

# Příprava a ověření antifouling vlastností nanovrstev na bázi hybridních materiálů připravených metodou sol-gel

## Bakalářská práce

*Studijní program:*

B3942 Nanotechnologie

*Studijní obor:*

Nanomateriály

*Autor práce:*

**Adéla Gabčanová**

*Vedoucí práce:*

doc. Mgr. Irena Lovětinská-Šlamborová, Ph.D.

Katedra chemie

*Konzultant práce:*

doc. Ing. Petr Exnar, CSc.

Katedra chemie





## Zadání bakalářské práce

# Příprava a ověření antifouling vlastností nanovrstev na bázi hybridních materiálů připravených metodou sol-gel

*Jméno a příjmení:* **Adéla Gabčanová**  
*Osobní číslo:* M16000108  
*Studijní program:* B3942 Nanotechnologie  
*Studijní obor:* Nanomateriály  
*Zadávací katedra:* Katedra chemie  
*Akademický rok:* **2019/2020**

### Zásady pro vypracování:

1. Proveďte literární rešerši o používaných antifouling úpravách povrchů a možnostech použití vrstev připravených metodou sol-gel v této oblasti.
2. Připravte vybrané soly metodou sol-gel, naneste je na podložní skla a otestujte chování připravených vzorků v reálném prostředí slané a sladké vody.
3. Získané výsledky vyhodnoťte z hlediska intenzity růstu biofilmu a případné degradace nanosených nanovrstev na povrchu vzorků s časem.

*Rozsah grafických prací:* dle potřeby  
*Rozsah pracovní zprávy:* 40-50 stran  
*Forma zpracování práce:* tištěná  
*Jazyk práce:* Čeština



### Seznam odborné literatury:

1. EXNAR, P. *Metoda sol-gel*. Liberec: Technická univerzita v Liberci. 2006. ISBN 80-737-2063-9.
2. RULÍK, M., HOLÁ, V., RŮŽIČKA, F., VOTAVA, M. a kol. *Mikrobiální biofilmy*. Olomouc: Univerzita Palackého. 2011. ISBN 978-80-2442747-8.
3. SHINDLER, J. *Mikrobiální biofilm*. Vesmír. 2001, roč. 4, č. 80, s. 203-221. ISSN 1214-4029.
4. TOLKEN-NIELSEN, T., MOLIN, S. *Spatial organization of microbial biofilm communities*. Microbial. Ecol. 2000, č. 40, s. 75-84. ISSN 1432-184X.

*Vedoucí práce:* doc. Mgr. Irena Lovětinská-Šlamborová, Ph.D.  
Katedra chemie

*Konzultant práce:* doc. Ing. Petr Exnar, CSc.  
Katedra chemie

*Datum zadání práce:* 7. října 2019  
*Předpokládaný termín odevzdání:* 18. května 2020

prof. Ing. Zdeněk Plíva, Ph.D.  
děkan

L.S.

prof. Ing. Josef Šedlbauer, Ph.D.  
vedoucí katedry

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci 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.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

26. května 2020

Adéla Gabčanová

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat paní doc. Mgr. Ireně Lovětinské Šlamborové, Ph.D. za odborné vedení, za pomoc a rady při zpracování této práce. Děkuji panu doc. Ing. Petru Exnarovi, CSc. za pomoc při gramatické kontrole práce. Mé poděkování patří též laborantkám Soně Rothové a Marcelce Krejčíkové za spolupráci při přípravě, testování a mikrobiologickém hodnocení antifouling vrstev. Děkuji Ing. Petrovi Parmovi, Ph.D. za analýzu vzorků vody metodou ICP - optické emisní spektroskopii. Též děkuji Ing. Totce Bakalové Ph.D za konzultace a za změření otěruvzdornosti antifouling vrstev.

## **Abstrakt**

Lodě jsou odjakživa sužovány organismy žijícími ve vodě, které mají tendenci přilnout k povrchu lodí a mohou způsobit řadu nepříznivých komplikací s dopravou. Je tedy vhodné chránit povrch lodí před těmito nepříznivými vlivy. Zde vystupují antifouling nátěry jako účinné látky na boj proti znečišťujícím organismům. Tato práce spočívá v přípravě několika typů antifouling vrstev metodou sol-gel a ověření ochranných vlastností těchto vrstev proti organismům žijícím ve vodě. Vrstvy byly testovány v prostředí akvárií, které byly simulací skutečného mořského i sladkovodního prostředí. Byl studován účinek inhibice růstu biofilmu na testovaných vrstvách, a koncentrace uvolňovaných kationtů z antifouling vrstev související s případnou toxicitou pro ostatní nemířené organismy. Byly provedeny testy otěruvzdornosti vrstev ke studiu mechanické odolnosti vrstev.

## **Klíčová slova**

antifouling, ochranné nátěry, biofilm, metoda sol-gel, mořské prostředí, mikrobiologické hodnocení, otěruvzdornost

# Obsah

Úvod.....	12
1. Teoretická část .....	13
1.1 Znečištění lodí.....	13
1.2 Mořské prostředí .....	13
1.3 Biofilm .....	14
1.3.1 Vlastnosti bakterií.....	14
1.3.2 Vlastnosti biofilmu.....	14
1.3.3 Vznik a vývoj biofilmu .....	16
1.3.4 Metody analýzy biofilmu .....	16
1.3.5 Nepříznivé vlivy biofilmu .....	17
1.3.6 Odstranění biofilmu.....	17
1.3.7 Využití biofilmu v průmyslu .....	18
1.4 Řešení problémů znečištěných povrchů lodí .....	18
1.5 Antifouling .....	18
1.5.1 Fouling .....	18
1.5.2 Biofouling.....	18
1.6 Antifouling nátěry.....	19
1.6.1 Složení nátěrů .....	20
1.6.2 Typy nátěrů.....	25
1.6.3 Výrobci nátěrů a jejich produkty.....	29
1.7 Údržba povrchu lodi .....	32
1.8 Metody nanášení vrstvy nátěru .....	33
1.8.1 Dip-coating .....	33
1.8.2 Tepelný spray-coating.....	34
1.9 Mechanické vlastnosti nátěrů.....	41
2. Experimentální část .....	42
2.1 Čištění podložních skel .....	42
2.2 Syntéza solů.....	42
2.3 Aplikace solů.....	44
2.4 Testování účinnosti antifouling vrstev ve vodném prostředí .....	44
2.5 Odběry vzorků vody pro sledování kontaminace vody kationty Ag, Cu, Zn .....	49
2.6 Metody mikrobiologického hodnocení.....	49
2.7 Antifouling testy .....	50
2.8 Testy otěruvzdornosti.....	50

3.	Výsledky a diskuze.....	52
3.1	Rozbory vody pro sledování kontaminace vody kationty Ag, Cu a Zn.....	52
3.2	Mikrobiologické hodnocení.....	52
3.2.1	Základní vrstva AFO.....	53
3.2.2	Hydrofobní vrstva AE10.....	54
3.2.3	Hydrofobní a antibakteriální vrstva AT5.....	56
3.3	Antifouling testy.....	56
3.4	Tribologické testy otěruvzdornosti.....	57
4.	Závěr.....	63
	Seznam použité literatury.....	64
	Přílohy.....	70



## Seznam obrázků

Obr. 1: Znečištění lodí .....	13
Obr. 2: Biofilm složený z nálevníků a rozsivek .....	14
Obr. 3: Vývoj biofilmu .....	16
Obr. 4: Vývoj mořského znečištění .....	19
Obr. 5: Irgarol 1051 .....	23
Obr. 6: Diuron® .....	23
Obr. 7: Sea-Nine™ 211 .....	24
Obr. 8: Pyrithion zinku .....	25
Obr. 9: Produkty od firem Hempel a Jotun .....	29
Obr. 10: Jednotlivé vrstvy nátěru Intersleek 900 .....	30
Obr. 11: Čištění povrchu lodi .....	33
Obr. 12: Dip-coating .....	34
Obr. 13: Tepelný spray-coating .....	34
Obr. 14: Druhy metod tepelného spray coatingu .....	35
Obr. 15: Drátový obloukový sprej .....	36
Obr. 16: Stříkání nátěru elektrickým obloukem v praxi .....	37
Obr. 17: HVOF .....	38
Obr. 18: HVOF v praxi .....	38
Obr. 19: Detonační pistole .....	39
Obr. 20: Studený sprej .....	40
Obr. 21: Bezvdušné stříkání nátěru .....	40
Obr. 22: Testované vrstvy seřazené v boxech .....	48
Obr. 23: Mořské akvárium A .....	48
Obr. 24: Sladkovodní akvárium B .....	48
Obr. 25: Tribometr firmy Anton Paar, model TRB .....	50
Obr. 26: Rýhy vytvořené na vrstvě 23A v průběhu tribologické zkoušky .....	51
Obr. 27: Vzorky po vyndání ze sladkovodního akvária po 14 dnech a oplachu proudem vody .....	56
Obr. 28: Vzorky po vyndání z akvária s mořskou vodou po 14 dnech a oplachu proudem vody .....	57

## Seznam grafů

Graf 1: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 v mořském akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu .....	59
Graf 2: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 ve sladkovodním akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu .....	61
Graf 3: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AD30 ve sladkovodním akváriu C v závislosti na čase stráveném tomto akváriu .....	62

## Seznam tabulek

Tab. 1: Sloučeniny užívané k inhibici bakterií a vyšších organismů.....	24
Tab. 2: Druhy připravených solí.....	43
Tab. 3: Chemikálie použité pro syntézu solí a jejich zkratky .....	43
Tab. 4: Specifikace vzorků testovaných podložních skel v akváriu A. ....	45
Tab. 5: Specifikace vzorků testovaných podložních skel v akváriu B. ....	46
Tab. 6: Specifikace vzorků testovaných podložních skel v akváriu C.....	47
Tab. 7: Odběr vzorků vody z testovaných akvárií .....	49
Tab. 8: Parametry pro test otěruvzdornosti vrstev na tribometru .....	51
Tab. 9: Výsledky rozborů vody v akváriích.....	52
Tab. 10: Inhibice růstu biofilmu v prostředí mořského akvária A - základní vrstva AF0.....	53
Tab. 11: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária B – základní vrstva AF0.....	53
Tab. 12: Inhibice růstu biofilmu v prostředí mořského akvária A - hydrofobní vrstva AE10 .....	54
Tab. 13: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária B - hydrofobní vrstva AE10.....	54
Tab. 14: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária C - hydrofobní vrstva AE10.....	55
Tab. 15: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária C – antibakteriální vrstva AD30 ... .....	55
Tab. 16: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária C – hydrofobní a antibakteriální vrstva AT5.....	56
Tab. 17: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 v mořském akváriu v závislosti na čase .....	58
Tab. 18: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 ve sladkovodním akváriu v závislosti na čase .....	60
Tab. 19: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AD30 ve sladkovodním akváriu v závislosti na čase.....	61

## Seznam příloh

Příloha 1: Kultivace bakterií na krevním agaru .....	70
--	----

## Seznam zkratek

IPA	isopropylalkohol
TEOS	tetraethoxysilan (tetraethylorthosilikát)
TMSPM	3-(Trimethoxysilyl)propyl metakrylát
HDTMS	Hexadecyltrimethoxysilan
BPO	Benzoyl peroxid
AgNO <sub>3</sub>	dusičnan stříbrný
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	dusičnan měďnatý trihydrát
Ag	stříbro
Cu	měď
Zn	zinek
PE	poly(ethylen)

## Úvod

Cílem této bakalářské práce je poukázat na problematiku znečištěných povrchů lodí a jevy v mořském prostředí, které mají na toto znečištění vliv. Následně jsou zde uvedeny současné způsoby ochrany povrchu lodí před těmito nepříznivými vlivy. V experimentální části je popsána příprava a testování několika typů ochranného nátěru, založeného na principu hybridní sol-gel metody s antifouling účinkem (omezujícím přichycení organického znečištění na trup lodí). Výsledkem práce je diskuze chování těchto nátěrů v různých prostředích z mikrobiologického a mechanického hlediska, spolu s účinností nátěrů.

# 1. Teoretická část

## 1.1 Znečištění lodí

Již od starověku lidstvo využívá lodní dopravu k přepravě nákladu, poznávání různých míst, rybolovu a dalším činnostem. Provoz lodí je náročný, jak po stránce finanční, zejména spotřebou paliva, tak po stránce údržby. Příkladem je udržování chodu lodních strojů, opravy poruch a natírání povrchu lodí při dokování. Lodní prostředky jsou odjakživa provázány komplikacemi s povětrnostními vlivy a nepřátelským prostředím vody, ať už se jedná o různé organismy, jak je vidět na obrázku 1, nebo parametry vody. Tyto jevy mají vliv na poškození povrchu lodí, odbarvování nátěrů, energetickou náročnost vláčení mikroorganismů a následným zatížením lodí, mechanické poškození, jako je opotřebený povrch, koroze, proděravění, zatékání do lodě a v nejhorším případě potopení lodě [1, 2]. Protože převažují slané vody před sladkými, bude zde zmíněno slané resp. mořské prostředí vody a jeho vlivy na povrchy lodí.



Obr. 1: Znečištění lodí

[převzato ze zdroje [3], [4]]

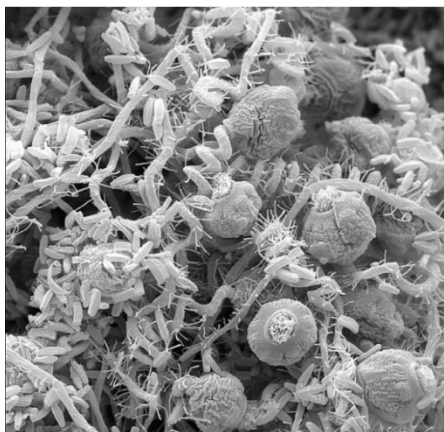
## 1.2 Mořské prostředí

Mořské prostředí je ovlivněno různými parametry, mezi něž patří slanost vody (salinita), vliv teploty, pH, ionty mořské vody, intenzita světla, obsah rozpuštěného kyslíku DO (dissolved oxygen), oxidovatelné organické hmoty OOM (oxidizable organic matter) a další vlivy. Pro povrch lodí jsou parametry mořské vody důležité, protože mohou způsobit větší opotřebení trupu lodě a dalších částí ponořených pod vodu. Souvisí to s tím, že v mořském prostředí probíhají chemické a difúzní jevy. Povrchy lodí jsou opatřeny vrstvou nátěru, která také reaguje s mořskou vodou. Teplota ovlivňuje rychlost chemických reakcí, rozpouštění a aktivitu nátěrů. Horší znečištění je právě v oblastech s vysokými teplotami vody. Dále je teplota podmínkou pro vyšší rychlost růstu a rozmnožování mořských živočichů, mořských řas, měkkýšů, svijonožců, rozsivek a dalších druhů, ale také mikroorganismů, které se shlukují do biofilmu. S rostoucím pH roste rozpustnost pryskyřice obsažené v nátěru. Vyšší intenzita světla, která je převážně v oblasti s nižší hloubkou vody, podporuje růst rostlin

a tím zvýšení potravy pro živočichy, dochází tak k ideálním podmínkám růstu organismů v ekosystému, načež dochází k přidružení organismů k povrchu lodí [2, 5].

### 1.3 Biofilm

Biofilm je mikrobiální komunita bakterií, které mají tendenci přilnout k vlhkým povrchům a tvoří tak organizované kolonie bakterií uzavřených v matrici složené z polysacharidů (EPS) [6]. Pro pochopení chování bakterií v biofilmu jsou zde uvedeny jejich vlastnosti, příznivé a nepříznivé projevy, a použití biofilmu v průmyslu. Na obrázku 2 je snímek biofilmu zachycený mikroskopickou metodou.



Obr. 2: Biofilm složený z nálevníků a rozsivek

[převzato ze zdroje [7]]

#### 1.3.1 Vlastnosti bakterií

Bakterie se pohybují v reakci na vnější signály v jejich okolí a převádí zdroje na růstovou aktivitu. Mají tendenci přilnout k povrchům, přičemž vyžadují pro růst živnou půdu. Po přichycení dochází k produkci extracelulárních polymerních látek (EPS), což vede ke tvorbě bakteriálních komunit. Některé kmeny bakterií mají bičíky, které se uplatňují při kolonizování, jiné mohou mít fimbrie. Typickým prostředím pro bakterie je buď plankton na hladinách stojatých vod i moří, nebo biofilm. Ten je obklopen buňkami a tvoří bariéru, která chrání bakterie před okolím. Bakterie se tak stávají odolné vůči toxickým látkám, UV záření, mechanickému poškození, bakteriofágům či predátorům. Biofilm rovněž chrání bakterie před antibiotiky a hostiteli. Bakterie v biofilmu mají vyšší metabolickou aktivitu, než v planktonu [8, 9].

#### 1.3.2 Vlastnosti biofilmu

Biofilm je elastická a viskózní matrice z polysacharidu tvořená bakteriemi, jejímž účelem je zachytávání jiných mikroorganismů, měkkýšů a řas. Vyskytuje se tam, kde jsou přítomné

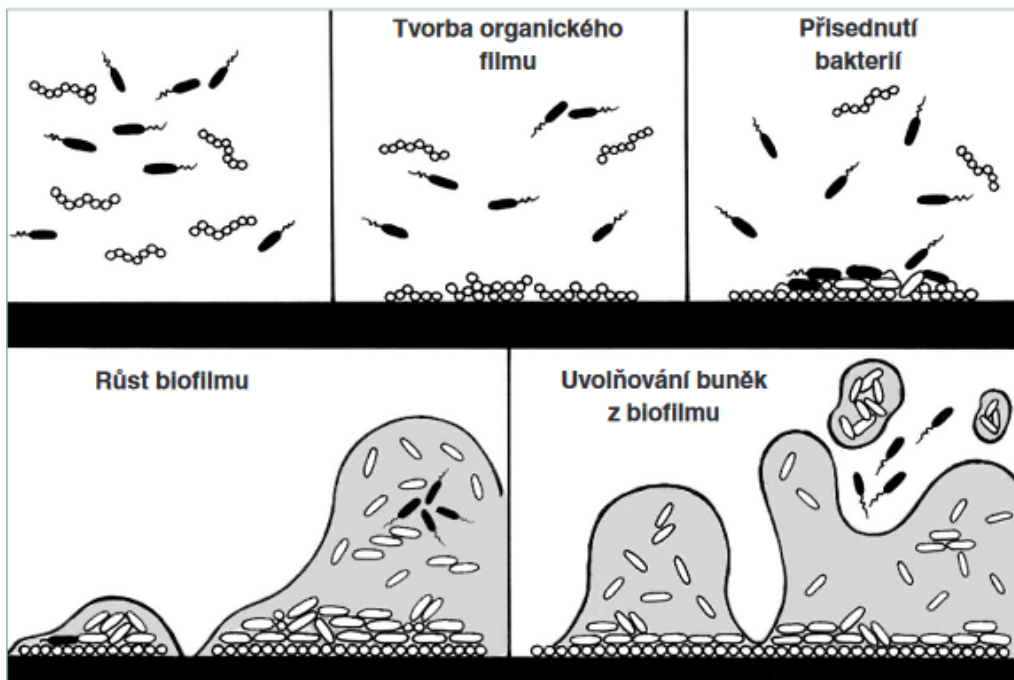
mikroorganismy. Povrch biofilmu je tvořen tenkou vrstvou bakterií. To, jak je velká tloušťka biofilmu, je ovlivněno počtem druhů bakterií a dostupností živin. Struktura biofilmu závisí na fyzikálních a biologických faktorech. Předpokladem pro vznik biofilmu je přítomnost vody, živin a kyslíku, tedy podmínky nutné pro růst a množení bakterií, které se samy uspořádávají do biofilmů. Také se na tvorbě biofilmu podílí extracelulární DNA (eDNA). Biofilmové komunity mají velmi organizovanou strukturu. Organizaci komunity a celkové vlastnosti biofilmu lze určit na základě znalostí o složení prostředí a mikroorganismů a též bakteriální růstovou aktivitou v biofilmech. Růst bakterií je určen metabolickými interakcemi uvnitř mikrokolonií a mezi nimi. Mikrokolonie mají různé tvary, v nichž se nachází systém kanálků a otvorů, které umožňují přívod živin a odtok odpadu. Mezi mikrokoloniami se nachází extracelulární polymerní látky (EPS), jinak též nazývané „temná hmota biofilmů“, které umožňují snadné ukládání živin v biofilmech, pokud jich mají deficitní množství. Též snižují antimikrobiální citlivost. EPS se skládá z polysacharidů, proteinů, lipidů a nukleových kyselin. Příkladem proteinů jsou amyloidní vlákna. Mezi běžné polysacharidy v EPS patří celulóza, alginát, stafylokokový polysacharidový intercelulární adhezín (PIA), Psl, a Pel [2, 8–11]. U posledních dvou polysacharidů Psl a Pel je zde popsána jejich charakteristika.

