

Biokompatibilizace syntetických polymerních materiálů

Bc. Daniel Ďubašík

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Daniel Ďubašík**
Osobní číslo: **T14657**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Biokompatibilizace syntetických polymerních materiálů**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte rešerši na zadané téma.
2. Provedte depozici aktivní složky na povrch PLA.
3. Provedte charakterizaci připraveného povrchu.
4. Studujte interakci povrchu s buňkami.
5. Citujte použitou literaturu.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. Popelka A., Novák I., Lehocký M., Bílek F., Kleinová A., Mozetič M., Špírková M. and Chodák I.: Antibacterial Treatment of LDPE with Halogen Derivatives via Cold Plasma, *Express Polymer Letters*, 9 (2015) 402-411.
2. Popelka A., Novák I., Lehocký M., Bílek F., Kleinová A., Mozetič M., Špírková M. and Chodák I.: Antibacterial Treatment of LDPE with Halogen Derivatives via Cold Plasma, *Express Polymer Letters*, 9 (2015) 402-411.
3. Asadinezhad A., Lehocký M., Sáha P. and Mozetič M.: Recent Progress in Surface Modification of Polyvinyl Chloride, *Materials* 5 (2012) 2937-2959.
4. Popelka A., Novák I., Lehocký M., Junkar I., Mozetič M., Kleinová A., Janigová I., Šlouf M., Bílek F. and Chodák I.: A New Route for Chitosan Immobilization onto Polyethylene Surface, *Carbohydrate Polymers* 90 (2012) 1501-1508.
5. Popelka A., Novák I., Lehocký M., Chodák I., Sedliacik J., Gajtanska M., Sedliacikova M., Vesel A., Junkar I., Kleinová A., Spirkova M. and Bílek F.: Anti-Bacterial Treatment of Polyethylene by Cold Plasma for Medical Purposes, *Molecules* 17 (2012) 762-785.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**
Ústav logistiky

Datum zadání diplomové práce: **15. ledna 2016**

Termín odevzdání diplomové práce: **20. května 2016**

Ve Zlíně dne 1. března 2016



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



Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Ďubašík Daniel

Obor: Inženýrství polymerů

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 29.3. 2016



.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá přípravou a charakterizací nových funkcionalizovaných polymerních materiálů na bázi polylaktidu. Polylaktidový substrát byl podroben vícestupňové fyzikálně chemické modifikaci za účelem získání upraveného povrchu polymerního materiálu s možností aplikace pro hojení ran. Vícestupňový proces spočíval v plazmové úpravě s následujícím povrchovým roubováním a imobilizací glukosaminu. Takto připravený materiál byl testován na buňkách.

Klíčová slova: plazmová úprava, modifikace, roubování, polylaktid

ABSTRACT

This thesis deals with preparation and characterization of novel functionalized polymer materials based on polylactide. Polylactide substrate was subjected to multistep physico-chemical approach in order to obtain surface modified polymer material applicable in wound healing. Multistep procedure consisted in plasma treatment with subsequent surface grafting and glucosamine immobilization. Such prepared material was subjected to testing with cells.

Keywords: plasma treatment, modification, grafting, polylactide

Na tomto místě bych rád poděkoval za podporu během studia především rodičům a dále všem blízkým. Dále pak děkuji svému školiteli za cenné rady a připomínky během experimentální práce i při přípravě textu této práce. Stejně tak děkuji Ing. Zdence Kucekové, Ph.D. za přínosné konzultace v oblasti práce s buňkami.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 POLYMERY	12
1.1 ZÁKLADNÍ DĚLENÍ POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ	12
1.2 POLYLAKTID.....	13
2 MODIFIKACE POVRCHU POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ	16
2.1 MODIFIKACE SILNÝMI KYSELINAMI	16
2.2 OPRACOVÁNÍ POMOCÍ UV ZÁŘENÍ.....	16
2.3 MODIFIKACE V PLAZMATU.....	16
2.3.1 Generace plazmatu	18
2.3.2 Termodynamicky nerovnovážně plazma.....	18
2.3.3 Buzení plazmatu.....	19
2.3.4 Aplikace povrchových úprav plazmatem	19
2.3.5 Porovnání různých reaktorů	21
2.3.6 Základní uspořádání plazmochemických reaktorů	23
3 GLUKOSAMIN	28
II PRAKTICKÁ ČÁST	29
4 VÍCESTUPŇOVÝ PROCES IMOBILIZACE GA NA POVRCH PLA	30
4.1 ÚPRAVA V PLAZMATU	30
4.2 ROUBOVÁNÍ KYSELINY AKRYLOVÉ.....	31
4.3 IMOBILIZACE GA.....	31
5 CHARAKTERIZACE	33
5.1 MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU A POVRCHOVÉ ENERGIE	33
5.2 RENTGENOVÁ FOTOELEKTRONOVÁ SPEKTROSKOPIE.....	35
5.3 RASTROVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE.....	37
5.4 INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE.....	38
5.4.1 Měření IČ spekter.....	39
5.5 MIKROSKOPIE ATOMÁRNÍCH SIL	41
5.6 MĚŘENÍ CYTOTOXICITY	43
6 VÝSLEDKY A DISKUSE	45

6.1	MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU A POVRCHOVÉ ENERGIE	45
6.2	RENTGENOVÁ FOTOELEKTRONOVÁ SPEKTROSKOPIE.....	47
6.3	RASTROVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE.....	48
6.4	INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE.....	51
6.5	MIKROSKOPIE ATOMÁRNÍCH SIL	52
6.6	MĚŘENÍ CYTOTOXICITY A PROLIFERACE	55
ZÁVĚR		59
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		61
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		66
SEZNAM OBRÁZKŮ		67
SEZNAM TABULEK.....		69

ÚVOD

Syntetické a přírodní polymerní materiály zaujímají významné postavení z hlediska biomateriálů používaných ve zdravotnictví. Doplnují kovy, keramiku a kompozitní materiály. Od kovů se liší zejména tím, že mají vysokou elasticitu, nízkou hustotu, významně nižší cenu a snadnou zpracovatelnost. Oproti keramice vynikají především flexibilitou a snadným zpracováním.

Biomateriály ze syntetických a přírodních polymerů dělíme především na bioinertní a bioresorbovatelné. Jedním z nejčastěji používaných bioresorbovatelných materiálů je polylaktid. Nevýhodou polylaktidu v mnoha aplikacích může být neadekvátní interakce s prostředím organismu. Z těchto důvodů se jeví jako zajímavá možnost jeho povrchového opracování a modifikace za účelem zlepšení těchto vlastností.

Lidský organismu nejnanežněji přijímá takové látky, které jsou mu nejbližší. Jedním z mnoha adeptů, které jsou organismu vlastní je sacharid zvaný glukosamin. Je známo, že materiály na bázi proteinů mohou způsobovat zánětlivé reakce. V případě sacharidů však většinou toto nebezpečí nehrozí.

Pro úspěšnou interakci polylaktidu s glukosaminem je nezbytné dalších úprav. Uvedené úpravy v sobě zahrnují opracování polylaktidu v plazmatickém výboji a následná funkcionizace povrchu pomocí roubování. Na takto vzniklé rouby se již může polylaktid navázat pomocí mezimolekulových interakcí.

Tento vícestupňový proces je nezbytné monitorovat prostřednictvím nejrůznějších fyzikálně chemických metod, mezi které řadíme především mikroskopie atomárních sil, infračervená spektroskopie, rentgenová fotoelektronová spektroskopie, měření kontaktního úhlu smáčení a vyhodnocené povrchové energie a měření relativní drsnosti povrchu. Interakce s biologickým prostředím bude zkoumána na příkladu kožních buněk – fibroblastů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POLYMERY

Polymerní materiály jsou z definice tvořeny molekulami o vysoké molekulové hmotnosti. Tyto materiály jsou v dnešní době používány v celém spektru průmyslových aplikací. Lze se s nimi taktéž často setkat i v běžném životě toto široké spektrum použití je dáno jejich rozmanitými vlastnostmi. Polymery obvykle se stávají z mnoha pravidelně opakujících se jednotek, které jsou spojeny kovalentními vazbami. K syntéze polymerů se používají nízkomolekulární sloučeniny, které nazýváme monomery. Tyto monomery tvoří polymery jakožto produkt chemické reakce, kterou nazýváme polymerace. Tyto polymery mají nejméně dvě funkční skupiny případně dvojně či trojně vazby, anebo dochází k otevření cyklu. Tímto způsobem poskytují vazby, které se pak objevují mezi opakujícími jednotkami. [1,2]

Mezi polymery řadíme také látky, které lze izolovat z přírodních zdrojů. Nejčastějším zástupcem z této skupiny je celulóza. Základním materiálem pro výrobu syntetických polymerů jsou především fosilní zdroje, tedy ropa uhlí a zemní plyn. Tyto látky mohou reagovat s dalšími molekulárními sloučeninami za vzniku monomerů. V případě industriálních syntetických procesů výroby polymerů pomocí chemických reakcí lze narazit na polymerizace a polykondenzace. V praxi je možné připravit tentýž polymer pomocí různých chemických reakcí a dokonce z různých základních materiálů a to i různými chemickými procesy. [3,4]

1.1 Základní dělení polymerních materiálů

Polymery můžeme dělit nejrůznějším způsobem. První možností je podle jejich vzniku, a to na syntetické a přírodní dále podle způsobu syntézy případně podle jejich reaktivity, a podobně. Nejčastější dělení je však následující:

Termoplasty se skládají z lineárních nebo rozvětvených makromolekul, skupenství termoplastů při pokojové teplotě je pevné a za vyšších teplot dochází k jejím měknutí. Tento proces je vratný a pro termoplasty charakteristický. Lineární makromolekuly se skládají do uspořádané krystalické struktury. Kromě této krystalické struktury je v termoplastech vždy přítomna i část amorfní, která žádnou uspořádanost nevykazuje. Takovéto materiály nazý-

váme semikrystalické. Pokud termoplast krystalickou část neobsahuje, pak hovoříme o polymerech amorfních.

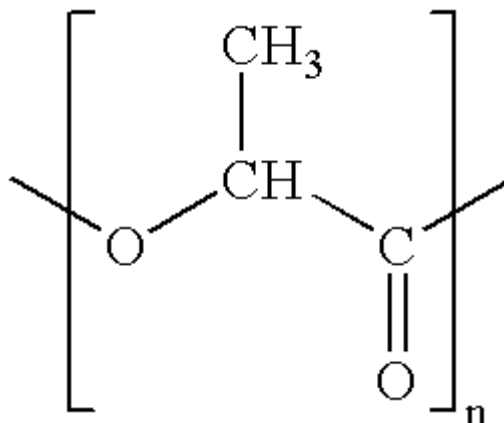
Reaktoplasty se vytvrzují pomocí chemické nebo fotochemické reakce. Mezi hlavní zástupce patří především pryskyřice a tvrdidlo. Tvrdidlo nebo rozpouštědlo v těchto případech bývá s pryskyřicí spojeno nejen pro její vytvrzování, ale i pro snadnější zpracovatelnost. Takto připravené polymery již nelze dále tepelně upravovat, neboť reaktoplast obsahuje zesíťované makromolekuly. Počáteční viskozita reaktoplastů je oproti termoplastům výrazně nižší.

Elastomery- se skládají z chemicky zesíťovaných řetězců makromolekul, které jsou na strukturu sítě volně vázány. Obvyklou charakteristikou těchto systémů je takzvané jedno překřížení na tisíc atomů řetězce. Elastomery jsou takřka nedeformovatelné v praxi se jim často říká kaučukovité materiály. S reaktoplasty mají tu stejnou vlastnost, že je nelze tvářet opakovaně jejich tvar je dán zesíťováním. Mezi elastomery řadíme v drtivém množství případů polymery amorfní.

Termoplastické elastomery – jsou takové makromolekulární látky, které se díky své makromolekulární struktuře chovají velmi podobně jako elastomery, byť jde o termoplasty. Podstatným rozdílem je, že se při zahřívání mohou roztavit. Těto vlastnosti se využívá v mnoha aplikacích zejména tam, kde nelze aplikovat elastomerní materiály. Od elastomerů se liší především tím, že mají výrazně nižší teplotu vulkanizace. Tato vlastnost je při její výrobě velkou nevýhodou [5].

1.2 Polylaktid

Polylaktid (PLA) je biodegradabilním polymerním materiálem, který má široké uplatnění zejména v obalové technice a biomedicínských aplikacích. Vyznačuje se tím, že za vyšší teploty a vlhkosti podléhá hydrolýze. Bývá rozkládán taktéž mikroorganismy. V organismu se rozkládá na kyselinu mléčnou.



Obr. 1. Vzorec polylaktidu

Z chemického hlediska jde o polyester. Řadíme jej k termoplastickým polymerům, které lze připravit jako částečně krystalické i jako čistě amorfní. Oba tyto druhy mají výrazné odlišné vlastnosti a použití. Jejich syntéza se taktéž výrazně odlišuje. Výchozí látkou pro syntézu PLA je kyselina mléčná případně její laktid. Obě tyto látky vykazují optickou aktivitu, a proto výsledný polymer se může nacházet ve třech rozdílných stavech. V praxi jde o L-PLA, D-PLA a DL-PLA. L-PLA bývá syntetizován z L-kyseliny mléčné nebo z L-laktidu. Stejně tak D-PLA je syntetizován z D-kyseliny mléčné, případně z D-laktidu. Konečně, DL-PLA je syntetizován z DL-kyseliny mléčné, a nebo z meso-laktidu. Nejzákladnější vlastnosti PLA, které ho předurčují k mnoha aplikacím, jsou zejména snadná syntéza z obnovitelných zdrojů, fyzikální vlastnosti blízké polyolefinům, biorozložitelnost, zanedbatelná toxicita. PLA se vyrábí pomocí přímě polykondenzace kyseliny mléčné. Druhou možností je polymerace otevřeného laktidového cyklu, která se nazývá ROP (Ring Opening Polymerization). Polykondenzace kyseliny mléčné je operací, která je méně finančně nákladná. Mezi hlavní nevýhody lze řadit zejména velmi obtížné dosažení vysoké molekulové hmotnosti PLA. Důvodem bývá nesnadné odstraňování vody, jakožto vedlejšího produktu polykondenzace. Tuto nevýhodu lze odbourat použitím vysokých teplot při syntéze, které se pohybují nejčastěji mezi 180 až 200°C, za nízkého tlaku při dostatečně dlouhém reakčním času. Přímá polykondenzace je však nevýhodná i z dalších hledisek, mezi něž řadíme především dlouhou dobu polymerace a sníženou optickou čistotu polymerů, která je dána právě vysokou reakční teplotou. Optická čistota zde znamená různé zastoupení L a D isomerů, které právě ovlivňují vlastnosti získaného polymeru. ROP vychází z laktidu, který je pro reakci monomerem, kdy dochází k jeho otvírání a následné polymeraci. Tento proces

se stává ze dvou kroků. Prvním je příprava samotného laktidu druhý je jeho polymerace. Polymerace probíhá nejčastěji v tavenině. Pro některé aplikace se však polylaktid nehodí. V těchto případech je nutné povrch PLA aktivovat a dále modifikovat. Podstatným limitem je nízká teplota při opracování, která nesmí překročit 200°C. [6]

2 MODIFIKACE POVRCHU POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ

Modifikace povrchu PLA probíhá stejným způsobem, jako u ostatních polymerních materiálů interakcí s nejrůznějším reaktivním prostředím mezi tato prostředí řadíme především silné kyseliny, UV záření a modifikaci v plazmatu [7-15].

2.1 Modifikace silnými kyselinami

Modifikace polymerů v roztocích je velmi obtížná pro jejich nízkou reaktivitu. Zpravidla lze použít pouze velmi korozivní látky. Mezi tyto látky řadíme především silné kyseliny. Nejčastějšími zástupci jsou kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina dusičná a kyselina fosforečná. Při interakci polymerních materiálu s těmito látkami dochází k povrchové erozi a částečně i modifikaci. Znamená to, že dochází ke změně nejen chemického složení, ale i povrchové topografie. Tento způsob povrchové úpravy je však málo efektivní, a to vzhledem k nízké reaktivitě polymerů. Dalším faktorem výrazně limitujícím tento proces je jeho ekologická nešetrnost [16].

