnS	8F	8F	8MD	8D	6M	6M	-	-	1	3	10	16
	ZnO	8F	8F	8MD	8D	6M	6F	0,1	0,03	0,3	1	10	10
	MgO	8D	6M	6F	6F	6F	6F	33	16	3	3	10	10
EP3	ZnS	8D	8M	8MD	8MD	6M	6MD	-	-	1	1	3	10
	ZnO	8F	8F	8F	8M	6M	6M	10	0,03	0,03	1	3	3
	MgO	8MD	8MD	8M	6F	6F	6F	50	33	10	16	16	33
EP4	ZnS	8F	8F	8F	8F	8MD	6M	-	0,3	0,1	1	16	10
	ZnO	8M	8F	8MD	8D	6F	6M	3	0,1	3	16	10	16
	MgO	8D	8D	8M	6F	6F	6F	50	50	0,1	16	10	3
Worlée	ZnS	8F	8F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ZnO	8F	-	8F	8F	-	-	-	-	-	-	-	-
	MgO	8MD	-	-	-	-	-	-	0,03	-	-	-	-

Tabulka 36. Hodnocení korozní odolnosti u nátěrových filmů pigmentovaných organickými pigmenty a s obsahem CaCO₃ při Q = 45 % v závislosti na čase v přítomnosti pufrů o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12 po 360 hodinách, DFT = 55±10μm

Pojivo	Pigment	Hodnocení odolnosti nátěrů v prostředí pufrů o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12 po 120 hodinách											
		Hodnocení puchýřů v ploše po 360 hodinách						Hodnocení koroze v ploše po 360 hodinách [%]					
		2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
	ZnS	8M	-	8D	8d	6F	6F	-	-	1	10	33	33
EP1	ZnO	6MD	8D	-	6F	6F	6F	1	0,03	-	0,3	3	10
	MgO	8F	8F	-	-	8F	8F	0,3	-	-	-	-	-
EP2	ZnS	8F	8F	8D	8MD	6M	6F	0,1	-	1	1	10	10
	ZnO	8F	8F	8M	8MD	6M	6F	-	-	3	0,3	33	50
	MgO	8F	8M	6F	6F	6M	6F	33	16	10	3	10	16
EP3	ZnS	8D	8F	8D	8D	6M	6M	-	-	3	10	16	33
	ZnO	6M	8F	8F	8M	6F	6F	0,3	0,1	0,1	1	16	10
	MgO	8M	8M	6M	6F	6F	6F	100	33	10	16	16	16
EP4	ZnS	8F	8F	8M	8F	8MD	6M	-	0,03	0,03	0,1	16	10
	ZnO	8M	8MD	8D	8D	8F	6M	3	0,3	3	3	10	16
	MgO	8D	8D	6F	6F	6F	6F	100	50	0,3	3	16	10
Worlée	ZnS	6F	8F	8F	-	8F	8F	-	0,03	-	-	-	-
	ZnO	8F	8F	-	-	8F	8F	-	-	-	-	-	-
	MgO	8MD	8F	-	-	8F	8F	-	-	-	-	-	-

3.6.2. Výsledky testování odolnosti nátěrů proti tvorbě puchýřků (Sandwich testu)

V tabulce 34. jsou uvedeny výsledky testování odolnosti epoxysterových nátěrů. Testování bylo provedeno metodou „Sandwich test“, u které se hodnotí vznik puchýřků, konkrétně jejich velikost a četnost.

Tabulka 37. Výsledné hodnoty korozní odolnosti nátěrového filmu na bázi epoxysterové pryskyřice vůči atmosféře, DFT = 55 ±10 μm.

Pojivo	Pigment	Expozice v atmosféře					
		Hodnocení po 24 hodinách		Hodnocení po 48 hodinách		Hodnocení po 120 hodinách	
		Puchýře	Koroze	Puchýře	Koroze	Puchýře	Koroze
EP1	ZnS	-	-	-	-	-	-
	ZnO	-	-	-	-	-	-
	MgO	_*	-	6MD	-	_*	-
EP2	ZnS	-	-	-	-	-	-
	ZnO	-	-	-	-	-	-
	MgO	-	-	_*	-	-	-
EP3	ZnS	_*	-	_*	-	_*	-
	ZnO	-	-	-	-	_*	-
	MgO	_*	-	_*	-	_*	-
EP4	ZnS	-	-	-	-	-	-
	ZnO	-	-	-	-	-	-
	MgO	-	-	4F	-	-	-
Worlée	ZnS	-	-	-	-	-	-
	ZnO	-	-	-	-	-	-
	MgO	-	-	-	-	_*	-

* - vrásnění

3.7. Výsledky mikrobiálních zkoušek

Tato kapitola zahrnuje výsledky mikrobiologických testů zaměřených na antimikrobiální účinnost nátěrových hmot. Účinnost byla hodnocena vůči bakteriím *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. K testování byly použity dvě metody. Volné filmy byly testovány pomocí obtiskové metody a nátěry na polyethylenových fóliích byly testovány na antimikrobiální účinnost dle normy ISO 22196:2011.

3.7.1. Výsledky stanovení antibakteriální účinnosti epoxysterových nátěrů dle normy ISO 22196:2011

V tabulkách 36–39 jsou uvedeny výsledky stanovení antimikrobiální účinnosti epoxysterových nátěrů pomocí záливové metody vůči *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* a *S. aureus*. Ve sloupci R je uvedena antimikrobiální účinnost nátěru. Zvýrazněné hodnoty značí antibakteriálně účinné nátěry.

Tabulka 38. Výsledky stanovení antibakteriální účinnosti nátěrových hmot na bázi epoxysterových pryskyřic pro bakterie *E. coli*

<i>Escherichia coli</i>						
Pojivo	Pigment	N [CFU/cm ²]	C	D	U _t	R
ZK		7,75·10 ⁸	243	10 ⁻⁵	8,94	-
EP1	ZnS	3,65·10 ⁷	146	10 ⁻⁴	7,56	1,38
	ZnO	2,08·10 ⁷	83	10 ⁻⁴	7,32	1,62
	MgO	1,60·10 ⁶	64	10 ⁻³	6,20	2,74
EP2	ZnS	3,60·10 ⁸	144	10 ⁻⁵	8,55	0,39
	ZnO	1,85·10 ⁶	74	10 ⁻³	6,27	2,67
	MgO	1,50·10 ⁸	60	10 ⁻⁵	8,18	0,76
EP3	ZnS	8,80·10 ⁶	352	10 ⁻³	6,94	2,00
	ZnO	3,50·10 ⁷	140	10 ⁻⁴	7,54	1,40
	MgO	3,58·10 ⁷	143	10 ⁻⁴	7,55	1,39
EP4	ZnS	3,43·10 ⁶	137	10 ⁻³	6,53	2,41
	ZnO	6,50·10 ⁷	260	10 ⁻⁴	7,81	1,13
	MgO	6,28·10 ⁷	251	10 ⁻⁴	7,80	1,14
Worlée	ZnS	8,75·10 ⁶	350	10 ⁻³	6,94	2,00
	ZnO	6,73·10 ⁷	269	10 ⁻⁴	7,83	1,11
	MgO	1,53·10 ⁶	61	10 ⁻³	6,18	2,76

Tabulka 39. Výsledky stanovení antibakteriální účinnosti nátěrových hmot na bázi epoxysterových pryskyřic pro bakterie *E. faecalis*

<i>Enterococcus faecalis</i>						
Pojivo	Pigment	N [CFU/cm ²]	C	D	U _t	R
ZK		$2 \cdot 10^8$	79	10^{-5}	8,30	-
EP1	ZnS	$2,75 \cdot 10^8$	110	10^{-5}	8,44	0,14
	ZnO	$7,50 \cdot 10^7$	300	10^{-4}	7,88	0,42
	MgO	$2,20 \cdot 10^7$	88	10^{-4}	7,34	0,96
EP2	ZnS	$2,80 \cdot 10^7$	112	10^{-4}	7,44	0,85
	ZnO	$1,55 \cdot 10^7$	62	10^{-4}	7,19	1,11
	MgO	$8,25 \cdot 10^7$	33	10^{-5}	7,92	0,38
EP3	ZnS	$1,80 \cdot 10^8$	72	10^{-5}	8,25	0,05
	ZnO	$1,10 \cdot 10^8$	44	10^{-5}	8,04	0,26
	MgO	$1,90 \cdot 10^8$	76	10^{-5}	8,28	0,02
EP4	ZnS	$2,73 \cdot 10^5$	109	10^{-2}	5,43	2,87
	ZnO	$6,03 \cdot 10^6$	241	10^{-3}	6,78	1,52
	MgO	$8,75 \cdot 10^6$	35	10^{-4}	6,94	1,36
Worlée	ZnS	$1,33 \cdot 10^8$	53	10^{-5}	8,12	0,18
	ZnO	$9,25 \cdot 10^5$	37	10^{-3}	5,97	2,33
	MgO	$2,43 \cdot 10^7$	97	10^{-4}	7,38	0,92

Tabulka 40. Výsledky stanovení antibakteriální účinnosti nátěrových hmot na bázi epoxysterových pryskyřic pro bakterie *P. aeruginosa*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>						
Pojivo	Pigment	N [CFU/cm ²]	C	D	U _t	R
ZK		3,03·10 ⁸	121	10 ⁻⁵	8,48	-
EP1	ZnS	1,63·10 ⁸	65	10 ⁻⁵	8,21	0,27
	ZnO	1,67·10 ⁶	67	10 ⁻³	6,22	2,26
	MgO	1,93·10 ⁷	77	10 ⁻⁴	7,28	1,2
EP2	ZnS	7,18·10 ⁶	287	10 ⁻³	6,86	1,62
	ZnO	9,75·10 ⁷	39	10 ⁻⁵	7,98	0,5
	MgO	1,00·10 ⁸	40	10 ⁻⁵	8,00	0,48
EP3	ZnS	6,68·10 ⁵	267	10 ⁻²	5,82	2,26
	ZnO	9,25·10 ⁴	37	10 ⁻²	4,97	3,51
	MgO	7,50·10 ⁷	30	10 ⁻⁵	7,88	0,60
EP4	ZnS	8,40·10 ⁶	336	10 ⁻³	6,92	1,55
	ZnO	1,40·10 ⁵	56	10 ⁻²	5,15	3,83
	MgO	4,50·10 ⁷	180	10 ⁻⁴	7,65	0,83
Worlée	ZnS	1,13·10 ⁶	45	10 ⁻³	6,05	2,43
	ZnO	6,13·10 ⁶	245	10 ⁻³	6,79	1,69
	MgO	2,68·10 ⁸	82	10 ⁻⁵	8,43	0,05

Tabulka 41. Výsledky stanovení antibakteriální účinnosti nátěrových hmot na bázi epoxysterových pryskyřic pro bakterie *S. aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>						
Pojivo	Pigment	N [CFU/cm ²]	C	D	U _t	R
ZK		17·10 ⁸	68	10 ⁻⁶	9,23	-
EP1	ZnS	1,33·10 ⁸	53	10 ⁻⁵	8,12	1,11
	ZnO	1,43·10 ⁷	57	10 ⁻⁴	7,15	2,08
	MgO	1,63·10 ⁸	65	10 ⁻⁵	8,21	1,01
EP2	ZnS	5,30·10 ⁷	212	10 ⁻⁴	7,72	1,51
	ZnO	3,58·10 ⁶	143	10 ⁻³	6,55	2,68
	MgO	2,63·10 ⁸	105	10 ⁻⁵	8,42	0,81
EP3	ZnS	2,10·10 ⁸	83	10 ⁻⁵	8,32	0,91
	ZnO	1,63·10 ⁷	65	10 ⁻⁴	7,21	2,02
	MgO	2,58·10 ⁸	103	10 ⁻⁵	8,41	0,82
EP4	ZnS	3,20·10 ⁷	128	10 ⁻⁴	7,50	1,72
	ZnO	1,55·10 ⁷	62	10 ⁻⁴	7,19	2,04
	MgO	7,48·10 ⁷	299	10 ⁻⁴	7,87	1,36
Worlée	ZnS	7,80·10 ⁷	312	10 ⁻⁴	7,90	1,33
	ZnO	9,18·10 ⁸	367	10 ⁻⁵	8,96	0,27
	MgO	1,10·10 ⁹	44	10 ⁻⁶	9,04	0,19

3.7.2. Výsledky stanovení antimikrobiální účinnosti epoxysterových filmů obtiskovou metodou

V této kapitole jsou uvedeny výsledky stanovení antibakteriální účinnosti epoxysterových volných filmů pomocí obtiskové metody pro bakterie *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* a *S. aureus*. Hodnocen byl stupeň kontaminace (viz tabulka č. 13), který byl zprůměrován. Hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 40-43.