Psl je neutrálně nabitý polysacharid, který je syntetizován v jedenácti psl genech pslACDEFGHIJKL (anglicky polysaccharide synthesis locus, v překladu lokus syntézy polysacharidu), někdy je také uváděn jako exopolysacharid ePsl. Psl se skládá z opakujícího se pentameru, který se sestává z D - manosy, L-rhamnózy a D-glukózy, a má vliv na tvorbu biofilmu v takových kmenech bez slizu, které se na alginát nespolehají jako na hlavní biofilmový polysacharid [12]. Dále udržuje tvar biofilmu a chrání bakterie *Pseudomonas aeruginosa* tvořící biofilm [13]. Pel (anglicky Pellicle polysaccharide, v překladu polysacharid pelikuly) [14] je pozitivně nabitý polymer acetylglaktosaminu a acetylglukosaminu. Obsahuje sedm genů, podílejících se na produkci polysacharidu bohatého na glukózu, který je důležitý při tvorbě pelikuly [12]. Pel má funkci iniciace a udržení interakce buňka-buňka v biofilmu. Také poskytuje ochranu biofilmu proti aminoglykosidovým antibiotikům [15]. Nedávno bylo navrženo, že během tvorby hydratovaného biofilmu *P. aeruginosa* je exopolysacharid Psl dominantní v raných stádiích, vytváří tuhou matici, avšak Pel exopolysacharid se zvyšuje s dozráváním biofilmu, přetváří matici a vytváří viskóznější nebo tvárnější strukturu [14].

Autorka Fulaz a kol. [11] uvádí, že pro pochopení různých interakcí je podrobná znalost matrice biofilmu nesmírně důležitá, ač v dnešní době je pořád špatně pochopena z důvodu složité prostorové a chemické proměnlivosti.

### 1.3.3 Vznik a vývoj biofilmu

V prvním kroku probíhá transport a adsorpce organických molekul substrátu na povrchu nosiče. Následně dochází k transportu bakteriálních buněk k povrchu nosiče, k transformaci buněk z reverzibilních na ireverzibilní adsorpci, k desorpci reverzibilně adsorbovaných buněk, k růstu ireverzibilně adsorbovaných buněk a k erozi, čili k odtrhávání buněk. Mikroorganismy jsou zachyceny na povrchu, probíhá replikace přisedlých buněk a produkce extracelulární matrice a dalších metabolitů. Dále probíhá vývoj biofilmu na povrchu nosiče, a nakonec dochází k odtrhávání a disperze biofilmu zpět do kapaliny [16]. Proces tvorby biofilmu je znázorněn na obrázku 3.



Obr. 3: Vývoj biofilmu

[převzato ze zdroje [16]]

### 1.3.4 Metody analýzy biofilmu

Biofilm lze analyzovat pomocí fyzikálních a fyzikálně-chemických metod. Příkladem je konfokální mikroskop CLSM, fluorescenční in situ hybridizace a skenovací elektrochemická mikroskopie SECM. Konfokální mikroskop nám dává obraz prostorové struktury. Provádí řezy, které se poskládají a vytvoří tak snímek. Další metoda, skenovací elektrochemická mikroskopie, nám umožňuje pomocí mikroelektrod sledovat metabolickou aktivitu struktury mikrokolonií určením úbytku látek, živin, či bakteriální produkci [9]. Pokud chceme pěstovat bakterie pro mikrobiologickou analýzu, analýzu chování v různých podmínkách prostředí atp., slouží k tomu Kochovy agarové půdy, které umožňují pěstování na pevných půdách.



### 1.3.5 Nepříznivé vlivy biofilmu

Podle toho, v jakém prostředí biofilmy žijí, se odlišují jejich negativní účinky. V lidském těle jsou některé biofilmy žádoucí, ale pokud jsou v něm umístěny cizí předměty, kontaktní čočky, kanyly, katétrů, prsní či estetické implantáty, pak biofilmy způsobují zdravotní komplikace. V hostitelském těle živých organismů přinejhorším způsobují degradaci tkáně až úmrtí. Bakterie v biofilmu jsou rezistentní vůči antibiotikům, dezinfekcím a jiným antimikrobním látkám. Dále, na hladinách vodních ploch soutěží o živiny a blokují jiným organismům přístup na světlo. Znečišťují chladicí vodní věže, továrny na výrobu potravin a ropovody na vodních plochách. Akumulují se v potrubí teplotních výměníků. V chladicích zařízeních způsobují zvýšení odporu přenosu tepla, zvýšení odporu kapaliny ztráty energie, snížení výkonu a inhibují výměnu plynů. Zvětšují odpor lodního trupu při plavbě. Znečištěním mohou způsobit chemickou korozi [8, 17].

### 1.3.6 Odstranění biofilmu

Biocidy a dezinfekční prostředky, především s obsahem chloru případně jeho sloučenin, jsou hlavními přípravky užívanými k regulaci biofilmů. Působení přípravků na odstranění biofilmu je obecně posuzováno z hlediska snížení počtu jednotek tvořících kolonie na povrchu. Přípravky jsou založeny na principu usmrcení buněk, které stále zůstávají přilnuté na povrchu, a na zničení EPS. Takové přípravky mohou mít vliv na odstranění přilnutých buněk z povrchu, ale neplatí to vždy. Druhou možností jsou přípravky, které odstraňují buňky z povrchu. Jsou schopny zbavit se buněk připoutaných k povrchu, avšak nedokážou bakterie vyhubit [18]. Chemické prostředky jsou snadno dostupné, bohužel bývají neúčinné z toho důvodu, že bakterie se stávají rezistentní vůči biocidům [6]. Různé druhy bakterií jsou svým složením natolik odlišné, že na každý kmen bakterií je nutné užít specifický biocid, nebo prostředek. Například Pitts a kolektiv ve svém zdroji [19] uvádí, že proti biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* je účinný chlorid sodný o koncentraci 1 M, což je oproti mořské vodě zhruba dvakrát tak vyšší, avšak téměř nemá vliv na *Staphylococcus epidermidis*. *S. epidermidis* lze však účinně odstranit peroxidem vodíku [19]. Dříve se k oslabení matrice biofilmu používal i  $\text{CaCl}_2$ , jakožto dezinfekční prostředek proti biofilmu. Později se zjistilo, že kationt vápenatý, ať volný, nebo spojený nízkou afinitou ve sloučenině, má zesíťovací schopnosti, díky nimž poskytuje stabilitu biofilmu namísto, aby jej mohl odstranit. Pro tvorbu biofilmu je tedy kationt vápenatý nezbytný. Odstranit jej a narušit biofilm lze působením chelátů. Dojde tak k oddělení biofilmu od povrchu [17].

Dalšími možnostmi odstranění biofilmu jsou hydrodynamický stres, ultrazvuk, enzymatické čisticí prostředky, nebo mechanické čištění. U lodí lze podvodní povrchy preventivně ochránit před biofilmy antifoulingovými nátěry, které jsou účinné po několik měsíců. Jako další běžně užívané přípravky jsou enzymatické čisticí prostředky, jejichž účinnost je střední až nízká, protože nedokáží

snížit množství bakterií, nebo odstranit EPS. S rostoucí koncentrací enzymatických čisticích prostředků roste schopnost lépe odstranit biofilmy, ale nese to s sebou nevýhody, zejména zdravotní potíže, konkrétně alergické reakce a dýchací potíže při používání [2, 6, 20].

### **1.3.7 Využití biofilmu v průmyslu**

Biofilmy mají mnohostranné využití. Nejvíce je bakteriální biofilm využíván například v čistírnách odpadních vod, v zubařství ke studiu dentálního plaku, v potravinářství při výrobě surovin kvašením, či fermentací, též v chemickém průmyslu k výrobě etanolu, butanolu a farmaceutickém průmyslu [8].

## **1.4 Řešení problémů znečištěných povrchů lodí**

Lodní trupy, dlouhodobě ponořené do vody jsou sužovány různými vodními organismy a jinými nečistotami, které napadají povrch a zhoršují stav lodí. Povrch lodi lze ochránit před vnějšími vlivy, tím, že bude pokryt ochranným nátěrem. Zdroj [2] uvádí, že jsou již více než dva tisíce let vyvíjeny antifoulingové technologie, v podobě ochranného nátěru, s obsahem biocidů, aby zabránily usazování organismů na plavidlech [1].

## **1.5 Antifouling**

Antifouling lze rozdělit na příponu „anti-“, nebo-li proti, a slovo anglického původu „fouling“, což znamená znečištění. Význam slova antifouling, je tzv. „protiznečišťující“, nebo „protiznečištění“. V této kapitole se zmíním o pojmech fouling a biofouling. V dalších kapitolách bude řečeno o antifouling nátěrech a jeho složení, a následně uvedu pár příkladů výrobních společností a antifouling nátěrů používaných v současné době.

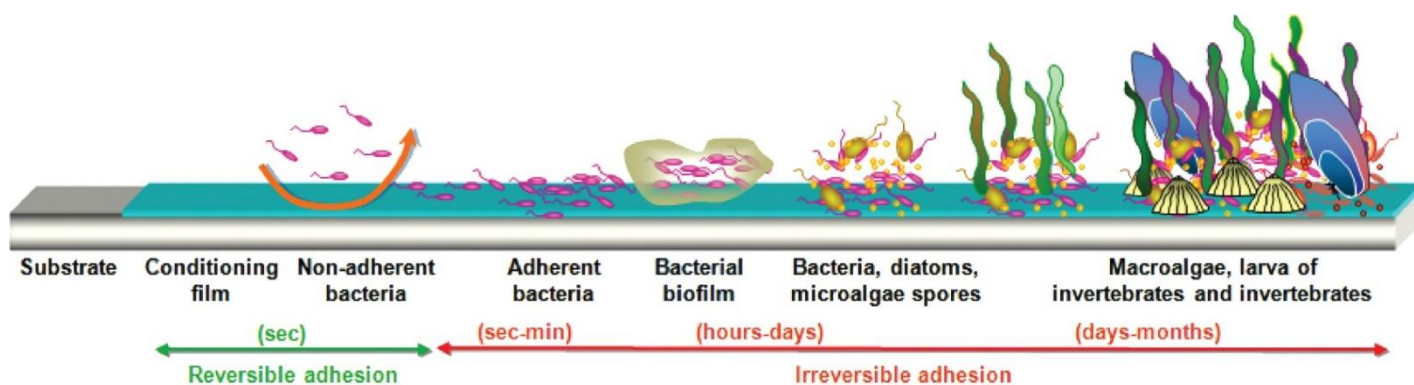
### **1.5.1 Fouling**

Jako projev znečištění je považováno hromadění zadržených částic, koloidů, makromolekul, soli atd. na pevném povrchu [2]. Typ znečištění závisí na geografických, fyzikálních a chemických faktorech, a dalších okolnostech jako jsou druhové rozmanitosti a prostředí [21].

### **1.5.2 Biofouling**

Biofouling je definován jako nežádoucí shluk mikroorganismů, rostlin a zvířat na povrchu materiálu ponořeného do mořské vody [2]. Na světě je uznáno okolo 4 000 mořských organismů [22]. Jakmile je nechráněný povrch ponořen do vody, nezávisle na tom, zda je sladká či slaná, během jedné hodiny je vystaven těmto organismům [23]. Povrch se postupně obsazuje ionty,

bílkovinami a uhlovodíky z okolní vody. Poté se na substrát připojí bakterie a nakonec se usazují větší mikroorganismy a makroorganismy [22]. Původci nečistot mají vlastnosti, jako rychlá metamorfóza rychlost růstu, různá adaptibilita na různá prostředí. Znečištění je nejvíce problematické v pobřežních oblastech a přístavech. Mikrořasy jsou zodpovědné za většinu primární produkce a hrají klíčovou roli při udržování ekosystému a při rybolovu v mořském prostředí. Znečištění mořské vody vede k narušení životně důležitých činností, jako je dýchání, absorpce živin a smyslové orgány [2]. Bakterie z mikrobiálních biofilmů si však budují odolnost proti biocidům. Zooidi, podle zdroje [24] to jsou jedinci z nepohlavně produkovaných jedinců ve složeném organismu, dále mechovci a sumky, jsou v mořském prostředí ovlivněni hlavně koncentrací živin a OOM, což se projevuje jejich růstem [2, 22]. Na obrázku 4 je znázorněn průběh usazování mikroorganismů a makroorganismů.



Obr. 4: Vývoj mořského znečištění

[převzato ze zdroje [25]]

překlad: čtení zleva doprava:

první řádek: substrát; podmíněný film; nepřilnavé bakterie; přilnavé bakterie; bakteriální biofilm; bakterie, rozsivky, výtrusy mikrořas; makrořasy, larvy bezobratlých a bezobratlí

druhý řádek: (sekunda); (sekunda-minuta); (hodiny-dny); (dny-měsíce)

třetí řádek: vratná adheze; nevratná adheze

## 1.6 Antifouling nátěry

Historie vývoje antifouling nátěrů sahá až do doby starověku. V různých dobách se používaly různé ochrany lodí, jako například měděná nebo olověná vrstva, zahřívání či chlazení lodního trupu, povlaky na bázi bílkovin různých druhů, radioaktivní povrchy, ultrafialové záření, ultrazvuk, magnetická pole, uvolňování chloru, gelové povrchy, furanonové povlaky, povrchy se speciálními mikrostrukturami a hladké povrchy na bázi silikonu s vlastnostmi uvolňování nečistot. Hojně byly na ochranu povrchů lodí užívány arsen, oxid rtuťnatý, a měď, z nichž první dvě sloučeniny byly postupem času zakázány. Dnes jsou nejúspěšnější antifouling nátěry s kontrolovaným uvolňováním

biocidů do mořské vody. Zhruba v 50. letech 20. století se začaly používat tributylcínové samoleštící kopolymerní nátěry TBT-SPC s rozpustným pigmentem  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Jejich vlastnosti byly velmi účinné proti znečištění. Jejich velkou nevýhodou však bylo, že jsou škodlivé pro životní prostředí. Například podle původního zdroje [26], uvedeného ve článku [2], tributylcínové nátěry způsobovaly vadný růst skořápky ústřice *Crassostrea gigas* (20 ng/l), impotenci u mořských živočichů a růst samčích genitálií v samičím těle u nachovce obecného. Antifouling nátěry jsou škodlivé i pro ryby a další organismy tím, že buď dochází k bioakumulaci a následně se případné mutace dostávají do koloběhu potravy. Od roku 2003 je výroba a prodej této skupiny TBT zakázána, a používání nátěru na nanášení lodě bylo zakázáno až v roce 2008. V současnosti mezi oblíbené antifoulanty patří samoleštící kopolymerní nátěry (SPC), povlaky uvolňující nečistoty (FR), sol-gel vrstvy a několik biocidů. Principem antifouling barev je uvolňování biocidů, které jsou poté zapuštěny do matrice biofilmu, dochází tak k vytvoření toxické koncentrace na povrchové vrstvě. Mořská voda proniká do nátěru, čímž rozpustí biocid a opět prostupuje do objemové fáze vody [2, 27, 28].

### 1.6.1 Složení nátěrů

Obsah nátěru můžeme rozdělit na:

- matricové nebo polymerní pojivo (20-30%)
- biocid (15-40%)
- posilovací biocid (4-5%)
- aditiva k rozrušení objektu na povrchu (5-15%)
- pigmenty (3-4%)
- změkčovadla (2-5%)
- katalyzátory (0,5-2%)
- rozpouštědla (15-20%) [2].

#### 1.6.1.1 Pigmenty

Pigment je materiál, který mění barvu odráženého světla, což je způsobeno selektivním pohlcováním určitých vlnových délek. Výsledná barva je dána spektrem odražených vlnových délek světla [29]. Pevné částice pigmentu jsou organické, anorganické, nebo biologické povahy. Jsou převážně rozpustné ve vodě. Příkladem pigmentu pomohu být soli, cukry, druhy proteinů, enzymy, peptidy, a hormony. Pigment může také představovat pevný nosič materiálu rozpustný v mořské vodě s jakoukoli z výše uvedených aktivních složek dispergovaných v pigmentu [27]. Nejpoužívanějšími pigmenty antifoulingových nátěrů jsou thiokyanatan měďný, oxid měďný,

oxid zinečnatý, oxid titaničitý a oxid železitý. Pigmenty se především používají u samoleštících kopolymerních pojiv. Vlastnosti pigmentu, jako je rozpustnost a difúze rozpuštěného pigmentu v mořské vodě, mají vliv na chování leštění a loužení samoleštícího nátěrového systému. Rozpuštění pigmentu lze před použitím v nátěru analyzovat na matematickém modelu na základě parametrů, jako je interakce sloučenin, koncentraci a rychlosti reakce. Také je nutné, aby nedocházelo k nežádoucím reakcím ve vrstvě nátěru, či v mořském prostředí [2].

#### **1.6.1.1.1 Měď, její sloučeniny a toxicita**

Měď je biogenní prvek, který se běžně vyskytuje v živých organismech a v životním prostředí. Ve vodě málo rozpustná a má tendenci se rychle vysrážet. V dostatečně okysličeném mořském prostředí dochází k oxidaci iontu  $\text{Cu}^+$  na  $\text{Cu}^{2+}$ . Většina iontů  $\text{Cu}^{2+}$  tvoří biologicky méně aktivní sloučeniny jako je hydroxid měďnatý  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  a uhličitan měďnatý  $\text{CuCO}_3$ . Nejtoxicičtějším iontem mědi je  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ , rovněž toxicita může růst oxidací  $\text{Cu}^+$  na  $\text{Cu}^{2+}$ . Vysoké koncentrace mědi organismům škodí, čehož se využívá k odpuzování a odstranění organismů na povrchu lodi. Typickými pigmenty mědi jsou thiokyanatan měďný  $\text{CuSCN}$  a oxid měďný  $\text{Cu}_2\text{O}$ , malachit  $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$  a taniny měďnaté. Podle různých zdrojů stálým používáním antifoulingových barev roste koncentrace mědi a je již riziková hlavně pro necílené mořské organismy. Některé mikroorganismy, v odpověď na vyšší koncentraci mědi, produkují chelační činidla mědi, která umožňují snížení koncentrace mědi, platí to však pro lehce zvýšené koncentrace mědi [2, 27, 30].

#### **1.6.1.1.2 Zinek, jeho sloučeniny a toxicita**

Zinek a jeho sloučeniny, jako je oxid zinečnatý a akrylát zinečnatý, často doprovází sloučeniny mědi v biocidech z důvodu zvýšení celkové toxicity přípravku, nebo ke snadnějšímu uvolňování z povrchu, může však vystupovat sám jako hlavní složka biocidu [31]. Nanočástice  $\text{ZnO}$  jsou toxické pro vodní organismy a řasy [23], avšak některé rozsivky a řasy už jsou na měď a zinek rezistentní [32].

#### **1.6.1.2 Pojiva**

Po kontaktu pojiva s vodou dojde k hydrataci pojiva a následně dojde k uvolnění složek biocidů, čímž se pojivo degraduje. Pro antifouling nátěry se používá jako pojivo pryskyřice, polyester poly( $\epsilon$ -kaprolakton) PCL a silikon poly(dimethylsiloxan) PDMS. Poly( $\epsilon$ -kaprolakton) je biologicky odbouratelný a umožňuje uvolňování biocidu. Je tedy výhodný jak z environmentálního hlediska, tak z finančního, protože jeho náklady na výrobu jsou nízké, a výrobek je cenově dostupný. Další pojivo, poly(dimethylsiloxan), je hojně používané. O tom dokládá použití v různých nátěrech společností Chugoku Marine Paints, PPG a dalších, jak uvádí zdroj [25] ve článku [20].

Reakcí obou dvou poživ vzniká trojblokový kopolymer poly( $\epsilon$ -kaprolakton)-*blok*-poly(dimethylsiloxan)-*blok*-( $\epsilon$ -kaprolakton), jehož zajímavé vlastnosti hydratace a dehydratace se podrobují dalším výzkumům [2, 20].

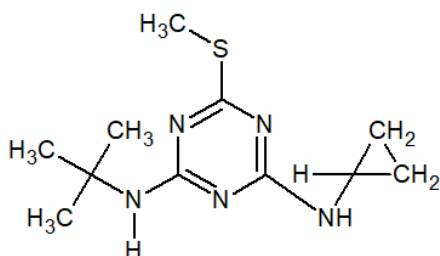
### 1.6.1.3 Biocidy

Biocidy jsou přípravky, jejichž účelem je inhibice růstu mikroorganismů. Jejich použití však nese potíže, jako biologická nerozložitelnost, ničení necílených organismů a bioakumulace. Proto je nutné před začleňováním směsi sloučenin do nátěru prozkoumat mechanismus, pomocí kterého mohou být ve vrstvě nátěru zahrnuty aktivní sloučeniny s matricí, které se vlivem mořské vody postupně uvolňují na povrch nátěru v množství dostatečném k zabránění znečištění. Nejdříve je monitorováno chování rozložených sekundárních metabolitů. Mezi pozorované sekundární metabolismy patří terpenoidy, steroidy, mastné kyseliny, aminokyseliny, heterocykly, alkaloidy, poly(fenoly) a acetogeniny. Po rozpouštění pojiva mohou vzniklé sekundární metabolity působit enzymaticky na biochemické reakce v organismech, případně je přímo inhibovat a tím narušit jejich metabolismus. Jakmile jsou prozkoumány účinky sloučenin, jsou zařazeny podle úrovně účinnosti, a buď se již stávají konečnou složkou nátěru, nebo jsou dále modifikovány. Dále se zjišťuje, zda produkty po vylepšení jsou degradovány bakteriemi ve vodním prostředí. To by případně vedlo ke snížení či odstranění možných environmentálních rizik necílových organismů. Při začlenění bioaktivní látky do matrice nátěru musí být zajištěno, že látka i matrice jsou kompatibilní. V tomto bodě u přírodních látek nastává problém, že mají tendenci se degradovat. Dále matrice musí dosahovat stejných požadavků jako ostatní složky nátěru, jako rychlost uvolňování, stabilitu a mechanické vlastnosti. Sloučeniny by měly být dostupné, levné, účinné a ekologické. Co se týče dostupnosti, pokud zatím neexistuje syntetický derivát přírodního biocidu, který by měl podobné vlastnosti, lze využít bakterie na výrobu biocidů, nebo bakterie znehybněné v hydrogelu, ke vzniku dostatečného množství aktivních sloučenin [2].