2.2 Opracování pomocí UV záření

UV záření systematicky charakterizuje jako neionizující záření. Interakce UV záření s polymery zpravidla vede k jejich povrchové degradaci. Tato degradace se projevuje zejména tím, že dochází k jejich chemické modifikaci a na povrchu vznikají oxidativní povrchy. Pro UV ozařování se používají UV lampy. Jejich velkou nevýhodou je omezená životnost zářivého zdroje, jehož intenzita je s časem taktéž variabilní. Ozařování v přítomnosti kyslíku ozonu nebo vzduchu vede ke zvyšování povrchové energie polymerních materiálů. Velkou výhodou UV ozařování je především jeho „suchá“ cesta bez použití kapalin. Hlavní nevýhodou však je poměrně nízká efektivita modifikace [17].

2.3 Modifikace v plazmatu

Modifikace v plazmatu se jeví jako nejefektivnější cesta hned z několika důvodů. Především jde o velmi rychlý proces bez použití jakýchkoliv rozpouštědel. Další výhodou je zachování vynikajících mechanických vlastností polymerních materiálů, kdy chemicky modifikovaná je jen povrchová vrstva [18].

Plazma je obvykle nazýváno jako tzv. čtvrté skupenství hmoty. Pokud dodáme dostatek energie pevné látky, stane se z ní kapalina. Při dodání další energie získáváme plyn pokud dodáme dostatečnou energii plynu, pak získáme plazma. Jde tedy o částečně nebo úplně ionizovaný plyn, který se vyznačuje kolektivním chováním. Jeho hlavní složky jsou elektrony, kationty, anionty, neionizované molekuly, radikály, metastabilní částice a dávky elektromagnetického záření o nejrůznější vlnové délce. Tato směs reaktivních částic interaguje s polymerem. Interakcí dochází ke čtyřem hlavním účinkům, přičemž dochází k jejich vzájemnému překryvu. Není však výjimkou, že jeden z nich může být vhodnou kinetikou upřednostňován před ostatními. Toto závisí však ještě na volbě polymerního substrátu, látkovém složení plynu, konstrukci reaktoru, průtoku plynu a dalších provozních parametrech. Těmito čtyřmi výslednými efekty jsou:

- čištění povrchu – plazmatické odstranění povrchových nečistot
- leptání materiálů (ablace) – odstranění molekulární vrstvy při současném získání větší plochy povrchu (zdrsnění)
- větvení a síťování povrchové vrstvy – zvýšení koheze povrchové vrstvy
- chemická modifikace povrchu – vznik nových funkčních skupin

S plazmatem se lze setkat i ve vesmíru. Tvoří jeho většinu viditelné hmoty a to až z 99 %. Nejčastějšími příklady jsou sluneční vítr, mlhoviny, sluneční koróny, blesk, polární záře, nebula a jiné. Lze jej poměrně snadno získat v laboratorních i průmyslových podmínkách. Používá se pro široké spektrum aplikací zahrnujících lasery, zářivky, termonukleární syntézy a podobně.

Pro dostatečný popis plazmatu je nezbytné především popsat parametr zvaný jako stupeň ionizace. Je známo, že v mnoha případech nebývají částice v plazmatu plně ionizované. Pokud je hustota nabitých částic malá, pak dojde k oslabení interakce mezi těmito částicemi vlivem neutrálních částic, které jsou ve výrazném přebytku a nad srážkami znatelně dominují. V případě neutrálních částic dojde ke srážce jen tehdy, je-li jejich vzdálenost velmi malá. V případě srážek nabitých částic dochází k vzájemným interakcím, které se řídí Coulombovým zákonem.

Je třeba definovat plazma i z kvantitativního hlediska. K tomuto popisu nám slouží parametr nazývaný jako Debyeovo stínění. Kvazineutralita plazmatu především znamená, že

množství kladných a záporných nábojů je stejné. Ovšem v případě velmi malých vzdáleností se může lokálně výrazně lišit a dojde k nerovnováze v nábojích. Pokud bychom vložili do plazmatu záporný náboj, pak bude odpuzovat elektrony a přitahovat kladně nabitě ionty. Tento jev se děje velmi rychle a následkem je posun elektronu a iontů. Za vzniku polarizačního náboje, který chrání plazma proti vloženému náboji – dochází k jevu, který nazýváme debyeovo stínění. Ionizovaný plyn tedy můžeme označovat jako plazma, pokud je debyeova stínící délka menší než délka reaktoru. Debyeovu délku lze taktéž vypočítat. [19]

2.3.1 Generace plazmatu

Možnosti generace plazmatu jsou velmi široké, plazma se může lišit vysokou či nízkou hustotou, vysokou či nízkou teplotou, stabilitou a taktéž kontinuitou. Na základě podmínek termodynamických rovnováh spolu souvisí i elektronová teplota a ionizační stupeň. Plazmu lze rozdělit na rovnovážnou a nerovnovážnou. Termodynamicky rovnovážné plazma je charakteristické značnou teplotou těžkých částic, v praxi jde řádově o desetitisíce K. Takovýto typ plazmatu se však pro opracování syntetických polymerních materiálů nehodí, neboť by došlo k jejich destrukci vlivem vysoké teploty plynu. Termodynamicky nerovnovážné plazma je však značně odlišné neboť teplota plynu je výrazně nižší. Je to důsledkem toho, že teplota těžkých částic je nízká a teplota elektronů vysoká. Pokud vezmeme v potaz velmi nízkou hmotnost elektronů ve srovnání s těžkými částicemi, pak je výsledná teplota plazmatu jen o něco málo vyšší, než pokojová teplota. Z těchto důvodů se termodynamicky nerovnovážné plazma hodí pro opracování polymerních materiálů a další kapitoly budou zaměřeny právě na něj [20].

2.3.2 Termodynamicky nerovnovážné plazma

Pro generaci takového typu plazmatu je potřeba nízkého atmosférického tlaku, který je zpravidla menší než 100 Pa a vysoké frekvenci, která zpravidla dosahuje hodnot vyšších než 20 kHz. Těžké částice, mezi něž řadíme molekuly plynů a ionty mají při laboratorní teplotě kinetickou energii přibližně 0,025 eV, na rozdíl od elektronů, u nichž je charakteristická energie od 1 do 10 eV. To je taktéž energie, k disociaci kovalentní vazby a vytvoření další ionizace. V plazmatu vytvořené reaktivní částice se podílejí na homogenních nebo heterogenních reakcích s povrchy. Termodynamicky nerovnovážné plazma se používá při

laboratorní teplotě, a proto je předurčeno k úpravě tepelně citlivých materiálů, mezi které řadíme polovodiče a polymery. V tomto typu plazmatu se elektrony zahřívají pomocí elektromagnetických vln, a proto jsou ionty studené. Je tedy nezbytné, aby byl tlak plynu nízký a tím hustota elektronu nebyla příliš vysoká. Pokud by tlak plynu byl vysoký nemohlo by dojít k přenosu energie a srážkám. Rychlost srážek mezi elektrony a ionty musí být výrazně nižší než mezi elektrony a neutrálním plynem [21].

2.3.3 Buzení plazmatu

K vybuzení plazmatu je třeba zajistit tři parametry:

- zdroj ionizační energie
- vakuový systém
- komoru reaktoru

Jako energetický zdroj pro ionizaci se používá elektrická energie o vysoké frekvenci (40 kHz), radiofrekvence (13,56 MHz) a mikrovlnný zdroj (2,45 GHz) tato energie je dodávána dvěma elektrodami, které jsou umístěny v reakční komoře a jsou připojeny na elektrický generátor. Možné je taktéž indukční připojení [22].

2.3.4 Aplikace povrchových úprav plazmatem

Plazmatická úprava povrchu je jednou z nejuniverzálnějších metod. V praxi používáme nejrůznější plyny (oxid uhličitý, vodní pára, dusík, fluor, kyslík, argon, helium, jejich směsi a podobně) právě použití daného plynu má vliv na konečné povrchové vlastnosti při různých aplikacích. Lze však použít i atmosféry nejrůznějších nízkomolekulárních látek jako například aceton, oktafluorocyklobutan, organické sloučeniny křemíku, oxidy dusíku a jiné. Modifikaci v těchto plynech získáváme tenké povlaky. Pokud opracujeme povrch syntetického polymerního materiálu v kyslíkovém plazmatu, zvýšíme tím výrazně povrchovou energii, kdežto úprava v atmosféře fluoru může naopak povrchu syntetického polymerního materiálu zlepšit chemickou inertnost a zabezpečit značnou nereaktivitu. Pokud použijeme plazma argonu nebo helia, můžeme dosáhnout zesíťování struktury syntetického polymerního materiálu. Úprava syntetických polymerních materiálů v plazmatu probíhá povrchově ve vrstvičce několika nanometrů. Další část polymerů zůstává neupravena. Typ plazmatu a

další reaktivní podmínky jsou vždy závislé na druhu polymerního materiálu, který v plazmatu upravujeme. Tím dojde k minimalizaci degradace, ke které dochází při interakci s těžkými ionty nebo radikály. V těchto případech je vždy nezbytné zvážit jaká energie budícího zdroje bude použita. Pokud bychom použili zdroj o velkém výkonu (zpravidla nad 100 W) může dojít k deformacím nebo měknutí polymeru až případně k jeho odpaření. Vytvořené vrstvy na povrchu syntetických polymerních materiálů jsou zpravidla nerozpustné, avšak s časem po plazmové úpravě může dojít k jejich reorganizaci. Může taktéž dojít k takzvané post plasmatické reakci. K té dochází tehdy, jsou-li na povrchu vytvořeny volné radikály, které mohou interagovat s částicemi okolního plynu po vyjmutí z reaktoru. Získané tenké vrstvy na povrchu syntetických polymerních materiálů lze využít jako ochranné povlaky, materiály pro biomedicínské medikace, optické senzory, či jiná elektronická zařízení. Významné pozornosti ve zdravotnictví, leteckém průmyslu a mikroelektronice zaujímá čištění povrchu plazmatem. Při těchto aplikacích dochází k odpaření vrchní vrstvy, nejčastěji organického původu. Mezi další aplikace interakce plazmatu se řadí sterilizace. Je známo, že reakční prostředí plazmatu je schopné inhibovat nejen růst choroboplodných bakterií a sporů, ale dokonce vede k jejich destrukci. Úprava materiálu v nízkoteplotním plazmatu je tedy důležitou alternativou k jiným postupům sterilizace. Zejména se uplatňuje tam, kde je nezbytné aby sterilizační cyklus byl krátký a teplota nízká. Je tedy předurčena k sterilizaci syntetických polymerních materiálů. Velmi rozšířenou oblastí v současné praxi je depozice tenkých vrstev v mikroelektronice se využívá depozice k oddělení jednotlivých částí integrovaných obvodů. Další aplikací je příprava tvrdých vrstev pro obrábění. Plazmatu se taktéž využívá k aktivaci povrchů syntetických polymerních materiálů pro zajištění jejich snadného spojování. Tímto způsobem lze snadno zvýšit možnost lepení polymerních materiálů, zejména polyolefinů. Stejným způsobem lze dosáhnout i zvýšené možnosti potiskovatelnosti, což se projevuje zejména v potravinářském průmyslu. Totéž platí i pro biomedicínské medikace, kdy jsou do organismu zaváděny jednorázové zdravotnické pomůcky (katétry), které bývají zpravidla potištěny. Tímto způsobem lze dosáhnout vyšší adheze barviva, které se v organismu neuvolňuje a nemůže tím způsobit zánětlivé či jiné nežádoucí reakce [23, 24].

2.3.5 Porovnání různých reaktorů

V závislosti na použití budící frekvenci zdroje plazmochemického reaktoru dochází ve stejných atmosférách plynu ke vzniku různých reaktivních částic [25]. Je tedy zjevné, že pro některé aplikace se bude jevit jako nejúčinnější zdroj o určité frekvenci a ty ostatní již budou méně účinné. V této kapitole porovnáme tři nejzákladnější (40 kHz, 13,56 MHz, 2,45 GHz).

V případě reaktoru buzeného při frekvenci 40 kHz lze hovořit o následujících výhodách:

- nejlevnější možnost
- bezproblémové použití rotačního kovového bubnu v reaktoru
- účinnost přibližně 80 %
- snadná oprava generátoru
- tvorba velmi tenkých vrstev

Mezi největší nevýhody naopak patří:

- nezbytnost použití větší energie pro leptání než v případě 13,56 MHz
- opracování pouze pasivovaných polovodičů
- použití pro polovodiče pouze za dodržení mnoha podmínek

V případě budící frekvence 13,56 MHz lze zmínit tyto výhody:

- homogenita výboje je lepší než při 2,45 GHz
- vyšší účinek pro leptání než při 40 kHz (při stejném výkonu reaktoru)
- bezproblémové použití kovového rotačního bubnu
- snadná úprava polovodičů

Mezi hlavní nevýhody však patří:

- vysoké pořizovací náklady
- účinnost přibližně 50%

- velké množství použitých kabelů
- ekonomicky náročné opravy generátoru

Konečně, při frekvenci 2,45 GHz rozeznáváme tyto výhody:

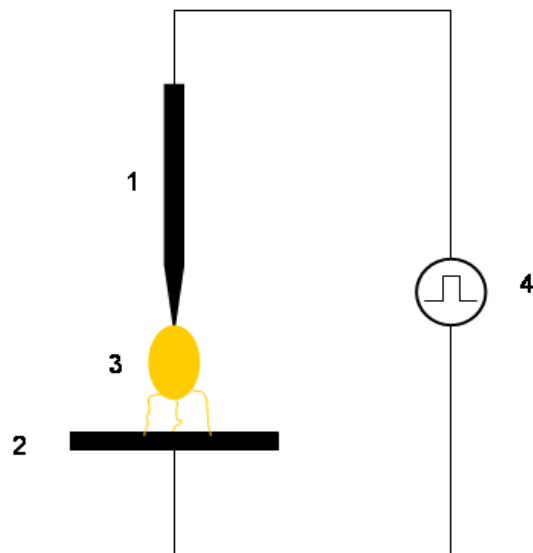
- ekonomicky nenáročný provoz
- účinnost přibližně 60%
- vhodnost pro úpravu polovodičů
- jednoduchá oprava generátoru

Jeho nevýhody však jsou:

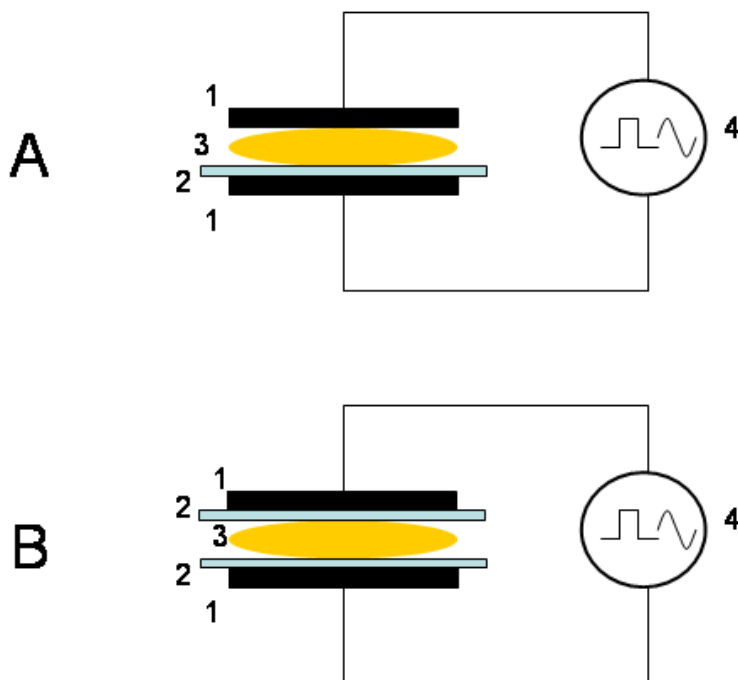
- velké množství kabelů
- zahřívání komory reaktoru
- velké množství skleněných a keramických dílů
- napětí magnetronu 4 500 W
- nehomogenní plazma

2.3.6 Základní uspořádání plazmochemických reaktorů

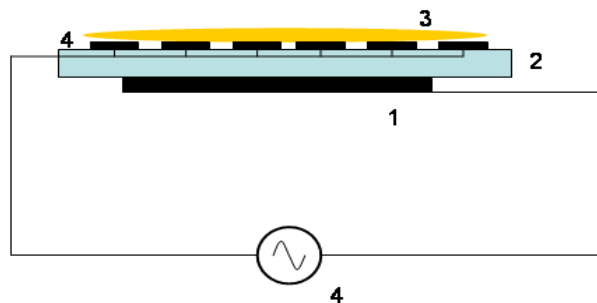
V této kapitole budou nastíněny technické možnosti současně používané pro povrchové opracování materiálů [26, 27]. Plazmochemické reaktory jsou znázorněny schematicky na následujících obrázcích.