Tabulka 42. Stupeň bakteriální kontaminace obtiskovou metodou na volných filmech na bázi epoxyesterové pryskyřice pro bakterii *E. coli*

<i>Escherichia coli</i>					
Pojivo	Pigment	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Průměr
ZK		5	5	5	5
EP1	ZnS	4	3	4	4
	ZnO	4	5	5	5
	MgO	5	4	5	5
EP2	ZnS	4	4	4	4
	ZnO	4	5	5	5
	MgO	5	4	5	5
EP3	ZnS	5	4	4	4
	ZnO	4	5	5	5
	MgO	5	4	5	5
EP4	ZnS	5	5	4	5
	ZnO	5	4	5	5
	MgO	4	5	5	5
Worlée	ZnS	5	5	5	5
	ZnO	5	4	3	4
	MgO	5	5	4	5

Tabulka 43. Stupeň bakteriální kontaminace obtiskovou metodou na volných filmech na bázi epoxyesterové pryskyřice pro bakterii *E. faecalis*

<i>Enterococcus faecalis</i>					
Pojivo	Pigment	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Průměr
ZK		5	5	4	5
EP1	ZnS	4	4	5	4
	ZnO	4	4	4	4
	MgO	5	4	5	5
EP2	ZnS	5	4	4	4
	ZnO	5	5	5	5
	MgO	5	5	5	5
EP3	ZnS	4	3	3	3
	ZnO	3	3	4	3
	MgO	4	5	4	4
EP4	ZnS	5	4	2	4
	ZnO	4	2	4	3
	MgO	4	4	5	4
Worlée	ZnS	4	4	4	4
	ZnO	4	3	2	3
	MgO	5	4	2	4

Tabulka 44. Stupeň bakteriální kontaminace obtiskovou metodou na volných filmech na bázi epoxyesterové pryskyřice pro bakterii *P. aeruginosa*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					
Pojivo	Pigment	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Průměr
ZK		5	5	5	5
EP1	ZnS	5	5	4	5
	ZnO	5	5	5	5
	MgO	5	5	4	5
EP2	ZnS	5	4	5	5
	ZnO	5	5	4	5
	MgO	5	4	4	4
EP3	ZnS	5	5	5	5
	ZnO	5	5	5	5
	MgO	5	5	5	5
EP4	ZnS	5	4	5	5
	ZnO	5	5	5	5
	MgO	5	5	5	5
Worlée	ZnS	5	5	4	5
	ZnO	5	5	5	5
	MgO	5	5	4	5

Tabulka 45. Stupeň bakteriální kontaminace obtiskovou metodou na volných filmech na bázi epoxyesterové pryskyřice pro bakterii *S. aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>					
Pojivo	Pigment	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Průměr
ZK		5	5	5	5
EP1	ZnS	5	5	5	5
	ZnO	4	5	4	4
	MgO	4	5	4	4
EP2	ZnS	5	5	5	5
	ZnO	5	5	5	5
	MgO	5	5	3	4
EP3	ZnS	5	4	4	4
	ZnO	4	2	4	3
	MgO	5	5	5	5
EP4	ZnS	4	4	4	4
	ZnO	5	5	4	5
	MgO	5	4	5	5
Worlée	ZnS	5	5	5	5
	ZnO	4	5	4	4
	MgO	5	5	4	5

4. DISKUZE K MECHANICKÝM A ANTIKOROZNÍM VLASTNOSTEM NÁTĚROVÝCH HMOT

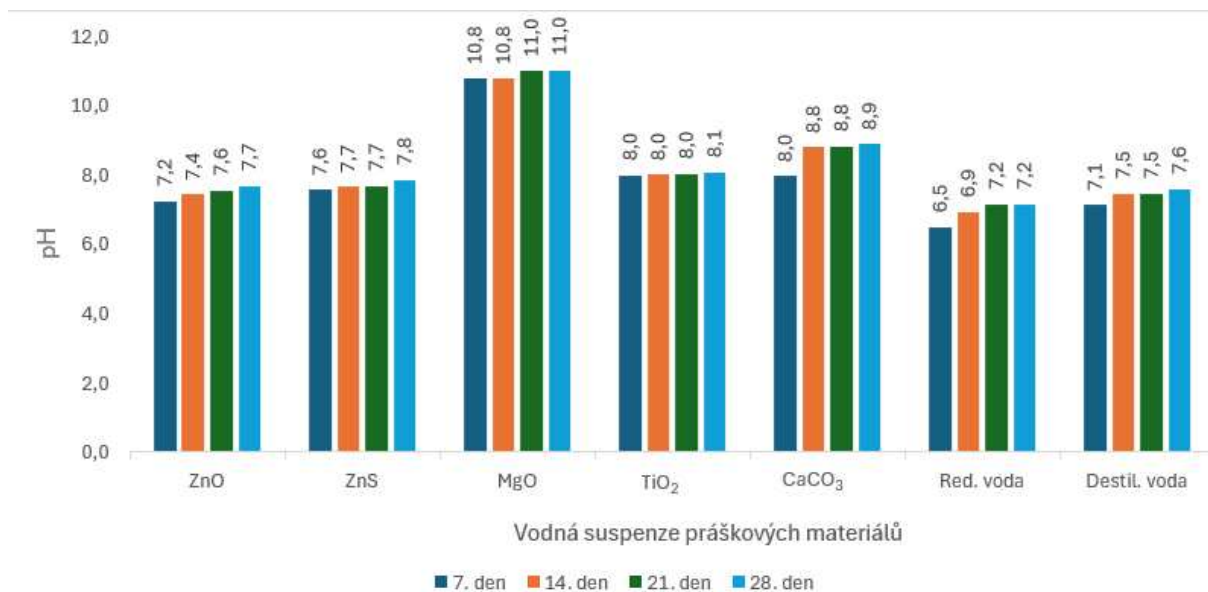
4.1. Zhodnocení fyzikálně-chemických vlastností práškových materiálů a pojiva

V úvodní části práce byla provedena základní charakterizace studovaných pigmentů, zahrnující stanovení olejového čísla a měrné hmotnosti. Na základě těchto parametrů byla následně vypočtena hodnota kritické objemové koncentrace pigmentu (KOKP), která je nezbytná pro sestavení formulací nátěrových hmot. Hustota se pohybovala v rozmezí 2,69-5,54 g·cm⁻³ a výsledky naměřených hodnot korespondovaly s hodnotami od výrobce což svědčí o čistotě pigmentu.

U anorganických pigmentů byly hodnoty olejového čísla v rozmezí 14,9–50,5 g/100 g pigmentu. Nejvyšší hodnoty olejového čísla byly naměřeny u pigmentu MgO. Naopak nejnižší hodnoty olejového čísla byly naměřeny u pigmentu ZnS a to 14,9 g/100 g.

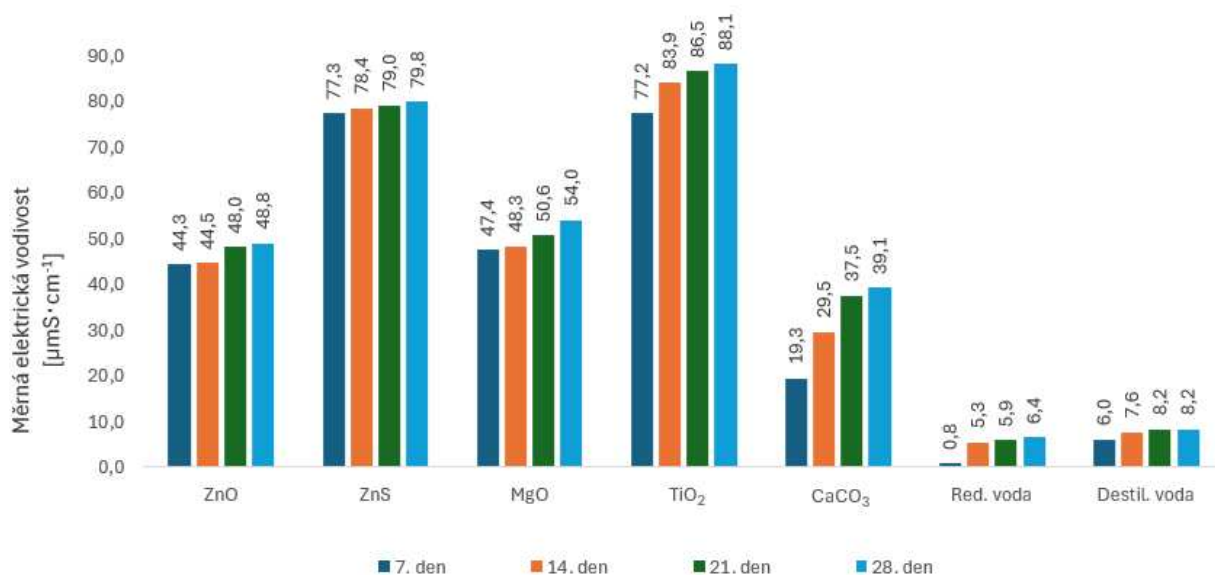
Podle postupu v kapitole 2.6. byly připraveny vodné suspenze z práškových materiálů, ze kterých byly změřené hodnoty pH a elektrická vodivost suspenze. Hodnoty pH výluhů z pigmentů poskytují důležité informace o jejich chemické povaze a možném vlivu na stabilitu nátěrových hmot. Výsledky těchto měření jsou uvedeny v tabulkách 20 a 21. Hodnoty pH i měrné elektrické vodivosti byly měřeny pravidelně po 7 dnech po dobu 28 dní.

U všech připravených suspenzí hodnota pH v čase mírně stoupala (viz obr. 40), což může znamenat pozvolné uvolňování zásaditých složek z pigmentu do roztoku nebo probíhající chemické reakce. Pokud by pH kolísalo, znamenalo by to nerovnoměrné uvolňování látek z pigmentu nebo nestabilitu v systému. Všechny připravené suspenze vykazovaly neutrální až mírně alkalické pH v rozmezí 7,13–8,88. Kromě pigmentu MgO, který byl značně alkalický a byly zde hodnoty 10,76–11,00. pH značí přítomnost zásaditých složek, které mohou ovlivňovat interakci mezi pigmentem a pojivem.



Obrázek 40. Přehled hodnot stanovení pH vodné suspenze

Hodnota měrné elektrické vodivosti vodné suspenze především na chemickém složení pigmentu a na množství rozpustných látek. Obecně tedy platí, čím je vyšší obsah rozpustných složek v pigmentu, tím vyšší bývá i výsledná měrná elektrická vodivost suspenze. Nejvyšší hodnoty vykazovaly pigment ZnS a TiO₂ a to ZnS 77,3-79,8 a TiO₂ 77,2-86,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. V průběhu měření docházelo ke vzrůstu hodnot měrné elektrické vodivosti u všech pigmentů viz obr. 41. Vzrůst hodnot může značit pozvolné rozpouštění pigmentu. Dané pigmenty měly optimální hodnoty vodivosti a jsou tedy vhodné k použití do nátěrových hmot.