Nejběžnější biocidy jsou pyrithon mědi a zinku, Diuron, Irgarol 1051, Sea-nine 211, dichlorfluanid chlorothalonil, a zineb. Dichlorfluanid je považován za nejméně toxický biocid pro necílené mořské organismy z důvodu rychlého rozložení jak ve vodě, tak v sedimentech. Další dostupné sloučeniny, zatím ve vývoji, jsou na bázi imidazolu a pyridinu, jejichž koncové skupiny zvyšují antimikrobiální, protinádorovou, antialgální a antiadhezivní účinnost [22]. Nyní je vývoj antifoulingových nátěrů zaměřen na potlačení přilnavosti bakterií a rozsivek na povrchu ponořeném ve vodě, které vede k zabránění tvorby biofilmu [22, 31]. Yebra a spol. [2] uvádí, že je lepší se zaměřit ochranu na inhibici jednotlivých specifických druhů, než na silné biocidy, které poškodí veškeré organismy žijící ve vodě.

### 1.6.1.3.1 Irgarol 1051® (2-methylthio-4-tert-butylamino-6-cyklopropylamino-s-triazin)

Tato sloučenina není snadno biologicky rozložitelná. Má vysokou toxicitu vůči všem mořským řasám, nikoli jen parazitujícím. Byla detekována na pobřežích evropských, japonských i australských států. Pomalou degradací nebo rozkladem vzniká stabilní produkt, který stále obsahuje heterocyklický kruh Irgarolu 1051, tudíž je toxický, i když méně, než původní sloučenina. V několika zemích je tato sloučenina již zakázána [2, 31]. Struktura vzorce je patrná z obrázku 5.

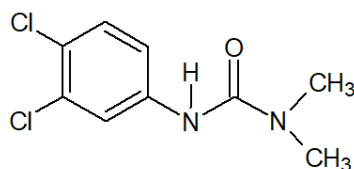


Obr. 5: Irgarol 1051

[obrázek vytvořen v programu ChemSketch, zdroj: autorka]

### 1.6.1.3.2 Diuron® (3-(3,4-dichlorofenyl)-1,1-dimethylmočovina)

V 50. letech 20. století v nezemědělských oblastech byl používán jako herbicid. Mimo jiné má schopnost inhibice fotosyntézy. Nyní více než 20 let se používá jako biocid do antifouling nátěru. Struktura sloučeniny, která je zobrazena na obrázku 6, se skládá z derivátu močoviny středně rozpustného ve vodě. Diuron se bioakumuluje a též se pomalu rozkládá v mořské vodě. Na kmeny kroužkovců a svijonožců nepůsobí. Podobně jako Irgarol 1051 je také v několika zemích zakázán [2, 31].



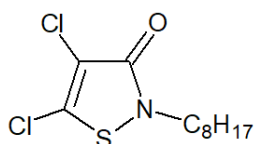
Obr. 6: Diuron®

[obrázek vytvořen v programu ChemSketch, zdroj: autorka]

### 1.6.1.3.3 Sea-Nine™ 211 (4,5-dichloro-2-n-oktyl-3(2H)-izothiazolon)

Účinná sloučenina používaná proti mnoha mikroorganismům, jako jsou bakterie, rozsivky, houby a řasy. Mísí se s organickými rozpouštědly. Má schopnost vázat se na povrch. Navázaná na povrchu je nehybná, omezuje tím přístup mikroorganismů na povrch. Degraduje se rychleji než TBT a tím klesá koncentrace pod hranici toxicity. Většina produktů, vzniklá rozložením,

má otevřený kruh se sníženou toxicitou. Chemický vzorec Sea-Nine je na obrázku 7. 0,45% mořských druhů je ovlivněno toxicitou Sea-Nine. Běžně je obsažen v nátěrech spolu s oxidem měďnatým a Diuronem. Přímo narušuje buněčné dělení nebo biosyntetickou dráhu spojenou s buněčným dělením zelených řas *Scenedesmus vakulatus*. Tento přípravek je univerzální z toho důvodu, že aktivní složka izothiazolonu inhibuje proliferaci buněk inhibicí aktivity histonové acetyltransferázy v kultivovaných savčích buňkách. Tento proces dělení je společný pro rostliny a živočišné druhy. Necíleně poškozuje i vejce a embrya mořských ježků a celkově organismy žijící ve vodě [2, 28].



Obr. 7: Sea-Nine TM 211

[obrázek vytvořen v programu ChemSketch, zdroj: autorka]

#### 1.6.1.3.4 Schiffovy báze

Je to skupina sloučenin, do které patří salicylideniminothiazol (SITSB) a benzylden-bis-iminothiazol (BBITSB). Mají univerzální antibakteriální účinnost proti mořským bakteriím, zejména proti gramnegativním bakteriím, *E. Coli* a *A. hydrophila*. Jejich společnou základní látkou je derivát thiazolu, díky němuž mají antibakteriální, antimykotické, protinádorové, antidiabetické, antivirové, antioxidační, tlumící CNS, nematocidové a antihelminthické účinky. Jako základ matrice zde slouží směs pryskyřice, chlorovaného kaučuku, oxidu železa, dioktyl-ftalátu (DOP) a xylenu. V tabulce 1 jsou uvedeny sloučeniny, které účinně inhibují růst bakterií a vyšších organismů [22].

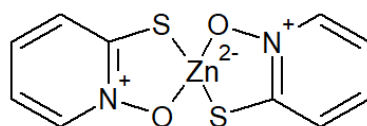
Tab. 1: Sloučeniny užívané k inhibici bakterií a vyšších organismů

bakterie a organismy	sloučenina s inhibičními vlastnostmi vůči bakteriím a organismům
<b>A. Hydrophilialze</b>	2-(3-ethoxysalicyliden)-iminothiazol; 2-(5-(1,2-dimethyl-imidazol-3-ium chlorid)-3-ethoxysalicyliden)-iminothiazol;
<b>E. Coli (slizový biofilm)</b>	2-(3-methoxysalicyliden)-iminothiazol;
<b>bradatice</b>	2-(5-(2-methylpyridiniumchlorid)-salicyliden)-iminothiazol; 2-(5-(2ethylpyridiniumchlorid)-salicyliden)-iminothiazol;
<b>svijonožci</b>	2-(3-ethoxysalicyliden)-iminothiazol; 2-(5-(2-methylpyridiniumchlorid)-salicyliden)-iminothiazol; 2-(5-(2ethylpyridiniumchlorid)-salicyliden)-iminothiazol;



### 1.6.1.3.5 Pyrithion zinku a mědi

Na trh byly uvedeny v letech 1991 až 1996 společností Arch Chemicals. Jsou účinné proti řasám, bakteriím a houbám. Mimo jiné se používají i v hygienických přípravcích jako je šampon proti lupům. Pyrithion zinku, jehož vzorec je znázorněn na obrázku 8, se velmi ochotně převádí na pyrithion mědi v přítomnosti  $\text{Cu}^{2+}$ . ZnPT a CuPT jsou velmi citlivé na světlo a mají tendenci se degradovat rychlou fotolýzou za přirozeného slunečního světla. Pyrithion zinku a mědi se fotodegraduje v přírodní mořské vodě za dostatečného světla na 2- pyridin sulfonovou kyselinu a ionty  $\text{Zn}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$ , které jsou méně toxické. Za anaerobních podmínek dochází ke snadné redukci toxické funkční skupiny. Poločas rozpadu ZnPT je menší než 24 hodin, zatímco poločas rozpadu CuPT je 0,5 hodiny, za sníženého světla se poločasy liší. Pyrithion má dobrou tepelnou a pH stabilitu a je ve vodě nerozpustný. Jednou z výhod pyrithionu mědi oproti pyrithionu zinku je nižší rozpustnost. Působením pyrithionů na mikrobiální společenství a vůbec na organismy dochází k ovlivnění funkcí a struktury organismů. Má nízkou akumulaci, avšak v sedimentu ve znečištěných nebo hlubokých vodách, čili tam, kde UV záření neexistuje, se akumulují více. V takových oblastech mají formu manganového komplexu, nebo komplexu pyrithionu mědi. Pro mořského ježka je to nejtoxičtější biocid, ale nepříznivý vliv má i na ryby, řasy, měkkýše a korýše v koncentraci  $\mu\text{g/l}$ . Nejvýrazněji se vliv pyrithionu projevuje na dusíkovém cyklu mikrobiálních organismů. Dále je prokázáno, že pyrithion zinku se silně váže na sedimenty, dochází tak k hromadění sedimentů, což může mít nepříznivé účinky především v pobřežních oblastech. Ve srovnání se Diuronem a Irgarolem není pyrithion zinku není tak účinný. V současnosti v USA není povolený z důvodu vysokého nárůstu iontů mědi v mořské vodě a toxicitě vůči necíleným vodním organismům [2, 23, 33].



Obr. 8: Pyrrithion zinku

[obrázek vytvořen v programu ChemSketch, zdroj: autorka]

### 1.6.2 Typy nátěrů

Zde bude zmíněno několik typů nátěrů, konkrétně samolešticí kopolymerní nátěry, povlaky uvolňující nečistoty, fotokatalytické povlaky a povlaky vyrobené metodou sol-gel. Sol-gel nátěr rozvedu

více, protože je tématem této práce a je využit v experimentální části. Ostatní nátěry budou uvedeny obecně.

### **1.6.2.1 Samolešticí kopolymerní nátěry (SPC)**

Povlaky jsou založeny na tom principu, že pojivo nejdříve reaguje s mořskou vodou a následně se po hydrolyze stane rozpustným. Druhou reakcí je ionto-výměnná reakce s akrylátem a mořskou vodou, kdy vzniká kyselý polymer rozpustný ve vodě. Pokud se loď pohybuje ve vodě, povlak se leští, a na povrchu se odhaluje spodní vrstva s biocidem, která zabraňuje znečištění. Pokud loď setrvává na místě, tvoří se vrstva, která uvolňuje měď do nátěrového povlaku, kde měď je zadržena, a působí na organismy přilnuté na povrchu. Tento druh nátěru má dlouhou životnost asi 60 měsíců. Typickou součástí SPC povlaků jsou polymery jako poly(methylmethakrylát), alkylakryláty, akryláty kovů a silylakryláty. Spolu s kovy tvoří organokovovou kovalentní vazbu. Příklady sloučenin s SPC vlastnostmi jsou akrylát mědi, akrylát zinečnatý a silylové polymery a pyrithion zinku a mědi. Další skupinou jsou pojiva karboxylátových solí zinku s organickými posilovacími biocidy, a hybridní povlaky SPC. Hybridní povlaky jsou základní povlaky akrylátů spolu s pomocnými činidly, jako jsou pryskyřice. Takové sloučeniny umožňují zlepšení vlastností biofilmu [23, 34].

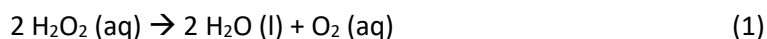
### **1.6.2.2 Povlaky uvolňující nečistoty (FR)**

V 90. letech byly zkoušeny ekologicky šetrné nebiocidní povlaky s uvolňováním nečistot, avšak byly finančně nákladné a měly horší účinnost. V současnosti technologie pokročily a tyto přípravky jsou komerčně dostupné a účinnější. Protože mořské organismy mají rozdílný mechanismus adheze, například rozsivky se adherují přes hydrofilní proteiny a svjionožci přes hydrofobní proteiny, byla vyvinuta amfifilní kombinace antifouling povlaků AF (anglicky antifouling) a nečistot uvolňujících povlaků FR (anglicky fouling release, v překladu nečistoty uvolňující). To znamená, že přípravky mají nízký účinek hydrofobicity na povrchovou energii a jsou méně hydrofilní proti adsorpci proteinu. Takové uspořádání narušuje globulární strukturu lepivých proteinů vylučovaných mořskými organismy. Amfifilní povrchy lze získat radikálovou polymerací s přenosem atomů, esterifikační reakcí, kopolymerizací volných radikálů, nebo metodou sol-gel. Povrchová energie souvisí s adhezí organismů, které mají tendenci se přichycovat a držet se povrchu. Jestliže hodnota povrchové energie povlaku je přibližně  $23 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ , znemožňuje organismům přilnout k povrchu. Povrchová energie a drsnost substrátu slouží k prevenci před ukládáním spór a bílkovin a snižují přilnavost. Čisté uspořádání hydrofobních řetězců a délka řetězce (od 12 C výše) posilují odolnost nátěru. Většina přípravků obsahuje sloučeniny fluoru pro tvorbu hydrofobních skupin, ty ale nejsou optimální z důvodu toxicity vazby C-F. Tato vazba způsobuje bioakumulaci v séru a tkáních živých organismů a způsobuje akutní

a chronickou toxicitu v jaterních tkáních, štítné žláze a krevních buňkách. Tudíž se používají náhradní alternativy, jako poly(dimethylsiloxan) PDMS. To je hybridní poly(siloxan)ová pryskyřice na bázi sol-gel bohatá na OH skupiny. Skládá se z reaktivního hydrofobního alkylového řetězce s navázanými silany, a z hydrofilních skupin vzniklých procesem vulkanizace s PEG-ilátem [23, 35].

### 1.6.2.3 Fotokatalytické povlaky

Fotokatalytická aktivita nanočástic ZnO a TiO<sub>2</sub> slouží k úpravě povlaků tak, aby byly schopny ničit biofilmy oxidací. Tento proces však vyžaduje UV záření. Fotosenzibilizátory senzibilizují koloidní oxid zinečnatý, který je poté schopen absorbovat viditelné světlo. Toho se využívá při reakci s vodou a rozpuštěným kyslíkem, kde ZnO vystupuje jako katalyzátor. Produktem jsou peroxidy. V praxi se používá fotosenzibilizující záření pronikající do vody a přijímá v zelenomodré oblasti elektromagnetického spektra vlnovou délku 500 nm. Senzibilizovaný ZnO absorbuje viditelné světlo o délce 400 až 700 nm a následně reaguje s vodou a kyslíkem za vzniku peroxidu. Peroxid vodíku je ekologicky čistý antifouling, který brání usazení škůdců na povrch (1) [23].



### 1.6.2.4 Mikrokaple s posilovacími biocidy

Novou technologií jsou biocidy zabudované v mikrokapslích, jenž umožňují kontrolované uvolňování biocidů. Biocid je pomalu uvolňován z povrchu mikrokapslí a rozpouštěn v povlaku, poté proniká z povlaku na povrch. Tento proces umožňuje kompatibilitu biocidu s hydrogel-silikonovou matricí, důsledkem jsou dobrá mechanická integrita, hladkost nátěru a vlastnosti povlaku uvolňujícího nečistoty (FR). Toto zapouzdření umožňuje snížení environmentálních rizik, aniž by došlo ke snížení antifouling vlastností [22].

### 1.6.2.5 Povlaky vyrobené metodou sol-gel

Metoda sol-gel je definována jako skupina postupů příprav oxidických a příbuzných materiálů, jejichž společnými znaky jsou homogenizace výchozích složek ve formě roztoku, jejich převod na sol a následně na gel při zachování jejich homogenity [36]. Sol je považován za koloidní roztok částic o velikosti větší než 1 nm. Projevují se zde vlastnosti jako rozptyl světla a vznik sraženin. Sol-gel vrstvy jsou složeny z tenkého organicky modifikovaného povlaku oxidu křemičitého, mají hladký povrch a nízkou povrchovou energii, jejímž důsledkem je uvolňování nečistot. Jsou odolné proti opotřebení a chemikáliím [23, 36]. Se zvýšením teploty se sol stává viskóznějším, až postupně tuhne v gel. Sol-gel se připravuje buď z alkoxidů, nebo ze stabilizovaných vodných solů oxidů (SiO<sub>2</sub>). Zde bude

zmíněn první způsob. Pro přípravu vrstev sol-gel z alkoxidů je třeba mít systém bez vlhkosti, jinak by mohlo dojít k neřízené hydrolyze alkoxidů. Alkoxid lze rozpustit vhodným rozpouštědlem. Nejběžnějším je zde bezvodý alkohol. Dojde tím k vytvoření pravého roztoku. Následně lze přidat katalyzátor a přesně definované množství vody tak, aby došlo pouze k částečné hydrolyze za vzniku solu. Takto připravený sol se nanese na substrát. Odpařením zbývajících rozpouštědla a přivedením solu do kontaktu se vzdušnou vlhkostí dojde k exponenciálnímu růstu rychlosti hydrolyzy a k rychlé přeměně solu na gel a následně na xerogel. Vzniká nám tak velmi tenká vrstva sol-gel [36].

#### **1.6.2.5.1 Hybridní vrstvy sol-gel**

Hybridní sol-gel materiály vznikají kombinací anorganických a organických skupin. Jejich mechanické, elektrické a optické vlastnosti mají využití v průmyslu, kde se ve formě povlaku nanáší na průhledné plasty, skla a kovy. Syntéza hybridních materiálů se řídí metodou sol-gel, při níž vznikají povlaky. Pro syntézu je klíčová vazba Si-C, která je hydrolyticky stabilní, a umožňuje spojování organických substituentů s anorganickými klastry. Anorganický skelet se skládá z různých alkoxidů křemíku, nebo jiných kovů, které převážně ovlivňují mechanické, optické a tepelné vlastnosti. Organická část je modifikována výběrem určitých typů z velkého počtu dostupných organo(alkoxy)silanů, jakož i organických monomerů nebo prepolymerů, které jsou odpovědné za výslednou flexibilitu a zpracovatelnost. Pomocí působení tepelných a fotochemických katalyzátorů na funkční organické skupiny probíhá polymerační reakce, díky které dochází k zesíťování jednotlivých anorganických klastrů organickými řetězci [37].

Sol-gel povlaky tvoří bariéru proti vodě a pronikání agresivních iontů do substrátu, a rovněž slouží k prevenci koroze. Hybridní materiály zlepšují sol-gel vrstvy o vlastnosti, jako mechanická pevnost, vyšší tepelná a chemická stabilita [38], přilnavost k povrchům [39], snižují pórovitost a trhavost, a nakonec zmírňují korozi na kovovém povrchu, jak samotné, tak spolu s inhibitory z řady organických, anorganických materiálů a nanomateriálů [40].

#### **1.6.2.5.2 ORMOSIL**

ORMOSIL je zkratka pro organicky modifikované silany. Řadí se mezi metody nano sol-gel. Je pokrokový v tom, že neobsahuje žádné biocidy, je bezbarvý a při nanášení povlaku nepotřebuje předúpravu povrchu. Natřený povrch je hladký, rovnoměrný a neporušený, a chrání zevnějšek lodí před osídlením řas a svijonožců [41].

Bright a kolektiv uvedli, že ORMOSIL vzniklý polykondenzací aminopropyltriethoxysilanu a tetraethyl orthosilikátu s přidavkem selenoxidu nebo telluridu zabraňuje usazování larev svijonožců

*Balanus amphitrite* a larev vláknonošců *Hydroides elegans* v přítomnosti umělé mořské vody, díky tenké vrstvě s obsahem kyseliny chlorné [42].

ORMOSIL lze využít jako ekologicky nezávadný, ve vodě rozpustný nátěr s uvolňováním nečistot (FR). Nečistoty jsou uvolňovány i při nízké cestovní rychlosti takto upravených lodí. Jejich hlavní omezení je způsobeno omezeným účinkem proti znečištění, když je plavidlo dlouhodobě v přístavu [43].

### 1.6.3 Výrobci nátěrů a jejich produkty

Nátěry na dnešním trhu podléhají mnoha předpisům a směrnicím. Před prodejem jsou biocidy vyhodnoceny a schváleny. Výrobci se tedy snaží o ekologicky nezávadné produkty, které mají dlouhodobou životnost. Při nesplnění kritérií, nebo nedostatečné dokumentaci výrobků jsou z trhu vyřazeny. Zde uvedu několik produktů z různých společností, které vyrábí antifouling nátěry, mezi něž patří Chugoku, Jotun, Hempel [2], Janssen PMP, ePaint [23], I-tech AB, AkzoNobel - International®, Kansai Paint, Nippon Paint Marine a další. Na obrázku 9 jsou vyobrazené příklady komerčních nátěrů.

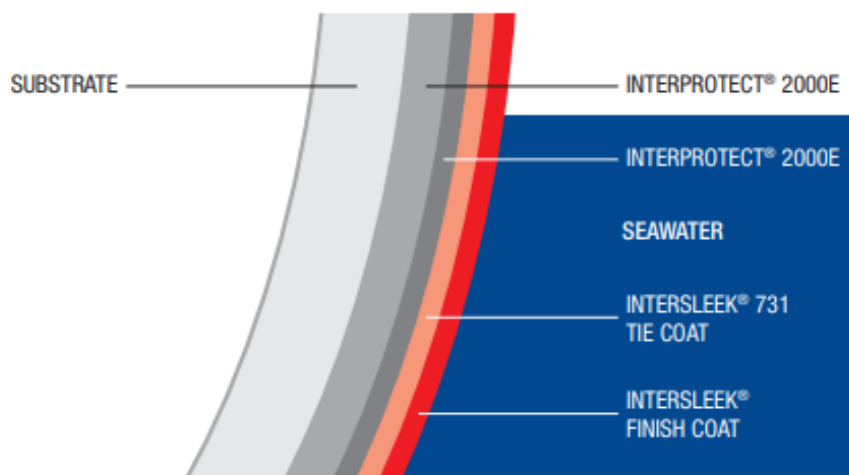


Obr. 9: Produkty od firem Hempel a Jotun

[obrázek převzat ze zdroje [44, 45]]

#### 1.6.3.1 Intersleek 900

Fluoropolymerem modifikovaný silikon, jehož základ je tvořen epoxidem, s vlastnostmi FR povlaku uvolňujícího nečistoty, který má amfifilní povrchovou povahu a strukturu blokových kopolymerů, tvoří mozaikovou chemickou strukturu. Neobsahuje biocidy, protože funguje na principu kluzkého povrchu s nízkou povrchovou energií, který znemožňuje znečišťujícím organismům přilnout na povrchu. Výrobek nabízí AkzoNobel pod značkou International® již od roku 2006 [23]. Na obrázku 10 můžeme vidět složení jednotlivých vrstev nátěru.