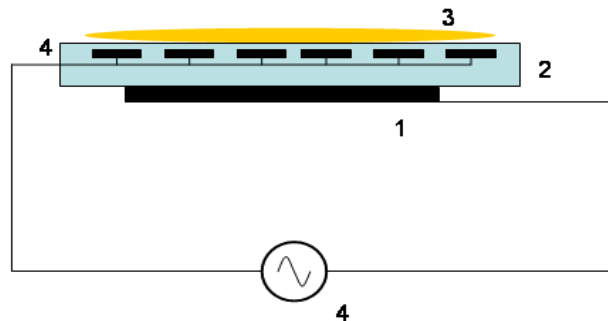
Obr. 2.: Schéma reaktoru s korónovým výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. korónový výboj, 4. pulsní generátor.



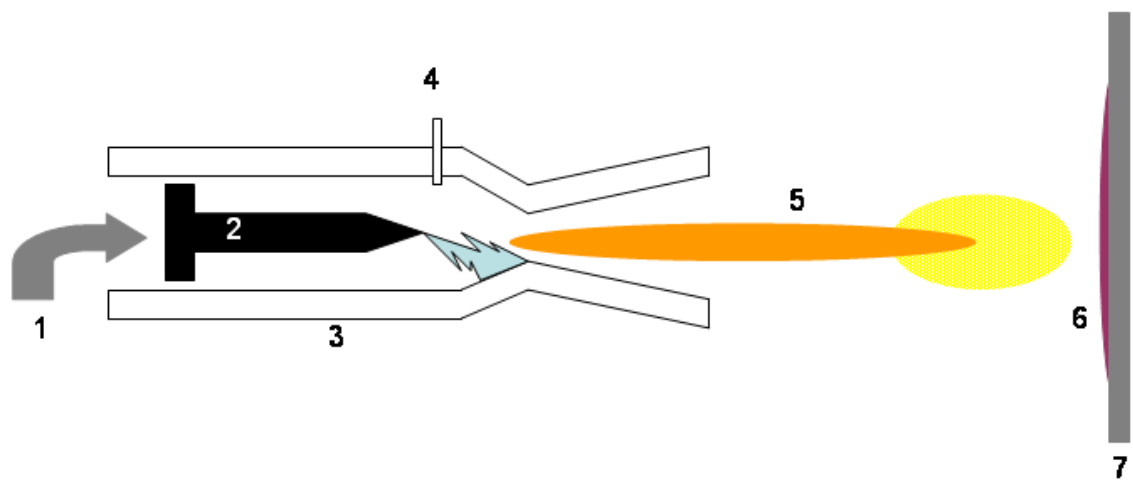
Obr. 3.: Schéma reaktoru s dielektrickým bariérovým výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. výboj, 4. pulsní nebo frekvenční generátor. A, s jednou a B, se dvěma vrstvami dielektrika.



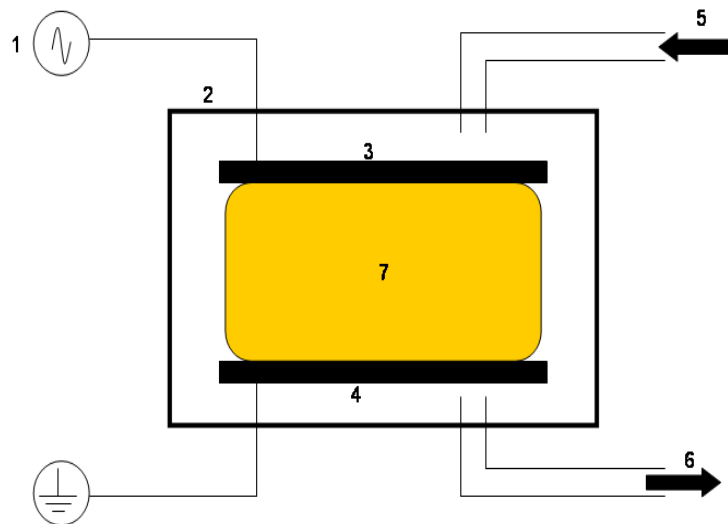
Obr. 4.: Schéma reaktoru s povrchovým výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. výboj, 4. frekvenční generátor.



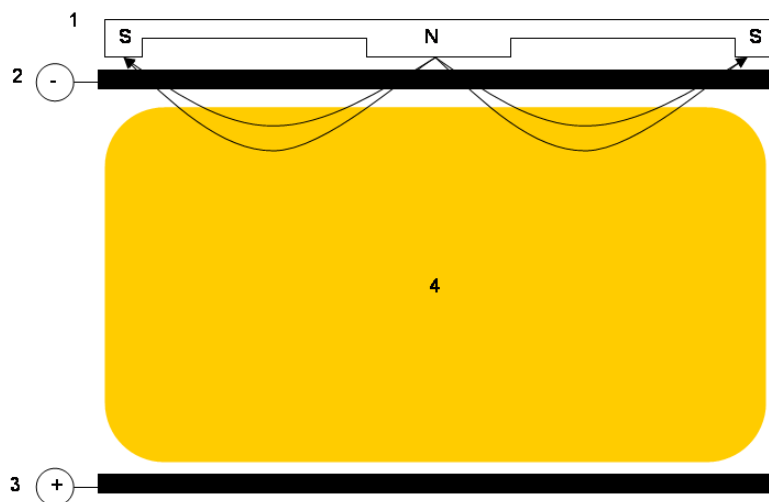
Obr. 5.: Schéma reaktoru s koplárním výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. výboj, 4. frekvenční generátor.



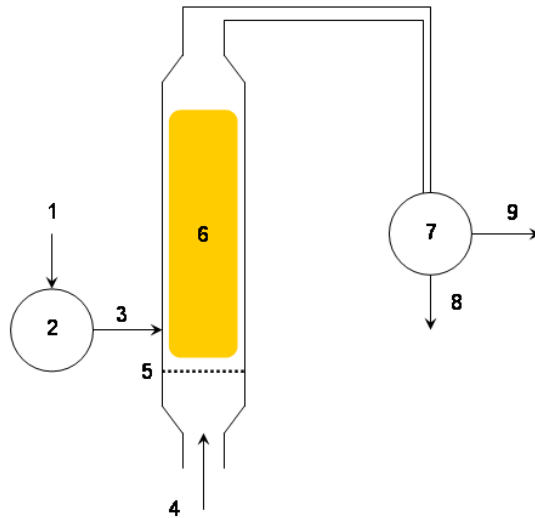
Obr. 6.: Schéma reaktoru s plazmovou tryskou: 1. přívod plazmového plynu, 2. katoda, 3. anoda, 4. dávkovač práškového vzorku pro depozici, 5. plazma, 6. vrstva po depozici, 7. substrát.



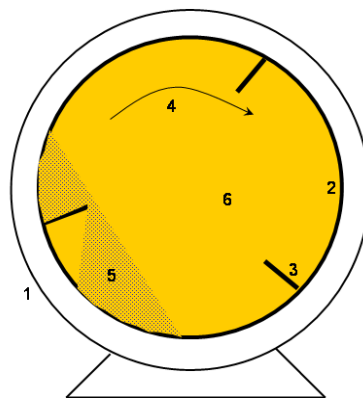
Obr. 7.: Schéma reaktoru s radiofrekvenčním (kapacitně buzeným) výbojem: 1. budící zdroj, 2. plášť reaktoru, 3. radiofrekvenční elektroda, 4. uzemněná elektroda, 5. přívod plazmového plynu, 6. přívod k vývěvě, 7. výboj.



Obr. 8.: Schéma reaktoru s magnetronovým výbojem: 1. magnet, 2. katoda, 3. anoda, 4. plazma.



Obr. 9.: Schéma fluidního reaktoru pro opracování práškových vzorků: 1. přívod práškového vzorku, 2. dávkovač (turniket), 3. přívod prášku do reaktoru, 4. přívod plazmového plynu, 5. polopropustná porézní membrána, 6. plazma, 7. mechanický odlučovač (cyklon), 8. výstup opracovaného prášku, 9. výstup plazmového plynu.



Obr. 10.: Schéma reaktoru s pro opracování práškových vzorků s rotujícím bubnem: 1. plášť reaktoru, 2. rotující buben, 3. lopatky unášející prášek ve směru rotace, 4. směr rotace bubnu, 5. práškový vzorek během opracování, 6. plazma.

3 GLUKOSAMIN

Glukosamin (GA) je tělu vlastní sloučenina, která vzniká z glukózy substitucí hydroxylové skupiny za skupinu aminovou. Je součástí polysacharidů, které nazýváme glykosaminoglykany, které mají v organismu nejrůznější funkce. V lidském organismu je součástí kloubních chrupavek, kde pomáhá udržovat její pružnost. Během vývoje a života jedince jsou klouby vystaveny neustále mechanickému zatěžování a GA účinně chrání jejich opotřebením. Přítomnost GA velmi významně brání rozvoji onemocnění, které nazýváme osteoartritidou. Bylo také zjištěno, že GA je účinným prostředím pro obnovení chrupavky. GA je také prospěšný v případě alergií dýchací soustavy, zánětech šlach, astmatu, kandidóze, potravinových alergiích a různých kožních potíží. Bylo zjištěno, že GA napomáhá k obnově poraněné kožní tkáně. Právě v tomto ohledu bude studován jeho účinek v této práci. Nedostatek glukosaminu se projevuje v organismu především sníženou schopností syntézy dostatečného množství glukosamin sulfátu, která v konečném důsledku vede k chirurgické implantaci endoprotéz. Zvýšené množství GA v organismu také není vhodné. Má za následek žaludeční obtíže, nadýmání, průjem a v některých případech zácpu. Glukosamin je vhodné užívat preventivně v malých dávkách [28].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 VÍCESTUPŇOVÝ PROCES IMOBILIZACE GA NA POVRCH PLA

Jak už bylo zmíněno v předchozí části, samotný PLA není výrazně schopen na sebe vázat značné množství GA z tohoto důvodu je nezbytné provést několik dílčích kroků, aby byla umožněna interakce GA a PLA. PLA filmy o tloušťce 0,5 mm byly připraveny lisováním při teplotě 180°C a tlaku 100 Bar po dobu tři minut před samotným lisováním byly granule PLA vysušeny při teplotě 60°C během 12 hodin za účelem odstranění adsorbované vody ve své povrchové struktuře. Po zahřátí a lisování byly vzorky postupně ochlazovány a z výsledného filmu byly nastříhány čtverečky o velikosti 4 x 5 cm, které sloužily v dalších experimentech jako měřený substrát. Tento proces je popsán podrobně v literatuře [21-23].

4.1 Úprava v plazmatu

Před samotnou úpravou plazmatu bylo nezbytné připravené PLA destičky očistit. Samotné čištění probíhalo tak, že v první fázi byly vzorky omyty deionizovanou vodou následně byly ponořeny do kation aktivního tenzidu a poté znovu opláchnuty deionizovanou vodou a usušeny při laboratorních podmínkách během dvou hodin. Takto připravené vzorky byly umístěny do radiofrekvenčního plazmového reaktoru a vystaveny účinkům plazmatu po dobu dvou minut při výkonu reaktoru 50 W. Jako plazmový plyn byl zvolen vzduch a jeho průtok byl 20 sccm. Sccm zde znamená standardní kubický centimetr za minutu což je jednotka, která je používána pro průtok plynů bez nutnosti korekcí způsobených nízkým tlakem.



Obr. 11.: Plazmochemický reaktor s radiofrekvenčním zdrojem.

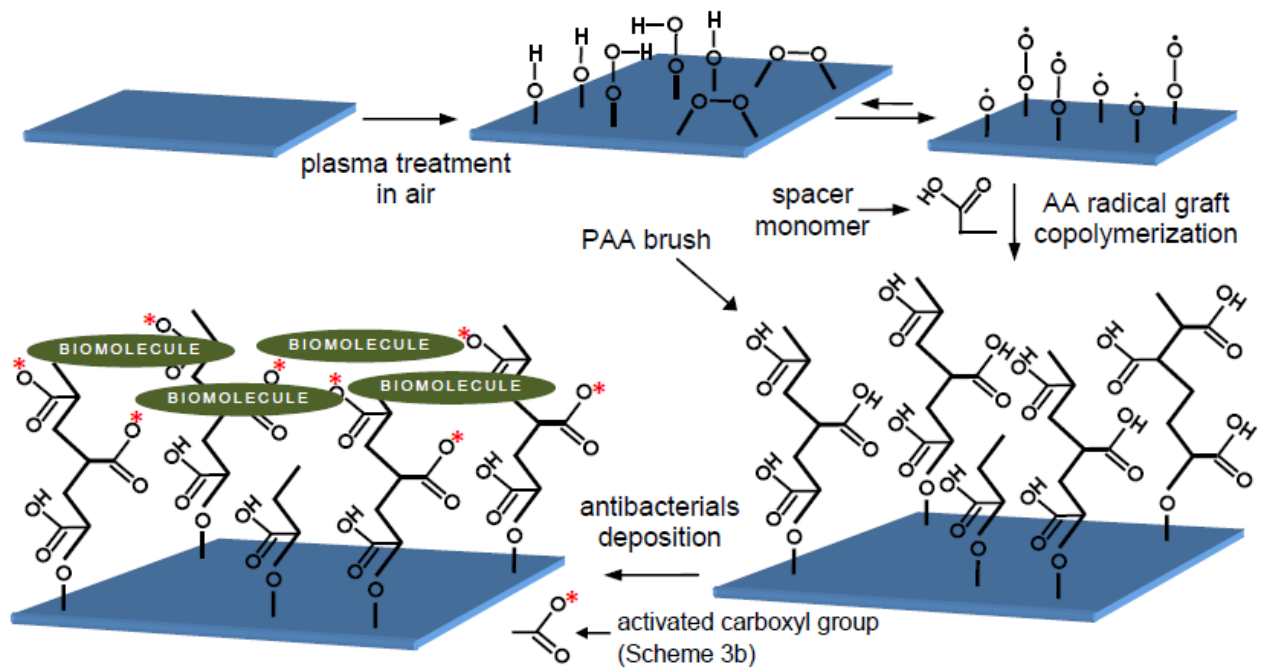
4.2 Roubování kyseliny akrylové

Po proběhnuté úpravě vzorku PLA v plazmatu byly destičky vystaveny působení kyseliny akrylové. Roztok kyseliny akrylové (AA) byl 10% vzorky byly v tomto roztoku ponechány po dobu 24 hodin při teplotě 30°C za účelem dosažení radikálové polymerizace kyseliny akrylové jako inhibitor byl použit metabisulfit sodný k zamezení homopolymerizace. Roubování kyseliny akrylové vedlo k tvorbě řetězce kyseliny polyakrylové, která je vhodným roubem pro interakci bioaktivních sloučenin pomocí mezimolekulových interakcí. Po procesu roubování byly vzorky vyjmuty z roztoku kyseliny akrylové a byly umyty v deionizované vodě za účelem odstranění chemicky nenasázaných molekul kyseliny akrylové.

4.3 Imobilizace GA

Řetězce kyseliny polyakrylové navázané na PLA vzorcích vykazují značnou možnost vázat GA. Ihned po vytvoření roubov zmíněných v předchozím odstavci byly vzorky po očištění vloženy do roztoku EDAC o koncentraci 0,1 % po dobu šesti hodin při teplotě 4°C za účelem aktivace karboxylových funkčních skupin. EDAC reaguje s karboxylovými skupinami za vzniku aktivního O-acyliso močovinného meziprojektu, který je schopen nukleofilní

reakce primární aminoskupiny. Takto připravené vzorky s aktivovanými karboxylovými funkčními skupinami byly ponořeny do 1% vodného roztoku GA po dobu 24 hodin při 30°C. Na závěr vzorky byly vyjmuty důkladně opláchnuty deionizovanou vodou a sušeny 24 hodin při pokojové teplotě. Tyto vzorky byly dále charakterizovány nejrůznějšími fyzikálně chemickými metodami a taktéž byly předmětem studia interakce s buňkami.



Obr. 12.: Proces vícestupňového procesu úpravy zahrnující plazmovou úpravu polymerního materiálu, vytvoření povrchových funkčních skupin, jejich vratnou reakci na metastabilní radikály, roubování kyseliny akrylové a navázání biomolekuly fyzikálními vazbami na bázi mezimolekulových interakcí [21].