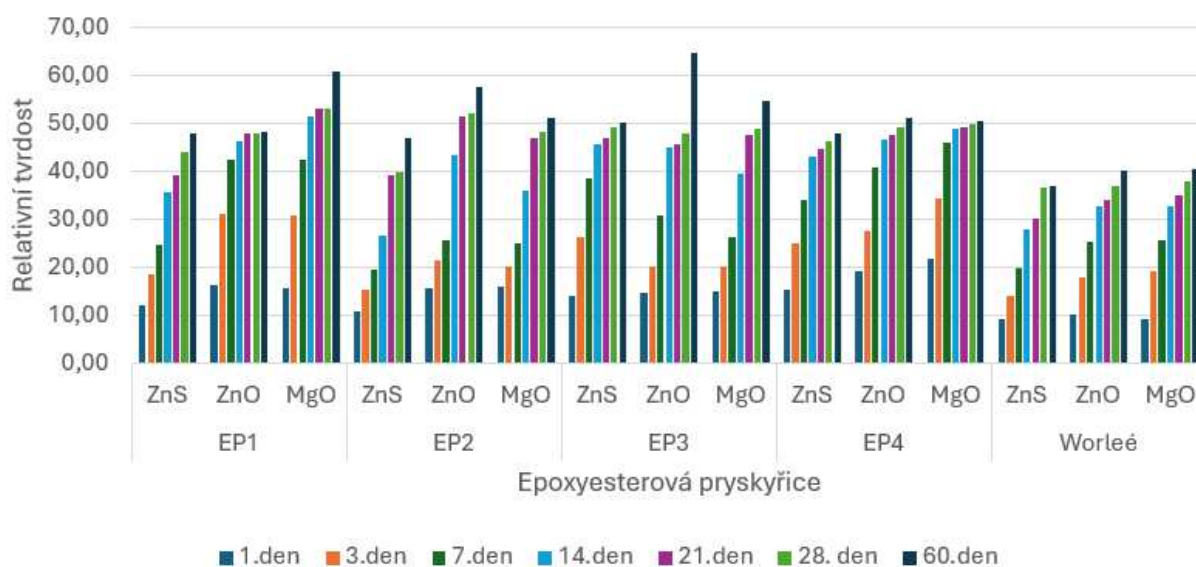


Obrázek 41. Přehled hodnot měrné elektrické vodivosti vodné suspenze

4.2. Zhodnocení fyzikálně-mechanických vlastností nátěrových filmů na skleněných panelech

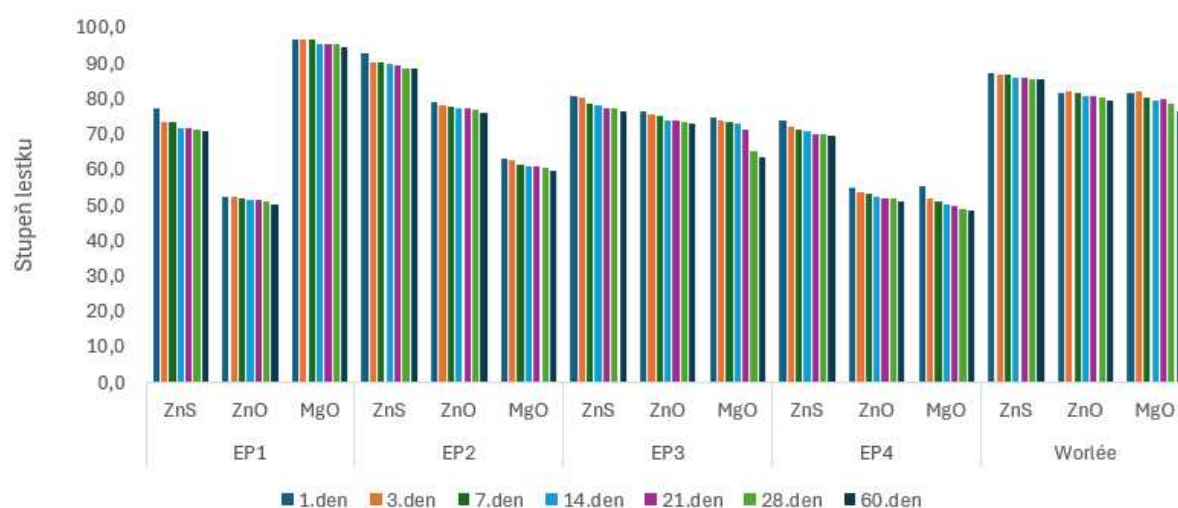
Testování fyzikálně-mechanických vlastností bylo provedeno na nátěrových hmotách aplikovaných na skleněných panelech o DFT $55 \pm 10 \mu\text{m}$. Hodnoceny byly následující parametry: relativní povrchová tvrdost nátěrového filmu, Buccholzova vrypová zkouška pro stanovení tvrdosti nátěru a chemická odolnost vůči MEK (methyl(ethyl)ketonu). Vyhodnocení jednotlivých zkoušek probíhalo v časových intervalech po 1., 3., 7., 14., 21., 28. a 60. dni od aplikace nátěru.

Relativní povrchová tvrdost byla měřena pomocí kyvadlového přístroje Persoz. Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 9,21-64,81 %, přičemž s rostoucím časem docházelo ke zvyšování tvrdosti nátěrového filmu. Tento trend odpovídá procesu postupného vytvrzování nátěru, během něhož dochází ke zvýšení jeho mechanické odolnosti. Pokud by naopak v čase docházelo k poklesu tvrdosti, mohlo by to poukazovat na přítomnost vnitřního defektu systému. Na obrázku 42 je znázorněn graf, na kterém je vidět nárůst relativní povrchové tvrdosti v čase. Nejvýraznější nárůst byl pozorován mezi 1. až 14. dnem měření. Nejvyšší hodnoty relativní povrchové tvrdosti dosáhl nátěrový film EP3 s obsahem pigmentu ZnO a to 72 % (60. den měření) a vykazoval největší křehkost a tvrdost. Naopak nejnižší hodnoty relativní povrchové tvrdosti vykazovaly nátěrové hmoty obsahující pojivo Worlée s to v rozmezí 35,19-40,53 % (60. den měření) a vykazovaly větší flexibilitu a pružnost.



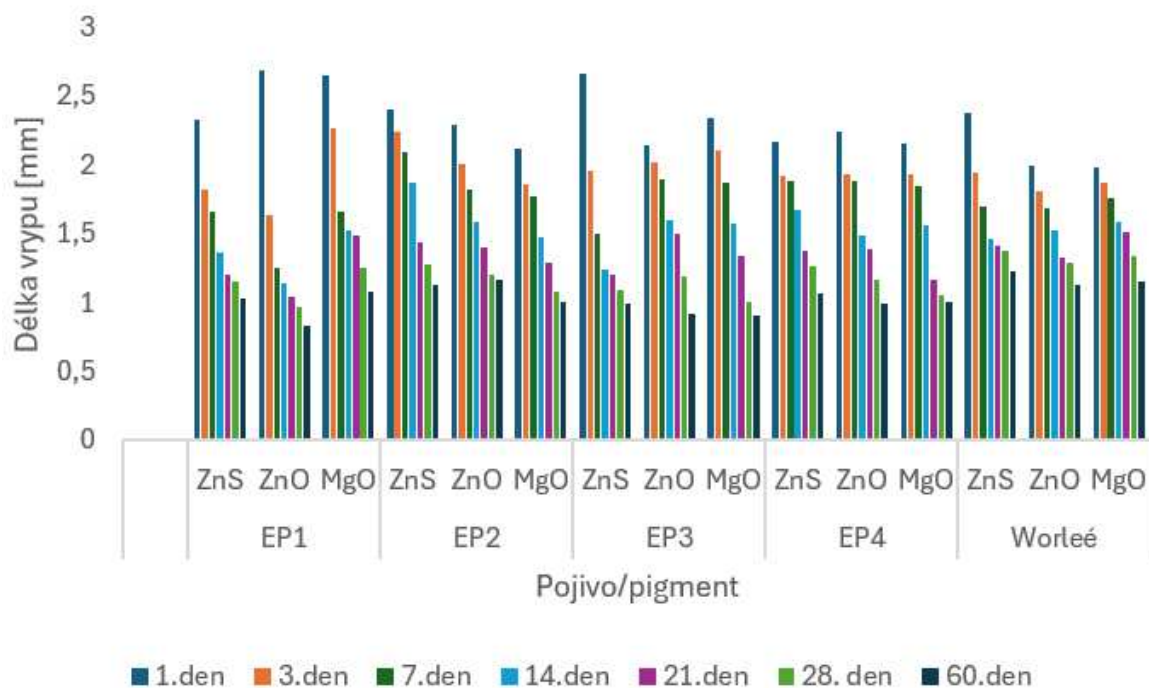
Obrázek 42. Přehled relativní povrchové tvrdosti nátěrových hmot na bázi epoxyesterové pryskyřice

Lesk nátěrových filmů byl měřen pod úhly 20°, 60° a 85°. Na obrázku 46. je znázorněn graf zobrazující hodnoty lesku všech připravených nátěrových hmot měřených při úhlu 60°. Úhel 60° se používá pro středně lesklé filmy. Z grafu na obrázku 43 je patrné, že ve všech případech docházelo v průběhu času k poklesu hodnot lesku, které se pohybovaly v rozmezí 48,2-94,2 jednotek (při 60°). Mírný pokles poukazuje na zasychání nátěru a svědčí o stabilitě pigmentu, avšak výraznější snížení hodnot by mohlo indikovat degradační procesy v nátěrové hmotě. Nejvyšších hodnot lesku dosáhl vzorek EP1 s obsahem pigmentu MgO a vzorek EP2 s obsahem pigmentu ZnS a to s hodnotami 94,2 a 88,2. Podle tabulky 6 se jedná o vysoce lesklé povrchy. Naopak nejnižší hodnoty byly zaznamenány u vzorků EP1 s pigmentem ZnO a EP4 s obsahem pigmentů ZnO a MgO, kde byly naměřeny hodnoty 50,0; 51,1 a 48,2. Tyto hodnoty odpovídají středně lesklým povrchům nátěrů.



Obrázek 43. Vývoj stupně lesku v závislosti na čase

Nátěrové filmy o DFT = 55 ± 10 μm aplikované na skleněných panelech byly testovány na odolnost proti vrypu za pomoci Buchholzova vrypového zařízení. Zkouška byla provedena podle metody popsané v kapitole 2.8.2. Délka vrypu nátěrového filmu byla měřena 1., 3., 7., 14., 21., 28. a 60. den od aplikování na skleněný podklad. U všech testovaných povlaků s odstupem času docházelo ke snižování délky vrypu (viz obr. 44) v důsledku postupného vytvrzování pojiva. Výsledky jednotlivých vrypů jsou uvedeny v tabulce 24.



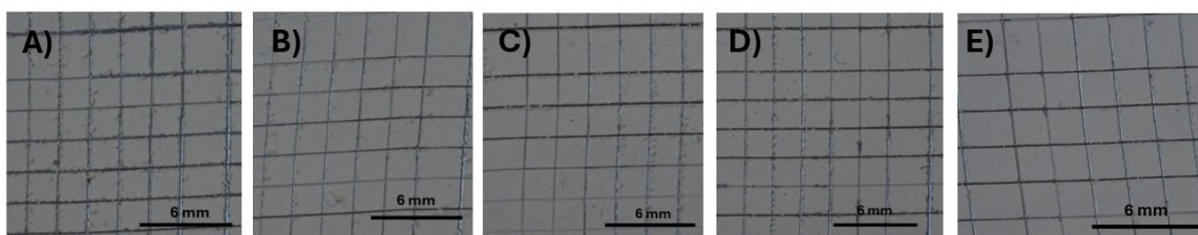
Obrázek 44. Délka vrypů v závislosti na čase

Hodnoty délky vrypů se pohybovaly v rozmezí 0,91–2,69 mm. V 1., 3. a 7. dni se délky vrypů pohybovaly kolem 2 mm, zatímco od 14. dne se hodnoty postupně snižovaly a dosahovaly přibližně 1 mm. U nátěrů s pojivem EP3 byly 60. den naměřeny nejmenší délky vrypů, pohybující se v rozmezí 0,91–0,99 mm, což odpovídá nejvyšší tvrdosti a zároveň zvýšené křehkosti nátěru. Naopak nejvyšší hodnoty délky vrypů byly zaznamenány u nátěrů s pojivem Worlée, a to v rozmezí 1,13–1,23 mm. Tyto hodnoty svědčí o vyšší flexibilitě a pružnosti povlaku. Naměřené délky vrypů korelují s výsledky měření tvrdosti, kdy kratší vrypy odpovídají vyšší tvrdosti a delší vrypy indikují nižší tvrdost a vyšší pružnost materiálu.

Odolnost vůči methyl(ethyl)ketonu (MEK) byla hodnocena na nátěrových filmech o tloušťce $55 \pm 10 \mu\text{m}$ aplikovaných na skleněných panelech dle metody uvedené v kapitole 2.8.6., a to po dobu 60. dnů. U všech testovaných vzorků došlo během zkoušky k prodření filmu až na podklad, a proto byly klasifikovány stupněm 0. Doba, za kterou byl MEK schopen poškodit povrch nátěru, se však postupně prodlužovala, což souvisí s vytvrzováním nátěrové hmoty v čase. Nejvýraznější nárůst odolnosti byl zaznamenán mezi 7. a 21. dnem měření. Ke dni 60. se časy do poškození pohybovaly v rozmezí 39–113 sekund, což ukazuje na zlepšení chemické odolnosti filmu.

4.3. Zhodnocení mechanické zkoušky na ocelových panelech

Nátěrové hmoty o DFT = 55 ± 10 μm aplikované na ocelové panely byly podrobeny testu přílnavosti za pomoci mřížkové zkoušky. Test byl proveden podle postupu v kapitole 2.8.5. Anorganické povlaky s obsahem epoxyesterové pryskyřice a modifikací TOFA vykazovala při tomto testu nízkou odolnost vůči praskání i odlupování a byly tedy hodnoceny stupněm poškození 5. Výsledky tedy korespondovaly s výsledky tvrdosti a Buchholzovy zkoušky a byly tvrdé, proto praskaly. Poškozená plocha přesáhla více než 65 %. Naopak vysokou odolnost vykazovaly nátěry s obsahem epoxyesterové pryskyřice modifikace LOFA (EP2) a anorganickými pigmenty ZnS, ZnO a MgO, ty byly hodnoceny stupněm poškození 1, což značí o pružnosti filmu. Poškozená plocha nepřesáhla 5 %. Stejně tak byly odolné nátěrové hmoty s obsahem epoxyesterové pryskyřice modifikované linolem (EP3) a pigmentem MgO a nátěr s obsahem epoxyesterové pryskyřice modifikované linolem a kys. benzoovou (EP4) a pigmentem ZnO.