Obr. 10: Jednotlivé vrstvy nátěru Intersleek 900

[obrázek převzat ze zdroje [46]]

překlad: čtení zleva doprava:

první řádek: substrát; Interprotect® 2000E

druhý řádek: Interprotect® 2000E

třetí řádek: mořská voda

čtvrtý řádek: Intersleek® 731 pojivová vrstva nátěru

pátý řádek: Intersleek® 731 konečná vrstva nátěru

### 1.6.3.2 Econeal

Tento výrobek, od firmy Janssen PMP, se používá v antifouling nátěrech pro rekreační lodě. Je složen z fluorovaného pyrrolu tralopyrilu (2-(p-chlorofenyl)-3-kyano-4-bromo-5-trifluoromethyl pyrrol). Je účinný proti tvrdé invazi, zejména proti bezobratlým živočichům, mušlím, ústřicím, štetinacům, sumkám, polypovcům, houbám a mechovcům. Má vynikající stabilitu a nízkou rozpustnost ve vodě. Nevýhodou Econeal je, že v kombinaci s kovovými biocidy nedokáže zabránit růstu biofilmu a řasám [23, 47].

### 1.6.3.3 Selektope

Společnost I-Tech AB poskytuje na trhu produkt, jehož hlavní složkou je biologicky odbouratelný medetomidin. Tato organická nekovová sloučenina slouží k ochraně povrchu trupu před svijonožci, a jinými mořskými mikroorganismy, aniž by jim působil poškození. Funguje tak, že dočasně stimuluje oktopaminový receptor larvy svijonožců a udržuje tak larvy v plaveckém režimu, čímž způsobuje to, že nemohou přilnout k povrchu nebo k jiným strukturám. Výrobce Chugoku Marine Paints užívá Selektope jako hlavní složku biocidu ve svých produktech SEAFLO NEO CF PREMIUM a SEA GRANDPRIX 880HS PLUS [23, 48, 49].

#### 1.6.3.4 Hempasil X3

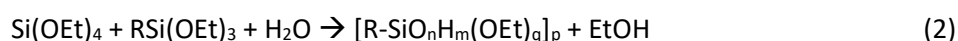
Nátěr je složen z PDMSE (poly(dimethylsiloxan)elastomeru) a hydrogelové mikrovrstvy silikonu na vodném rozhraní vrstvy. Hydrogel způsobuje, že organismy vnímají trup lodi jako kapalinu, nikoli jako pevný povrch [23]. Povrch nátěru je hladký, má odpuzující vlastnosti a nízkou povrchovou energii a také má schopnost uvolňovat nečistoty, a proto nedochází k vlečení lodě a vyšší spotřebě lodi, což těší majitele lodí. Hempel, výrobce Hempasilu X3, doporučuje 90 měsíční servisní intervaly na opětovné nanesení ochranného nátěru [50–52].

#### 1.6.3.5 CORE Coat 010

Hlavní složkou je xerogel, vzniklý metodou sol-gel, který slouží jako ochrana zařízení a ploch pro těžbu ropy na moři. Má vynikající odpuzující vlastnosti, odolnost proti mechanickému opotřebením, chemikáliím a tepelnou vodivost. Xerogel je složen z siloxanové sítě (Si-O). Dále jsou na křemík navázány organické sloučeniny jako je PDMS a močovina, která vzniká reakcí aminu s izokyanátem, a poskytuje chemickou stabilitu a flexibilitu nátěru. CORE Coat 010 nanesený na povrch tvoří cca 5  $\mu\text{m}$  silný, pružný a odpuzující povlak. Nízké hodnoty drsnosti ( $10^{-9}$  až  $10^{-10}$  m) zlepšují ochranu před svijonožci a rozsivkami. Povrch zařízení, zejména titanových desek pro výměnu tepla pro těžbu ropy na moři, je chráněn až 600 dní, poté dochází ke ztrátě adheze a degradaci, nátěr eroduje z důvodu fyzického opotřebením. Během opotřebením se uvolňují částice ze sítě silikonových skupin PDMS, močoviny, alifatických a cykloalifatických skupin a siloxanu. Pokud jsou potažené materiály vystaveny prostředím s nižším pH, může dojít ke ztrátě přilnavosti, a vznikají vločky, které se při velikosti 5  $\mu\text{m}$  rychle rozpadají na menší částice. Přípravek je ekologický z toho důvodu, že neobsahuje nanomateriály ani fluorované sloučeniny. Tento produkt byl vyvinut Dánským Technologickým Institutem ve spolupráci s Alfa Laval [23, 53].

#### 1.6.3.6 AquaFast

Přípravek, patentovaný Státní Univerzitou New York v Buffalu [54], je založena bázi FR sol-gelu, kde se uplatňují hydrofilní–lipofilní rovnováhy a vlastnost drsnosti povlaku. Hybridní xerogel je založen na bázi silikagelu ORMOSIL, vzniklý hydrolytickou polykondenzací n-oktyltriethoxysilanu (C8) a TEOS v prostředí vodného IPA (2).



Nátěr AquaFast je ředitelný vodou, nevyžaduje předúpravu povrchu a při nanášení tvoří neporušené a hladké lakované povrchy. Z důvodu slabých mezních vrstev mezi povrchem a adhezivními proteiny mikrofoulerů je velmi malá přilnavost znečišťujících mikroorganismů. Aqua Fast formule úspěšně chrání povrch před řasami a svijonožci, ale před rozsivkami již méně [23, 55].

### **1.6.3.7 Seamate**

V říjnu 2008 společnost Jotun uvedla na trh SeaMate, nový nátěr na principu předešlého Sea Quantum [52]. Jedná se o jednosložkový hydrolyzující silylakrylátový antifouling nátěr se sníženým obsahem uhlíkové stopy. Poskytuje ochranu lodi prostřednictvím samoleštících charakteristik, které snižují poškození trupu, tření a ztrátu rychlosti. Také je vhodný na schválené základní nátěry a vázací nátěry na hliníkových a uhlíkových podkladech. Účinnost nátěru spolu v kombinaci s jinými nátěry je přibližně 90 měsíců [56].

## **1.7 Údržba povrchu lodi**

Pokud chceme nanést nátěr na povrch lodě, je nezbytné, aby byl povrch čistý. V případě, že jsou lodě zaneseny nečistotami, je nezbytná kontrola povrchu lodi, následné čištění a provedení oprav poškozených částí. Ke kompletní opravě lodi je nutné ji zavést do čistící stanice, kde se údržba provádí čištěním kartáči nebo hydrojettingem, který má podobný princip sestavy zařízení jako níže uvedená metoda „bezvzdušné stříkání nátěru“. Hydrojetting je znázorněn na obrázku 11. Podstatným parametrem pro kartáčování je pružnost a hladkost. Při hydrojettingu záleží na použitém tlaku. Dalším způsobem čištění lodi je technologie, která umožňuje čištění kartáčováním pod vodou. Před 10 lety Úřad pro námořní výzkum ORN (Office of Naval Research), ve spolupráci s partnery NSWCCD, SeaRobotics a Technologickým institutem Florida, vyvinul čistícího robota HullBUG. Principem fungování HullBUGu je detektor biofilmu, který využívá modifikovanou technologii fluorometru. Robot má tedy schopnost detekovat rozdíl mezi čistým a nečistým povrchem na trupu lodi. Používá se rovněž k ošetřování lodí v přístavu, kde odstraňuje mořský biofilm a jiné organismy přilnuté k povrchu lodi. Čištění lodí se provádí jednou za každých 18-36 měsíců. [34, 57, 58]

Při vlastnoručním seškrabáváním, broušením, otryskáváním nečistot a korozních míst na povrchu lodí dochází k znečištění vod na různých místech v přístavech, ústích řek a docích. Na místech údržby zůstávají kontaminované sedimenty a stopové částice s obsahem Ba, Cd, Cr, Ni, Pb a Sn. Tomuto znečištění jsou mořské mikroorganismy vystaveny nedobrovolně a dochází k bioakumulaci a je tím zasažen potravinový řetězec. Proti tomu se již sjednávají preventivní opatření. Od roku 1996 ve Švédsku existují mycí stanice pro lodě, jak je patrné ze stránek [59] a [60]. V Norsku již zavádí Ministerstvo prostředí služby mytí kartáčováním v přístavu Vollen Marina, které by měly být bezplatné,



jako motivace pro lidi, aby nenatírali lodě svépomocí a šetřili tak životní prostředí. Pokud se lodě nechají kartáčovat jednou za měsíc, lodě budou rychlejší a bude menší spotřeba paliva. [32, 34]



Obr. 11: Čištění povrchu lodi

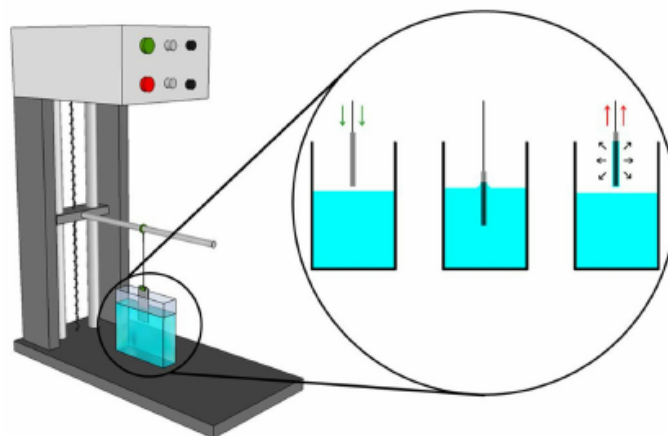
[obrázek převzat ze zdroje [61]]

## 1.8 Metody nanášení vrstvy nátěru

Nátěr lze aplikovat na povrch lodi různými metodami. Na čistý povrch lodi lze nanášet ochrannou vrstvu ručně štětcem a válečkou. Tento úkon se provádí u malých plavidel. U větších plavidel se používají techniky, jako bezvzdušné stříkání, stříkání elektrickým obloukem, a další.

### 1.8.1 Dip-coating

Při tomto procesu je substrát ponořen do solu a následně vytahován. K pohybu je zapotřebí přístroj s motorkem spolu s navinutým lankem, jehož otáčky se převádí na plynulý pohyb, viz obrázek 12. Uspořádání musí být takové, aby nedocházelo k otřesům, chvění či nepravidelnosti pohybu. Při vytahování jsou důležité parametry jako konstantní rychlost vytahování, teplota a atmosférické podmínky. Dalším krokem dip-coatingu je hydrolýza a odpaření rozpouštědla z povrchu. Jak již bylo uvedeno výše, vzniká v důsledku reakcí vrstva gelu, a mezi substrátem a vrstvou se tvoří chemická vazba. Pokud je substrátem sklo (Si), a rozpouštědlo obsahuje OH skupinu, dojde ke vzniku vazby Si-OH. Následně při tepelné polymerizaci vzniká xerogel. Takto vzniklá vrstva má určitou tloušťku, která závisí na koncentraci látky v solu a rychlosti tažení [36, 62]. Uvedený postup je však vhodný pouze pro laboratorní vzorky.

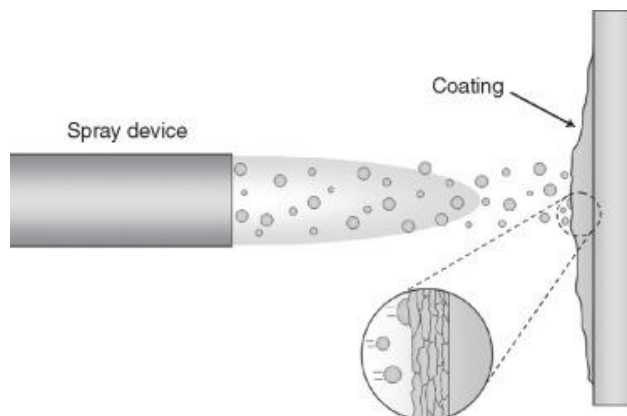


Obr. 12: Dip-coating

[obrázek převzat ze zdroje [63]]

### 1.8.2 Tepelný spray-coating

Je to metoda, která slouží k potahování materiálu na substrát pomocí sprejovací pistole [64]. Existuje několik druhů spray coatingu, jako je plazmový sprej, detonační, HVOF (kyslíkové palivo s vysokou rychlostí), drátový oblouk. Dělení metod je znázorněno na obrázku 14. Typickým využitím spray coating je obnovení či opravení vrstev na substrátu, ochrana proti korozi, těsnění, tvorba obrobíitelných povlaků, ozdobné účely, oxidace, koroze. Mezi materiály užívané k potahování lze zařadit kovy, slitiny, oxidy kovů, keramiku, karbidy, dráty, tyče a kompozity.



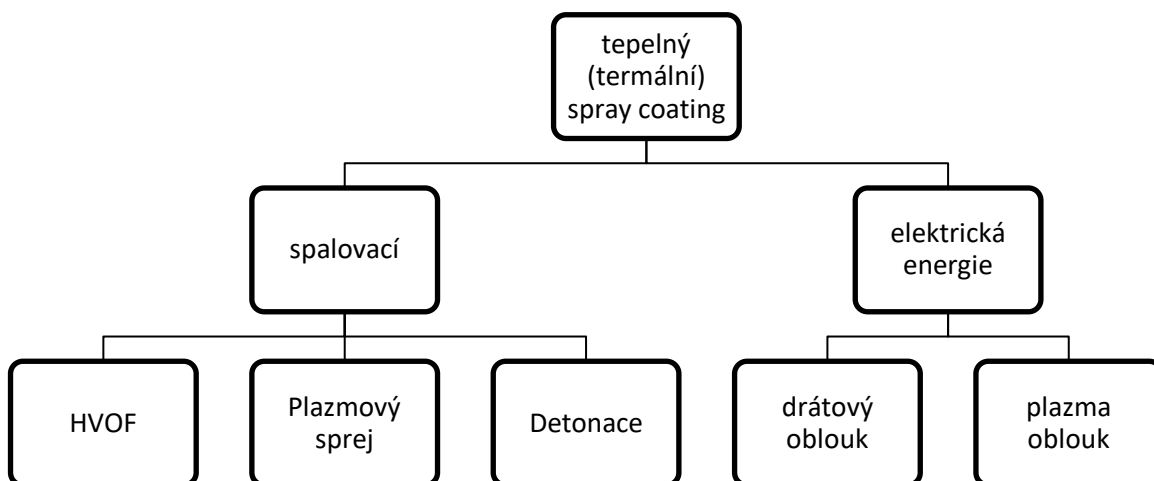
Obr. 13: Tepelný spray-coating

[obrázek převzat ze zdroje [65]]

překlad: čtení zleva doprava: sprejovací zařízení; povlak

Nanášet vrstvu lze na různé substráty, vytvořený povlak má pak strukturu ve tvaru sítě, jak lze vidět na obrázku 13. Povlaky jsou odolné proti opotřebení, zlepšují elektrické, tepelné vlastnosti, zpomalují korozi a chrání opotřebované komponenty. Metody HVOF a detonační sprej poskytují dobré vlastnosti,

jako je vysoká pevnost spolu s hustými mikrostrukturami. Plazmové povlaky mají takové vlastnosti i bez příměsí oxidů. Dělí se dále na nízkotlaký plazmový sprej (LPPS) nebo vakuový plazmový sprej (VPS). Cold spray je nová technologie, která namísto tepelné energie využívá vysokou rychlost a kinetickou energii. Ve srovnání s HVOF je teplota u cold spray částic nižší a rychlost částic vyšší, což vytváří povlékací struktury, které mají podobu kovaných syvkých materiálů [66].



Obr. 14: Druhy metod tepelného spray coatingu [obrázek vytvořen v Microsoft Word, zdroj: autorka]

### 1.8.2.1 Stříkání nátěru elektrickým obloukem

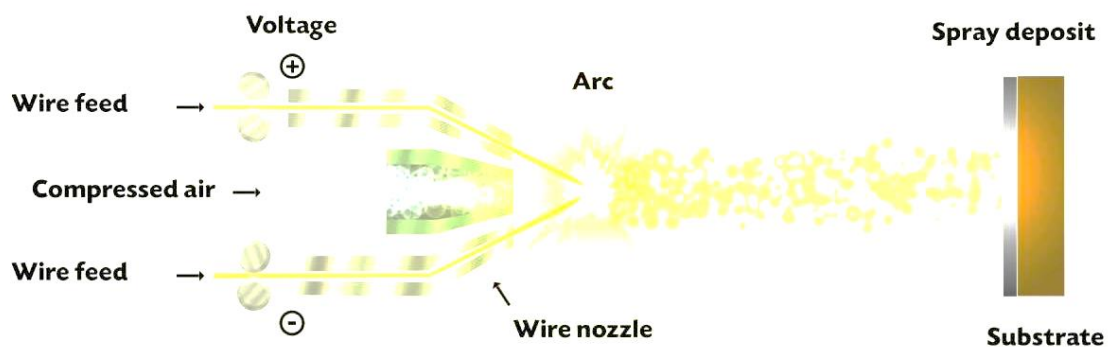
Při stříkání obloukem se používá speciální zdroj napájení a mechanismus podávání drátu, což je neustálé automatizované přivádění drátu na místo svařovacího hořáku. Aby se drát roztavil, je potřeba oblouku vytvořeného silným zkratovým proudem mezi dvěma dráty. Tento typ spreje je ilustrován na obrázku 15. Na obrázku 16 lze vidět použití spreje v praxi. Drát může být nahrazen práškem. Dále se používá stlačený vzduch nebo inertní plyn k rozbití roztaveného drátu na kapičky, které se stříkají na povrch základního materiálu za vzniku povlaku. Tento způsob lze provádět i kyslíkoacetylenovým obloukem.

Dalším druhem tepelného spreje je plazmový oblouk, ve kterém se prášek, či drát zavádí do vysokorychlostního plazmového oblouku. Ten se vytváří rychlou expanzí plynu a vystavuje se elektrickému obloukovému ohřevu v omezeném objemu. U plazmového spray coatingu se používají dvě techniky, z nichž první je nízkotlaký plazmový sprej LPPS (anglicky low pressure plasma spraying), druhá vakuový plazmový sprej VPS (anglicky vacuum plasma spraying). Obě metody vyžadují velké výdaje, ale za to mají dobrý přínos v podobě výkonu a ceny. Povlaky LPPS a VPS mají velkou pevnost,

nízkou pórovitost a nízké množství oxidů. Obě techniky jsou vysoce integrované, plně automatizované a čistí povrch součástek před nanášením povlaku. Pokud se proces provádí ve vakuu, mohou být díly zpracovány bez stresu a bez oxidace.

Postup nanášení lze provést dvěma způsoby. První způsob spočívá v aplikaci hrubého měděného prášku pomocí vzduchového spreje na povrch pryskyřičné vrstvy a následně proběhne tepelné rozprašování další pryskyřičné vrstvy. Druhým způsobem je ztvrdnutí těsnící pryskyřičné vrstvy, zdrsnění povrchu a nakonec postříkem vrstev mědi, či jejích slitin. Postupy je nutné dodržovat z toho důvodu, aby se zajistilo správné složení lepidla mezi trupem a vrstvou mědi, a aby se zabránilo osmóze a účinkům korozivní elektrolyzy. Povrch se zdrsňuje díky otryskávání, které umožňuje lepší přilnavost povrchu [66, 68, 69].