5 CHARAKTERIZACE

5.1 Měření kontaktního úhlu a povrchové energie

Jedna ze základních povrchových vlastností všech materiálů je jejich smáčivost. Polymery se vyznačují nejčastěji tím, že jsou hydrofobní. Je to dáno interakcí na rozhraní mezi polymerem, kapkou vody a okolním vzduchem. Hydrofobní povrch je charakteristický tím, že vykazuje velmi slabé interakce s nanesenou vodou díky přítomnosti nepolárních skupin na povrchu polymeru. Naopak hydrofobní povrchy polární skupiny obsahují a proto mezi nimi a vodou lze pozorovat velmi silné interakce vedoucí ke značnému rozestírání kapky vody. Nejužívanější popis smáčení byl odvozen Youngem v roce 1805 Youngova rovnice popisuje rovnováhu sil povrchového napětí na rozhraní pevné kapalně a plynné fáze v případě, že kontaktní úhel nabývá hodnoty 0° hovoříme o úplném rozestírání kapaliny na povrchu pevné látky. Pokud je kontaktní úhel roven 180° , pak hovoříme o absolutní nesmáčivosti. V praxi se hodnoty kontaktních úhlu pohybují mezi těmito extrémními hodnotami a povrch označujeme za smáčivý, pokud je kontaktní úhel na fázovém rozhraní menší než 90° pokud je kontaktní úhel větší než 90° , nazýváme povrch pevné látky jako nesmáčivý. Stejně lze uzavřít pro takzvané vysokoenergetické povrchy, které kapaliny smáčí dobře a nízkoenergetické povrchy, které naopak kapaliny dobře nesmáčí.

K měření kontaktního úhlu smáčení kapalin na pevných látkách využíváme zařízení, které se jmenuje goniometr. Goniometr sestává z posuvného stolku na kterém je umístěn měřený substrát a dále ccd kamery, která snímá nanesenou kapku. Tato ccd kamera je připojena pomocí USB k PC. Z praktického hlediska postačuje na jedno měření vzorek o velikosti několika cm^2 Tento vzorek se umístí vodorovně před ccd kameru a naneseme na něj pomocí mikropipety kapku o objemu 2 – 10 μl . Pokud bychom nanesli kapku menší než 2 μl , tak se vystavujeme problému při analýze získaného obrázku, neboť nanesená kapka by byla příliš malá. V případě kapky, která bude mít objem větší než 10 μl pak hrozí, že by mohla být deformována vlivem gravitace. Pro stanovení smáčivosti používáme pouze měření kapek vody. Pokud bychom chtěli zjistit povrchovou energii materiálu, musíme použít minimálně 2 (OWRK) nebo 3 (Acid-base) kapaliny. OWRK a Acid-base jsou matematické modely pro stanovení povrchové energie. Pro měření kontaktních úhlu smáčení musí být vzaty v úvahu ještě další faktory:

- měřená pevná látka nesmí být v nanesené kapalině rozpustná
- nesmí v ní ani bobtnat
- použité kapaliny musí mít co možná nejvyšší povrchové napětí
- pro stanovení povrchové energie pomocí modelu Acid-base je nutné mít k měření minimálně jednu kapalinu, která má pouze dispersní složku (diiodometan, α – brom naftalen)
- výsledná hodnota kontaktního úhlu bývá aritmetickým průměrem minimálně deseti samostatných měření

Seznam vhodných kapalin včetně jejich povrchových napětí je uveden v následující tabulce. Alternativou k měření kontaktního úhlu je použití testovacích fixů, jejichž náplň je o známém povrchovém napětí. Tato metoda je však velmi subjektivní a neeliminuje případná zkruslení vzniklá kontaminací kapaliny ve fixu. Metoda měření kontaktního úhlu umožňuje předpovídat chování materiálu po nanesení tenké vrstvy a je vhodná jako velmi rychlý test nejen v laboratorním měřítku, ale i v průmyslu kde nachází své uplatnění především v oblasti charakterizace syntetických polymerních materiálů, povlaků, vrstev, biokompatibilních materiálů. Slouží tedy jako efektivní indikátor v chemickém, farmaceutickém, textilním, automobilovém průmyslu a dalších odvětvích [29].

Pro měření našich vzorků jsme použili tři měřicí kapaliny, konkrétně deionizovanou vodu, ethylen glykol a diiodometan. Měřili jsme na přístroji SEE System (Advex Instruments, Česká republika).



Obr. 13.: Měřicí zařízení „SEE System“ pro měření kontaktních úhlů a vyhodnocování povrchové energie.

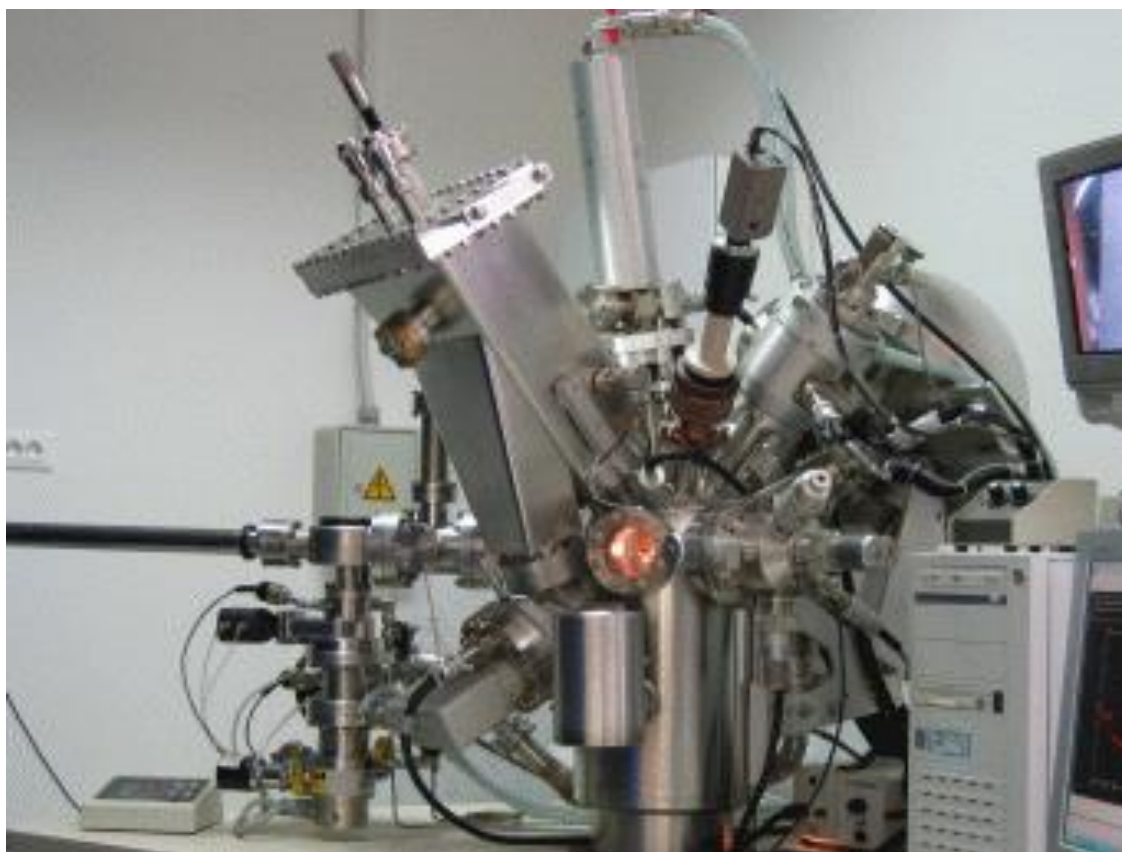
5.2 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) identifikuje kvalitativně a kvantifikuje přítomné prvky na povrchu měřených vzorků. Jde o vysoce citlivou a nedestruktivní analytickou metodu, která kromě jiného poskytuje informace i o chemických substituentech naměřených površích [30]. Pomocí XPS lze zjistit tyto údaje:

- plošnou distribuci jednotlivých prvků s výjimkou vodíku a hélia
- hloubkovou distribuci prvku
- kvalitativní složení materiálu
- kvantitativní zastoupení prvků
- množství funkčních skupin
- sorpční vlastnosti materiálu

XPS se nejčastěji používá pro studium katalyzátoru chemických reakcí, ale značné pozornosti si vysloužila i v případě charakterizace kovových materiálů, polymerů, skla, keramiky a kompozitu. XPS pro měření používá rentgenový paprsek, který způsobuje sekundární emisi z povrchu vzorku. Analyzuje se energie emitovaných elektronů, která přísluší jednotlivým prvkům. Spektrometr má obvykle dvě základní součásti a to zdroj a analyzátor. Pro analýzu je nutné pracovat v podmínkách velmi nízkých tlaků, které zaručují volný pohyb elektronů v systému měřený vzorek – detektor. Použití ultra vysokého vakua pro měření XPS má za následek velmi značnou pořizovací hodnotu měřícího přístroje. XPS analyzuje povrch měřeného substrátu jen ve velmi malé povrchové tloušťce, která nepřesahuje 8 – 10 nm. XPS měření je nejčastěji prováděno pomocí monochromatického rentgenového zdroje. K dispozici jsou však i polychromatické XPS přístroje. XPS lze dále účinně použít pro kvantifikaci povrchových nečistot a dalších kontaminantů na povrchu měřeného substrátu. Této vlastnosti se využívá v biomedicíně a chemickém průmyslu.

Měření rentgenové fotoelektronové spektroskopie probíhalo na našem partnerském pracovišti v Lublani, jelikož tento přístroj není ve Zlíně k dispozici.



Obr. 14.: Měřící zařízení pro měření rentgenové fotoelektronové spektroskopie.

5.3 Rastrovací elektronová mikroskopie

Rastrovací elektronová mikroskopie (SEM) slouží k detailnímu pozorování povrchové topografie vzorku. Jde o přístroj, kde místo skleněných čoček jsou umístěny čočky elektromagnetické. Vyznačuje se tím, že pozorovaný vzorek neiluminujeme elektromagnetickým zářením nýbrž svazkem elektronů. Z těchto důvodů je nezbytné dosažení velmi nízkých tlaků, aby elektronový svazek nebyl ovlivňován přítomnými plyny. Nejdůležitější charakteristikou těchto mikroskopů je jejich rozlišovací schopnost. SEM je v současnosti vnímána jako nejvšestrannější metoda na zobrazování povrchové topografie vzorku [31]. V praxi existují různé SEM techniky. Liší se na základě toho, co je tímto mikroskopem zobrazováno. V praxi se setkáme se třemi typy SEM snímků:

- snímky vzniklé sekundárními elektrony
- snímky vzniklé zpětně odraženými elektrony
- elementární rentgenové mapy

Pro požadovanou ostrost snímku je většinou nezbytné před měřením naprášit tenkou vrstvou vodivého materiálu. Vodivý povrch se získá naprášením vrstvy kovového zlata nebo vodivého grafitu.



Obr. 15.: Měřicí zařízení pro měření rastrovací elektronové mikroskopie.

5.4 Infračervená spektroskopie

Infračervené spektroskopie (IČ spektroskopie) nebo také FT – IR patří mezi metody molekulové spektroskopie. Dojde-li k absorpci infračerveného záření molekulou pak dochází ke změně stavu elektronového obalu ve vibračních pohybech atomů a molekulových skupin a rotaci molekuly jako celku. Těmto třem jevům příležitostně odpovídají tři druhy energetických přechodů:

- elektronového
- vibrační
- rotační

Tyto druhy pohybů spolu obvykle navzájem souvisí. Je známo, že při změně elektronového obalu se u molekul mění i jejich vibrační a rotační stavy. Jelikož je pohyb těžkých jader řádově pomalejší než pohyb elektronů lze tyto pohyby považovat za vzájemně nezávislé. Rotační spektrum připadá do vzdálené IČ oblasti a vibrační pohyby tedy leží v oblasti mezi $4\,000 - 100\text{ cm}^{-1}$.

Vibrace a rotace molekul se řídí kvantově mechanickými zákony, přičemž je považujeme za harmonické. V případě dvouatomové molekuly lze vyjít z modelu harmonického oscilátoru.

Absorpce elektromagnetického záření může nastat u harmonického oscilátoru jen tehdy, když se změní o celou jednotku. Pokud se změní vibrační energie jednotlivých atomů molekuly, dojde ke vzniku vibračních přechodů.

Tato představa je však natolik zkrácená, že v praxi nefunguje ani pro jednoduché dvouatomové molekuly. Neboť nejčastěji pozorujeme vibrace součtové.

Při vibračních pohybech se mění délka nebo úhel chemické vazby. Pokud se změní délka vazby hovoříme o valenčních vibracích, pokud se bude měnit úhel vazby, pak hovoříme o deformačních vibracích. Konečně, vibrace lze rozdělit na symetrické a asymetrické vzhledem k prvkům symetrie.

Infračervenou oblast rozdělujeme dle vlnočtu do tří základních kategorií. První je oblast od $12\,500 - 4\,000\text{ cm}^{-1}$, kterou označujeme blízká infračervená oblast. V této oblasti se usku-

tečnují energeticky méně náročné přechody mezi různými elektronovými molekulárními stavy a vzniklá spektra obsahují v blízkosti každého pásu soubor několika vibračních hladin. V této oblasti lze nalézt také pásy, které přísluší vyšším harmonickým asymetrickým frekvencím rotačně vibračních přechodů.

Oblast $4\,000 - 200\text{ cm}^{-1}$, kterou nazýváme střední infračervená oblast. Tato oblast je z chemicko-analytického hlediska tou nejzajímavější, neboť se v ní uskutečňuje značná většina rotačně-vibračních přechodů.

Oblast $200 - 100\text{ cm}^{-1}$, kterou nazýváme daleká infračervená oblast. V této části spektra nalezneme především absorpce torzních vibrací, deformačních vibrací a dále rotačních přechodů [32].

5.4.1 Měření IČ spekter

IČ spektra látek měříme ve skupenství plynném, kapalném i pevném. Pro měření používáme především transparentních materiálů, které jsou propustné pro infračervené záření. V praxi se nejčastěji používá NaCl, CaBr, které jsou transparentní ve velmi široké oblasti IČ spektra. Mezi jejich hlavní nevýhody patří vysoká rozpustnost v polárních rozpouštědlech a kyselinách. Pro tyto případy lze použít jiné materiály jako diamant nebo ZnSe.

Pro měření plynných vzorků lze měřit poměrně velké vrstvy neboť hustota molekul plynu je malá. V praxi nejčastěji používáme kyvety o tloušťce 10 cm. Uvedená kyveta je skleněný váleček na jehož obou koncích jsou okénka z materiálu, který IČ záření propouští tento váleček má plnicí otvory pro měřený plyn. Lze se taktéž setkat s měřením velmi malých koncentrací plynů. K tomu jsou použity kyvety s několikanásobným průchodem paprsků, kde výsledná dráha pomocí soustavy zrcadel může být až několik desítek metrů.

V případě kapalných vzorků látku rozpustíme v rozpouštědle a nalijeme ji do kyvety. Základem této kyvety jsou opět okénka, která jsou v infračervené části spektra transparentní. Tato okénka jsou zasazena do držáku s plnicími otvory. Tloušťku kyvety určuje tenký film, který bývá obvykle z teflonu. Běžné tloušťky kyvet pro kapalně vzorky jsou přibližně 1 mm. V případě velmi zředěných roztoků lze použít kyvety o tloušťce až 1 cm.

V případě pevných vzorků máme k dispozici hned několik metod. Nejčastější metodou je technika lisování tablet. Vzorek připravíme tím, že smícháme velmi malé množství měřené látky s opticky transparentním materiálem (KBR) a po homogenizaci vylisujeme pod tlakem přibližně 2 GPa tabletu. Tato tableta je vsazena do okénka a přímo měřena. Druhou metodou je metoda transmisní. Uplatňuje se zejména při studiu tenkých filtrů polymerů a je zajímavá tím, že se vzorek nijak nepředupravuje. Třetí metodou je technika suspensní. Vzorek se připraví tím, že se suspenduje ve viskosní látce a měří se IČ spektrum celé suspenze. Jako suspensní látka se používá tzv. NUJOL. Čtvrtou nejvýznamnější metodou měření pevných látek je metoda difúzní reflexe. Pomocí této metody měříme práškové vzorky a to bez destruktivních vlivů, které vznikají při lisování KBR tablet. Tato technika je vhodná pro nerozpustné polymery, laky a jiné. Poslední metodou připadající v úvahu pro pevné látky je technika zeslabené totální reflexe. V praxi tuto metodu nazýváme ATR. Tato technika se velmi výrazně osvědčila při studiu polymerních materiálů a její podstatou je úplná vnitřní reflexe infračerveného záření při průchodu krystalem o velmi vysokém indexu lomu, který je v těsném kontaktu se vzorkem. Měřený vzorek bývá během experimentu k tomuto krystalu mechanicky přitlačován [32].