Obrázek 45. Mřížky nátěrových filmů s A) EP2 ZnS B) EP2 ZnO C) EP2 MgO D) EP3 MgO E) EP4 ZnO

4.4. Zhodnocení nátěrů vůči působení vodnému elektrolytu a puchýřkovatění

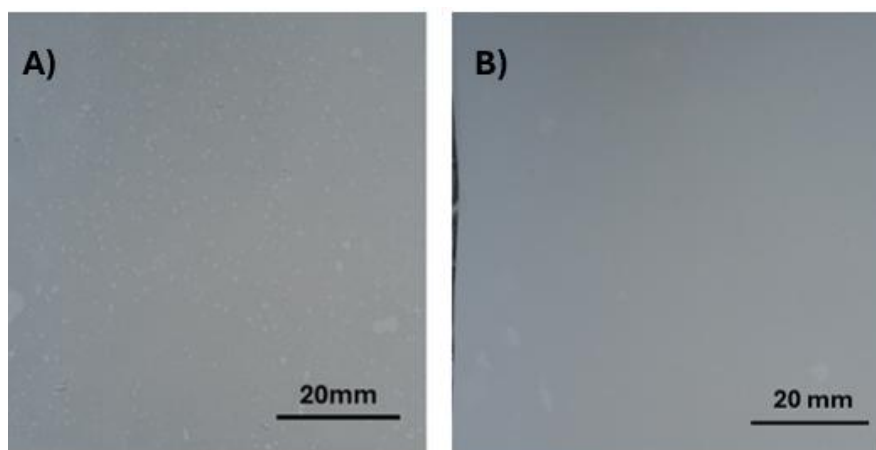
Odolnost nátěrového filmu vůči působení korozního prostředí různého pH byla hodnocena na vzorcích s tloušťkou 55 ± 10 μm aplikovaných na ocelových panelech dle metody popsané v kapitole 2.8.7. Hodnocení panelů probíhalo po 120, 240 a 360 hodinách, kdy na nátěrové filmy působily pufrы o pH = 2, 4, 6, 8, 10 a 12. Výsledky jednotlivých měření jsou uvedeny v tabulkách 31–33.

Pigmenty byly zásaditého charakteru a vykazovaly vyšší stabilitu v zásaditém prostředí, a naopak nižší stabilitu v alkalickém prostředí. Nejvyšší odolnost vůči působení pufru vykazovaly nátěrové hmota EP1 s pigmentem MgO a Worlée s pigmenty ZnS, ZnO a MgO. U těchto vzorků byly pozorovány pouze drobné puchýřky stupně 8F, a to výhradně v kyselém prostředí (pH 2 a 4). V alkalické oblasti (pH 8-12) nebyla tvorba puchýřků zaznamenána a rovněž nebyly pozorovány známky koroze. Naopak nejnižší odolnost vykazovaly nátěrové hmoty s pojivy EP3 a EP4. V kyselém prostředí se u těchto vzorků objevily rozsáhlejší puchýřky hodnocené stupněm 8MD, zatím co v zásadité oblasti byly hodnoceny jako 6M.

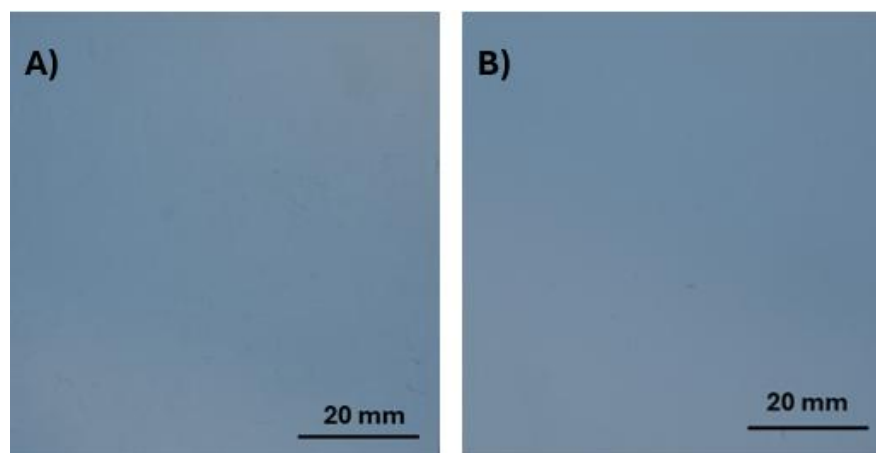
Kromě tvorby puchýřků byla v kyselém prostředí zaznamenána také koroze podkladu, a to až do rozsahu 50 %.

Odolnost vůči vlhkému prostředí byla hodnocena na vzorcích s tloušťkou = 55 ± 10 μm aplikovaných na ocelových panelech dle metody popsané v kapitole 2.8.8. Zkoušky probíhaly za podmínek 100% relativní vlhkosti vzduchu při teplotě 40 °C a hodnocení bylo prováděno po 24, 48 a 120 hodinách. Výsledky jsou u vedeny v tabulce 34.

Během testování nebyla u žádného ze vzorků zaznamenána koroze v ploše ani podkorodování. Výjimku tvořily nátěry EP1 a EP4 s pigmentem MgO, u nichž byly po 48 hodinách pozorovány puchýřky stupně 6MD a 4F (viz obr. 46). Po 120 hodinách se u vzorku EP1 s pigmentem MgO vyskytlo pouze mírné zvrásnění nátěru, zatímco u nátěru EP4 již puchýřky pozorovány nebyly (viz obr. 47). U nátěrových hmot s pojivem EP3 bylo již po 24 hodinách pozorované vrásnění nátěrového filmu, přetrvávající i po 120 hodinách.



Obrázek 46. Tvorba puchýřků po 48 hodinách A) EP1 MgO B) EP4 MgO



Obrázek 47. Tvorba puchýřků po 120 hodinách A) EP1 MgO B) EP4 MgO

4.5. Vyhodnocení mikrobiálních zkoušek

Antimikrobiální účinnost byla hodnocena na čtyřech bakteriálních kmenech pomocí dvou metod: obtiskové a zálivové. Zatímco obtisková metoda není normovaná, zálivová metoda byla provedena dle normy ISO 22196:2011. Podrobný popis obou metod je uveden v kapitolách 2.9.4 a 2.9.5. Výsledky jednotlivých měření jsou uvedeny v tabulkách 36 až 43 a v obrázkové příloze.

Na základě naměřených hodnot lze konstatovat, že nátěrové hmoty na bázi epoxyesterových pryskyřic nevykazovaly žádnou antimikrobiální účinnost vůči kmeni *Enterococcus faecalis*. Naopak u *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* byla zaznamenána zvýšená antimikrobiální aktivita. Nejvyšší účinnost napříč všemi testovanými bakteriemi i typy pojiv vykazovaly vzorky obsahující pigment ZnO. Oproti tomu nátěrové hmoty obsahující pigment MgO nevykazoval žádný antimikrobiální účinek.

Na základě provedených antimikrobiálních zkoušek lze konstatovat, že účinnost testovaných nátěrových hmot proti bakteriím závisela jak na typu pigmentu a použitém pojivu, tak i na zvolené metodě. Výrazně lepší výsledky byly zaznamenány při použití normované zálivové metody dle ISO 22196:2011, jejíž výsledky jsou dále v této kapitole hodnoceny. Naproti tomu obtisková metoda neposkytla srovnatelně relevantní výsledky – antimikrobiální aktivita nebyla prokázána ani u jednoho vzorku, s výjimkou mírně sníženého růstu *Enterococcus faecalis*. Tento efekt byl však zaznamenán i u kontrolního vzorku bez pigmentu, a nelze jej proto jednoznačně přičíst testovaným látkám. Lze tedy uzavřít, že obtisková metoda měla spíše orientační charakter a neposkytla spolehlivé výsledky ve srovnání s normovanou zálivovou metodou.

Zálivová metoda prokázala antimikrobiální aktivitu zejména u vzorků s pigmentem ZnS a ZnO. U bakterie *Escherichia coli* byla antimikrobiální účinnost prokázána u všech testovaných kombinací pigmentů a pojiv, přičemž nejvyšší účinnost vykazovaly vzorky s pigmentem ZnS. V případě *Pseudomonas aeruginosa* byla účinnost rovněž zaznamenána u všech pigmentů, a to zejména u vzorků s obsahem ZnO a ZnS. Naproti tomu u bakterie *Enterococcus faecalis* byla antimikrobiální aktivita velmi nízká a projevila se pouze u dvou z celkových patnácti vzorků. V případě bakterie *Staphylococcus aureus* byla antimikrobiální účinnost pozorována výhradně u nátěrů obsahujících pigment ZnO v kombinaci s pojivy EP1, EP2, EP3 a EP4. Tento efekt se však neprojevil u žádného jiného pigmentu ani u nátěrů s komerčním pojivem Worlée.

5. DISKUZE K MIKROBIÁLNÍM ZKOUŠKÁCH

Tato práce navazuje na diplomovou práci Kateřiny Steidlové (2023), která se zabývala hodnocením antimikrobiální účinnosti latexových nátěrových filmů vůči bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*, a diplomovou práci Sabiny Hůlové (2024), jež se zaměřila na antimikrobiální účinnost těchto filmů vůči *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a rovněž na antifungální účinnost vůči plísním *Aspergillus brasiliensis* a *Penicillium chrysogenum*. V rámci této práce byla studována výhradně antimikrobiální účinnost nátěrových filmů na bázi epoxyesterových pryskyřic, a to vůči bakteriím *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*.

5.1. Diskuse k antimikrobiálním vlastnostem nátěrových povlaků

5.1.1. Vliv ZnO na antimikrobiální účinnost

Z naměřených hodnot antimikrobiální účinnosti nátěrových filmů obsahující zinek (ZnO a ZnS) byla zjištěna antimikrobiální účinnost vůči *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*. Naopak u *Enterococcus faecalis* nebyla pozorována žádná antimikrobiální účinnost. Vyšší antimikrobiální účinky byly prokázány u nátěrových filmů obsahující ZnO.

Karahutová a kol. (2024) zkoumali antibakteriální a antibiofilmovou účinnost organických a anorganických komplexů Zn(II) proti *E. coli*, *Klebsiella*, *S. aureus* a *P. aeruginosa*. Vzorky byly kultivovány ve 48jamkových destičkách a po inkubaci byla stanovena míra inhibice růstu a tvorby biofilmu. Největší antibakteriální aktivitu vykazovaly organické komplexy Zn-AMK a Zn-Gly, zejména proti *S. aureus* a *E. coli*, zatímco *P. aeruginosa* byla odolnější. Výsledky potvrdily, že zinek může účinně inhibovat růst bakterií i tvorbu biofilmu.

Premanathan a kol. (2011) sledovali antibakteriální účinky oxidu zinečnatého vůči *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. K testování byla používána metoda založená na kultivaci v mikrotitrační destičce. Ta obsahovala testovaný materiál, živný bujón a bakteriální suspenzi. Takto připravená destička byla inkubována při 37 °C po dobu 24 hodin. Po vyhodnocení bylo zjištěno, že dochází k silnější antibakteriální aktivitě nanočástic ZnO vůči *Staphylococcus aureus* ve srovnání s *Escherichia coli*.

Segura a kol. (2023) sledovali antibakteriální účinky nanočástic sulfidu zinečnatého (ZnS), které byly připraveny pomocí sulfidogenního bioreaktoru. K testování antibakteriální aktivity byly využity kmeny *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecalis*. Experimenty

probíhaly za použití kultivačních metod, kde byly testované bakterie vystaveny různým koncentracím ZnS nanočástic. Inkubace probíhala při 37 °C po dobu 24 hodin. Výsledky ukázaly, že ZnS nanočástice vykazují významnou antibakteriální aktivitu vůči oběma kmenům, přičemž *E. faecalis* vykazoval určitou míru odolnosti, avšak i zde došlo ke snížení životaschopnosti. Účinek nanočástic byl připisován jednak mechanickému poškození buněčné stěny a zároveň tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS), které vedou k oxidativnímu stresu a buněčné smrti.

Výsledky uvedené literaturou se částečně shodují s naměřenými hodnotami. U *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* byla potvrzena antimikrobiální účinnost nátěrových filmů s obsahem zinku, což je v souladu se studiemi Premanathana a kol. (2011), Karahutová a kol. (2024) i Segury a kol. (2023), které popisují významnou antibakteriální aktivitu sloučenin ZnO i ZnS vůči těmto bakteriím.

Naopak u *Enterococcus faecalis* se výsledky s literaturou rozcházejí. Zatímco Segura a kol. (2023) zaznamenali částečnou inhibici růstu tohoto kmene při použití ZnS nanočástic, v rámci tohoto testování nebyla u žádného ze zinkových pigmentů (ZnO ani ZnS) pozorována antimikrobiální aktivita vůči *E. faecalis*. Rozdíl může být způsoben například formou aplikace nebo nižší koncentrací aktivní látky v samotném nátěrovém filmu.