### Wire arc spraying



Obr. 15: Drátový obloukový sprej

[obrázek převzat ze zdroje [67]]

překlad: čtení zleva doprava:

první řádek: drátový obloukový sprej

druhý řádek: napětí; nános spreje (povlak)

třetí řádek: mechanismus podávání drátu; elektrický oblouk

čtvrtý řádek: stlačený vzduch

pátý řádek: mechanismus podávání drátu

šestý řádek: tryska s drátem, substrát

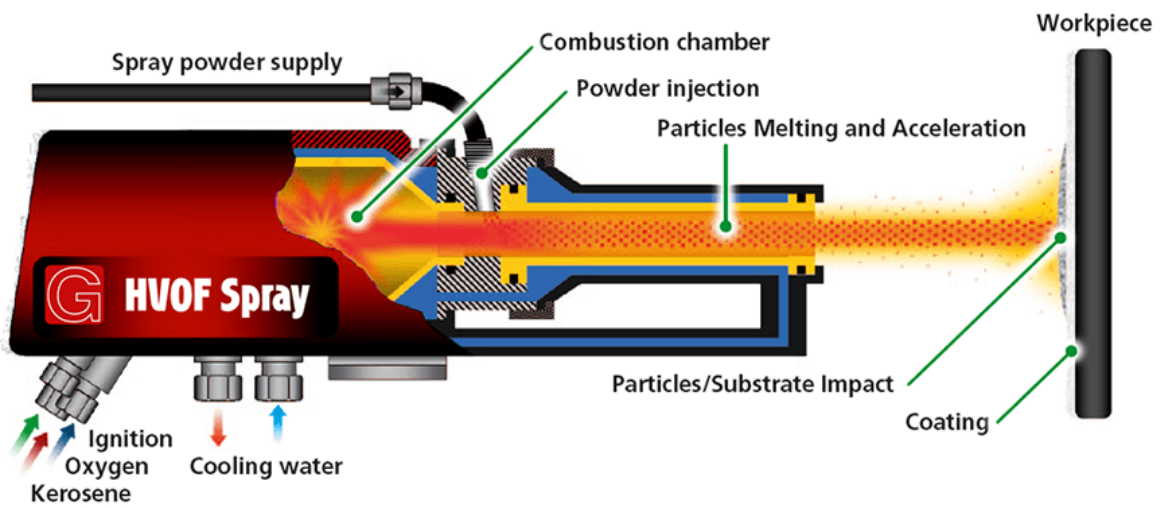


Obr. 16: Stříkání nátěru elektrickým obloukem v praxi

[obrázek převzat ze zdroje [70]]

### 1.8.2.2 Kyslíkový plamen s vysokou rychlostí

Přístroje generují plamen s velkou rychlostí plynu HVOF (High Velocity Oxygen Fuel), který překročuje rychlost 2 100 m/s, a umožňuje získat rychlost částic zhruba 400 až 800 m/s. Principem je vstříkávání prášku do proudu spalin, kde poté materiál taje nebo se změkčuje a je poháněn proti substrátu. Příznačným rysem HVOF je vícenásobný šokový diamantový vzor, který lze pozorovat v plameni. Stlačené plamenové trysky procházejí po výstupu z pistole volnou expanzí, a dochází k tvorbě nadzvukového paprsku. Existuje mnoho typů zařízení s odlišnou konstrukcí. Jedna z nich je na obrázku 17 a v praxi vypadá tak, jako na obrázku 18. Mezi paliva lze zařadit propylen, propan, zemní plyn, vodík, acetylen a petrolej. Protože tato metoda využívá kinetickou energii, dokáže tvořit povlaky s vyšší hustotou. Dalšími výhodami jsou zvýšená tloušťka, hladší povrchová úprava, nižší hladiny oxidů a je ohleduplnější k životnímu prostředí díky snížené dekarbonizaci, oxidaci a dalším vlivům [66].



Obr. 17: HVOF

[obrázek převzat ze zdroje [71]]

překlad: čtení zleva doprava:

první řádek: přívod postřikového prášku; spalovací komora; obrobek

druhý řádek: vstřikování prášku

třetí řádek: míchání prášku a zrychlení

čtvrtý řádek: dopad částice/povrch

pátý řádek: vznícení, kyslík, petrolej; chlazení, voda; povlak

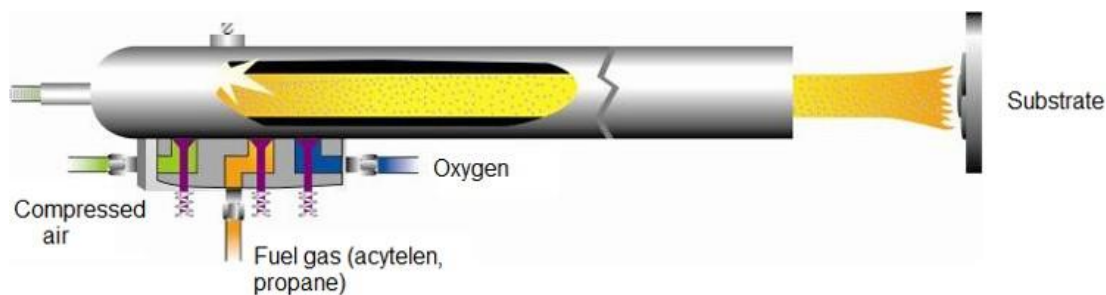


Obr. 18: HVOF v praxi

[obrázek převzat ze zdroje [72]]

### 1.8.2.3 Detonační pistole (D-Gun)

Detonace je založena na opakovaných explozích nebo detonacích směsi plynů paliva a kyslíku. Kyslík a acetylen se plní do dlouhého, vodou chlazeného sudu s práškem. Směs se zapálí a exploduje. Povlaky D-gun se užívají v letectví, výrobě plynových turbín (IGT) a různých průmyslových aplikacích. Vrstvy jsou sice vysoce kvalitní, ale metoda HVOF této konkuruje pro méně náročné opravy. Navíc D-Gun není rozšířen, je proprietární, tudíž návrháři musí zasílat výrobky vlastníkům D-Gun na aplikaci povlaků, což je znevýhodněno delší dodací lhůtou oproti dostupným technikám [66]. Detonační pistole je znázorněna na obrázku 19.



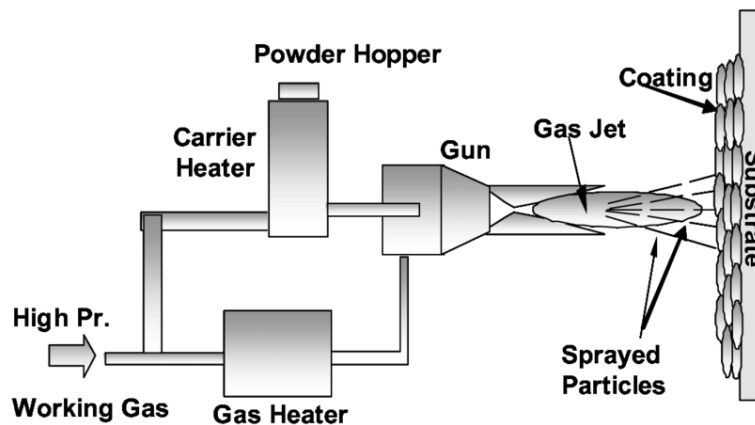
Obr. 19: Detonační pistole

[obrázek převzat ze zdroje [73]]

překlad: čtení zleva doprava: stlačený vzduch; topný plyn (acetylen, propan), kyslík, substrát)

### 1.8.2.4 Studený sprej

Je to proces odehrávající se v pevném stavu, který používá k vytváření povlaků nadzvukový proud částic, čímž minimalizuje mnoho škodlivých vysokoteplotních reakcí, namísto nevýhodného použití proudu roztavených kapiček. Proces vypadá následovně, do proudu plynu se vstříkuje potahovaný materiál ve formě práškových částic, dopravovaných nosným plynem. Vzniklé nadzvukové částice se při nárazu na povrch substrátu plasticky deformují a tvoří propojené obrazce, jak je patrné z obrázku 20. Přednostmi takového typu povlaku jsou kompresní napětí, kroutící mikrostruktura, povlaky i oxidy bez inkluze. Stopa paprsku je úzká, což umožňuje získat na určitém místě vrstvu o určité vysoké hustotě a tedy i o velké tloušťce. Tohoto efektu se využívá k výrobě ochranných povlaků a vrstev zvyšujících výkon, ultratenkých povlaků, volných tvarů a tvarů blízkých sítím. Vyrábí se husté, čisté, silné a dobře vázané povlaky mnoha kovů, slitin a kompozitů. V praxi se například běžně užívá výroba feritových povlaků na indukčním nádobí, renovaci a ochranu lopatek letadel a jako výrobní nástroj pro výrobu vysoce čistých rozprašovacích cílů [66].



Obr. 20: Studený sprej

[obrázek převzat ze zdroje [74]]

*překlad: čtení zleva doprava:*

*první řádek: násypka na prášek; povlak*

*druhý řádek: topné těleso; dělo; proud plynu; substrát*

*třetí řádek: vysoký tlak; pracovní plyn; plynový ohřivač; rozprášené částice*

### 1.8.2.5 Bezvzdušné stříkání nátěru

Z hlediska dynamiky tekutin existují tři způsoby stříkání nátěru: atomizace vzduchovým paprskem, tlaková atomizace nebo kombinace obou. První z nich se v průmyslu nazývá „konvenční rozprašovač vzduchu“, zatímco druhý je označován jako „bezvzdušné“ stříkání nátěru. Třetí kategorii tvoří hybridní přístupy.

Společnost Graco Airless Corp. nabízí profesionální bezvzdušné stříkací zařízení (Obr. 21), které se skládá ze zesilovače tlaku, hadice a stříkací pistole. Účinnost se pohybuje zhruba okolo 30%-50%, a je vyšší, než u konvenčních rozprašovačů vzduchu [75].



Obr. 21: Bezvzdušné stříkání nátěru

[obrázek převzat ze zdroje [76]]



## 1.9 Mechanické vlastnosti nátěrů

Životnost nátěru závisí na odolnosti proti mechanickému poškození, erozivním vlivem pohybu vody, rozpuštěním látek z nátěru a jeho změkčením. Jsou zkoumány vlastnosti, jako je tuhost, odolnost proti opotřebení, povrchová energie, elastický modul, drsnost částic, a elastická a plastická deformace nátěru. Již výše bylo uvedeno, že záleží na rychlosti rozpouštění biocidu. Pro uvolnění biocidů z nátěru je nutné, aby se samolešticí nátěr rozpadal, proto musí být stanoven kompromis mezi toxicitou a odolností. Pokud bude nátěr příliš měkký, má to za následek špatnou mechanickou integritu. Tenká vrstva nátěru má za následek rychlé vyleštění, odhalení jeho nátěru a přístupu mikroorganismů k nátěru. Čím je povlak tvrdší, tím těžší je samoleštění. Poměr pryskyřice, pigmentů a oxidů kovů umožňuje vyváženost pevnosti nátěru a rozpustnosti. Například produkt Nine 211 je při teplotě 22-25 °C v moři stabilní 2 roky, při teplotě 40 °C až 6 let [21, 55].

## 2. Experimentální část

### 2.1 Čištění podložních skel

Pro aplikaci vrstev bylo nutné vyčistit základní substrát, na který se vrstvy nanášely. Standardně používaným materiálem byla podložní skla o rozměru 76 x 25 mm, která byla vyčištěna pro experiment podle následujícího postupu:

1. 1x oplach v technickém acetonu
2. 1x oplach v acetonu p. a.
3. 2x oplach v destilované vodě
4. 1x oplach v kyselině dusičné 1:1 za teploty 70-80 °C
5. 2x oplach v destilované vodě
6. 1x 2 minuty oplach v destilované vodě v ultrazvuku
7. 1x oplach v destilované vodě
8. 1x oplach v izopropylalkoholu p. a.
9. 1x 3 minuty oplach v IPA p. a.
10. Uložení sklíček do kádinky s IPA p. a.

Vyčištěná skla byla umístěna do boxů s kapacitou 8 kusů sklíček. Skla byla v boxu od sebe oddělena a nedotýkala se. Pro manipulaci byla používána teflonová pinzeta.

### 2.2 Syntéza solů

Syntéza všech solů byla provedena obdobným způsobem. Použité suroviny včetně dále používaných zkratk jsou specifikovány v tabulce 3. Suchá trojhrdlá varná baňka s kulatým dnem, teflonovým těsněním a poteflonovaným míchadlem byla upevněna svorkou na stojan. Na varnou baňku s teflonovým těsněním byl nasazen zpětný chladič, který byl ke stojanu upevněn také svorkou. Celá aparatura byla ponořena do olejové lázně tak, aby se varná baňka nedotýkala stěn ani dna nádoby.

Olejová lázeň (500 ml silikonového oleje v hliníkové nádobě o objemu 2 litry) byla umístěna na elektromagnetické míchačce s ohřevem. Na vývod chladiče byl připojen přívod argonu a do bočního vývodu trojhrdlé baňky odvod argonu do promývačky se silikonovým olejem zajišťujícím přetlak argonu v aparatuře.

Po propláchnutí aparatury suchým argonem byly do varné baňky přidány IPA (cca 2/3 potřebného množství) a v případě solů s kovovými kationty Ag, Cu a Zn (AD30 a AT5) také vypočítané množství příslušných dusičnanů. Reakční směs s dusičnanem byla míchána do jejich dokonalého rozpuštění (cca 30 minut).

Poté bylo do reakční směsi přidáno potřebné množství silanů TEOS, TMSPM a případně HDTMS (soly AT5 a AE10), krátce zamícháno a následně byl vsypán BPO a mícháno do rozpuštění. Samostatně byla v Erlenmeyerově baňce připravena směs zbývajících množství IPA, 2M HNO<sub>3</sub> a destilované vody a po rozpuštění BPO vlita za intenzivního míchání do reakční směsi.

Po dokončení reakce byla reakční směs cca 30 minut zahřívána pod zpětným chladičem, ochlazená studenou vodou a přelita do PE lahvičky. Podrobněji je postup přípravy solů uveden v patentu CZ 305 045 [77].

Čtyři připravené soly se lišily obsahem funkčních složek (viz tabulka 2).

Tab. 2: Druhy připravených solů

<b>AFO</b>	základní sol, bez obsahu antibakteriálních složek (kationty Ag, Cu a Zn) i hydrofobní složky (hexadecyl skupiny)
<b>AD30</b>	sol s antibakteriálními složkami (kationty Ag, Cu a Zn)
<b>AE10</b>	sol s hydrofobní skupinou (hexadecyl skupina)
<b>AT5</b>	sol jak s antibakteriálními složkami (kationty Ag, Cu a Zn), tak s hydrofobní skupinou (hexadecyl skupina)

Tab. 3: Chemikálie použité pro syntézu solů a jejich zkratky

Chemikálie	Zkratka (nebo vzorec)
Isopropylalkohol 99,8% p.a.	IPA
Tetraethyl orthosilicate ≥99.0% (GC)TEOS	TEOS
3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylate ≥98%	TMSPM
Hexadecyltrimethoxysilane technical, ≥85% (GC)	HDTMS
Luperox® A75, Benzoyl peroxide 75%, remainder water	BPO
Silver nitrate ACS reagent, ≥99.0%	AgNO <sub>3</sub>
Copper(II) nitrate trihydrate, puriss. p.a., 99-104%	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O

Zinc nitrate hexahydrate, purum p.a., crystallized, ≥99.0% (KT)	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O
Kyselina dusičná c = 2 mol/dm <sup>3</sup> připravena z kyseliny dusičné 65% p.a.	2 M HNO <sub>3</sub>
Kyselina chlorovodíková c = 2 mol/dm <sup>3</sup> připravena z HCl 35% p.a	2 M HCl
Destilovaná voda	H <sub>2</sub> O
Tlaková láhev s argonem	Ar

## 2.3 Aplikace solí

Soly byly aplikovány na vyčištěné substráty (podložní skla) metodou dip-coating následujícím způsobem. Suché podložní sklo bylo ponořeno do příslušného naředěného solu (ředění IPA 1:1) na dobu 30 sekund v plastové kádince, následně vytaženo tažným zařízením rychlostí 6 cm/min a po dobu cca 30 s ponecháno nad solem. Vzorky byly ponechány na dobu 30 min ve volném prostředí laboratoře umístěné v kovovém stojánu tak, aby se odpařil zbytek IPA a mohla být vzdušnou vlhkostí dokončena hydrolyza. Následně byly vzorky umístěny do sušárny při 150 °C/3 hod k dokončení polymerace. Vzorky po tepelné polymeraci byly baleny po 1 ks, uloženy do PE sáčku a označeny štítkem. Přehled připravených vzorků s označením a dalšími údaji je uveden v tabulkách 3 až 5 v následující kapitole.

## 2.4 Testování účinnosti antifouling vrstev ve vodném prostředí

Substráty s nanesenými vrstvami byly testovány v prostředí slané a sladké vody. Jako simulace tohoto prostředí byla použita akvária. Pro testování byla použita tři akvária, která byla označena písmeny A, B, C. Akvária byla rozdělena na jedno mořské (A) a dvě sladkovodní (B a C). Důvodem testování ve dvou sladkovodních akváriích byl fakt, že vrstva AD30 a AT5 obsahuje kationty Ag, Cu a Zn, které by mohly být pro živočichy a rostliny cytotoxické.

Rozdělení akvárií, typy testovaných vrstev a časy odběru vzorků vyplývají z tabulek 4 až 6. Skla s vrstvami byla umístěna do jednotlivých polí v boxech podle typu vrstvy (Obr. 24). Boxy byly umístěny do akvárií. Na obrázku 25 je mořské akvárium, na obrázku 26 sladkovodní akvárium.

Tab. 4: Specifikace vzorků testovaných podložních skel v akváriu A (mořská voda), zahájení experimentu 12. 11. 2018 ve 14 hod.

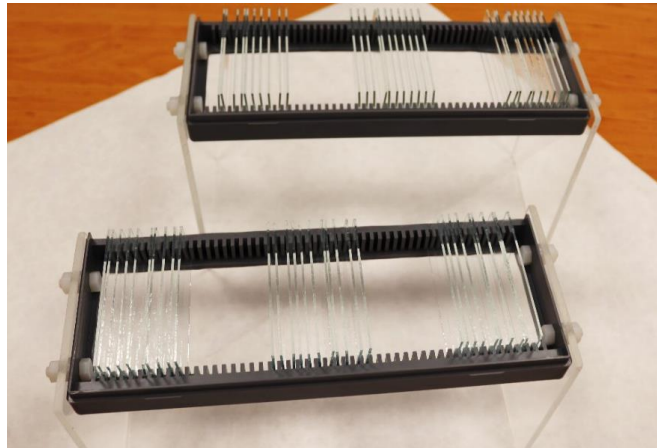
Pořad. číslo ve stojánku	Označení vzorku	Aplikovaný sol	Datum odběru	Čas odběru
1.	1A	Sklo – stand.	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
2.	2A	Sklo – stand.	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
3.	3A	Sklo – stand.	10. 12. 2018	Po 14 dnech
4.	4A	Sklo – stand.	2. 1. 2019	Po 1. měsíci
5.	5A	Sklo – stand.	28. 1. 2019	Po 2. měsíci
6.	6A	Sklo – stand.	25. 2. 2019	Po 3. měsíci
7.	7A	Sklo – stand.	25. 3. 2019	Po 4. měsíci
8.	8A	Sklo – stand.	23. 4. 2019	Po 5. měsíci
9.	9A	Sklo – stand.	20. 5. 2019	Po 6. měsíci
10.	10A	Sklo – stand.	17. 6. 2019	Po 7. měsíci
			2. 9. 2019	
21.	12A	AF 0 řed. 1:1	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
22.	13A	AF 0 řed. 1:1	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
23.	14A	AF 0 řed. 1:1	10. 12. 2018	Po 14 dnech
24.	15A	AF 0 řed. 1:1	2. 1. 2019	Po 1. měsíci
25.	16A	AF 0 řed. 1:1	28. 1. 2019	Po 2. měsíci
26.	17A	AF 0 řed. 1:1	25. 2. 2019	Po 3. měsíci
27.	18A	AF 0 řed. 1:1	25. 3. 2019	Po 4. měsíci
28.	19A	AF 0 řed. 1:1	23. 4. 2019	Po 5. měsíci
29.	20A	AF 0 řed. 1:1	20. 5. 2019	Po 6. měsíci
30.	21A	AF 0 řed. 1:1	17. 6. 2019	Po 7. měsíci
			2. 9. 2019	
40.	23A	AE 10 řed. 1:1	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
41.	24A	AE 10 řed. 1:1	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
42.	25A	AE 10 řed. 1:1	10. 12. 2018	Po 14 dnech
43.	26A	AE 10 řed. 1:1	2. 1. 2019	Po 1. měsíci
44.	27A	AE 10 řed. 1:1	28. 1. 2019	Po 2. měsíci
45.	28A	AE 10 řed. 1:1	25. 2. 2019	Po 3. měsíci
46.	29A	AE 10 řed. 1:1	25. 3. 2019	Po 4. měsíci
47.	30A	AE 10 řed. 1:1	23. 4. 2019	Po 5. měsíci
48.	31A	AE 10 řed. 1:1	20. 5. 2019	Po 6. měsíci
49.	32A	AE 10 řed. 1:1	17. 6. 2019	Po 7. měsíci

Tab. 5: Specifikace vzorků testovaných podložních skel v akváriu B (sladká voda), zahájení experimentu 12. 11. 2018 ve 14 hod.

Pořad. číslo ve stojánku	Označení vzorku	Aplikovaný sol	Datum odběru	Čas odběru
1.	1B	Sklo – stand.	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
2.	2B	Sklo – stand.	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
3.	3B	Sklo – stand.	10. 12. 2018	Po 14 dnech
4.	4B	Sklo – stand.	2. 1. 2019	Po 1. měsíci
5.	5B	Sklo – stand.	28. 1. 2019	Po 2. měsíci
6.	6B	Sklo – stand.	25. 2. 2019	Po 3. měsíci
7.	7B	Sklo – stand.	25. 3. 2019	Po 4. měsíci
8.	8B	Sklo – stand.	23. 4. 2019	Po 5. měsíci
9.	9B	Sklo – stand.	20. 5. 2019	Po 6. měsíci
10.	10B	Sklo – stand.	17. 6. 2019	Po 7. měsíci
11.	11B	Sklo – stand.	2. 9. 2019	Po 11. měsíci
			26. 11. 2018	
21.	12B	AF 0 řed. 1:1	27. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
22.	13B	AF 0 řed. 1:1	10. 12. 2018	po 24 hod v akváriu
23.	14B	AF 0 řed. 1:1	2. 1. 2019	Po 14 dnech
24.	15B	AF 0 řed. 1:1	28. 1. 2019	Po 1. měsíci
25.	16B	AF 0 řed. 1:1	25. 2. 2019	Po 2. měsíci
26.	17B	AF 0 řed. 1:1	25. 3. 2019	Po 3. měsíci
27.	18B	AF 0 řed. 1:1	23. 4. 2019	Po 4. měsíci
28.	19B	AF 0 řed. 1:1	20. 5. 2019	Po 5. měsíci
29.	20B	AF 0 řed. 1:1	17. 6. 2019	Po 6. měsíci
30.	21B	AF 0 řed. 1:1	2. 9. 2019	Po 7. měsíci
31.	22B	AF 0 řed. 1:1	26. 11. 2018	Po 11. měsíci
			27. 11. 2018	
40.	23B	AE 10 řed. 1:1	10. 12. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
41.	24B	AE 10 řed. 1:1	2. 1. 2019	po 24 hod v akváriu
42.	25B	AE 10 řed. 1:1	28. 1. 2019	Po 14 dnech
43.	26B	AE 10 řed. 1:1	25. 2. 2019	Po 1. měsíci
44.	27B	AE 10 řed. 1:1	25. 3. 2019	Po 2. měsíci
45.	28B	AE 10 řed. 1:1	23. 4. 2019	Po 3. měsíci
46.	29B	AE 10 řed. 1:1	20. 5. 2019	Po 4. měsíci
47.	30B	AE 10 řed. 1:1	17. 6. 2019	Po 5. měsíci
48.	31B	AE 10 řed. 1:1	2. 9. 2019	Po 6. měsíci
49.	32B	AE 10 řed. 1:1	26. 11. 2018	Po 7. měsíci
50.	33B	AE 10 řed. 1:1	27. 11. 2018	Po 11. měsíci

Tab. 6: Specifikace vzorků testovaných podložních skel v akváriu C (sladká voda), zahájení experimentu 26. 11. 2018 ve 14 hod.