Obr. 16.: Měřící zařízení pro měření ATR – FTIR spektroskopie.

5.5 Mikroskopie atomárních sil

Mikroskopie atomárních sil (AFM) je v současné době jednou z nejprogresivnějších technik ke studiu povrchové morfologie materiálu. Jde o mikroskopickou techniku, která zobrazuje povrchy v 3D. Výsledný obraz je sestavován bod po bodu a v konečném důsledku dosahuje velmi vysokého rozlišení. V praxi se lze setkat i s takovými technikami, které zobrazují jednotlivé atomy. Tuto techniku lze kromě zobrazování použít i k tvorbě struktur na povrchu. Tato metoda se vyznačuje tím, že podobně zobrazuje i nevodivé vzorky a to tím, že detekuje pohyb zkoumacího hrotu nad měřeným vzorkem. Z analytického hlediska rozlišujeme čtyři typy snímání topografie povrchu. Prvním typem je tzv. kontaktní režim. V tomto případě je hrot vtlačován do vzorku a díky působícím silám je nosník ohnutý. Při měření dochází k pohybu hrotu po povrchu vzorku tak, že výška konce nosníku je vždy stejná. Měříme-li nerovnost na povrchu má nosník v různých místech vzorku různou velikost ohybu. Sledováním ohybu nosníku na poloze vzorku pak získáme výsledný zvětšený obraz [33].

Druhou možností je nekontaktní režim, kde se hrot pohybuje neustále v určité vzdálenosti nad povrchem vzorku. Tato vzdálenost je dána přitažlivými silami. Měříme tedy interakci povrchu a hrotu. Velkou výhodou tohoto režimu je, že prakticky nedochází k poškození hrotu, neboť se povrchu nedotýká. Z tohoto důvodu jde o preferovanou techniku měření.

Třetí možností je takzvaný pokleповý režim. Tento režim se vyznačuje tím, že jde o kombinaci kontaktního a nekontaktního režimu.

Posledním, čtvrtým režimem, který zde bude vysvětlen je tzv. dynamický režim, tato měřicí technika je nekontaktní a hrot nad povrchem osciluje působením harmonické síly. Výsledkem měření je potom fázový posun v kmitání, který je způsoben silami atomů. Tato technika se také nazývá mikroskopií dynamických sil.

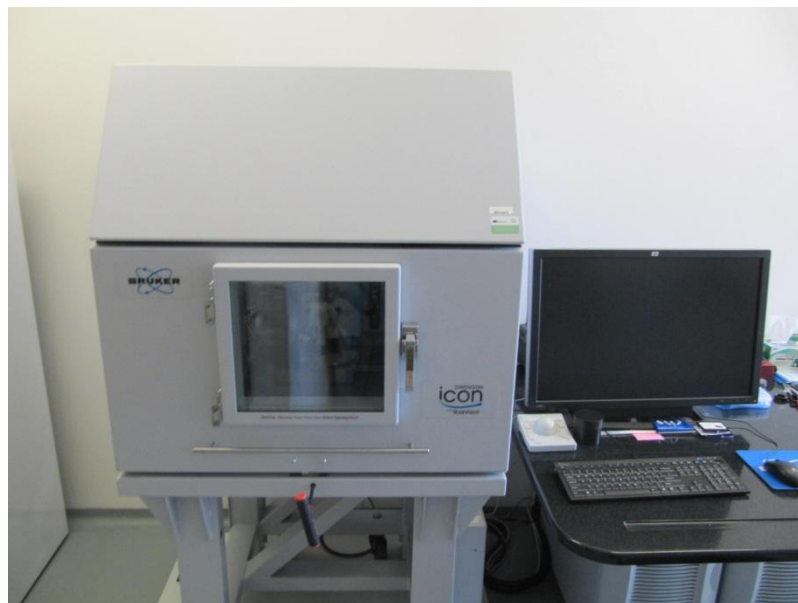
Mezi nejčastější možnosti aplikace AFM patří zejména:

- studium povrchu pevných látek
- studium procesů katalýzy
- studium nanomateriálů

- studium biologických systému
- studium záznamové techniky
- studium schopnosti interakce jednotlivých atomů
- možnost konstrukce atomárních struktur
- umístění dopantů v polovodičích
- příprava nanometrických tranzistorů

Metoda AFM doznala při svém vývoji mnoha modifikací. V současné době lze AFM rozdělit do celé řady metod. Mezi nejznámější a nepoužívanější patří:

- mikroskopie magnetických sil – MFM
- mikroskopie elektrostatických sil – EFM
- termální mikroskopie – SThM
- mikroskopie ultrazvukových sil – UFM
- mikroskopie bočních sil – LFM
- mikroskopie modulovaných sil – FMM
- mikroskopie dynamických sil – DFM
- mikroskopie příčných sil – TDFM
- mikroskopie fázových rozdílů – PDM



Obr. 17.: Měřící zařízení pro měření mikroskopie atomárních sil.

5.6 Měření cytotoxicity

Pro kultivaci buněk byla použita linie z embryonálních myších fibroblastů (NIH/3T3) z ATCC ® (číslo: CRL-1658TM). Použité kultivační médium bylo: Dulbecco's Modified Eagle Medium – s vysokým glukózovým obsahem, ke kterému bylo přidáno 10 % telecího séra a antibiotikum, v našem případě (penicilin/streptomycin, 100 mg/ml), (výrobce PAA laboratoře GmbH, Rakousko).

Buňky byly odděleny ode dna kultivační nádoby následujícím způsobem: z kultivační nádoby bylo odsáto kultivační médium. Buňky byly opláchnuty v PBS (Phosphate Buffered Saline 10×) od firmy (GIBCO). V dalším kroku byly buňky inkubovány při teplotě 37 °C s přidaným trypsinem a EDTA (1×) od firmy PAA (0,1 ml/cm²) proto, aby se buňky od sebe vzájemně oddělily. Inkubace trvala nejméně 20 minut. Po inkubaci bylo k buňkám přidáno kultivační médium, a to ve stejném množství, jako se přidávalo trypsinu. Buňky byly odděleny od kultivačního média pomocí centrifugace při teplotě 37 °C po dobu 3 minut a otáček 1,1·10³ RPM a byly naředěny na výslednou koncentraci 10⁵/ml. Jednotlivé vzorky byly dále před samotnou kultivací dezinfikovány pomocí UV-záření o vlnové délce (258 nm). Vzorky byly dále nastříhány tak, aby měly v průměru 3,5 cm a poté byly vloženy do Petriho misek shodného průměru. Na vzorky byly nanášeny buňky pomocí pipety a ob-

jem buněčné suspenze byl 2 ml. Následně byly buňky kultivovány v inkubátoru při teplotě 37 °C po dobu 48 h [34, 35]. Buněčná proliferace byla zjišťována pomocí optického mikroskopu Olympus, IX81 a obrázky byly snímány pomocí kamery Leica DFC480.



Obr. 18: Optický mikroskop Olympus IX 81.

6 VÝSLEDKY A DISKUSE

6.1 Měření kontaktního úhlu a povrchové energie

Měření kontaktního úhlu smáčení a výpočet povrchové energie byly provedeny pomocí tzv. metody sedící kapky na přístroji SEE System. Jednotlivé kapky kapalin byly postupně nanášeny na vzorek a jednotlivě snímány kamerou přístroje. Poté byla odečtena hodnota jednotlivých kontaktních úhlů smáčení pro dané kapaliny. Výsledná hodnota kontaktních úhlů smáčení pro daný povrch byla vypočtena jako aritmetický průměr jednotlivých měření.

Výsledky měření kontaktních úhlů pro zvolené kapaliny jsou uvedeny v následující tabulce. Dále je zde přiložena tabulka, kde jsou pro jednotlivé měřené vzorky vypočteny hodnoty povrchové energie a její složky.

Z naměřených výsledků je zřejmé, že čistý neopracovaný PLA má poměrně malou smáčivost, kdy kontaktní úhel pro vodu dosahuje hodnot kolem 73° .

Po úpravě v plazmatu se však situace zásadně mění, kdy hodnota kontaktního úhlu pro vodu klesá až k přibližně 57° . Podstatné se jeví taktéž sledovat rozdíl mezi vzorky opravenými v plazmatu a vystavenými reakci s monomery kyseliny akrylové a jejich srovnání se stejnými vzorky po navázání GA. Výsledné hodnoty smáčivosti naznačují, že došlo úspěšně k navázání GA, což je důvod změny hodnot kontaktních úhlů smáčení pro jednotlivé kapaliny.

V případě povrchové energie lze konstatovat přibližně totéž, ovšem ve změně hodnot povrchové energie nedochází k tak velkým výkyvům jako v případě kontaktních úhlů smáčení. Zatímco povrchová energie PLA je poměrně vysoká, avšak po úpravě v plazmatu, roubování monomery i navázáním GA se snižuje. Zejména pak dochází k poklesu polární části povrchové energie.

Tab. 1: Hodnoty kontaktních úhlů pro jednotlivé vzorky (kde W je deionizovaná voda, DI je diiodomethan a E je ethylenglykol)

Vzorek	θ_W (°)	θ_E (°)	θ_{DI} (°)
neupravený PLA	72,97	51,06	35,00
plazmově opracovaný PLA	57,23	39,71	42,55
PLA po roubování AA	65,25	42,99	38,20
PLA modifikovaný GA	67,98	43,17	34,39

Tab. 2. Hodnoty povrchových energií pro jednotlivé vzorky

Vzorek	γ^{total} (mJ/m ²)	γ^{LW} (mJ/m ²)	γ^{AB} (mJ/m ²)
neupravený PLA	45,2	42,0	3,2
plazmově opracovaný PLA	38,9	38,3	0,6
PLA po roubování AA	41,1	40,5	0,6
PLA modifikovaný GA	42,9	42,3	0,6

6.2 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) byla měřena na našem partnerském spolupracujícím pracovišti v Lublani. Tato metoda dává kvalitativní i kvantitativní výsledné hodnoty procentuálního zastoupení prvků v povrchové struktuře. Získané výsledky jsou uvedeny pro jednotlivé vzorky v následující tabulce.

Z naměřených hodnot plyne, že neopracovaný povrch PLA obsahuje ve své povrchové struktuře téměř výhradně atomy uhlíku a kyslíku, což plně odpovídá struktuře PLA i v poměru zastoupení těchto prvků. Tento poměr je dán prostřednictvím podílu O/C, což je podíl zastoupení daných prvků v povrchové struktuře.

Po opracování v plazmatu je však situace odlišná, dochází k výraznému úbytku v procentuálním zastoupení atomu uhlíku v povrchové struktuře na úkor atomu kyslíku. Tento výsledek potvrzuje výraznou změnu v chemickém složení povrchové struktury opracovaného PLA, kdy se na jeho povrchu tvoří polární funkční skupiny obsahující kyslík (karbonyly, karboxyly, hydroxyly,...), což jsou základní složky použitého plazmového plynu vzduchu.

Po reakci s monomerm AA se situace mění v tom, že mírně vzrůstá množství uhlíku, které je totiž v samotných monomerech obsaženo. Tento mírný vzrůst hodnoty uhlíku je současně doprovázen mírným poklesem množství kyslíku v povrchové struktuře, což dokazuje, že monomery jsou na povrch úspěšně navázány. Obdobně, pokud jsou tyto vzorky vystaveny interakci s GA, jsou patrné změny. Výrazně se zvýšilo množství uhlíku a dusíku na úkor vzrůstu obsahu kyslíku, což odpovídá struktuře GA, který je tímto procesem navázán.

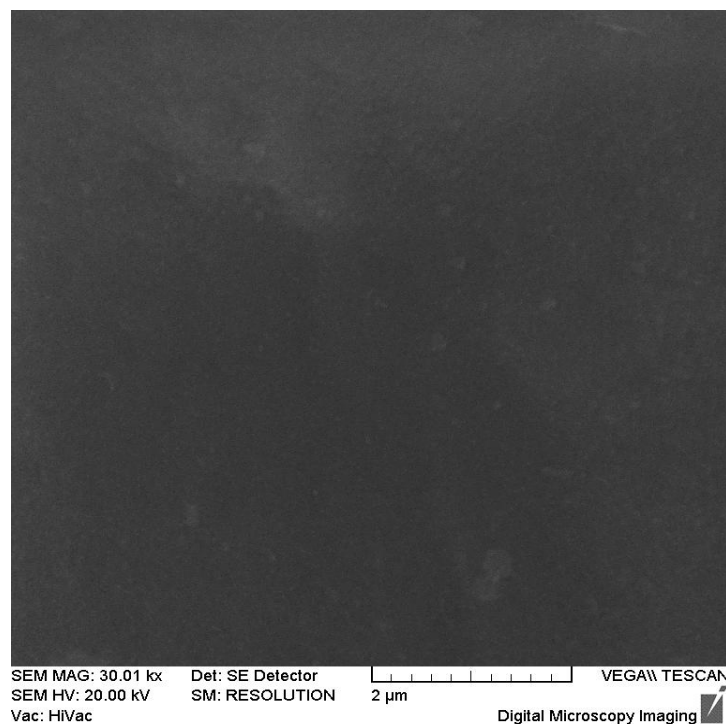
Tab. 3: Výsledná data XPS analýzy pro jednotlivé vzorky.

Vzorek	% C	% N	% O	N/C	O/C
neupravený PLA	70,8	-	29,2	-	0,41
plazmově opracovaný PLA	61,6	-	38,4	-	0,62
PLA po roubování AA	62,8	-	37,2	-	0,59
PLA modifikovaný GA	65,9	1,8	32,3	0,027	0,49

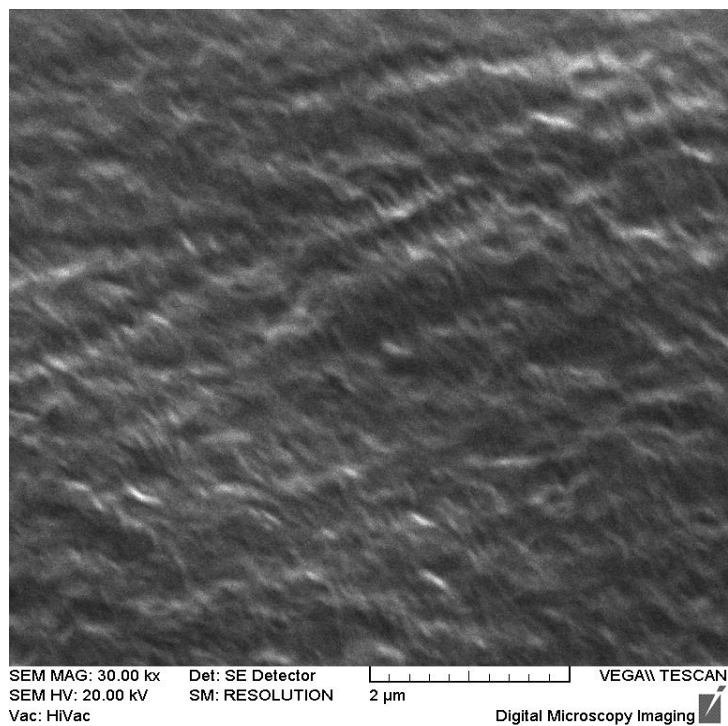
6.3 Rastrovací elektronová mikroskopie

Rastrovací elektronová mikroskopie (SEM) byla použita za účelem popisu topografie povrchové struktury měřených vzorků. Výsledky jsou znázorněny pomocí sejmutých snímků na následujících obrázcích.