Z celkového hlediska vykazoval vyšší antimikrobiální účinnost pigment ZnO, což odpovídá i literárním údajům o jeho vyšší účinnosti ve srovnání se ZnS.

5.1.2. Vliv hořčíku na antimikrobiální účinnost

Z naměřených hodnot antimikrobiální účinnost nátěrových filmů obsahující hořčík, byla pozorovaná velmi malá účinnost vůči *Escherichia coli*. Naopak u *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* nebyla zjištěna žádná antimikrobiální účinnost.

Hayat et al. (2018) studovali antibiofilmové a antimikrobiální účinky nanočástic oxidu hořečnatého (MgO NPs) vůči *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. MgO NP byly syntetizovány mokrou chemickou metodou. Antimikrobiální aktivita byla stanovena bujónovou mikrodiluční metodou a agarovou difuzní metodou. Byla připravena ředící řada nanočástic MgO a každý vzorek byl naočkován na Petriho misku, která byla inkubována při 37 °C po dobu 24 hodin. Testy ukázaly, že nanočástice oxidu hořečnatého inhibovaly růst obou bakterií, přičemž účinnost byla vyšší proti *S. aureus* než proti *E. coli*. Dále bylo prokázáno, že MgO NPs

inhibovaly tvorbu biofilmu a přilnavost bakterií na povrchy, což naznačuje jejich potenciál pro použití v prevenci bakteriálních infekcí.

Fouda a kol. (2021) zkoumali antibakteriální účinky nanočástic oxidu hořečnatého (MgO-NPs), které byly biosyntetizovány pomocí houby *Penicillium chrysogenum*. Antibakteriální aktivita byla testována vůči několika patogenním bakteriím, včetně *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*. K testování byla použita metoda diskové difuze, kde byly MgO-NPs aplikovány na agarové plotny inokulované testovanými bakteriemi. Po inkubaci při 37 °C po dobu 24 hodin byly měřeny zóny inhibice růstu. Výsledky ukázaly, že MgO-NPs vykazují významnou antibakteriální aktivitu vůči všem testovaným bakteriím, přičemž největší zóny inhibice byly pozorovány u *S. aureus*. Tato studie naznačuje potenciál biosyntetizovaných MgO-NPs jako účinných antimikrobiálních činidel.

Na základě porovnání s literaturou lze konstatovat, že výsledky se částečně shodují. U *Escherichia coli* byla v literatuře prokázána antimikrobiální aktivita MgO nanočástic, což odpovídá i našim výsledkům, kde byla pozorována alespoň malá účinnost. Naopak u *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* nebyla v této práci zjištěna žádná antimikrobiální aktivita, přestože podle literatury by MgO nanočástice měly proti těmto bakteriím působit. Tato nesrovnalost může být způsobena odlišnou formou Mg sloučeniny nebo její nízkou koncentrací v testovaných nátěrových filmech.

ZÁVĚR

Diplomová práce „*Stanovení antimikrobiální účinnosti epoxyesterových nátěrových hmot s obsahem anorganických pigmentů na bázi oxidů kovů, jejich příprava a hodnocení*“ se zabývá přípravou a stanovením antimikrobiální účinnosti organických nátěrových hmot na bázi epoxyesterových pryskyřic modifikovaných vybranými druhy mastných kyselin, které byly doplněny anorganickými pigmenty ZnS, ZnO a MgO, které v daných nátěrových hmotách sloužily jako funkční složky pro dosažení antimikrobiální účinnosti, ale také i pro zlepšení fyzikálně-mechanických vlastností a chemické odolnosti. Pigmentové nátěrové hmoty byly připraveny procesem dispergace. Objemová koncentrace studovaných pigmentů v modelových nátěrových hmotách (OKP) byla 10 % a jako plnivo byl použit CaCO₃ (konstantní podíl pevných látek v systému OKP/KOKP = 0,45). U připravených nátěrů byly testovány antimikrobiální účinky vůči bakteriálním kmenům *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Současně byly hodnoceny i jejich fyzikálně-mechanické a chemické vlastnosti.

U vybraných funkčních pigmentů a plnivé složky byly na začátku práce provedena základní charakterizace jejich vlastností. Bylo stanoveno olejové číslo a hustota, které jsou nezbytné pro výpočet hodnoty KOKP, na základě jejich stanovení byly formulovány modelové nátěrové hmoty. Fyzikálně-chemické vlastnosti práškových materiálů byly zkoumány i stanovením měrné elektrické vodivosti a hodnot pH z vodných 10 % suspenzí pigmentů. Hodnoty pH použitých pigmentů se pohybovaly v neutrální až alkalické oblasti a hodnoty měrné elektrické vodivosti byly v optimálním rozmezí pro použití v epoxyeterových nátěrových hmotách. Z fyzikálně-mechanických vlastností nátěrových hmot aplikovaných na skleněné panely bylo patrné, že veškeré organické povlaky vykazovaly hladké nátěrové filmy bez jakýchkoliv defektů a trhlin. Dané nátěrové filmy byly dle čísla lesku hodnoceny jako středně až velmi lesklé. Relativní povrchová tvrdost u všech testovaných nátěrů s odstupem času rostla, stejně tak rostla i chemická odolnost. Mechanické vlastnosti nátěrových filmů byly testovány řadou normovaných zkoušek. Výsledky ukázaly, že nátěrové filmy obsahem pojiva EP2, dosáhly nejvyšší přilnavosti hodnocenou stupněm 0 a zároveň nejlepších mechanických vlastností.

Z provedených antimikrobiálních zkoušek vyplývá, že účinnost nátěrových hmot na bázi epoxyesterových pryskyřic je výrazně ovlivněna typem pigmentu a pojiva. Z hlediska metodiky poskytla relevantní a opakovatelné výsledky pouze normovaná zálivová metoda dle ISO 22196:2011. Obtisková metoda se ukázala jako nevhodná pro kvantitativní vyhodnocení,

neboť výsledky byly nejednoznačné a v některých případech byl zaznamenán mírně snížený růst bakterií i u kontrolních vzorků bez pigmentu.

Výsledky ukazují potenciál pigmentů, ZnS a ZnO, které byly schopny nejlépe inhibovat růst bakterií *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*, které jsou gramnegativní. Zatímco grampozitivní *Staphylococcus aureus* byl inhibován pouze u nátěrové hmoty s obsahem ZnO a *Enterococcus faecalis* nebyl inhibován vůbec. Rozdíl ve složení buněčné stěny může mít za následek rozdílnou účinnost. Rovněž pigment MgO nevykázal žádné antimikrobiální účinky.

POUŽITÁ LITERATURA

1. AHMAD-MANSOUR, N.; LOUBET, P.; POUGET, C.; DUNYACH-REMY, C.; SOTTO, A.; LAVIGNE J.-P. a MOLLE, V. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins*. 2021, **13**(10), 677. ISSN 2072-6651.
2. AITKEN, C. a JEFFRIES D. J. Nosocomial Spread of Viral Disease. *Clinical Microbiology Review*. 2001, **14**(3), 528–546. ISSN 0893-8512.
3. ASTM D4752-10, Standard Test Method for Measuring MEK Resistance of Ethyl Silicate (Inorganic) Zinc-Rich Primers by Solvent Rub, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2010.
4. BAKKE, R.; KOMMEDAL, R. a KALVENES, S. Quantification of biofilm accumulation by an optical approach. *Journal of Microbiological Methods*. 2001, **1**(44), 13-26.
5. BASAVARAJU, M. a GUNASHREE, B. S. Escherichia coli: An Overview of Main Characteristics. 2022, ISBN 978-1-83969-870-5.
6. BENTO DE CARVALHO, T.; BARBOSA. J. B. a TEIXEIRA, P. Effectiveness and Durability of a Quaternary Ammonium Compounds-Based Surface Coating to Reduce Surface Contamination. *Biology*. 2023, **12**(5), 669. ISSN 2079-7737.
7. BLOUNT, Z. D. The unexhausted potential of E. coli. *eLife*. 2015, **4**. ISSN 2050-084X.
8. COSTA, D. M.; JOHANI, K.; MELO, D. S.; LOPES, L. K. O.; LOPES LIMA, L. K. O.; TIPPLE, A. F. V.; HU, H. a VICKERY, K. Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: epidemiology and potential impacts. *Letters in Applied Microbiology*. 2019, **68**(4), 269–276. ISSN 0266-8254.
9. DUNNE, C. P., KEINÄNEN-TOIVOLA, M.M; KAHRU, A; TEUNISSEN, B.; OLMEZ, H.; GOUVEIA, I.; MELO, L.; MURZYN, K.; MODIC, M.; AHONEN, M.; ASKEW, P.; PAPADOPOULOS, T.; ADLHART, C. a CRIJNS, F. R. L. Anti-microbial coating innovations to prevent infectious diseases (AMiCI): Cost action ca15114. *Bioengineered*. 2017, **8**(6), 679–685. ISSN 2165-5979.
10. ELASHIRY, M. M., BERGERON, B.E. a TAY, F. R. Enterococcus faecalis in secondary apical periodontitis: Mechanisms of bacterial survival and disease persistence. *Microbial Pathogenesis*. 2023, **183**(8). ISSN 0882-4010.

11. FOSTER, T. J.; GEOGHEGAN, J.A; GANESH V. K.; HÖÖK, M. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature reviews. Microbiology*. 2014, **12**(1), 49–62.
12. FOUDA, A.; AWAD, M. A.; EID, A. M.; SAIED, E.; BARGHOTH, M. G.; HAMZA, M. F.; AWAD, M. F.; ABDELBARY, S. a HASSAN, S. E-D. An Eco-Friendly Approach to the Control of Pathogenic Microbes and *Anopheles stephensi* Malarial Vector Using Magnesium Oxide Nanoparticles (Mg-NPs) Fabricated by *Penicillium chrysogenum*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(10), 5096. ISSN 1422-0067.
13. GHERARDI G. *Staphylococcus aureus* Infection: Pathogenesis and Antimicrobial Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, **24**(9), 8182. ISSN 1422-0067.
14. GRIMWOOD K.; M KYD, J.; OWEN, S. J.; MASSA, H. M. a CRIPPS, A. W. Vaccination against respiratory *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2014, **11**(1), 14–20. ISSN 2164-5515.
15. GUO, H.; TONG, Y.; CHENG, J.; ABBAS, Z.; LI, Z.; WANG, J.; ZHOU, Y.; SI, D. a ZHANG, R. Biofilm and Small Colony Variants—An Update on *Staphylococcus aureus* Strategies toward Drug Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022, **23**(3), 1241. ISSN 1422-0067.
16. HAJIBONABI, A.; YEKANI, M.; SHARIFI, S.; NAHAD, J. S.; DIZAJ, S. M. a MEMAR, M. Y. Antimicrobial activity of nanoformulations of carvacrol and thymol: New trend and applications. *OpenNano*. 2023, **13**, ISSN 2352-9520.
17. HALL, C. W. a MAH, T-F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017, **41**(3), 276-301. ISSN 0168-6445.
18. HARRELL, J. E.; HAHN, M. M; D’SOUZA, S. J.; VASICEK, E. M.; SANDALA, J. L.; GUNN J. S. a MCLACHLAN, J. B. *Salmonella* Biofilm Formation, Chronic Infection, and Immunity Within the Intestine and Hepatobiliary Tract. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021, **10**. ISSN 2235-2988.
19. HAYAT, S.; MUZAMMIL, S.; RASOOL, M. H.; NISAR, Z.; HUSSAIN, S. Z.; SABRI, A. N. a JAMIL, S. In vitro antibiofilm and anti-adhesion effects of magnesium oxide nanoparticles against antibiotic resistant bacteria. *Microbiology and Immunology*. 2018, **62**(4), 211–220. ISSN 1348-0421.
20. HERRERA-HIDALGO, L.; FERNÁNDEZ-RUBIO, B.; LUQUE-MÁRQUEZ, R.; LÓPEZ-CORTÉS, L.E.; GIL-NAVARRO M.V. a DE ALARCÓN, A. Treatment of

- Enterococcus faecalis Infective Endocarditis: A Continuing Challenge. *Antibiotics*. 2023, **12**(4), 704. ISSN 2079-6382.
21. CHAOUI, L.; MHAND, R.; MELLOUKI, F. a RHALLABI, N. Contamination of the Surfaces of a Health Care Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria. *International Journal of Microbiology*. 2019, 1-7. ISSN 1687-918X.
 22. CHEN, X.; LOU, W.; LIU, J.; DING, B.; FAN W. a HONG, J. A novel antimicrobial polymer efficiently treats multidrug-resistant MRSA-induced bloodstream infection. *Bioscience Reports*. 2019, **39**(10). ISSN 0144-8463.
 23. CHEUNG, G. Y. C.; BAE J. S. a OTTO, M. Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. *Virulence*. 2021, **12**(1), 547–569. ISSN 2150-5594.
 24. ISO 22196:2011, Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2011.
 25. ISO 2409:2020, Paints and varnishes – Cross-cut test, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2020.
 26. ISO 2813:2014, *Paints and varnishes — Determination of gloss value at 20°, 60° and 85°*, International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2014.
 27. ISO 787-14:2019, General methods of test for pigments and extenders, Part 14: Determination of resistivity of aqueous extract, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2019.
 28. ISO 787-9:2019, General methods of test for pigments and extenders, Part 9: Determination of pH value of an aqueous suspension, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2019.
 29. JUMAAH, N.; JOSHI S. R. a SANDAI, D. Prevalence of Bacterial Contamination when using a Diversion Pouch during Blood Collection: A Single Center Study in Malaysia. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*. 2014, **21**(3), 47–53. ISSN 1394-195X.
 30. KALEDOVÁ, A. a KALENDA, P. Technologie nátěrových hmot I. Pojiva, rozpouštědla a aditiva pro výrobu nátěrových hmot. Pardubice, 2004. 328. ISBN 80-7194-691-5.
 31. KALEDOVÁ, A. Metody testování vlastností organických povlaků: 1. Díl: Korozně-inhibiční účinnost organických povlaků. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2001. ISBN: 80-7194-398-3
 32. KALEDOVÁ, A. Technologie nátěrových hmot I. Pigmenty a plniva pro nátěrové hmoty. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2003. 431. ISBN 80-7194-576-5.