Pořad. číslo ve stojánku	Označení vzorku	Aplikovaný sol	Datum odběru	Čas odběru
1.	1C	Sklo – stand.	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
2.	2C	Sklo – stand.	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
3.	3C	Sklo – stand.	10. 12. 2018	po 14 dnech
4.	4C	Sklo – stand.	2. 1. 2019	po 5. týdnech
5.	5C	Sklo – stand.	28. 1. 2019	po 2. měsíci
6.	6C	Sklo – stand.	25. 2. 2019	po 3. měsíci
7.	7C	Sklo – stand.	25. 3. 2019	po 4. měsíci
8.	8C	Sklo – stand.	23. 4. 2019	po 5. měsíci
9.	9C	Sklo – stand.	20. 5. 2019	po 6. měsíci
10.	10C	Sklo – stand.	17. 6. 2019	po 7. měsíci – měření tvrdosti
11.	11C	Sklo – stand.	2. 9. 2019	po 10. měsíci
14.	12C	AT 5 řed. 1:1	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
15.	13C	AT 5 řed. 1:1	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
16.	14C	AT 5 řed. 1:1	10. 12. 2018	po 14 dnech
17.	15C	AT 5 řed. 1:1	2. 1. 2019	po 5. týdnech
18.	16C	AT 5 řed. 1:1	28. 1. 2019	po 2. měsíci
19.	17C	AT 5 řed. 1:1	25. 2. 2019	po 3. měsíci
20.	18C	AT 5 řed. 1:1	25. 3. 2019	po 4. měsíci
21.	19C	AT 5 řed. 1:1	23. 4. 2019	po 5. měsíci
22.	20C	AT 5 řed. 1:1	20. 5. 2019	po 6. měsíci
23.	21C	AT 5 řed. 1:1	17. 6. 2019	po 7. měsíci - měření tvrdosti
24.	22C	AT 5 řed. 1:1	2. 9. 2019	po 10. měsíci
27.	23C	AE 10 řed. 1:1	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
28.	24C	AE 10 řed. 1:1	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
29.	25C	AE 10 řed. 1:1	10. 12. 2018	po 14 dnech
30.	26C	AE 10 řed. 1:1	2. 1. 2019	po 5. týdnech
31.	27C	AE 10 řed. 1:1	28. 1. 2019	po 2. měsíci
32.	28C	AE 10 řed. 1:1	25. 2. 2019	po 3. měsíci
33.	29C	AE 10 řed. 1:1	25. 3. 2019	po 4. měsíci
34.	30C	AE 10 řed. 1:1	23. 4. 2019	po 5. měsíci
35.	31C	AE 10 řed. 1:1	20. 5. 2019	po 6. měsíci
36.	32C	AE 10 řed. 1:1	17. 6. 2019	po 7. měsíci – měření tvrdosti
37.	33C	AE 10 řed. 1:1	2. 9. 2019	po 10. měsíci
40.	38C	AD 30 řed. 1:1	26. 11. 2018	čas 0 - bez ponoření v akváriu
41.	39C	AD 30 řed. 1:1	27. 11. 2018	po 24 hod v akváriu
42.	40C	AD 30 řed. 1:1	10. 12. 2018	po 14 dnech
43.	41C	AD 30 řed. 1:1	2. 1. 2019	po 5. týdnech
44.	42C	AD 30 řed. 1:1	28. 1. 2019	po 2. měsíci
45.	43C	AD 30 řed. 1:1	25. 2. 2019	po 3. měsíci
46.	44C	AD 30 řed. 1:1	25. 3. 2019	po 4. měsíci
47.	45C	AD 30 řed. 1:1	23. 4. 2019	po 5. měsíci
48.	46C	AD 30 řed. 1:1	20. 5. 2019	po 6. měsíci
49.	47C	AD 30 řed. 1:1	17. 6. 2019	po 7. měsíci – měření tvrdosti
50.	48C	AD 30 řed. 1:1	2. 9. 2019	po 10. měsíci



Obr. 22: Testované vrstvy seřazené v boxech

[obrázek získán od doc. Šlamborové]



Obr. 23: Mořské akvárium A

[obrázek získán od doc. Šlamborové]



Obr. 24: Sladkovodní akvárium B

[obrázek získán od doc. Šlamborové]



## 2.5 Odběry vzorků vody pro sledování kontaminace vody kationty Ag, Cu, Zn

Pro kontrolu kvality vody během pokusů v akváriích z nich byly po určitých časech odebírány vzorky, ve kterých byly následně sledovány obsahy Ag, Cu a Zn. Odebrané vzorky vody byly analyzovány bez předchozí úpravy metodou ICP-OES (inductive coupled plasma - optical emission spectroscopy) na přístroji Optima 2100DV firmy Perkin Elmer v chemické laboratoři CXI TU v Liberci (operátor Ing. Petr Parma, Ph.D.). Vedle odběrů z akvária C (s vrstvami AD30 a AT5 s obsahem kationtů Ag, Cu a Zn) byly pro srovnání analyzovány i vzorky z akvárií A a B. Odběry vody pro analýzy jsou přehledně uvedeny v tabulce 7.

Tab. 7: Odběr vzorků vody z testovaných akvárií

Pořadové číslo odběru	Označení akvária	Datum odběru	Počet dní od začátku
1.	A	12. 11. 2018	0 den
2.	C	26. 11. 2018	0 den
3.	C	27. 11. 2018	1 den
4.	C	10. 12. 2019	14 dní
5.	C	25. 2. 2019	3 měsíce
6.	C	25. 3. 2019	4 měsíce
7.	C	23. 4. 2019	5 měsíců
8.	C	20. 5. 2019	6 měsíců
9.	A	18. 12. 2018	5 týdnů

A – mořské akvárium, B – sladkovodní akvárium, C - sladkovodní akvárium

Poznámka:

Vzorky byly vždy po odběru zakonzervovány 0,05 ml konc. kyseliny dusičné a skladovány v chladu.

## 2.6 Metody mikrobiologického hodnocení

Byly provedeny mikrobiologické testy dle následujícího postupu:

1. V uvedených intervalech, viz tabulky výše (Tab. 4 – Tab. 6), byly odebírány vzorky podložních skel s testovanými vrstvami na mikrobiologické hodnocení.
2. Byla provedena modifikovaná metoda - AATCC 100 Test Method: 100-2006 - Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of.

Podložní sklo bylo vloženo do sterilního kontejnerku. Bylo přidáno 10 ml fyziologického roztoku. Po zvortexování byl odpipetován 1 ml vzniklého roztoku a vyočkován na Petriho misku s krevním agarem (z každého vzorku byly vyočkovány triplety k získání průměrného výsledku).

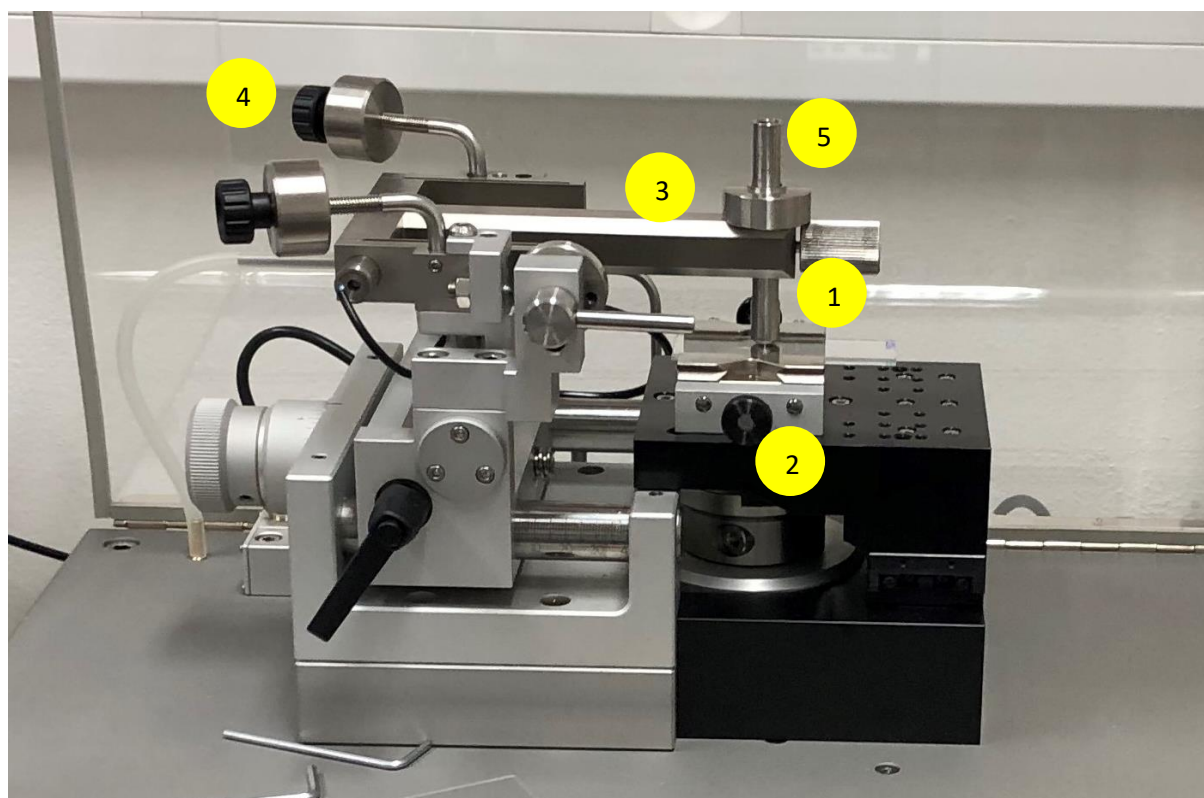
Následovala kultivace v termostatu po dobu 24 hod./37 °C. Po kultivaci byly spočítány narostlé kolonie.

## 2.7 Antifouling testy

Vzorky skel byly po mikrobiologickém hodnocení omyty, byl odstraněn biologický materiál a výskyt biofilmu byl vizuálně porovnán se standardem.

## 2.8 Testy otěruvzdornosti

V laboratoři tribologie KMT TUL byla testována odolnost proti opotřebení připravených vrstev, které by měly mít odlišné vlastnosti. Analýza odolnosti vrstvy byla prováděna pomocí tribometru TRB pro suché a kapalně prostředí. Přístroj umožňuje opakování měření na různých místech sledovaného povrchu, což je třeba provést z důvodu opakovatelnosti výsledků. Přístroj se skládá z různých součástí, které jsou uvedeny níže na obrázku.



Obr. 25: Tribometr firmy Anton Paar, model TRB

[zdroj autorka]

1 – držák s kuličkou; 2 – stoleček na upnutí vzorku; 3 – horizontální rameno pro kalibraci měření; 4 – závaží pro vyrovnání ramena; 5 – zatížení hrotu (zde 0,5 N)

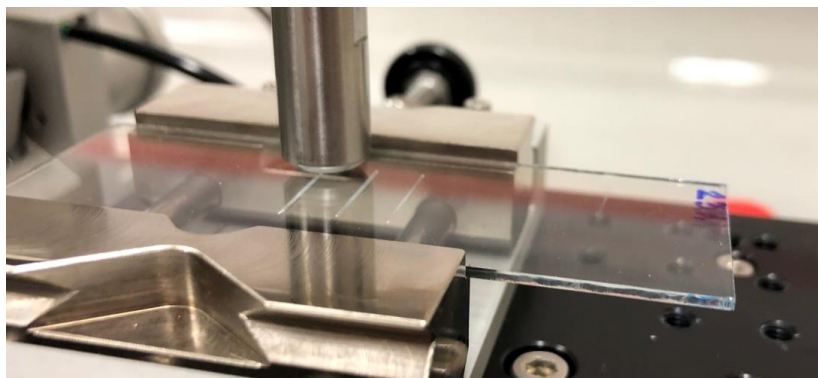
Do držáku se vkládá a upevňuje vzorek s nanesenou vrstvou. Na sledovaném povrchu se nachází sol-gel vrstva, která má určité vlastnosti, tj. určitou mechanickou odolnost. V závislosti na typu

vrstvy (hydrofobní, antifouling, antibakteriální, základní), na délce výskytu vrstvy ve vodě (den, týden, měsíc, dva měsíce, atd.), a typu vody (sladkovodní, mořská) byla posuzována odolnost vrstvy vůči vnějšímu namáhání (zatížení 0,5 N).

Kulový vrchlík kuličky z keramického materiálu ( $\text{Si}_3\text{N}_3$ ) v držáku tribometru působí na zkoumanou vrstvu vzorku po dobu dvou minut. Kulička je v držáku upevněná tak, aby se nemohla otáčet, tzn., že kulička vykonává na povrchu vrstvy kluzné tření. Průběh koeficientu tření (při působení kuličky na vrstvu sol-gelu) byl zaznamenán příslušným softwarem, kde je znázorněna křivka závislosti koeficientu tření na čase. V tabulce 8 jsou uvedeny parametry tribologického procesu.

Tab. 8: Parametry pro test otěruvzdornosti vrstev na tribometru

parametry	
materiál protikusu	nitrid křemíku $\text{Si}_3\text{N}_3$
tvar	kulička o průměru 6 mm
čisticí prostředek	ethylalkohol
doba trvání	2 minuty 21 sekund
počet cyklů	90
vzorek	2A – 48C
délka zkoumané drážky	12 mm
lineární rychlost	4,8 cm/s
zatížení	0,5 N
vlhkost vzduchu	(24 ± 2) %
teplota vzduchu	23 °C



Obr. 26: Rýhy vytvořené na vrstvě 23A v průběhu tribologické zkoušky

[zdroj autorka]

### 3. Výsledky a diskuze

#### 3.1 Rozbory vody pro sledování kontaminace vody kationty Ag, Cu a Zn

Podle výsledků chemických rozborů vody z akvárií (tabulka 9) nedošlo k významné kontaminaci prostředí těžkými kovy. Žádný vzorek se ani vzdáleně nepřiblížil limitu pro pitnou vodu podle vyhlášky 252/2004 Sb. Časem dokonce koncentrace těžkých kovů ve vodě akvárií klesají. Nejvyšší obsah Ag, Cu a Zn byl zjištěn ve vodě mořského akvária ještě před vložením vzorků. To lze vysvětlit obsahem těchto kovů v soli pro přípravu "mořské" vody.

Souhrnně lze říci, že případné uvolňování těžkých kovů z vrstvy AD30 (akvárium C) je prakticky neprůkazné a hluboko pod hygienickými limity.

Tab. 9: Výsledky rozborů vody v akváriích

Akvárium	Datum odběru	Počet dní/měsíců	Cu [mg.cm <sup>-3</sup> ]	Ag [mg.cm <sup>-3</sup> ]	Zn [mg.cm <sup>-3</sup> ]
A	12.11.2018	0 den	0,034	< 0,005	0,04
A	18.12.2018	5 týdnů	0,023	< 0,005	0,05
C	26.11.2018	0 den	0,024	< 0,005	0,02
C	27.11.2018	1 den	0,025	< 0,005	0,02
C	10.12.2019	14 dní	0,017	< 0,005	< 0,02
C	25.2.2019	3 měsíce	< 0,010	< 0,005	< 0,02
C	25.3.2019	4 měsíce	< 0,010	< 0,005	< 0,02
C	23.4.2019	5 měsíců	0,011	< 0,005	< 0,02
C	20.5.2019	6 měsíců	< 0,010	< 0,005	< 0,02
<b>Limit</b>			1	0,025	nemá

Poznámky: A – mořské akvárium, B – sladkovodní akvárium, C - sladkovodní akvárium s AD30, Limit – limit pro pitnou vodu podle vyhlášky 252/2004 Sb.

#### 3.2 Mikrobiologické hodnocení

Výsledky mikrobiologického hodnocení jsou rozděleny podle typu vrstev, kde je diskutována jejich účinnost a rovněž jsou v nich umístěny tabulky s údaji měření, které byly testovány z hlediska inhibice biofilmu v daném prostředí vody po určitou dobu (Tab. 10 – Tab. 16). Co se týče hodnocení účinnosti vrstev, tak nejúčinnější v inhibici růstu biofilmu byla vrstva AD30, která si po celou dobu testování zachovávala v průměru 50% účinnost.

### 3.2.1 Základní vrstva AFO

Tato základní vrstva neprokázala žádnou inhibici růstu biofilmu v porovnání se standardem, jak je patrné z tabulek 10 a 11.

Tab. 10: Inhibice růstu biofilmu v prostředí mořského akvária A - základní vrstva AFO

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	4%
2 – po 24 hodinách	3%
3 – po 14 dnech	4%
4 – po 1 měsíci	2%
5 – po 2 měsících	0%
6 – po 3 měsících	0%
7 – po 4 měsících	0%
8 – po 5 měsících	0%
9 – po 6 měsících	0%
10 – po 7 měsících	0%

Tab. 11: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária B – základní vrstva AFO

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	4%
2 – po 24 hodinách	4%
3 – po 14 dnech	4%
4 – po 1 měsíci	3%
5 – po 2 měsících	0%
6 – po 3 měsících	0%
7 – po 4 měsících	0%
8 – po 5 měsících	0%
9 – po 6 měsících	0%
10 – po 7 měsících	0%
11 – po 11 měsících	0%

### 3.2.2 Hydrofobní vrstva AE10

U mořského akvária vrstva AE10 neprokázala významnou inhibici na tvorbu biofilmu, viz tabulka 12. S postupem času se tvorba biofilmu na povrchu podloží s vrstvou zvyšovala.

U sladkovodních akvárií je vrstva AE10 z hlediska tvorby biofilmu velmi málo účinná (viz Tab. 13 a 14). Již po prvním měsíci inhibice klesá, po 3 měsících je účinnost 10%. Přesto očištění povrchu od biofilmu bylo snadné, adheze biofilmu k povrchu byla nízká.

Tab. 12: Inhibice růstu biofilmu v prostředí mořského akvária A - hydrofobní vrstva AE10

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	78%
2 – po 24 hodinách	47%
3 – po 14 dnech	32%
4 – po 1 měsíci	14%
5 – po 2 měsících	16%
6 – po 3 měsících	12%
7 – po 4 měsících	10%
8 – po 5 měsících	12%
9 – po 6 měsících	11%
10 – po 7 měsících	9%

Tab. 13: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária B - hydrofobní vrstva AE10

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	36%
2 – po 24 hodinách	82%
3 – po 14 dnech	76%
4 – po 1 měsíci	56%
5 – po 2 měsících	19%
6 – po 3 měsících	10%
7 – po 4 měsících	10%
8 – po 5 měsících	9%
9 – po 6 měsících	7%
10 – po 7 měsících	7%
11 – po 11 měsících	4%

Tab. 14: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária C - hydrofobní vrstva AE10

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	36%
2 – po 24 hodinách	81%
3 – po 14 dnech	78%
4 – po 1 měsíci	54%
5 – po 2 měsících	16%
6 – po 3 měsících	10%
7 – po 4 měsících	10%
8 – po 5 měsících	6%
9 – po 6 měsících	7%
10 – po 7 měsících	6%
11 – po 10 měsících	4%

### 3.2.3. Antibakteriální vrstva AD30

U sladkovodního akvária vrstva AD30 vykázala poměrně dobrou inhibiční schopnost (viz Tab. 15), která byla po celou dobu testování v průměru 50%.

Tab. 15: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária C – antibakteriální vrstva AD30

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	43%
2 – po 24 hodinách	51%
3 – po 14 dnech	84%
4 – po 5 týdnech	47%
5 – po 2 měsících	48%
6 – po 3 měsících	47%
7 – po 4 měsících	48%
8 – po 5 měsících	48%
9 – po 6 měsících	45%
10 – po 10 měsících	43%

### 3.2.3 Hydrofobní a antibakteriální vrstva AT5

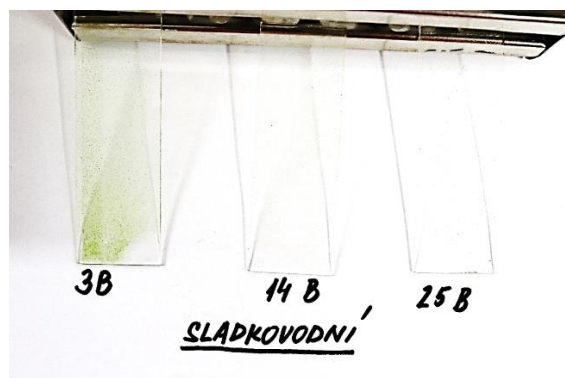
Velmi nízká inhibice (10 – 12%) této vrstvy byla pozorována do 5. týdne testování, jak je patrné z tabulky 16. Následně po 5. týdnu vrstva inhibičně nefungovala.