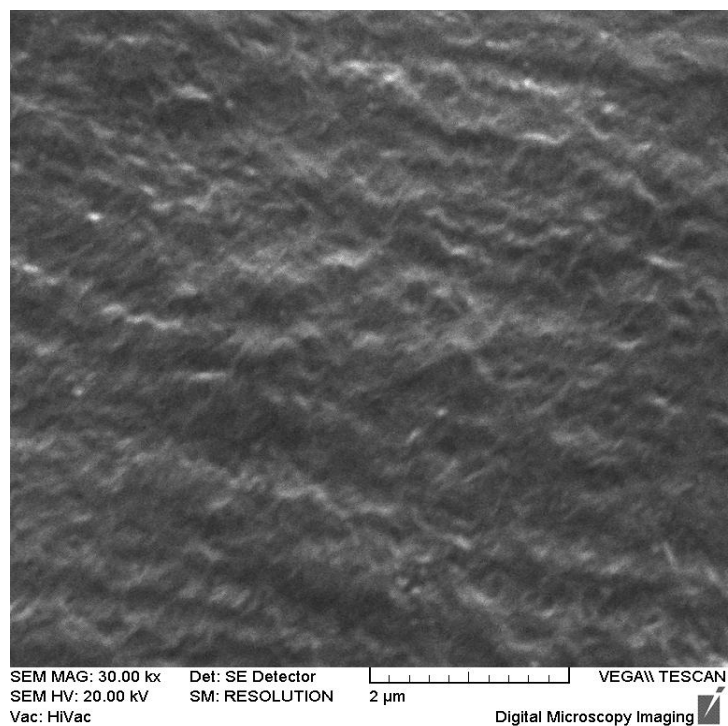
Z výsledků je patrné, že neopracovaný vzorek PLA vykazuje relativně hladkou povrchovou strukturu, která jen místy vykazuje přítomnost stop vzniklých při zpracování destiček pro měření pomocí lisu. Opracovaný PLA vzorek v plazmatu však vypadal velmi odlišně. Na povrchu je patrná výrazně zvrásněná struktura, která byla způsobena interakcí s částicemi plazmatu. Přibližně totožnou strukturu lze spatřit i na vzorku, který byl roubován pomocí AA. Výrazně odlišně však vypadá snímek po imobilizaci GA, kde lze vidět opětovně hladkou povrchovou strukturu, kdy svrchní vrstva je tvořena imobilizovaným filmem GA.



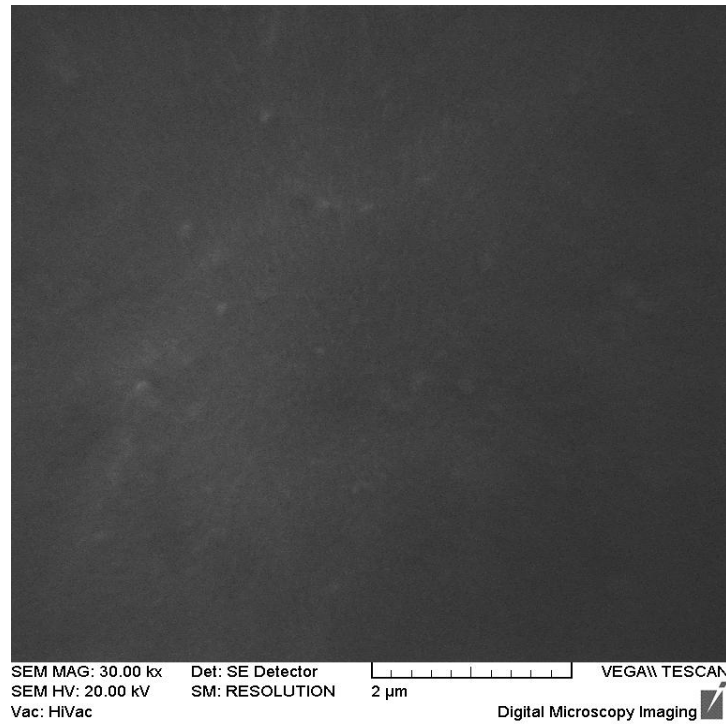
Obr. 19.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro neupravený PLA vzorek.



Obr. 20.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro plazmově opracovaný PLA vzorek.



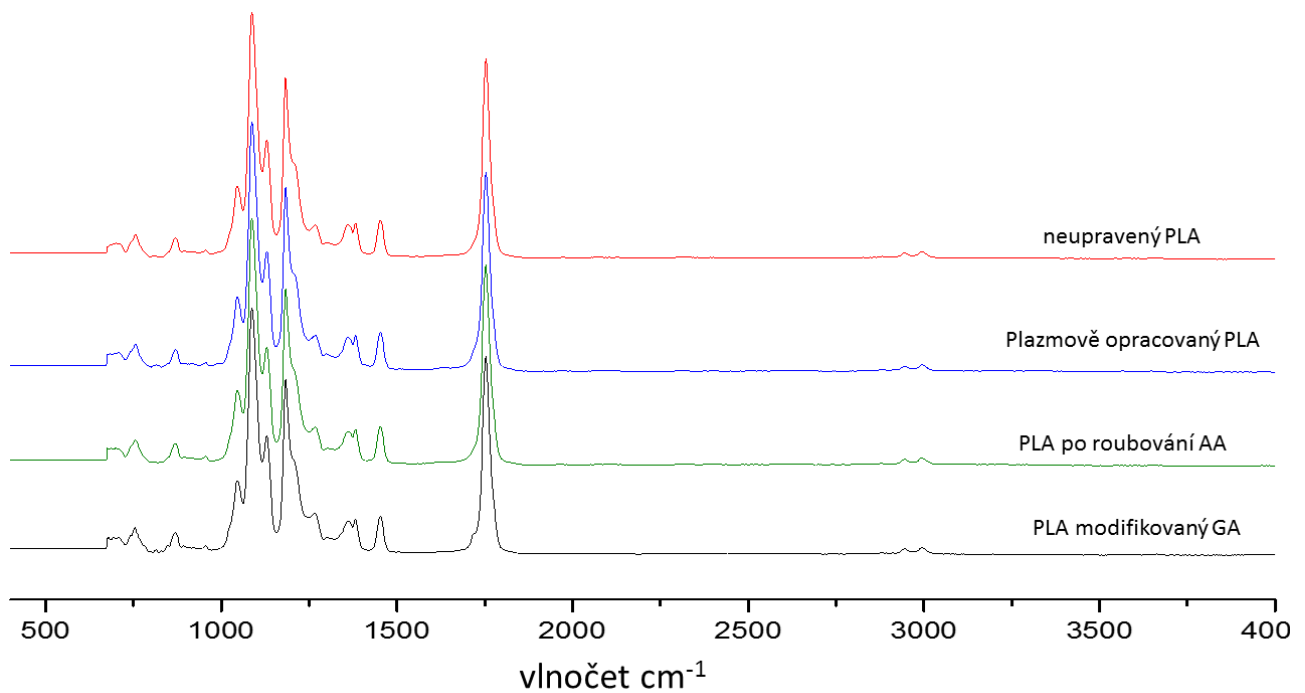
Obr. 21.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro PLA vzorek po roubování AA.



Obr. 22.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro PLA vzorek modifikovaný GA.

6.4 Infračervená spektroskopie

Měření infračervené spektroskopie bylo provedeno metodou ATR. Pomocí této metody jsme schopni snímat spektra do hloubky materiálu okolo 5 μm . Jak plyne z následujícího grafu, tato hloubka je pro naše vzorky velmi výrazná a povrchová modifikovaná struktura je řádově tenčí. Z těchto důvodů lze uzavřít tím, že pomocí ATR infračervené spektroskopie nebyly získány výsledky, které by bylo možno hodnotit ve vzájemných souvislostech, byť XPS změny potvrdila. Je to dáno tím, že XPS snímá spektra povrchu o tloušťce v řádu jednotek či desítek nm.

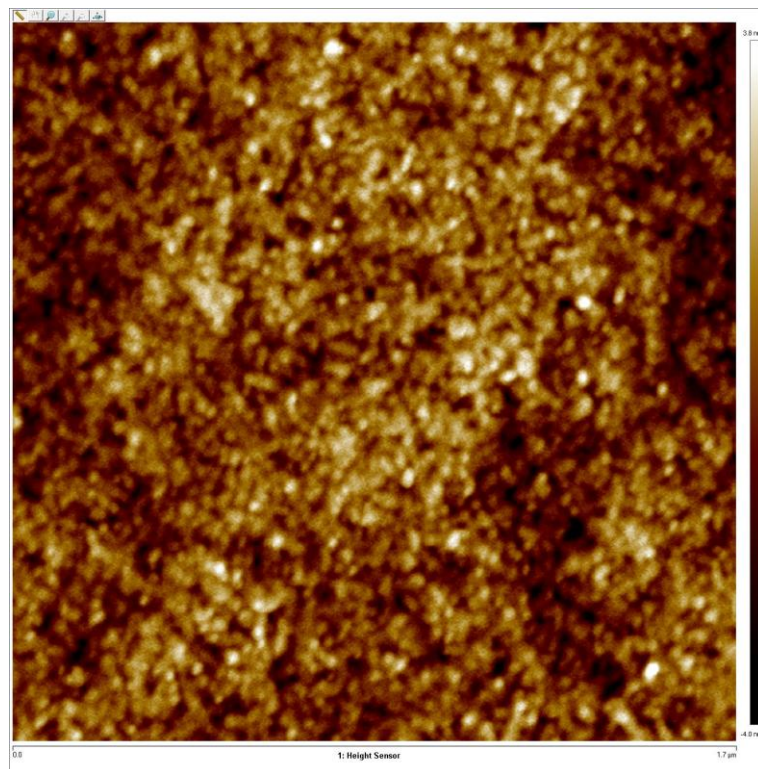


Obr. 23.: Spektra infračervené spektroskopie měřených vzorků.

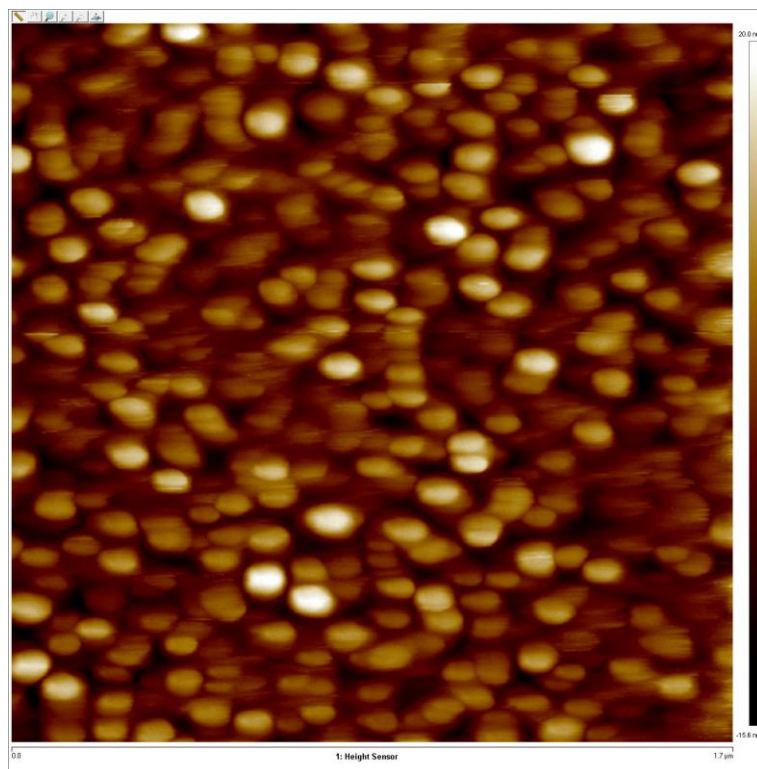
6.5 Mikroskopie atomárních sil

V případě výsledků měření mikroskopie atomárních (AFM) sil lze tvrdit podobně jako v případě SEM.

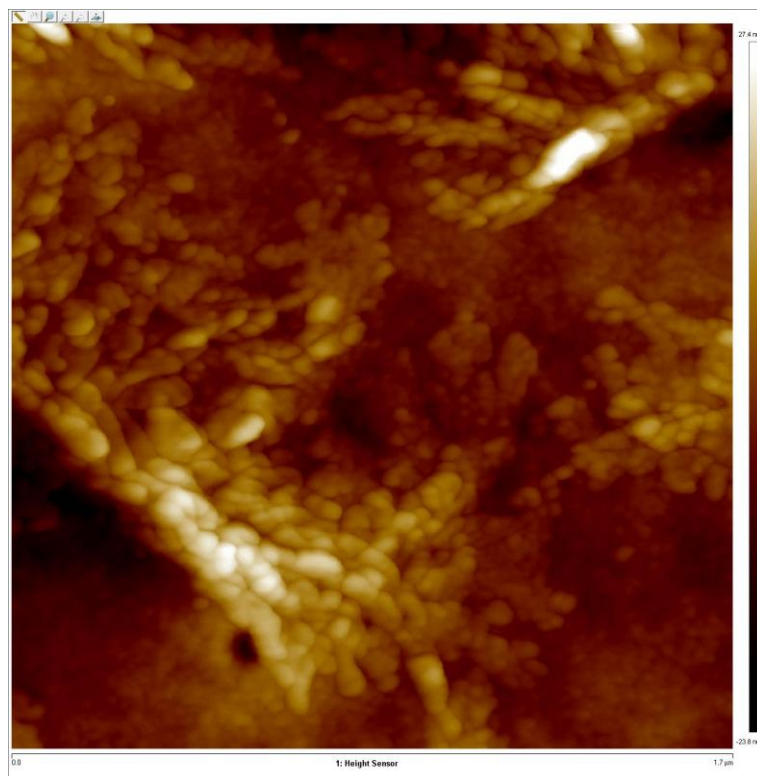
Z výsledků je patrné, že neopracovaný vzorek PLA vykazuje relativně hladkou povrchovou strukturu, která jen místy vykazuje přítomnost stop vzniklých při zpracování destiček pro měření pomocí lisu. Opracovaný PLA vzorek v plazmatu však vypadal velmi odlišně. Na povrchu je patrná výrazně zvrásněná struktura, která byla způsobena interakcí s částicemi plazmatu. Přibližně totožnou strukturu lze spatřit i na vzorku, který byl roubován pomocí AA. Odlišně však vypadá snímek po immobilizaci GA, kde lze vidět opětovně více hladkou povrchovou strukturu, kdy svrchní vrstva je tvořena immobilizovaným filmem GA. V případě AFM však bude potřeba provést další experimenty.



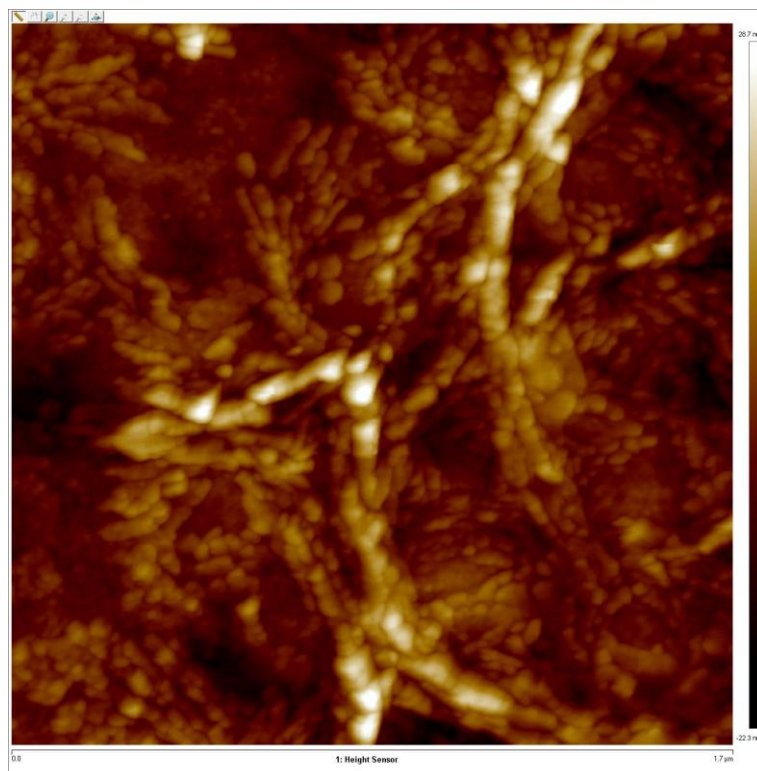
Obr. 24.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro neupravený PLA vzorek.



Obr. 25.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro plazmově opracovaný PLA vzorek.



Obr. 26.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro PLA vzorek po roubování AA.