33. KAMARUZZAMAN, N. F.; TAN, L. P.; HAMDAN, R. H.; CHOONG, S. S.; WONG, W. K.; GIBSON, A. J.; CHIVU, A. a PINA, M. F. Antimicrobial Polymers: The Potential Replacement of Existing Antibiotics? *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, **20**(11). ISSN 1422-0067.
34. KAPER, J. B.; NATARO J. P. a MOBLEY, H. L. T. Pathogenic Escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*. 2004, **2**(2), 123–140. ISSN 1740-1534.
35. KARAHUTOVÁ, L. a BUJŇÁKOVÁ, D. Antimicrobial and anti-biofilm efficacy of different inorganic and organic zinc forms against multidrug-resistant Escherichia, Klebsiella, Staphylococcus and Pseudomonas. *Veterinary Research Communications*. 2024, **48**(3), 1899–1905. ISSN 0165-7380
36. KARNWAL, A. a MALIK, T. Exploring the untapped potential of naturally occurring antimicrobial compounds: novel advancements in food preservation for enhanced safety and sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2024, **8**. ISSN 2571581X.
37. LAMMERS, M. Physiology of Enterococcus faecalis and faecium. 2009. Dostupné z: <https://studenttheses.uu.nl/handle/20.500.12932/2717>
38. LIDARŇÍK, M. a kolektiv. Epoxidové pryskyřice. Praha: SNTL, 1983. 732.
39. LISTER, J. L. a HORSWILL, A. R. Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014, **4**. ISSN 2235-2988.
40. LIU, B.; FUREVI, A.; V PEREPELOV, A.; GUO, X.; CAO, H.; WANG, Q.; REEVES, P. R.; A KNIREL, Y.; WANG, L. a WIDMALM, G. Structure and genetics of Escherichia coli O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*. 2019, **44**(6), 655–683. ISSN 0168-6445.
41. MAGANA, M.; SERETI, C.; IOANNIDIS, A.; MITCHELL, C. A.; BALL, A. R.; MAGIORKINIS, E.; CHATZIPANAGIOTOU, S.; HAMBLIN, M. R.; HADJIFRANGISKOU, M. a TEGOS, G. P. Options and Limitations in Clinical Investigation of Bacterial Biofilms. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018, **31**(3). ISSN 0893-8512.
42. MEDIC, B. S.; TOMIC, N.; LAGOPATI, N.; GAZOULI, M. a POJSKIC, L. Advances in Metal and Metal Oxide Nanomaterials for Topical Antimicrobial Applications: Insights and Future Perspectives. *Molecules*. 2024, **29**(23). ISSN 1420-3049.
43. MIRZAEI, R.; MOHAMMADZADEH, R.; ALIKHANI, M. Y.; SHOKRI MOGHADAM, M.; KARAMPOOR, S.; KAZEMI, S.; BARFIPOURSALAR, A. a

- YOUSEFIMASHOUF, R. The biofilm-associated bacterial infections unrelated to indwelling devices. *IUBMB Life*. 2020, **72**(7), 1271–1285. ISSN 1521-6551.
44. MUBBUNU, L.; SIMUKOKO, H.; HANG'OMBE M. a MWAANGA, E. Effects of Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers on the Immune System of *Pseudomonas aeruginosa* Challenged Hamsters. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*. 2023, **10**, 31–36.
45. MUELLER, M. a TAINTER, C. R. *Escherichia coli* Infection. In: *StatPearls*. 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
46. ONG, G.; KASI, R. a SUBRAMANIAM, R. A review on plant extracts as natural additives in coating applications. *Progress in Organic Coatings*. 2021, 151. ISSN 0300-9440.
47. PAKBIN, B.; BRÜCK W. M. a ROSSEN, J. W. A. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(18). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22189922
48. PÉREZ, M.; GARCÍA M. a BLUSTEIN, G. Evaluation of low copper content antifouling paints containing natural phenolic compounds as bioactive additives. *Marine Environmental Research*. 2015, **109**, 177–184. ISSN 0141-1136.
49. PÉREZ, V. K. C.; CUSTÓDIO, D. A. C.; SILVA, E. M. M.; DE OLIVEIRA, J.; GUIMARÃES, A. S.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA-FILHO, A. F.; HEINEMANN, M. B.; LAGE A.P. a DORNELES, E. M. S. Virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020, **51**(4), 2111–2122. ISSN 1517-8382.
50. PREMANATHAN, M.; KARTHIKEYAN, K.; JEYASUBRAMANIAN, K. a MANIVANNAN, G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2011, **7**(2), 184–192. ISSN 1549-9634.
51. PUSPASARI, V.; RIDHOVA, A.; HERMAWAN, A.; AMAL, M. I. a KHAN, M.M. ZnO-based antimicrobial coatings for biomedical applications. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2022, **45**(9), 1421–1445. ISSN 1615-7591.
52. PŠENIČKOVÁ, Z. a MILČÍK, R. Výroba nátěrových hmot z pohledu výzkumníka. Seriál o nátěrových hmotách, část 1. Pardubice: Synpo, 2024.
53. QIN, S.; XIAO, W.; ZHOU, C.; PU, Q.; DENG, X.; LAN, L.; LIANG, H.; SONG, X. a WU, M. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic

- resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022, **7**, 199. ISSN 2095-9907.
54. QUERIDO, M. M.; PAULO, I.; HARIHARAKRISHNAN, S.; ROCHA, D.; BARBOSA, N.; GONÇALVES, D.; GALHANO DOS SANTOS, R.; BORDADO, J. M.; TEIXEIRA, J. P. a PEREIRA, C. C. Development and In Vitro Validation of Antibacterial Paints Containing Chloroxylenol and Terpineol. *Toxics*. 2022 **10**(7), 343. ISSN 2305-6304.
 55. RAJARAMON, S.; DAVID, H.; SAJEEVAN, A.; SHANMUGAM, K.; SRIRAMULU, H.; DANDELA, R. a SOLOMON, A. P. Multi-functional approach in the design of smart surfaces to mitigate bacterial infections: a review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2023, **13**.
 56. RILEY, L. W. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic Escherichia coli. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014, **20**(5), 380–390. ISSN 1198-743X.
 57. SABAT, A. J.; PANTANO, D.; AKKERBOOM, V.; BATHOORN, E. a FRIEDRICH, A. W. Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus virulence factors as biomarkers of infection. *Biological Chemistry*. 2021, **402**(12), 1565–1573. ISSN 1437-4315.
 58. SAUER, K.; STOODLEY, P.; GOERES, D.M.; HALL-STOODLEY, L-; BURMØLLE, M.; STEWART, P. S. a BJARNSHOLT, T. The biofilm life cycle– expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature reviews Microbiology*. 2022, **20**(10), 608-620. ISSN 1740-1526.
 59. SEATON, S.; LEMAIRE, J.; INDERBITZIN, P.; KNIGHT-CONNONI, V.; WHITE, J. a TRUJILLO, M. Pseudomonas arenae sp. nov., Pseudomonas glycinis sp. nov. and Pseudomonas harudinis sp. nov., three novel bacterial species and plant endophytes. *bioRxiv the preprint server for biology*. 2021.
 60. SEGURA, A., A. RODRIGUEZ, P. HERNÁNDEZ, H. PESENTI, J. HERNÁNDEZ-MONTELONGO, A. ARRANZ, N. BENITO, J. BITENCOURT, L. VERGARA-GONZÁLEZ, I. NANCUCHEO a G. RECIO-SÁNCHEZ. Sulfidogenic Bioreactor-Mediated Formation of ZnS Nanoparticles with Antimicrobial and Photocatalytic Activity. *Nanomaterials*. 2023, **13**(5), 935. ISSN 2079-4991.
 61. SHRIVASTAVA, A. 4 - Additives for Plastics. In: Anshuman SHRIVASTAVA, ed. Introduction to Plastics Engineering. *Elsevier*. 2018, 111–141. ISBN 978-0-323-39500-7.

62. SCHWARTZ, B.; KLAMER, K.; ZIMMERMAN, J.; KALE-PRADHAN P.B. a BHARGAVA, A. Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Clinical Settings: A Review of Resistance Mechanisms and Treatment Strategies. *Pathogens*. 2024, **13**(11), 975. ISSN 2076-0817.
63. SIEDENBIEDEL, F. a TILLER, J. C. Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers*. 2012, **4**(1), 46–71. ISSN 2073-4360.
64. SILHAVY, T. J.; KAHNE, D. a WALKER, S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010 **2**(5). ISSN 1943-0264.
65. SILVA, V.; SILVA, C.; SOARES, P.; GARRIDO, E. M.; BORGES, F. a GARRIDO, J. Isothiazolinone Biocides: Chemistry, Biological, and Toxicity Profiles. *Molecules*. 2020, **25**(4), 991. ISSN 1420-3049.
66. SMITH, R.N. Kinetics of biocide kill. *International Biodeterioration*. 1990, **26**(2-4).
67. SPIRESCU, V. A.; CHIRCOV, C.; GRUMEZESCU, A. M.; VASILE, B. S. a ANDRONESCU, E. Inorganic Nanoparticles and Composite Films for Antimicrobial Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(9). ISSN 1422-0067.
68. ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*, Academia, Praha, 2008, ISBN 978-80-200-1703-1.
69. TONG, S. Y. C.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND. T. L. a FOWLER, W. G. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015, **28**(3), 661. ISSN 0893-8512.
70. VIJAYARAGHAVAN, K. a YUN, Y-S. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*. 2008, **26**(3), 266–291. ISSN 0734-9750.
71. VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. 495. ISBN 80-902896-6-5.
72. WANG, L.; ROTHEMUND, D.; CURD, H. a REEVES, P. R. Species-Wide Variation in the *Escherichia coli* Flagellin (H-Antigen) Gene. *Journal of Bacteriology*. 2003, **185**(9), 2936–943. ISSN 0021-9193.
73. YANG, S.; XI, D.; JING, F.; KONG, D.; WU, J.; FENG, L.; CAO, B. a WANG, L. Genetic diversity of K-antigen gene clusters of *Escherichia coli* and their molecular typing using a suspension array. *Canadian Journal of Microbiology*. 2018, **64**(4), 231-241. ISSN 0008-4166.

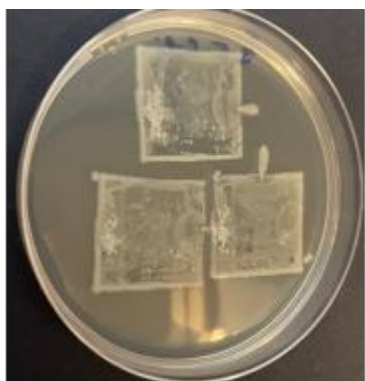
74. YIN, R.; CHENG, J.; WANG, J.; LI, P. a LIN, J. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infectious biofilms: Challenges and strategies. *Frontiers in Microbiology*. 2022, **13**. ISSN 1664-302X.
75. ZHANG, L.; JIANG, Y.; DING, Y.; DASKALAKIS, N.; JEUKEN, L.; POVEY, M.; O'NEILL, A. J. a YORK, D. W. Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *Journal of Nanoparticle Research*. 2010, **12**(5), 1625–1636. ISSN 1572-896X.
76. ZHANG, Y.; SU, J.; WU, D.; ZHANG, Y.; SU, J. a WU, D. Physiology and Pathology of Multidrug-Resistant Bacteria: Antibodies-and Vaccines-Based Pathogen-Specific Targeting. In: *Physiology and Pathology of Immunology*. InTech, 2017. ISBN 978-953-51-3692-7.