Tab. 16: Inhibice růstu biofilmu v prostředí sladkovodního akvária C – hydrofobní a antibakteriální vrstva AT5

Číslo odběru/doba odběru	% inhibice v porovnání se standardem
1 – bez ponoření	12%
2 – po 24 hodinách	12%
3 – po 14 dnech	11%
4 – po 5 týdnech	10%
5 – po 2 měsících	7%
6 – po 3 měsících	0%
7 – po 4 měsících	0%
8 – po 5 měsících	0%
9 – po 6 měsících	0%
10 – po 10 měsících	0%

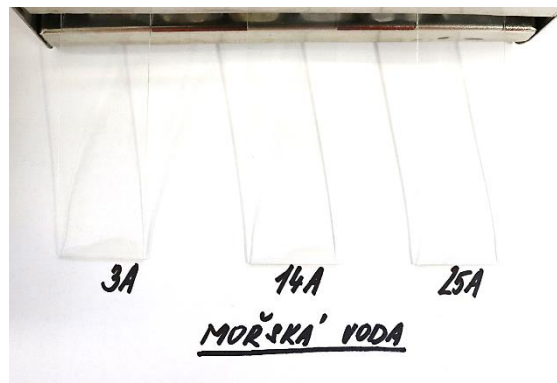
### 3.3 Antifouling testy

Po odstranění (omytí) narostlého biologického materiálu bylo u všech vzorků patrné, že tam, kde byly aplikovány vrstvy (AE10 nebo AD30) došlo ke snadnějšímu odstranění biologického materiálu z povrchu skla. U standardů byly zejména řasy do podkladu „prorostlé“ a odstranit prakticky nešly, viz obrázky 29 a ab. Tento jev byl patrný zejména u vzorků ze sladkovodního akvária.



Obr. 27: Vzorky po vyndání ze sladkovodního akvária po 14 dnech a oplachu proudem vody (3B srovnávací sklo bez vrstvy, 14B sklo s vrstvou AD30 a 25B sklo s vrstvou AE10) [obrázek získán od doc. Šlamborové]





Obr. 28: Vzorky po vyndání z akvária s mořskou vodou po 14 dnech a oplachu proudem vody (3A srovnávací sklo bez vrstvy, 14A sklo s vrstvou AF0 a 25A sklo s vrstvou AE10). [obrázek získán od doc. Šlamborové]

Po odstranění (omytí) narostlého biologického materiálu bylo u všech vzorků patrné, že tam, kde byly aplikovány vrstvy (AE10 nebo AD30) došlo ke snadnému odstranění biologického materiálu z povrchu skla. U standardů, byly zejména řasy, do podkladu „prorostlé“ a odstranit nešly – viz následující foto. Tento jev byl patrný zejména u vzorků ze sladkovodního akvária.

Souhrnně lze říci, že zvláště vrstvy AD30 a AE10 ve sladké vodě významně snižují adhezi biofilmu na těmito vrstvami upravené povrchy.

### 3.4 Tribologické testy otěruvzdornosti

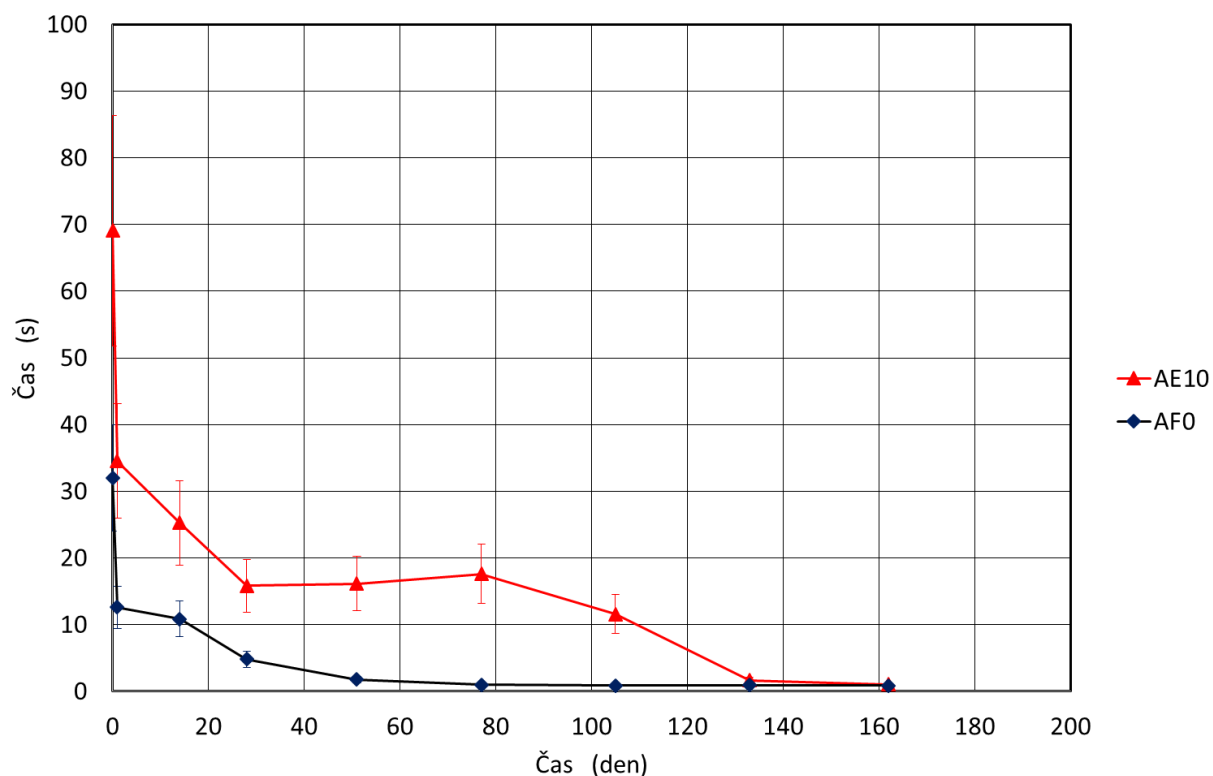
Vybrané řady vzorků po mikrobiologickém testování byly desinfikovány a podrobeny tribologickým testům. Sledována byla časová závislost koeficientu tření (viz kapitola 2.8) při pravidelném zatěžování kuličky z keramického materiálu. Po proniknutí zatěžované kuličky k podkladovému sklu se významně změnila experimentální hodnota koeficientu tření. Při pravidelném zatěžování je tedy čas do proniknutí kuličky k podkladovému sklu úměrný otěruvzdornosti vrstvy.

Jako srovnávací hodnota pro odpovídající čas na čistém skle (úměrná koeficientu tření na čistém skle) byla experimentálně stanovena na 1,10 s ( $s_x = 0,30$ ). Po dosažení odpovídajícího koeficientu tření při testu lze předpokládat pohyb kuličky po podkladovém skle. Čas dosažení této hodnoty lze považovat za úměrný otěruvzdornosti nanesené vrstvy.

V tabulce 17 a grafu na obrázku 30 jsou shrnuty výsledky získané pro otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 v mořském akváriu jako čas pro dosažení hodnoty koeficientu tření pro čisté sklo v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu.

Tab. 17: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 v mořském akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu (vyjádřená jako čas pro dosažení koeficientu tření čistého skla)

<b>sol</b>	<b>čas v akváriu (dny)</b>	<b>měření průměr (s)</b>	<b>sm. odchylka <math>s_x</math> (s)</b>
<b>sklo</b>	0	1,10	0,30
<b>AE10</b>	0	69,10	1,82
<b>AE10</b>	1	34,55	1,34
<b>AE10</b>	14	25,25	0,59
<b>AE10</b>	28	15,83	0,60
<b>AE10</b>	51	16,17	2,76
<b>AE10</b>	77	17,63	1,46
<b>AE10</b>	105	11,58	2,88
<b>AE10</b>	133	1,68	0,28
<b>AE10</b>	162	1,04	0,09
<b>AF0</b>	0	32,00	1,50
<b>AF0</b>	1	12,60	2,76
<b>AF0</b>	14	10,88	1,34
<b>AF0</b>	28	4,84	2,15
<b>AF0</b>	51	1,76	0,69
<b>AF0</b>	77	0,99	0,14
<b>AF0</b>	105	0,89	0,12
<b>AF0</b>	133	0,92	0,20
<b>AF0</b>	162	0,89	0,25



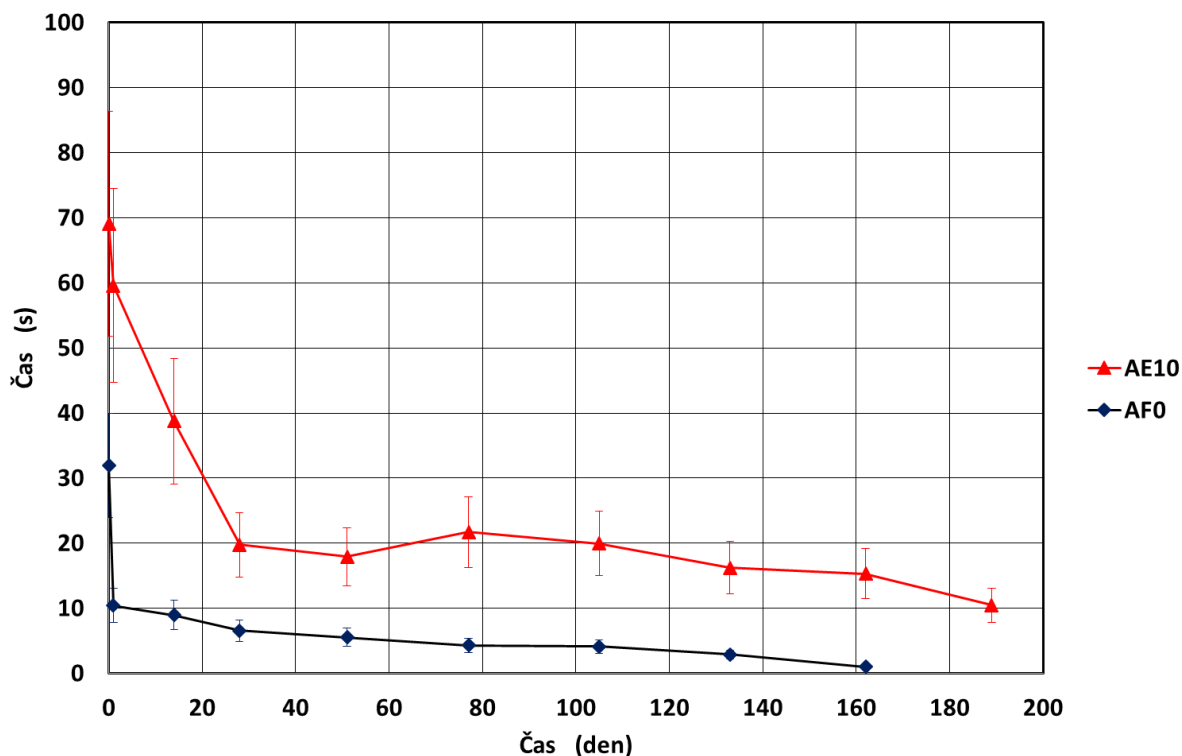
Graf 1: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 v mořském akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu (vyjádřena jako čas pro dosažení koeficientu tření čistého skla) [obrázek získán od doc. Exnara]

Z grafu na obrázku 30 vyplývá, že pro vrstvu AE10 je odolnost vrstvy v mořském prostředí kolem 130 dní. Pro vrstvu AF0 je tato hodnota nižší, přibližně 50 dní.

V tabulce 18 a grafu na obrázku 31 jsou shrnuty výsledky získané pro otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 ve sladkovodním akváriu B jako čas pro dosažení hodnoty koeficientu tření pro čisté sklo v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu.

Tab. 18: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AF0 ve sladkovodním akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu (vyjádřená jako čas pro dosažení koeficientu tření čistého skla)

sol	čas v akváriu (dny)	měření průměr (s)	sm. odchylka $s_x$ (s)
sklo	0	1,10	0,30
AE10	0	69,10	1,82
AE10	1	59,60	4,75
AE10	14	38,73	6,33
AE10	28	19,73	4,13
AE10	51	17,93	5,66
AE10	77	21,73	4,80
AE10	105	19,97	4,38
AE10	133	16,23	2,01
AE10	162	15,30	3,60
AE10	189	10,47	1,00
AF0	0	32,00	1,50
AF0	1	10,42	1,40
AF0	14	8,95	0,65
AF0	28	6,57	2,38
AF0	51	5,53	4,04
AF0	77	4,29	0,92
AF0	105	4,14	0,55
AF0	133	2,89	0,39
AF0	162	1,02	0,39
AF0	189	N	



Graf 2: Otěrvzdornost vrstev AE10 a AF0 ve sladkovodním akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu (vyjádřená jako čas pro dosažení koeficientu tření čistého skla) [obrázek získán od doc. Exnara]

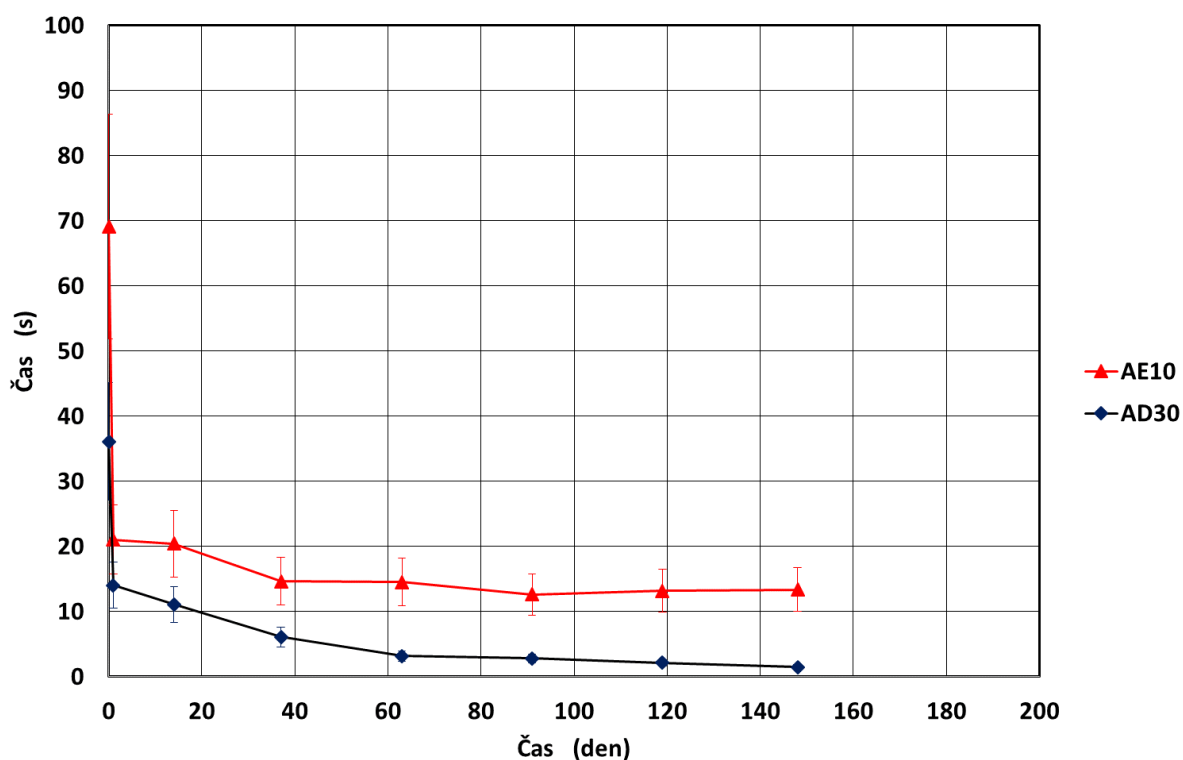
Z grafu na obrázku 31 vyplývá, že pro vrstvu AE10 je odolnost vrstvy ve sladkovodním prostředí významně delší než 190 dní. Pro vrstvu AF0 je tato hodnota nižší, přibližně 145 dní.

V tabulce 19 a grafu 32 jsou shrnuty výsledky získané pro otěrvzdornost vrstev AE10 a AD30 ve sladkovodním akváriu C jako čas pro dosažení hodnoty koeficientu tření pro čisté sklo v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu.

Tab. 19: Otěrvzdornost vrstev AE10 a AD30 ve sladkovodním akváriu v závislosti na čase stráveném v tomto akváriu (vyjádřená jako čas pro dosažení koeficientu tření čistého skla)

sol	čas v akváriu (dny)	měření průměr (s)	směrodatná odchylka $s_x$ (s)
sklo	0	1,10	0,30
AE10	0	69,10	1,82
AE10	1	21,07	1,29
AE10	14	20,45	3,89
AE10	37	14,67	1,55
AE10	63	14,55	1,91
AE10	91	12,66	4,40
AE10	119	13,17	1,57

AE10	148	13,40	5,11
AD30	0	36,13	2,32
AD30	1	14,06	5,53
AD30	14	11,11	2,99
AD30	37	6,12	1,29
AD30	63	3,20	0,17
AD30	91	2,81	0,28
AD30	119	2,14	0,45
AD30	148	1,50	0,66



Graf 3: Otěruvzdornost vrstev AE10 a AD30 ve sladkovodním akváriu C v závislosti na čase stráveném tomto akváriu (vyjádřená jako čas pro dosažení koeficientu tření čistého skla) [obrázek získán od doc. Exnara]

Z grafu na obrázku 32 vyplývá, že pro vrstvu AE10 je odolnost vrstvy ve sladkovodním prostředí významně delší než 150 dní. Pro vrstvu AD30 je tato hodnota nižší, ale stále přesahuje 150 dní.

## 4. Závěr

Úspěšně byly připraveny sol-gel vrstvy různých typů na podložních sklech pro testování jejich odolnosti ve vodném prostředí a následně provedeny testy jejich chování v prostředí simulované mořské vody a klasické „sladké“ vody v akváriích.

I u antimikrobiálních vrstev s obsahem kationtů Ag, Cu a Zn bylo případné uvolňování těžkých kovů z těchto vrstev (vrstva AD30) prakticky neprůkazné a hluboko pod hygienickými limity.

Nejúčinnější v inhibici růstu biofilmu byla vrstva AD30, která si po celou dobu tetování zachovávala v průměru 50% účinnost.

Vrstvy AD30 a AE10, zvláště ve sladké vodě, významně snižují adhezi biofilmu na těmito vrstvami upravené povrchy. To je velmi nadějně pro omezení růstu nanofilmu na takto upravených površích.

Odolnost sol-gel vrstev silně závisí na konkrétním vodném prostředí. Pro vrstvu AE10 byla pomocí tribologie zjištěna odolnost této vrstvy v mořském prostředí kolem 130 dní. Pro vrstvu AF0 je tato hodnota nižší, přibližně 50 dní. Ve sladkovodním prostředí byla pro vrstvu AE10 stanovena odolnost vrstvy ve sladkovodním prostředí významně delší než 190 dní. Pro vrstvu AF0 je tato hodnota nižší, přibližně 145 dní. Pro vrstvu AD30 je tato hodnota nižší, ale stále přesahuje 150 dní.