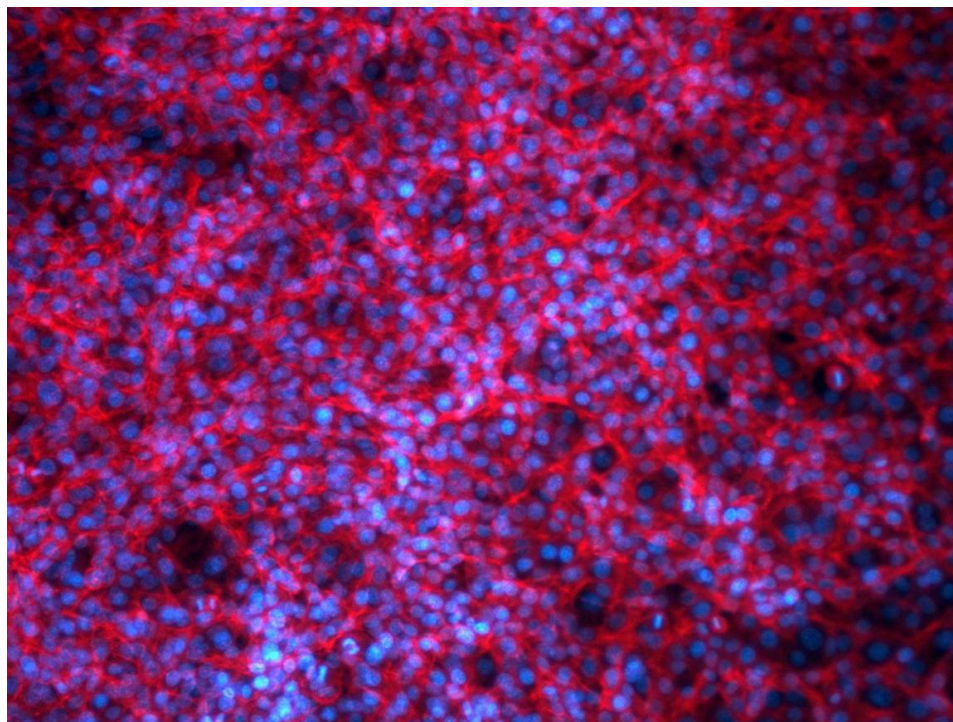
Obr. 27.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro PLA vzorek modifikovaný GA.

6.6 Měření cytotoxicity a proliferace

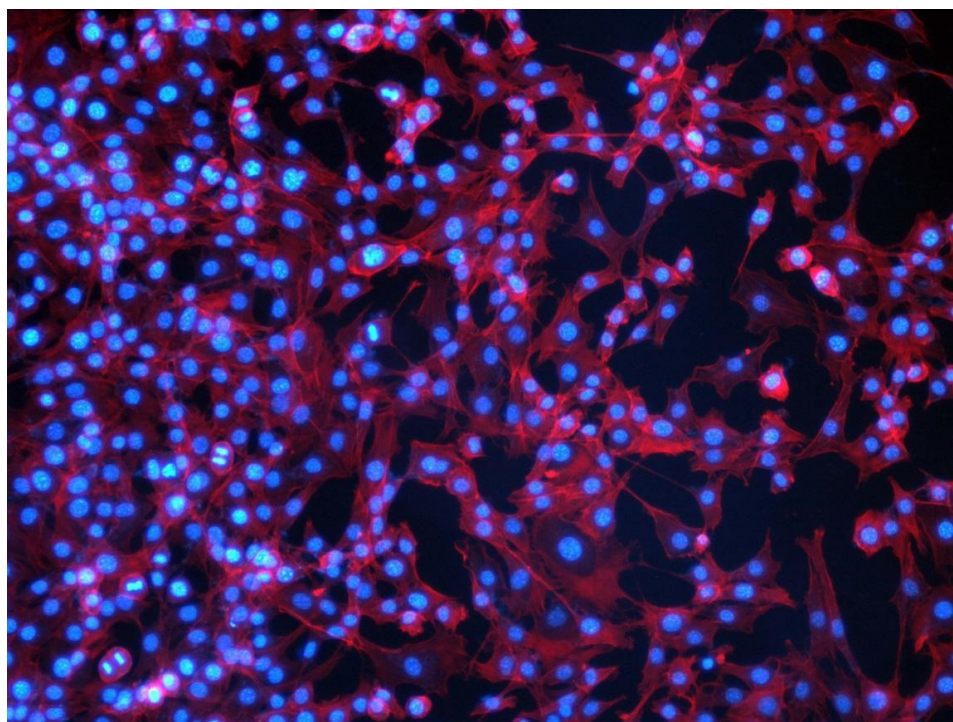
Kultivace fibroblastů proběhla u měřených vzorků ve dvou opakováních. Zároveň se buňky nechaly proliferovat na čisté Petriho misce z tkáňového polystyrenu jako referenční vzorek, za účelem zjištění kontrolního množství buněk. Pro všechny vzorky byly po stejné době kultivace pořízeny fotografické snímky, které jsou zvětšené 64×. U neopracovaného PLA je podle očekávání poměrně malé množství buněk. Výrazně odlišný stav však můžeme pozorovat u zbylých vzorků. Nicméně, v porovnání s referencí je na těchto vzorcích proliferace buněk o něco slabší. Kvantitativní charakteristiky jsou uvedeny v následující tabulce. Dále jsou přiloženy snímky s kultivovanými fibroblasty na měřených površích. Z výsledků je patrné, že došlo k úspěšnému navázání GA na vzorky a k zvýšení biokompatibility těchto vzorků.

Tab. 4: Výsledky měření cytotoxicity.

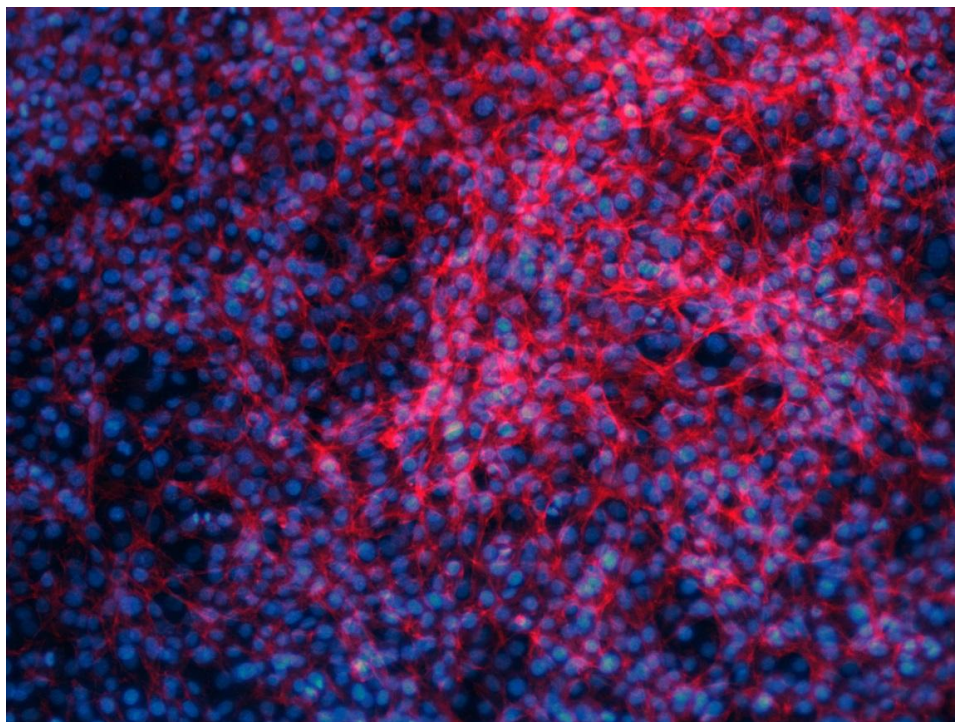
Cytotoxicita vyjádřená jako průměrná absorbance (Abs) ± standardní odchylka (SD) a procentuální vyjádření viability buněk proti kontrolnímu vzorku.		
	Abs±SD	Viabilita
kontrolní vzorek	1.248±0.011	100.00%
neupravený PLA	0.724±0.011	58.04%
plazmově opracovaný PLA	1.095±0.007	87.78%
PLA po roubování AA	0.929±0.003	74.43%
PLA modifikovaný GA	1.014±0.005	81.30%



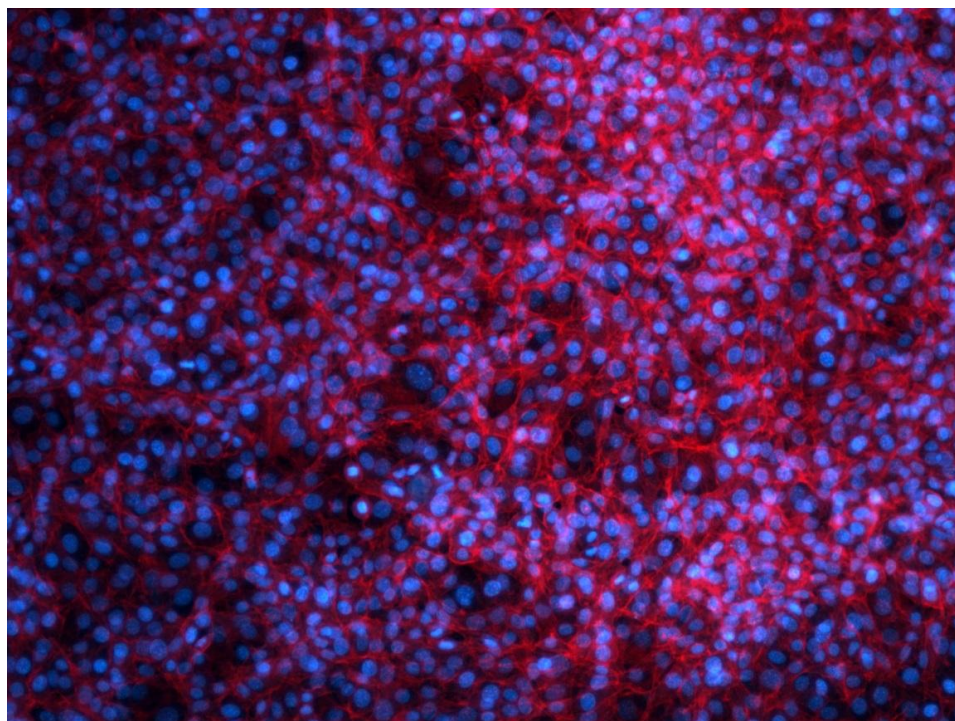
Obr. 28.: Mikroskopický snímek buněk kontrolního vzorku.



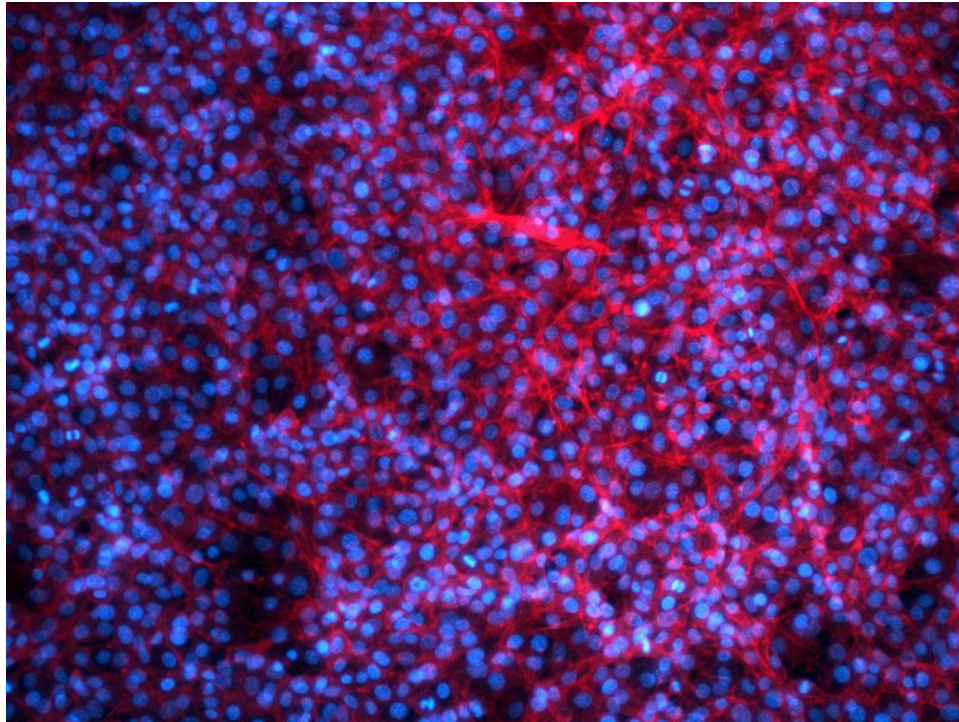
Obr. 29.: Mikroskopický snímek buněk neupraveného PLA vzorku.



Obr. 30.: Mikroskopický snímek buněk plazmově upraveného PLA vzorku.



Obr. 31.: Mikroskopický snímek buněk PLA vzorku po roubování AA.



Obr. 32.: Mikroskopický snímek buněk PLA vzorku modifikovaného GA.

ZÁVĚR

Výsledky lze shrnout následovně:

- Z naměřených výsledků je zřejmé, že čistý neopracovaný PLA má poměrně malou smáčivost, kdy kontaktní úhel pro vodu dosahuje hodnot kolem 73 °. Po úpravě v plazmatu se však situace zásadně mění, kdy hodnota kontaktního úhlu pro vodu klesá až k přibližně 57 °. Podstatné se jeví taktéž sledovat rozdíl mezi vzorky opracovanými v plazmatu a vystavenými reakci s monomery kyseliny akrylové a jejich srovnání se stejnými vzorky po navázání GA. Výsledné hodnoty smáčivosti naznačují, že došlo úspěšně k navázání GA, což je důvod změny hodnot kontaktních úhlů smáčení pro jednotlivé kapaliny. V případě povrchové energie lze konstatovat přibližně totéž, ovšem ve změně hodnot povrchové energie nedochází k tak velkým výkyvům jako v případě kontaktních úhlů smáčení. Zatímco povrchová energie PLA je poměrně vysoká, avšak po úpravě v plazmatu, roubování monomerem i navázáním GA se snižuje. Zejména pak dochází k poklesu polární části povrchové energie.
- Z naměřených hodnot plyne, že neopracovaný povrch PLA obsahuje ve své povrchové struktuře téměř výhradně atomy uhlíku a kyslíku, což plně odpovídá struktuře PLA i v poměru zastoupení těchto prvků. Po opracování v plazmatu je však situace odlišná, dochází k výraznému úbytku v procentuálním zastoupení atomu uhlíku v povrchové struktuře na úkor atomu kyslíku. Po reakci s monomerem AA se situace mění v tom, že mírně vzrůstá množství uhlíku, které je totiž v samotných monomerech obsaženo. Obdobně, pokud jsou tyto vzorky vystaveny interakci s GA, jsou patrné změny. Výrazně se zvýšilo množství uhlíku a dusíku na úkor vzrůstu obsahu kyslíku, což odpovídá struktuře GA, který je tímto procesem navázán.
- Z výsledků měření SEM je patrné, že neopracovaný vzorek PLA vykazuje relativně hladkou povrchovou strukturu, která jen místy vykazuje přítomnost stop vzniklých při zpracování destiček pro měření pomocí lisu. Opracovaný PLA vzorek v plazmatu však vypadal velmi odlišně. Na povrchu je patrná výrazně zvrásněná struktura, která byla způsobena interakcí s částicemi plazmatu. Přibližně totožnou strukturu lze spatřit i na vzorku, který byl roubován pomocí

AA. Výrazně odlišně však vypadá snímek po imobilizaci GA, kde lze vidět opětovně hladkou povrchovou strukturu, kdy svrchní vrstva je tvořena imobilizovaným filmem GA.