OBRÁZKOVÁ PŘÍLOHA

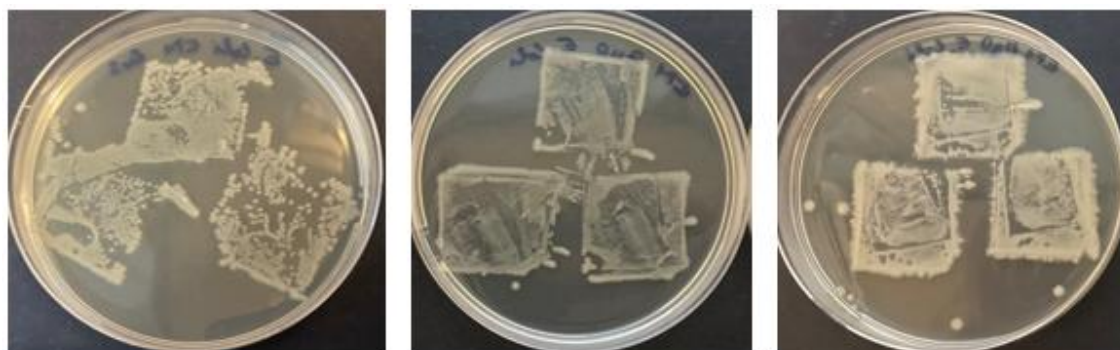
Testování antimikrobiální účinnosti volných filmů pomocí obtiskové metody

V následující fotodokumentaci jsou vloženy výsledky testování antimikrobiální účinnosti volných filmů všech testovaných nátěrových na všech použitých bakteriích.

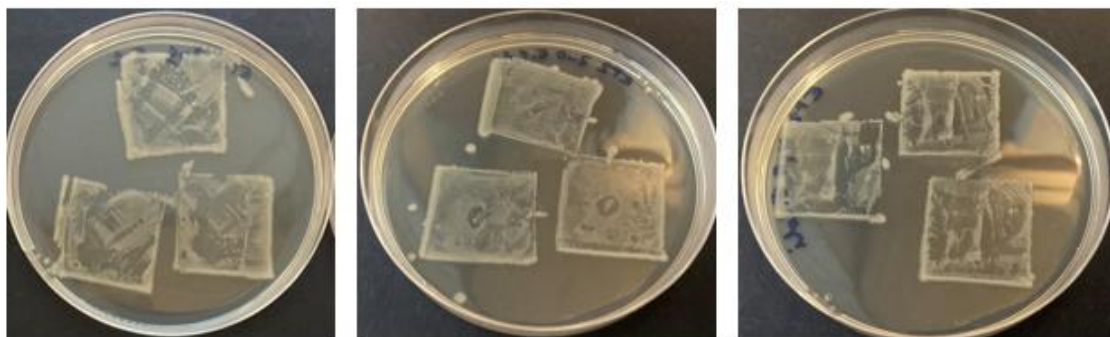
Obtisky volných filmů – *E. coli* prázdná fólie



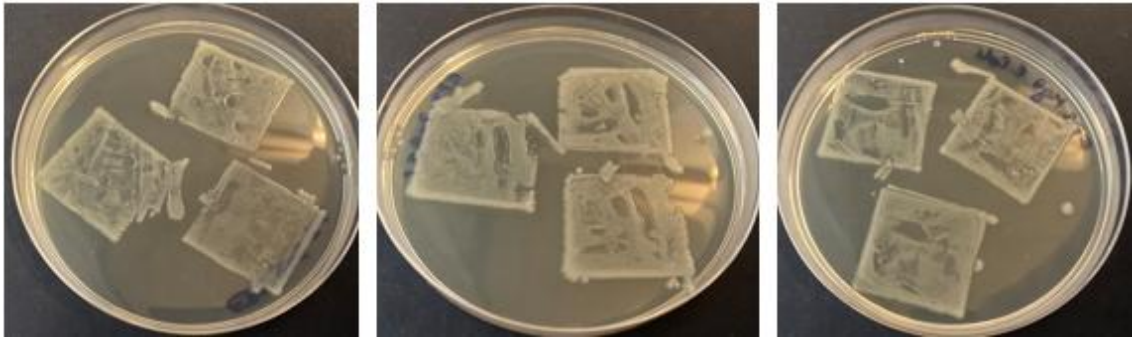
Obtisky volných filmů – *E. coli* EP1 ZnS, ZnO. MgO



Obtisky volných filmů – *E. coli* EP2 ZnS, ZnO. MgO



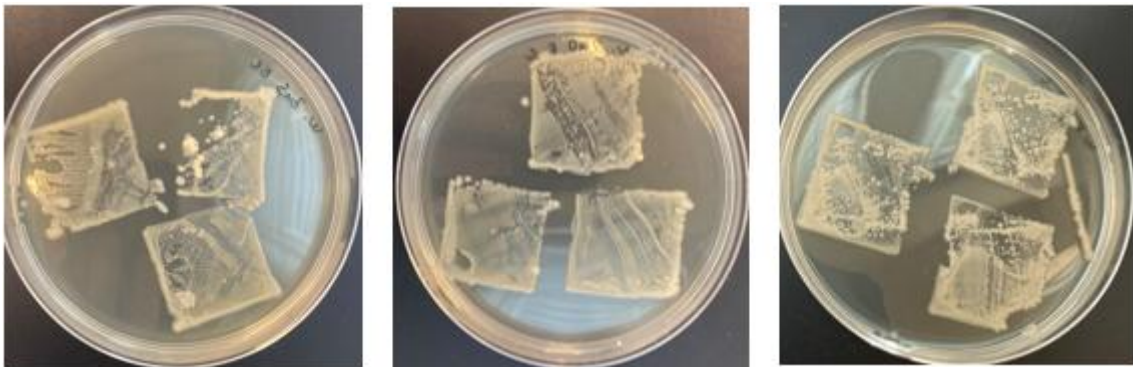
Obtisky volných filmů – *E. coli* EP3 ZnS, ZnO. MgO



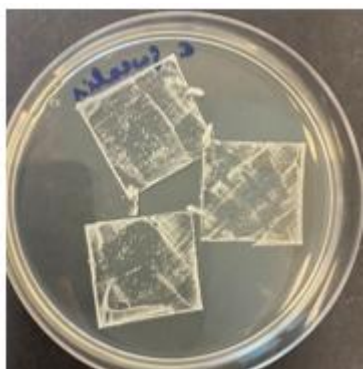
Obtisky volných filmů – *E. coli* EP4 ZnS, ZnO. MgO



Obtisky volných filmů – *E. coli* Worlée ZnS, ZnO. MgO



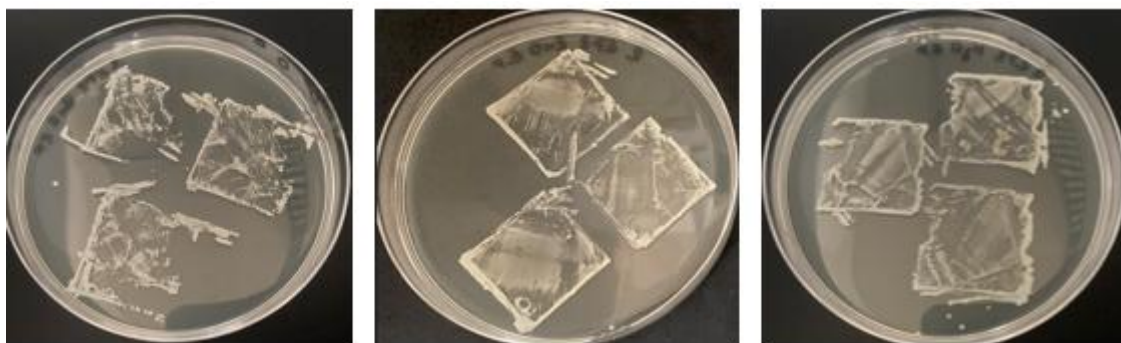
Obtisky volných filmů – *E. faecalis* prázdná fólie



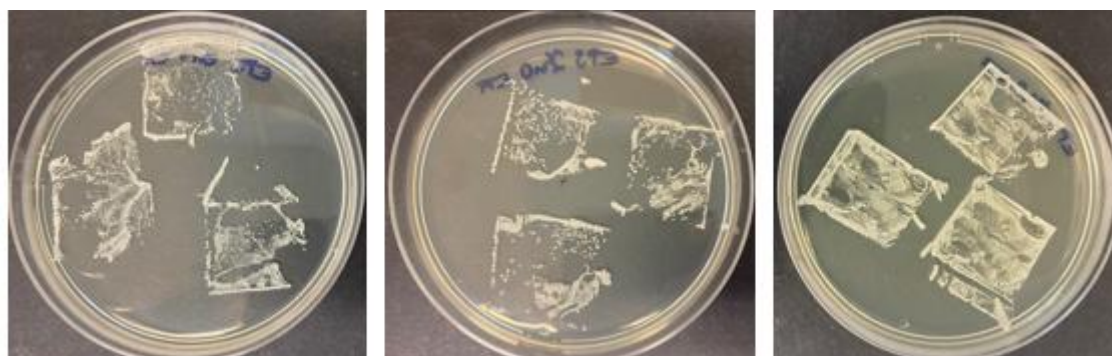
Obtisky volných filmů – *E. faecalis* EP1 ZnS, ZnO. MgO



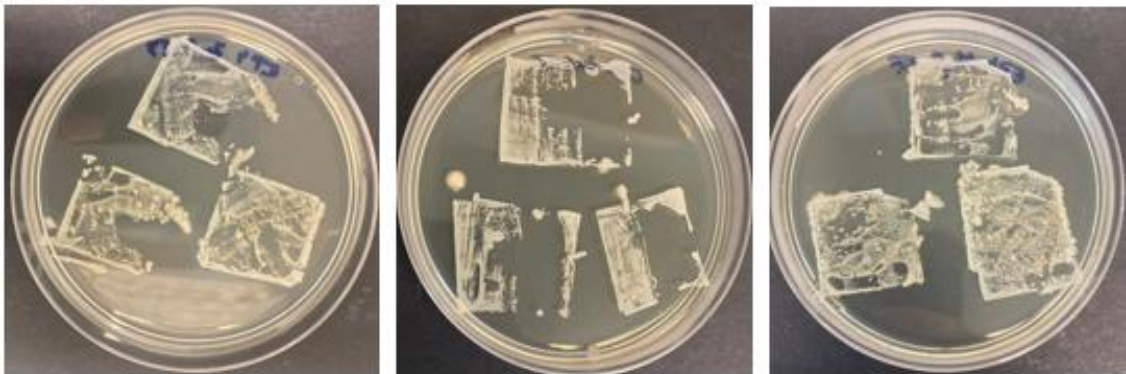
Obtisky volných filmů – *E. faecalis* EP2 ZnS, ZnO. MgO



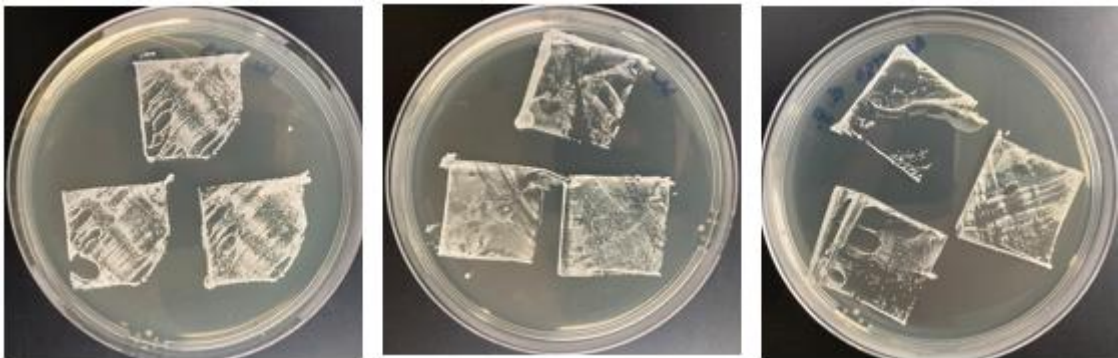
Obtisky volných filmů – *E. faecalis* EP3 ZnS, ZnO. MgO



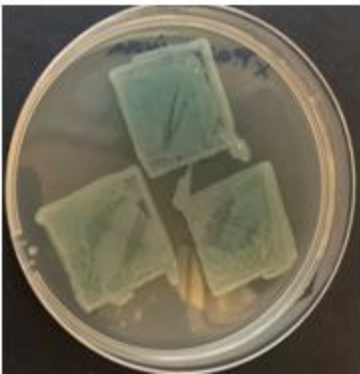
Obtisky volných filmů – *E. faecalis* EP4 ZnS, ZnO. MgO