## Seznam použité literatury

- [1] DAFFORN, Katherine A., John A. LEWIS a Emma L. JOHNSTON. Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 2011, **62**(3), 453–465. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2011.01.012
- [2] YEBRA, Diego Meseguer, Søren KIIL a Kim DAM-JOHANSEN. Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings* [online]. 2004, **50**(2), 75–104. ISSN 0300-9440. Dostupné z: doi:10.1016/j.porgcoat.2003.06.001
- [3] BOOTHE, Tiffany. Japanese Fishing Boat Washes Up near Cannon Beach, Oregon Coast - No Invasive Species [foto]. Seaside Aquarium USA 2017. In: *beachconnection.net* [online]. [Cit. 21. 5. 2020]. Dostupné z: [https://www.beachconnection.net/news/boatjapa120617\\_434.php](https://www.beachconnection.net/news/boatjapa120617_434.php)
- [4] A boat hull heavily infested with *Undaria pinnatifida* [foto]. 2018. In: *NZ Herald.co.nz* [online]. [Cit. 21. 5. 2020]. Dostupné z: [https://www.nzherald.co.nz/the-country/news/article.cfm?c\\_id=16&objectid=11975943](https://www.nzherald.co.nz/the-country/news/article.cfm?c_id=16&objectid=11975943)
- [5] MOCHIDA, Kazuhiko, Takeshi HANO, Toshimitsu ONDUKA, Hideki ICHIHASHI, Haruna AMANO, Mana ITO, Katsutoshi ITO, Hiroyuki TANAKA a Kazunori FUJII. Spatial analysis of 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (Sea-Nine 211) concentrations and probabilistic risk to marine organisms in Hiroshima Bay, Japan. *Environmental Pollution* [online]. 2015, **204**, 233–240. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2015.05.012
- [6] VICKERY, Karen, Aniko PAJKOS a Yvonne COSSART. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. *American Journal of Infection Control*. 2004, **32**(3), 170–176. ISSN 0196-6553. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajic.2003.10.009
- [7] ROMANÍ, Anna M. Přirozený epilítický biofilm narostlý během 30 dní na destičce z pískovaného skla (1 cm<sup>2</sup>) s dominancí stopkatých nálevníků a rozsivek [foto]. In: *Živa* [online]. [Cit. 4. 2. 2020]. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/2012-5/mikrobiální-biofilmy-2-vodni-prostredi.html>
- [8] RULÍK, Martin, Veronika HOLÁ, Filip RŮŽIČKA, Miroslav VOTAVA a kol. *Mikrobiální biofilmy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. ISBN 978-80-244-2747-8.
- [9] SHINDLER, Jiří. Mikrobiální biofilm. *Vesmír*. 2001, **4**(80), 203–221. ISSN 1214-4029.
- [10] TOLKER-NIELSEN, Tim a Søren MOLIN. Spatial Organization of Microbial Biofilm Communities. *Microbial Ecology*. 2000, **40**(2), 75–84. ISSN 1432-184X. Dostupné z: doi:10.1007/s002480000057
- [11] FULAZ, Stephanie, Stefania VITALE, Laura QUINN a Eoin CASEY. Nanoparticle–Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. *Trends in Microbiology* [online]. 2019. ISSN 0966-842X. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2019.07.00
- [12] BYRD, Matthew S., Irina SADOVSKAYA, Evgeny VINOGRADOV, Haiping LU, April B. SPRINKLE, Stephen H. RICHARDSON, Luyan MA, Brad RALSTON, Matthew R. PARSEK, Erin M. ANDERSON, Joseph S. LAM a Daniel J. WOZNIK. Genetic and biochemical analyses of the *Pseudomonas aeruginosa* Psl exopolysaccharide reveal overlapping roles for polysaccharide synthesis enzymes in Psl and LPS production. *Molecular Microbiology*. 2009, **73**(4), 622–638. ISSN 1365-2958. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2958.2009.06795.x



- [13] WU, Huijun, Di WANG, Maomao TANG a Luyan Z. MA. The advance of assembly of exopolysaccharide Psl biosynthesis machinery in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiologyopen* [online]. 2019, **8**(10). ISSN 2045-8827. Dostupné z: doi:10.1002/mbo3.857
- [14] GLOAG, Erin S., Guy K. GERMAN, Paul STOODLEY a Daniel J. WOZNIAK. Viscoelastic properties of *Pseudomonas aeruginosa* variant biofilms. *Scientific Reports* [online]. 2018, **8**(1). ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-28009-5
- [15] JENNINGS, Laura K., Kelly M. STOREK, Hannah E. LEDVINA, Charlène COULON, Lindsey S. MARMONT, Irina SADOVSKAYA, Patrick R. SECOR, Boo Shan TSENG, Michele SCIAN, Alain FILLOUX, Daniel J. WOZNIAK, P. Lynne HOWELL a Matthew R. PARSEK. Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2015, **112**(36), 11353–11358. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1503058112
- [16] KOSTUROVÁ, Jana. Fáze vývoje biofilmu [kresba]. In: *Živa* [Cit. 4. 2. 2020]. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/2012-3/mikrobiani-biofilmy-1-vsudypritomny-a-pritom-malo-znamy-fenomen.html>
- [17] TURAKHIA, Mukesh H., Keith E. COOKSEY a William G. CHARACKLIS. Influence of a Calcium-Specific Chelant on Biofilm Removal. *Applied and Environmental Microbiology*. 1983, **46**(5), 1236–1238. ISSN 0099-2240, 1098-5336.
- [18] CHEN, Xiao a Philip S. STEWART. Biofilm removal caused by chemical treatments. *Water Research* [online]. 2000, **34**(17), 4229–4233. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/S0043-1354(00)00187-1
- [19] PITTS, Betsey, Martin A. HAMILTON, Nicholas ZELVER a Philip S. STEWART. A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. *Journal of Microbiological Methods* [online]. 2003, **54**(2), 269–276. ISSN 0167-7012. Dostupné z: doi:10.1016/S0167-7012(03)00034-4
- [20] AZEMAR, Fabrice, Fabienne FAÏ, Karine RÉHEL a Isabelle LINOSSIER. Development of hybrid antifouling paints. *Progress in Organic Coatings* [online]. 2015, **87**, 10–19. ISSN 0300-9440. Dostupné z: doi:10.1016/j.porgcoat.2015.04.007
- [21] KAVOURAS, P., A. F. TROMPETA, S. LARROZE, M. MARANHÃO, T. TEIXEIRA, M. BELTRI, E. P. KOUMOULOS a C. A. CHARITIDIS. Correlation of mechanical properties with antifouling efficacy of coatings containing loaded microcapsules. *Progress in Organic Coatings* [online]. 2019, 105249. ISSN 0300-9440. Dostupné z: doi:10.1016/j.porgcoat.2019.105249
- [22] ELSHAARAWY, Reda F. M., Fatma H. A. MUSTAFA, Ahmed R. SOFY, Ahmed A. HMED a Christoph JANIÁK. A new synthetic antifouling coatings integrated novel aminothiazole-functionalized ionic liquids motifs with enhanced antibacterial performance. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. 2019, **7**(1), 102800. ISSN 2213-3437. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2018.11.044
- [23] CIRIMINNA, Rosaria, Frank V. BRIGHT a Mario PAGLIARO. Ecofriendly Antifouling Marine Coatings. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. 2015, **3**(4), 559–565. Dostupné z: doi:10.1021/sc500845n
- [24] Zooid [online]. *Merriam-Webster.com*. [Cit. 9. 12. 2019]. Dostupné z: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/zooid>

- [25] LEJARS, Marlène, André MARGAILLAN a Christine BRESSY. Fouling Release Coatings: A Nontoxic Alternative to Biocidal Antifouling Coatings. *Chemical Reviews* [online]. 2012, **112**(8), 4347–4390. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr200350v
- [26] EVANS, S. M., T. LEKSONO a P. D. MCKINNELL. Tributyltin pollution: A diminishing problem following legislation limiting the use of TBT-based anti-fouling paints. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 1995, **30**(1), 14–21. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/0025-326X(94)00181-8
- [27] KIIL, Søren, Kim DAM-JOHANSEN, Claus E. WEINELL a Michael S. PEDERSEN. Seawater-soluble pigments and their potential use in self-polishing antifouling paints: simulation-based screening tool. *Progress in Organic Coatings* [online]. 2002, **45**(4), 423–434. ISSN 0300-9440. Dostupné z: doi:10.1016/S0300-9440(02)00146-7
- [28] MOCHIDA, Kazuhiko, Takeshi HANO, Toshimitsu ONDUKA, Hideki ICHIHASHI, Haruna AMANO, Mana ITO, Katsutoshi ITO, Hiroyuki TANAKA a Kazunori FUJII. Spatial analysis of 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (Sea-Nine 211) concentrations and probabilistic risk to marine organisms in Hiroshima Bay, Japan. *Environmental Pollution* [online]. 2015, **204**, 233–240. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2015.05.012
- [29] JIRÁSEK, J., VAVRO, M.: Nerostné suroviny a jejich využití. Ostrava: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR & Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2008. ISBN 978-80-248-1378-3. Dostupné z: [http://geologie.vsb.cz/loziska/suroviny/pigmenty\\_barviva.html](http://geologie.vsb.cz/loziska/suroviny/pigmenty_barviva.html)
- [30] PÉREZ, Miriam, Guillermo BLUSTEIN, Mónica GARCÍA, Beatriz DEL AMO a Mirta STUPAK. Cupric tannate: A low copper content antifouling pigment. *Progress in Organic Coatings* [online]. 2006, **55**(4), 311–315. ISSN 0300-9440. Dostupné z: doi:10.1016/j.porgcoat.2005.11.014
- [31] PARKS, Rachel, Marion DONNIER-MARECHAL, Patricia E. FRICKERS, Andrew TURNER a James W. READMAN. Antifouling biocides in discarded marine paint particles. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 2010, **60**(8), 1226–1230. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2010.03.022
- [32] TURNER, Andrew. Marine pollution from antifouling paint particles. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 2010, **60**(2), 159–171. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2009.12.004
- [33] THOMAS, K. V. a S. BROOKS. The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. *Biofouling* [online]. 2010, **26**(1), 73–88. ISSN 0892-7014. Dostupné z: doi:10.1080/08927010903216564
- [34] WATERMANN, B. a B. EKLUND. Can the input of biocides and polymeric substances from antifouling paints into the sea be reduced by the use of non-toxic hard coatings? *Marine Pollution Bulletin* [online]. 2019, **144**, 146–151. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2019.04.059
- [35] VESCO, S., C. AVERSA, M. PUOPOLO a M. BARLETTA. Advances in design and manufacturing of environmentally friendly and biocide-free antifouling/foul-release coatings: replacement of fluorinate species. *Journal of Coatings Technology and Research* [online]. 2019, **16**(3), 661–680. ISSN 1935-3804. Dostupné z: doi:10.1007/s11998-018-0144-6
- [36] EXNAR, Petr. *Metoda sol-gel*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2006. ISBN 80-7372-063-9.

- [37] SCHOTTNER, Gerhard. Hybrid Sol–Gel-Derived Polymers: Applications of Multifunctional Materials. *Chemistry of Materials* [online]. 2001, **13**(10), 3422–3435. ISSN 0897-4756. Dostupné z: doi:10.1021/cm011060m
- [38] DECOSTANZI, Mélanie, Yvan ECOCHARD a Sylvain CAILLOL. Synthesis of sol-gel hybrid polyhydroxyurethanes. *European Polymer Journal* [online]. 2018, **109**, 1–7. ISSN 0014-3057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2018.08.054
- [39] ALI, Shima M. a Hamedh A. AL LEHAIBI. Nano-structured sol–gel coatings as protective films against zinc corrosion in 0.5M HCl solution. *Journal of Saudi Chemical Society* [online]. 2017, **21**(4), 473–480. ISSN 1319-6103. Dostupné z: doi:10.1016/j.jscs.2016.12.001
- [40] FEDEL, Michele, Emanuela CALLONE, Matias FABBIAN, Flavio DEFLORIAN a Sandra DIRÈ. Influence of Ce<sup>3+</sup> doping on molecular organization of Si-based organic/inorganic sol-gel layers for corrosion protection. *Applied Surface Science* [online]. 2017, **414**, 82–91. ISSN 0169-4332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2017.04.071
- [41] DETTY, Michael R., Rosaria CIRIMINNA, Frank V. BRIGHT a Mario PAGLIARO. Environmentally Benign Sol–Gel Antifouling and Foul-Releasing Coatings. *Accounts of Chemical Research* [online]. 2014, **47**(2), 678–687. ISSN 0001-4842. Dostupné z: doi:10.1021/ar400240n
- [42] SCANDURA, Gabriele, Rosaria CIRIMINNA, Yi-Jun XU, Mario PAGLIARO a Giovanni PALMISANO. Nanoflower-Like Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> Encapsulated in ORMOSIL as a Novel Photocatalytic Antifouling and Foul-Release Coating. *Chemistry – A European Journal* [online]. 2016, **22**(21), 7063–7067. ISSN 0947-6539. Dostupné z: doi:10.1002/chem.201600831
- [43] SCANDURA, Gabriele, Rosaria CIRIMINNA, Lütfiye Yıldız OZER, Francesco MENEGUZZO, Giovanni PALMISANO a Mario PAGLIARO. Antifouling and Photocatalytic Antibacterial Activity of the AquaSun Coating in Seawater and Related Media. *ACS Omega* [online]. 2017, **2**(11), 7568–7575. ISSN 2470-1343. Dostupné z: doi:10.1021/acsomega.7b01237
- [44] Hempasil X3 87500 [foto]. In: *SP KRASKA* [online]. [Cit. 3. 1. 2020]. Dostupné z: <https://sp-kraska.ru/hempel/hempasil-x3-87500>
- [45] Sea Victor 50 Antifoul [foto]. In: *Boatpaints* [online]. [Cit. 3. 1. 2020]. Dostupné z: <http://www.boatpaints.net.au/product/sea-victor-50/>
- [46] Interlux [online]. Intersleek® 900 Information Booklet. [Cit. 13. 2. 2020]. Dostupné z: <http://www.yachtpaint.com/LiteratureCentre/intersleek-900-info-booklet-usa-eng.pdf>
- [47] ECONEA® [online]. PROSPECTOR®. [Cit. 3. 2. 2020]. Dostupné z: <https://www.ulprospector.com/en/na/Coatings/Detail/6480/215831/ECONEA>
- [48] WHAT IS SELEKTOPE? [online]. selektope. [Cit. 3. 2. 2020]. Dostupné z: <https://selektope.com/about/>
- [49] Tiskové zprávy [online]. selektope. [Cit. 3. 2. 2020]. Dostupné z: <https://selektope.com/category/press-releases/>
- [50] GREIG, David. New HEMPASIL X3 marine paint reduces fuel consumption. In: *New Atlas* [online]. Dave Dykes, 1. duben 2009 [Cit. 13. 2. 2020]. Dostupné z: <https://newatlas.com/hempasil-x3-anti-fouling-marine-paint/11369/>

- [51] HEMPEL [online]. Údajový list HEMPASIL X3+ 87500 [Cit. 13. 2. 2020]. Dostupné z: <https://www.hempel.co.uk/product-list/PDS-AI-Download?download=1&quality=87500&doctype=pds&lang=cs-CZ&fileName=%22PDS%20Hempasil%20X3%2087500%20cs-CZ.pdf%22>
- [52] WRIGHT Tim. Marine Coatings Market. In: *Coatings World* [online]. Rodman J. Zilenziger, Jr., 5. červenec. 2009 [Cit. 13. 2. 2020]. Dostupné z: [https://www.coatingsworld.com/issues/2009-05/view\\_features/marine-coatings-market-2009-05-07-09-18-13/](https://www.coatingsworld.com/issues/2009-05/view_features/marine-coatings-market-2009-05-07-09-18-13/)
- [53] Danish Technological Institute [online]. CORE Coat 010 Statement on Environmental Impact [Cit. 3. 2. 2020]. Dostupné z: [http://www.dti.dk/\\_root/media/52059](http://www.dti.dk/_root/media/52059)
- [54] DAMON, Corey. *Xerogel-Sequestered Transition Metal Catalysts for the Oxidation of Aqueous Halides with Hydrogen Peroxide: Toward a New Generation of Marine Antifouling Materials* [online]. Buffalo, 2018. Diplomová práce. Univerzita v Buffalu. Dostupné z: <http://ubir.buffalo.edu/xmlui/handle/10477/78111>
- [55] DETTY, Michael R., Rosaria CIRIMINNA, Frank V. BRIGHT a Mario PAGLIARO. Xerogel Coatings Produced by the Sol–Gel Process as Anti-Fouling, Fouling-Release Surfaces: From Lab Bench to Commercial Reality. *ChemNanoMat* [online]. 2015, **1**(3), 148–154. ISSN 2199-692X. Dostupné z: doi:10.1002/cnma.201500056
- [56] JOTUN [online]. Technical Data Sheet SeaMate M [Cit. 16. 2. 2020]. Dostupné z: [https://www.jotun.com/Datasheets/Download?url=%2FTDS%2FTDS\\_\\_28901\\_\\_SeaMate+M\\_\\_Eu\\_k\\_\\_GB.pdf](https://www.jotun.com/Datasheets/Download?url=%2FTDS%2FTDS__28901__SeaMate+M__Eu_k__GB.pdf)
- [57] Autonomous underwater robot reduces ship fuel consumption (w/ Video) In: phys.org [online]. 26. srpen 2009 [Cit. 16. 4. 2020]. Dostupné z: <https://phys.org/news/2009-08-autonomous-underwater-robot-ship-fuel.html>
- [58] KHANNA, A. S. 2 - Surface preparation for organic paint coatings. In: Anand S. KHANNA. *High-Performance Organic Coatings*. Woodhead Publishing, 2008 [Cit. 22. 5. 2020], Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering, s. 27–40. ISBN 978-1-84569-265-0. Dostupné z: doi:10.1533/9781845694739.1.27
- [59] BOAT WASHER Giftfritt hav & Bekvämt båtliv [online]. Rolf Elliot. [17. 4. 2020]. Dostupné z: <https://boatwasher.se/>
- [60] Drive-in Boatwash [online]. [Cit. 17. 4. 2020]. Dostupné z: <https://driveinboatwash.com/>
- [61] Fouling [foto]. In: *Maritime Cyprus* [online]. [Cit. 6. 3. 2020]. Dostupné z: <https://maritimecyprus.com/2017/12/06/guidance-mca-prevent-pollution-and-reduce-harmful-emissions-at-sea/fouling/>
- [62] MILLER, Vojtěch. *Příprava a vlastnosti hydrofobních nanovrstev*. Liberec, 2018. Bakalářská práce. Technická univerzita v Liberci. Dostupné z: <https://dspace.tul.cz/handle/15240/32260>
- [63] Figure 1. Schematic representation of dip-coating process. [počítačová kresba]. In: *ResearchGate* [online]. [Cit. 6. 3. 2020]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-dip-coating-process\\_fig1\\_260706432](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-dip-coating-process_fig1_260706432)

[64] GOOCH, Jan W. S. In: Jan W. GOOCH. *Encyclopedic Dictionary of Polymers* [online]. Springer, 2011, s. 692–692. [Cit. 2. 12. 2019]. ISBN 978-1-4419-6247-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4419-6247-8\_11059

[65] SMITH, M. F. 3 - Comparing cold spray with thermal spray coating technologies. In: Victor K. CHAMPAGNE. *The Cold Spray Materials Deposition Process* [online]. Woodhead Publishing, 2007 [Cit. 6. 3. 2020], Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering, s. 43–61. ISBN 978-1-84569-181-3. Dostupné z: doi:10.1533/9781845693787.1.43

[66] DORFMAN, Mitchell R. Chapter 22 - Thermal Spray Coatings. In: Myer KUTZ. *Handbook of Environmental Degradation of Materials* [online]. 3. vydání. William Andrew Publishing, 2018, s. 469–488. [Cit. 9. 12. 2019] ISBN 978-0-323-52472-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-52472-8.00023-X

[70] SkandYtforadling. Electric arc spraying (ENG). [video]. 2016 In YouTube [Cit. 16. 3.2020]. Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=7yUOOEC2avl>

[71] HVOF spraying [počítačová kresba] In: *Griekspoor* [online]. [Cit. 16. 3.2020]. Dostupné z: <https://griekspoorthermalcoatings.com/hvof-spraying>

[72] HVOF Gun [foto]. In: *Airo Shot Blast* [online]. [Cit. 16. 3.2020]. Dostupné z: <http://airoshotblast.in/hvof-gun/>

[73] Description of the detonation spraying process [počítačová kresba]. In: *Plakart JSC* [online]. [Cit. 16. 3.2020]. Dostupné z: <https://www.plakart.pro/en/technologies/detonation-spraying-d-gun/>

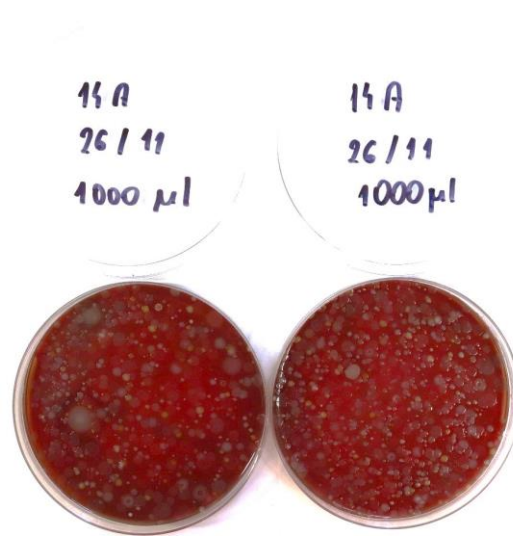
[74] Figure 1.-Schematic of cold spray process [počítačová kresba]. In: *ResearchGate* [online]. [Cit. 16. 3.2020]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-cold-spray-process\\_fig1\\_265435449](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-cold-spray-process_fig1_265435449)

[75] SETTLES, Gary S., James D. MILLER, Thomas J. HARTRANFT a Aaron D. BRANDT. Visualization and collection of overspray from airless spray painting. In: *8th International Symposium on Flow Visualization : 8-ISFV ; held at Sorrento, Italy, on September 1 to 4, 1998* [online]. Amsterdam: IOS Press, 1999. [Cit. 9. 12. 2019]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/profile/Gary\\_Settles/publication/252422752\\_Visualization\\_and\\_collection\\_of\\_overspray\\_from\\_airless\\_spray\\_painting/links/5560b2ac08ae6f4dcc93c0ba/Visualization-and-collection-of-overspray-from-airless-spray-painting.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gary_Settles/publication/252422752_Visualization_and_collection_of_overspray_from_airless_spray_painting/links/5560b2ac08ae6f4dcc93c0ba/Visualization-and-collection-of-overspray-from-airless-spray-painting.pdf)

[76] Power Painter 90 Extra HEA [foto]. In: *stavba-profi.cz* [online]. [Cit. 16. 3. 2020]. Dostupné z: <https://www.stavba-profi.cz/2019/01/29/airless-spray-system/>

[77] Lovětinská-Šlamborová, I., Zajícová, V., Exnar, P., Stibor, I.: Antibakteriální hybridní vrstva působící proti patogenním bakteriím, zejména proti bakteriálnímu kmeni MRSA, a způsob vytvoření této vrstvy. CZ 305 045, 28.8.2013, 25.2.2015; Antibacterial hybrid layer operating against pathogenic bacterial strains, particularly against the bacterial strain MRSA, and a method for its preparation. EP 2843019, 12.8.2014; Antibacterial hybrid layer operating against pathogenic bacterial strains, particularly against the bacterial strain MRSA, and a method of its development. US 2015/0064279, 26.8.2014.

## Přílohy



*Příloha 1: Kultivace bakterií na krevním agaru*

*[obrázek získán od doc. Šlamborové]*