- V případě AFM výsledky vypadaly obdobně.
- Pomocí ATR infračervené spektroskopie nebyly získány výsledky, které by bylo možno hodnotit ve vzájemných souvislostech, byť XPS změny potvrdila. Je to dáno tím, že XPS snímá spektra povrchu o tloušťce v řádu jednotek či desítek nm oproti ATR-FTIR, kde je hloubka okolo 5 μm .
- U neopracovaného PLA je podle očekávání poměrně malé množství kultivovaných buněk. Výrazně odlišný stav však můžeme pozorovat u zbylých vzorků. Nicméně, v porovnání s referencí je na těchto vzorcích proliferace buněk o něco slabší. Z výsledků je patrné, že došlo k úspěšnému navázání GA na vzorky a k zvýšení biokompatibility těchto vzorků.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MOZETIČ, M. et al. *Recent advances in vacuum sciences and applications* [online]. 2014, Journal of Physics D: Applied Physics. Vol. 47 [cit. 2016-01-05]. DOI: 10.1088/0022-3727/47/15/153001. Dostupné z: <http://iopscience.iop.org/0022-3727/47/15/153001>
- [2] MLEZIVA, Josef a Jaromír ŠŇUPÁREK. *Polymery: výroba, struktura, vlastnosti a použití*. Vydání druhé, přeprac. Praha: Sobotáles, 2000, 527 s. ISBN 8086930727.
- [3] KOVAČ, Ludomír a Jaroslav BÍNA. *Plasty: vlastnosti, spracovanie, využitie*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1975, 329 s.
- [4] ČERNÝ, František. *Chemická technologie polymerů*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1983, 303 s.
- [5] VESELÝ, Karel. *Polymery: struktura, syntézy, vlastnosti, zpracování*. Brno: Česká společnost průmyslové chemie, 1993, 178 s. ISBN 8002009517.
- [6] PEACOCK, Andrew J. a Allison CALHOUN. *Polymer Chemistry – Properties and Applications* [online databáze]. Hanser Publishers, c2006 [cit. 2016-01-05]. Chap. 18. ISBN 978-1-61344-300-2. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/to.v/cid:kpPCPA0002/viewerType:toc/root_slug:polymer-chemistry-properties/url_slug:polymer-chemistry-properties
- [7] DESAI, Shrojal M. a R. P. Singh. *Surface Modification of Polyethylene* [online]. 2004, Vol. 169, pp 231-294 [cit. 2016-01-04]. Dostupné z: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/b13524>
- [8] FRIDMAN, Alexander. *Plasma chemistry* [online]. 1st ed. New York: Cambridge University Press, 2008, 978 s. [cit. 2016-04-25]. ISBN 978-0-531-84735-3. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=ZzmtGEHCC9MC&printc=frontcover&dq=plasma&hl=cs&sa=X&ei=PZIFVca1D8HaaLG2gdAI&ved=0CCkQ6AEwAA#v=onepage&q=plasma&f=false>
- [9] FRIDMAN, Alexander a Lawrence A. KENNEDY. *Plasma physics and engineering* [online]. 1st ed. New York: Taylor, 2005, 843 s. [cit. 2016-04-22]. ISBN 15-

- 603-2848-7. Dostupné z:
https://books.google.cz/books?id=9wqtYiy_gloC&printsec=frontcover&dq=plasma&hl=cs&sa=X&ei=PZIFVca1D8HaaLG2gdAI&ved=0CEIQ6AEwAw#v=onepage&q=plasma&f=false
- [10] HOSSAIN, Mohammad Mokbul. *Plasma technology for deposition and surface modification* [online]. Berlin: Logos Verlag, 2007 [cit. 2016-03-14]. ISBN 978-383-2520-748. Dostupné z:
<https://books.google.cz/books?id=Q9Gj07Ch7SMC&pg=PA7&dq=low+pressure++plasma&hl=cs&sa=X&ei=xoWVcmYOKeiygPjxoIw&ved=0CEsQ6AEwBTgK#v=onepage&q=low%20pressure%20%20plasma&f=false>
- [11] BITTENCOURT, J. A. *Fundamentals of physics: 3rd. edition* [online]. 3rd. ed. New York: Springer, 2004, 648 s. [cit. 2016-04-21]. ISBN 978-0-387-20975-3. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=qCA64ys-5bUC&printsec=frontcover&dq=plasma&hl=cssa=X&ei=DzkQVZOkDav7ygOK8YCIAw&ved=0CDUQ6AEwAzgK#v=onepage&q=plasma&f=false>
- [12] JUNKAR, Ita, Uroš CVELBAR a Marian LEHOČKÝ. *Plasma treatment of bio-medical materials* [online]. 2011 [cit. 2016-03-11]. ISSN 1580-2949.
- [13] CHU, Paul K. a XinPei LU. *Low Temperature Plasma Technology: Methods and Applications* [online]. Taylor a Francis Group: CRC Press, 2014 [cit. 2016-02-13]. ISBN 978-1-4665-0691-7. Dostupné z:
https://books.google.cz/books?id=nzrSBQAAQBAJ&pg=PA41&dq=low+pressure++plasma&hl=cs&sa=X&ei=F9gWVZLuNYKhyAP_2YCICw&ved=0CEAQ6AEwAw#v=onepage&q=low%20pressure%20%20plasma&f=false
- [14] STROBEL, M., C. S. LYONS a K. L. MITTAL. *Plasma surface modification of polymers: relevance to adhesion* [online]. Utrecht: VSP, 1995, 290 s. [cit. 2016-03-11]. ISBN 90-676-4134-2. Dostupné z:
<https://books.google.cz/books?id=P9er1ebJqhAC&printsec=frontcover&dq=plasma+surface+modification&hl=cs&sa=X&ei=5ZBbVda8BaXVyAPnuoGoCA&ved=0CCAQ6AEwAA#v=onepage&q=plasma%20surface%20modification&f=false>
- [15] PAN, N. a G. SUN. *Functional Textiles for Improved Performance, Protection and Health* [online databáze]. Woodhead Publishing, c2012 [cit. 2016-03-21].

- ISBN 978-0-85-709287-8. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpFTIPPH0J/viewerType:toc/rot_slug:functionional-textiles-improved/url_slug:functional-textiles-improved
- [16] D'AGOSTINO, R. *Plasma deposition, treatment, etching of polymers*. 1. edition. Academic Press, 1990, 528 s. ISBN 9780122004308.
- [17] BREWIS, D. M. and D. BRIGGS. *Adhesion to polyethylene and polypropylene* [online]. 1981, [cit. 2016-02-21]. Vol. 22, is. 1, s. 7-16. Dostupné z: [http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1024/0032-3861\(81\)90068-9](http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1024/0032-3861(81)90068-9)
- [18] LAROUSSE, M. and F. LEIPOLD. *Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure* [online]. 2004, [cit. 2016-02-21]. Vol. 233, is. 1-3, s. 81-86. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1026/j.ijms.2003.11.016>
- [19] JONES, C. and E. SAMMANN. *The effect of low power plasmas on carbon fibre surfaces* [online]. 1990, [cit. 2016-02-21]. Vol. 28, is. 4, s. 509-514. Dostupné z: [http://dx.doi.or.proxy.k.utb.cz/10.1016/0008-6237\(90\)90046-2](http://dx.doi.or.proxy.k.utb.cz/10.1016/0008-6237(90)90046-2)
- [20] BÍLEK, F., SULOVSÁ, K., LEHOCKÝ, M., SÁHA, P., HUMPOLÍČEK, P., JUNKAR, I., *Preparation of active antibacterial LDPE surface through multistep physicochemical approach II: Graf type effect on antibacterial properties*, Colloids and Surfaces B: Bionterfaces 101, (2014), 842-848 [cit. 2016-02-21]
- [21] BÍLEK, F., KRÍŽOVÁ, T., LEHOCKÝ, M., *Preparation of active antibacterial LDPE surface through multistep physicochemical approach I: Allylamine grafting, attachment of antibacterial agent and antibacterial activity assessment*, Colloids and Surfaces B: Bionterfaces 89, (2011), 430-437 [cit. 2016-02-21]
- [22] ASADINEZHAD, A., NOVÁK I., LEHOCKÝ, M., SEDLARÍK, V., JUNKAR, I., SÁHA, P. AND CHODÁK, I.: *A Physicochemical Approach to Render Antibacterial Surfaces on Plasma-Treated Medical-Grade PVC: Irganox Coating*, Plasma Processes and Polymers, 7, (2010), 504-524 [cit. 2016-02-21]
- [23] ASADINEZHAD A., NOVÁK I., LEHOCKÝ M., SEDLARÍK V., JUNKAR I., SÁHA P. AND CHODÁK I.: *An in vitro Bacterial Adhesion Assessment of Surfa-*

- ce-Modified Medical-Grade PVC*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 77 2011 [cit. 2016-02-21]
- [24] HOLLAHAN, J. R. et al. *Attachment of amino groups to polymer surfaces by radiofrequency plasmas* [online]. 1968, [cit. 2016-02-21]. Vol. 13, is. 4, s. 807-866. DOI: 10.1032/app.1969.070130419.
- [25] CHU P.K., CHEN J.Y. WANG L., HUANG N., *Plasma-surface modification of biomaterials*, Material science and Engineering R 36 (2009), pp. 143-296 [cit. 2016-02-21]
- [26] SEAL B.L., OTERO T., PANTCH A.: *Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration*, Material science and Engineering R 34 (2009), pp. 147-230 [cit. 2016-02-21]
- [27] KRČMA, František. *Plazma za sníženého tlaku, vlastnosti a aplikace. Zpravodaj ČVS* [online]. 2008 [cit. 2016-02-21]. Dostupné z: http://www.vakspol.cz/b/downloads/zpr26_1-2.pdf
- [28] DAYAN, Nava. *Skin Aging Handbook – An Integrated Approach to Biochemistry and Product Development* [online databáze]. William Andrew Publishing, c2008 [cit. 2016-02-21]. Chap. 7. ISBN 978-0-8127-1979-9. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpHAIAB4/viewerType:toc/root_slug:skin-aging-handbook-an/url_slug:skin-ageing-handbook-an
- [29] BURŠÍKOVÁ, V. et al. *Surface Energy Evaluation of Plasma Treated Materials by Contact Angle Measurement*. 1.vydání. Masarykova univerzita Brno. 2005. ISBN 80-210-3373-3 [cit. 2016-02-21]
- [30] MICHLER, Goerg, H., Baltá-CALLEJA a J. FRANCISCO. *Nano-and Micromechanics of Polymers – Structure Modification and Improvement of Properties* [online databáze]. Hanser Publishers, c2013 [cit. 2016-02-21]. ISBN 978-1-63670-196-8. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpNMPSMIPQ/viewerType:toc/root_slug:nano-micromechanics-polymers/url_slug:nano-micromechanics-polymers

- [31] NEBESÁŘOVÁ, J. *Paru.cas.cz: Elektronová mikroskopie pro biology* [online]. c2003 [cit. 2016-02-21]. Dostupné z: <http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/17.0.html>
- [32] CAO, Guozhong. *Nanostructures and Nanomaterials – Synthesis, Properties and Applications* [online databáze]. World Scientific, c2004 [cit. 2016-02-21]. ISBN 978-1-59114-991-9. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpNNSPA008/viewerType:toc/root_slg:nanostructures-nanomaterials/url_slug:nanostructures-nanomaterials
- [33] VLADKOVA, Todorka G. *Surface Engineering of Polymeric Biomaterials* [online databáze]. Smithers Rapra Technology, c2013 [cit. 2016-02-21]. ISBN 978-1-62870-041-2. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpSEPB0007/viewerType:toc/root_slg:surface-engineering-polymeric/url_slug:surface-engineering-polymeric
- [34] DARBY, Ian A. a Tim D. HEWITSON. *Fibroblast Differentiation in Wound Healing and Fibrosis* [online]. 2008, vol. 267, s. 183-179 [cit. 2016-02-21]. DOI: 10.1016/S0064-7696(07)57004-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007476960757004X>
- [35] ALBERS, Bruce. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York: Garland Science, c2003, 1423 s. ISBN 0-8153-3218-1. [cit. 2016-02-21]

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	kyselina akrylová
AFM	Mikroskopie atomárních sil
ATR	zeslabená totální reflexe
DFM	mikroskopie dynamických sil
EFM	mikroskopie elektrostatických sil
eV	Elektronvolt
FMM	mikroskopie modulovaných sil
GA	glukosamin
Hz	Hertz
IČ	Infračervené spektroskopie
LFM	mikroskopie bočních sil
MFM	mikroskopie magnetických sil
NIH/3T3	linie z embryonálních myších fibroblastů
Pa	Pascal
PDM	mikroskopie fázových rozdílů
PLA	polylaktid
ROP	Ring Opening Polymerization
RPM	počet otáček za minutu
sccm	standardní kubický centimetr za minutu
SEE System	surface energy evaluation system
SEM	Rastrovací elektronová mikroskopie
SThM	termální mikroskopie
TDFM	mikroskopie příčných sil
UFM	mikroskopie ultrazvukových sil
UV	ultrafialové záření
XPS	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 1. Vzorec polylaktidu 14
- Obr. 2.: Schéma reaktoru s korónovým výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. korónový výboj, 4. pulsní generátor. 23
- Obr. 3.: Schéma reaktoru s dielektrickým bariérovým výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. výboj, 4. pulsní nebo frekvenční generátor. A, s jednou a B, se dvěma vrstvami dielektrika. 24
- Obr. 4.: Schéma reaktoru s povrchovým výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. výboj, 4. frekvenční generátor. 24
- Obr. 5.: Schéma reaktoru s koplánárním výbojem: 1. katoda, 2. anoda, 3. výboj, 4. frekvenční generátor. 25
- Obr. 6.: Schéma reaktoru s plazmovou tryskou: 1. přívod plazmového plynu, 2. katoda, 3. anoda, 4. dávkovač práškového vzorku pro depozici, 5. plazma, 6. vrstva po depozici, 7. substrát. 25
- Obr. 7.: Schéma reaktoru s radiofrekvenčním (kapacitně buzeným) výbojem: 1. budící zdroj, 2. plášť reaktoru, 3. radiofrekvenční elektroda, 4. uzemněná elektroda, 5. přívod plazmového plynu, 6. přívod k vývěvě, 7. výboj. 26
- Obr. 8.: Schéma reaktoru s magnetronovým výbojem: 1. magnet, 2. katoda, 3. anoda, 4. plazma. 26
- Obr. 9.: Schéma fluidního reaktoru s pro opracování práškových vzorků: 1. přívod práškového vzorku, 2. dávkovač (turniket), 3. přívod prášku do reaktoru, 4. přívod plazmového plynu, 5. polopropustná porézní membrána, 6. plazma, 7. mechanický odlučovač (cyklon), 8. výstup opracovaného prášku, 9. výstup plazmového plynu. 27
- Obr. 10.: Schéma reaktoru s pro opracování práškových vzorků s rotujícím bubnem: 1. plášť reaktoru, 2. rotující buben, 3. lopatky unášející prášek ve směru rotace, 4. směr rotace bubnu, 5. práškový vzorek během opracování, 6. plazma. 27
- Obr. 11.: Plazmochemický reaktor s radiofrekvenčním zdrojem. 31
- Obr. 12.: Proces vícestupňového procesu úpravy zahrnující plazmovou úpravu polymerního materiálu, vytvoření povrchových funkčních skupin, jejich vratnou reakci na metasta-

bilní radikály, roubování kyseliny akrylové a navázání biomolekuly fyzikálními vazbami na bázi mezimolekulových interakcí [21].	32
Obr. 13.: Měřicí zařízení „SEE System“ pro měření kontaktních úhlů a vyhodnocování povrchové energie.	35
Obr. 14.: Měřicí zařízení pro měření rentgenové fotoelektronové spektroskopie.	36
Obr. 15.: Měřicí zařízení pro měření rastrovací elektronové mikroskopie.	37
Obr. 16.: Měřicí zařízení pro měření ATR – FTIR spektroskopie.	40
Obr. 17.: Měřicí zařízení pro měření mikroskopie atomárních sil.	43
Obr. 18: Optický mikroskop Olympus IX 81.	44
Obr. 19.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro neupravený PLA vzorek.	48
Obr. 20.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro plazmově opracovaný PLA vzorek.	49
Obr. 21.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro PLA vzorek po roubování AA.	49
Obr. 22.: Snímek rastrovací elektronové mikroskopie pro PLA vzorek modifikovaný GA.	50
Obr. 23.: Spektra infračervené spektroskopie měřených vzorků.	51
Obr. 24.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro neupravený PLA vzorek.	52
Obr. 25.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro plazmově opracovaný PLA vzorek.	53
Obr. 26.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro PLA vzorek po roubování AA.	53
Obr. 27.: Snímek mikroskopie atomárních sil pro PLA vzorek modifikovaný GA.	54
Obr. 28.: Mikroskopický snímek buněk kontrolního vzorku.	56
Obr. 29.: Mikroskopický snímek buněk neupraveného PLA vzorku.	56
Obr. 30.: Mikroskopický snímek buněk plazmově upraveného PLA vzorku.	57
Obr. 31.: Mikroskopický snímek buněk PLA vzorku po roubování AA.	57
Obr. 32.: Mikroskopický snímek buněk PLA vzorku modifikovaného GA.	58

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Hodnoty kontaktních úhlů pro jednotlivé vzorky (kde <i>W</i> je deionizovaná voda, <i>DI</i> je diiodomethan a <i>E</i> je ethylenglykol).	46
Tab. 2: Hodnoty povrchových energií pro jednotlivé vzorky.	47
Tab. 3: Výsledná data XPS analýzy pro jednotlivé vzorky.	47
Tab. 4: Výsledky měření cytotoxicity.	55