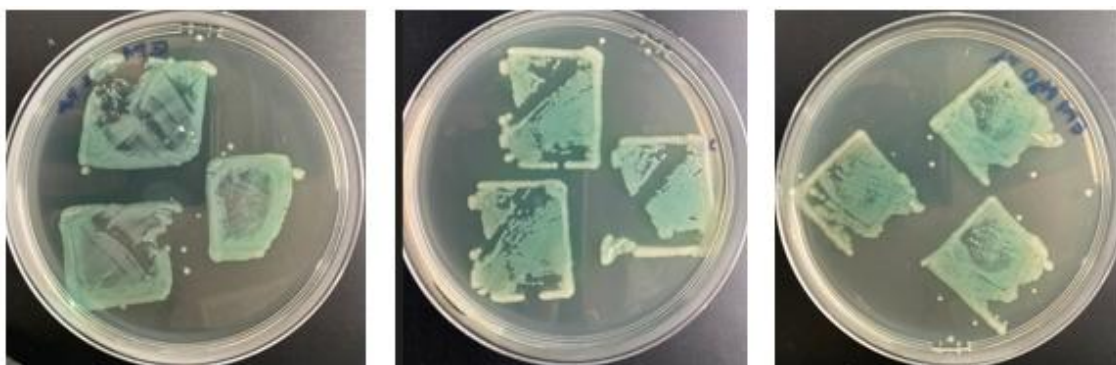
Obtisky volných filmů – *E. faecalis* Worlée ZnS, ZnO. MgO



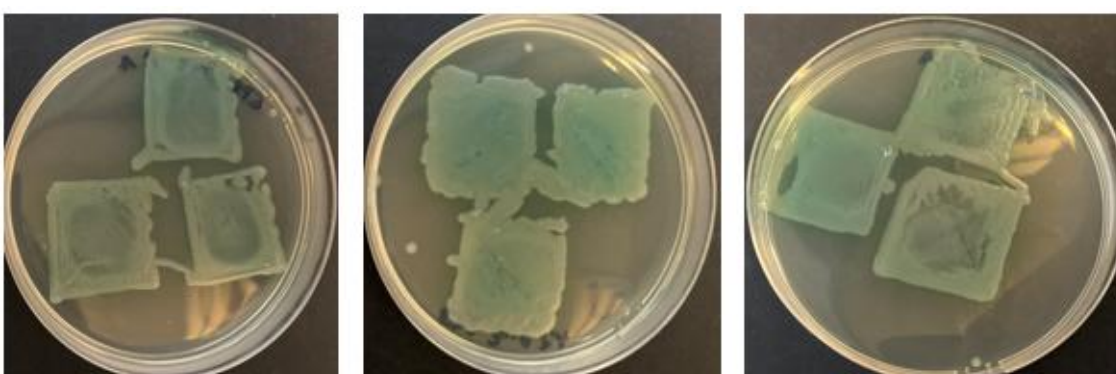
Obtisky volných filmů – *P. aeruginosa* prázdňá fólie



Obtisky volných filmů – *P. aeruginosa* EP1 ZnS, ZnO. MgO



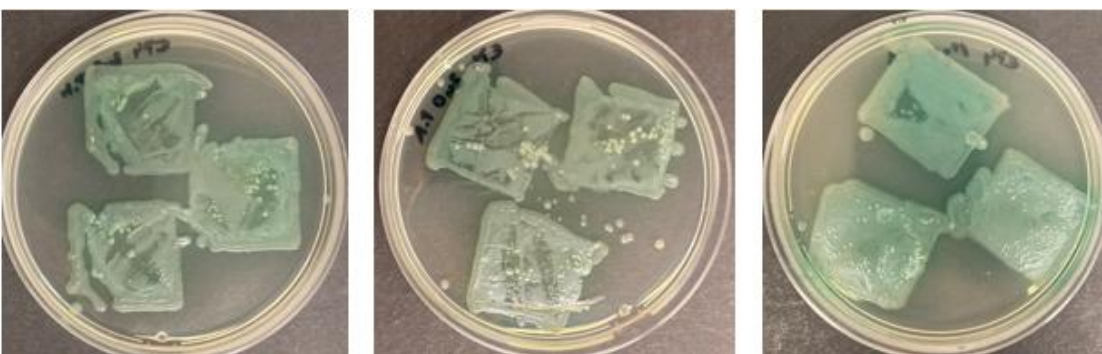
Obtisky volných filmů – *P. aeruginosa* EP2 ZnS, ZnO. MgO



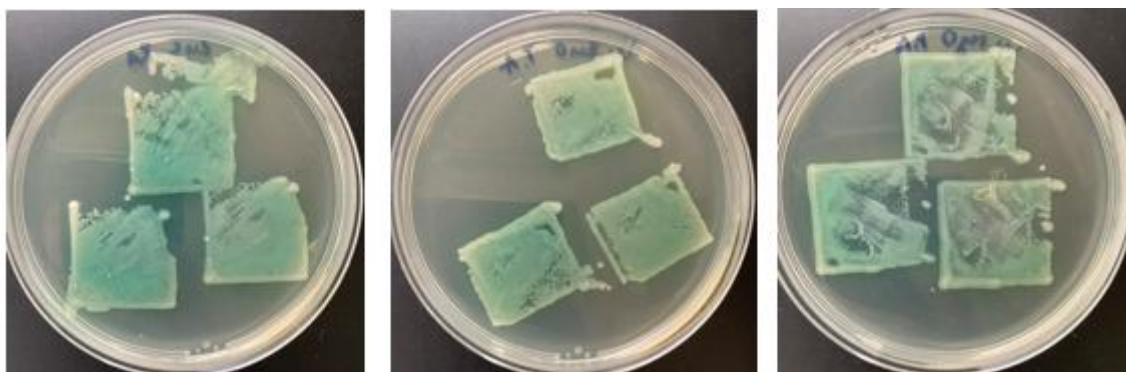
Obtisky volných filmů – *P. aeruginosa* EP3 ZnS, ZnO. MgO



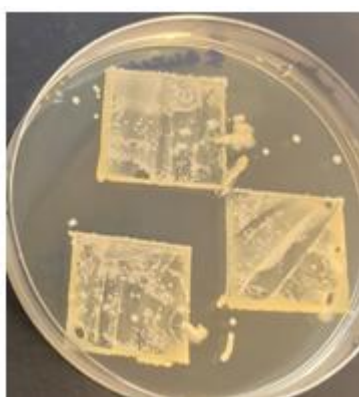
Obtisky volných filmů – *P. aeruginosa* EP4 ZnS, ZnO. MgO



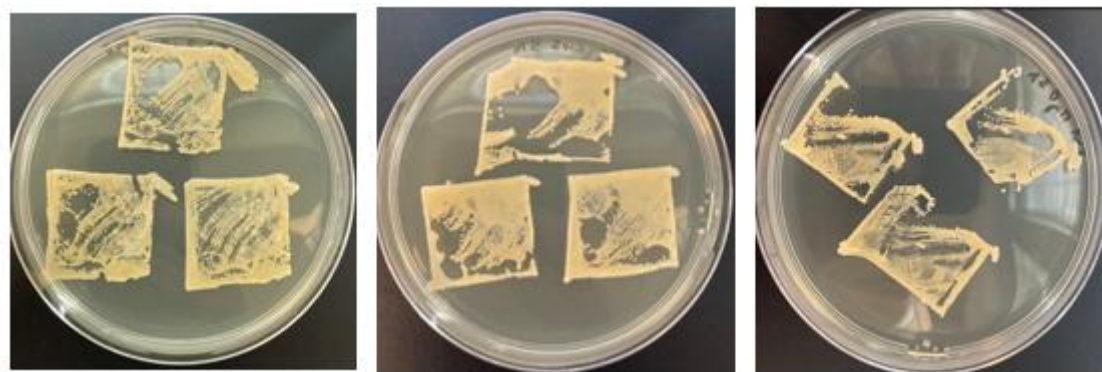
Obtisky volných filmů – *P. aeruginosa* Worlée ZnS, ZnO. MgO



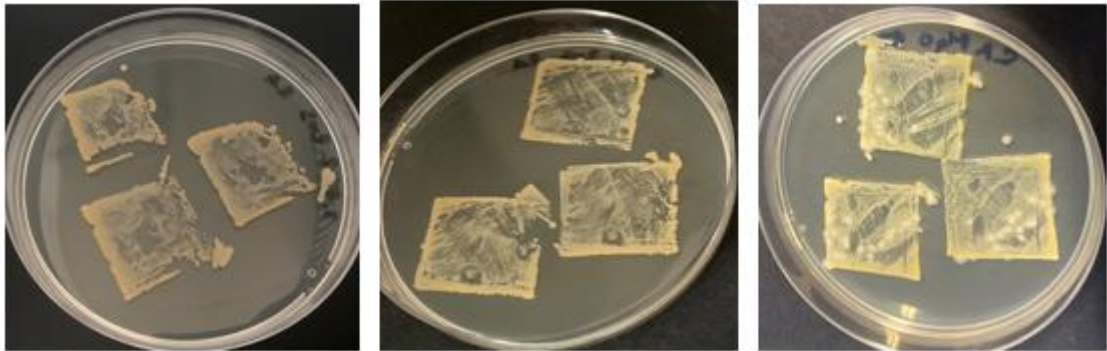
Obtisky volných filmů – *S. aureus* prázdňá fólie



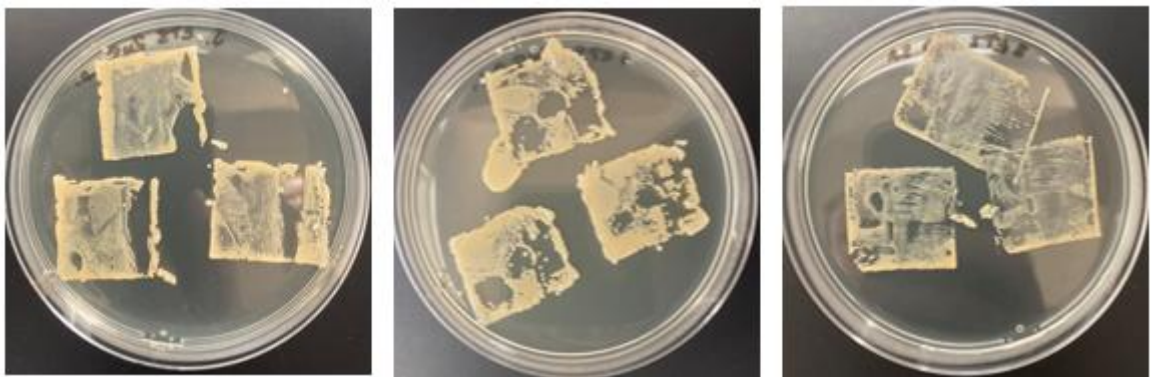
Obtisky volných filmů – *S. aureus* EP1 ZnS, ZnO. MgO



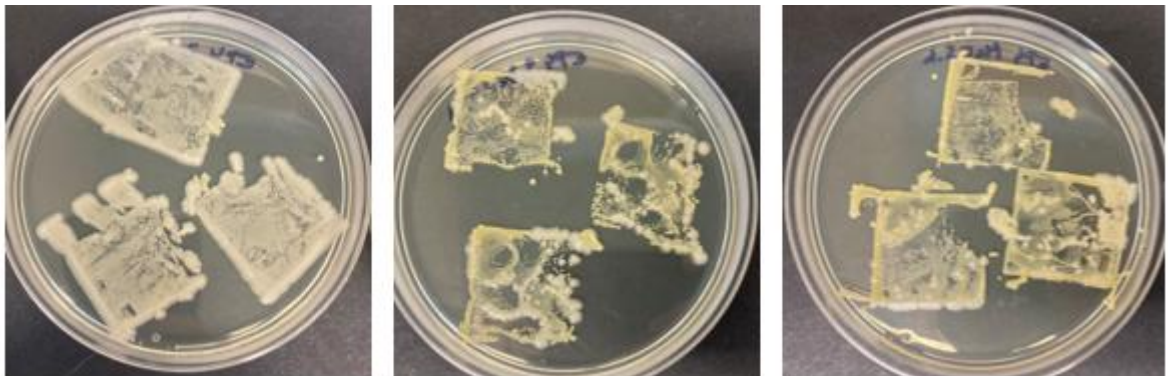
Obtisky volných filmů – *S. aureus* EP2 ZnS, ZnO. MgO



Obtisky volných filmů – *S. aureus* EP3 ZnS, ZnO. MgO



Obtisky volných filmů – *S. aureus* EP4 ZnS, ZnO. MgO



Obtisky volných filmů – *S. aureus* Worlée ZnS, ZnO, MgO

