

Příprava mikro-strukturovaných povrchů na bázi polysacharidu

Bc. Martina Bradáčová

Diplomová práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martina Bradáčová**

Osobní číslo: **T15253**

Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**

Studijní obor: **Inženýrství polymerů**

Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Příprava mikro-strukturovaných povrchů na bázi polysacharidu**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární rešerši na dané téma.
2. Provedte experimenty věnované cílené změně mikro-struktury biopolymerních folií připravených z roztoků metodou odlévání.
3. Získané povrchy charakterizujte dostupnými technikami, AFM, SEM, profilometrie, tahové zkoušky.
4. Výsledky přehledně diskutujte a zhodnoťte.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. Munoz-Bonilla, A.; Fernandez-Garcia, M.; Rodriguez-Hernandez, J., Towards Hierarchically Ordered Functional Porous Polymeric Surfaces Prepared by the Breath Figures Approach. *Prog. Polym. Sci.* 2014, 39 (3), 510-554.
2. Minařík, A.; Smolka, P.; Lapčík, L., Preliminary Investigation of Factors Determining Self-Organised Structures Preparation in Polymer Layers. *Int. J. Heat Mass Transfer* 2011, 54 (17-18), 4135-4142.
3. Xue, L. J.; Zhang, J. L.; Han, Y. C., Phase Separation Induced Ordered Patterns in Thin Polymer Blend Films. *Prog. Polym. Sci.* 2012, 37 (4), 564-594.
4. Brundle, C. R., Evans, Ch. A. jr. Wilson, S. *Encyklopedia of Materials Characterization, Surfaces, Interface, Thin Films.* Elsevier, 1992. ISBN 0-7506-9168-9
5. Temenoff, J.S.: *Biomaterials: The Intersection of Biology and Materials Science*, Rice University, 2009, ISBN-13: 9780130097101

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Antonín Minařík, Ph.D.

Ústav fyziky a mater. inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

2. ledna 2017

Termín odevzdání diplomové práce:

10. května 2017

Ve Zlíně dne 1. března 2017



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



doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.
ředitel ústavu

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 užít 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 19.5.2017.

Bradáčová

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 nevdělečně 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 užít 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

Povrch filmů hyaluronanu sodného byl texturován metodou fázové separace iniciované směsí dobrého a špatného rozpouštědla. Povrchová úprava filmů probíhala za rotace na spin-coateru. Pro úpravu povrchu byla použita voda, n-butanol a isopropylalkohol. Připravené porézní struktury vznikající po odpaření rozpouštědel byly charakterizovány pomocí mikroskopie atomárních sil, profilometrie, elektronové mikroskopie a tahové zkoušky. V závislosti na nastavení procesních parametrů docházelo ke změně počtu a velikosti vznikajících pórů. Bylo zjištěno, že možnost vzniku povrchové struktury determinuje poměr složek dobrého a špatného rozpouštědla spolu s vhodně zvolenou časovou sekvencí jejich dávkování. Velikost a počet vznikajících pórů je mimo to ovlivněn molekulovou hmotností polymeru, její distribucí, dávkováním vody a rychlostí rotace spin-coateru. Mimo to změna povrchové textury ovlivňuje mechanické vlastnosti připravených filmů.

Klíčová slova: hyaluronan sodný, povrch, fázová separace, spin-coating, texturizace, póry, mikroskopie atomárních sil

ABSTRACT

Surface of sodium hyaluronate films was textured by phase separation method initialized by a good and poor solvent mixture. The film surface treatment was performed on spin-coater under rotation. The liquids used for the surface treatment were water, n-butanol and isopropylalcohol. Prepared porous structures occurring after solvent evaporation were characterized by atomic force microscopy, profilometry, electron microscopy and tensile test. According to the process parameters adjustment, the pore number and size varies. It was recognized that the possibility of surface structure rising is determined by the good and poor solvent component ratio along with appropriately chosen dosing time sequence. Moreover, developing pore number and size is influenced by polymer molecular weight, its distribution, water dosing and spin-coater rotation speed. Furthermore, the change of surface texture influences the mechanical properties of prepared films.

Keywords: sodium hyaluronate, surface, phase separation, spin-coating, texturing, pores, atomic force microscopy

Ráda bych poděkovala vedoucímu práce Ing. Antonínu Minaříkovi, Ph.D. za veškerou pomoc a rady při tvorbě práce. Poděkování patří také Elišce Bognerové, která mi pomohla při spoustě laboratorních experimentů. Svému příteli a celé rodině bych chtěla poděkovat za morální a psychickou podporu věnovanou po celou dobu studia.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 VLV PVRCHU POLYMERU NA APLIKAČNÍ MOŽNOSTI	12
1.1 PŘÍKLADY APLIKACÍ STRUKTUROVANÝCH PVRCHŮ.....	12
1.1.1 Superhydrofóbní povrchy.....	12
1.1.2 Optické, vodivé a magnetické aplikace.....	13
1.1.3 Šablony.....	13
1.1.4 Membrány.....	14
1.1.5 Lepené spoje.....	15
1.1.6 Biomedicínální aplikace.....	15
1.1.6.1 Chemické složení.....	16
1.1.6.2 Modifikace substrátu.....	17
1.1.6.3 Elektrický náboj a vodivost povrchu substrátu.....	17
1.1.6.4 Drsnost a morfologie povrchu materiálu.....	17
2 ZPŮSOBY ÚPRAV POLYMERNÍCH PVRCHŮ	20
2.1 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ METODY.....	20
2.1.1 Kovalentní povlaky povrchu.....	20
2.1.1.1 Ošetření plazmatem.....	20
2.1.1.2 Chemické napařování.....	21
2.1.1.3 Fyzikální napařování.....	21
2.1.1.4 Radiační a světelné roubování.....	22
2.1.1.5 Samoorganizované monovrstvy.....	22
2.1.2 Nekovalentní povlaky povrchu.....	23
2.1.2.1 Pvlaky tvořené odléváním.....	23
2.1.2.2 Langmuir-Blodgett filmy.....	24
2.1.2.3 Povrchově aktivní aditiva.....	25
2.1.3 Modifikace bez tvorby povlaku.....	25
2.1.3.1 Úprava pomocí iontového svazku.....	25
2.1.3.2 Příprava konverzních povlaků.....	25
2.1.3.3 Bioaktivní sklokeramika.....	25
2.1.4 Laserové metody modifikace.....	26
2.2 BIOLOGICKÉ METODY.....	26
2.2.1 Kovalentní povlaky povrchu.....	26
2.2.2 Nekovalentní povlaky povrchu.....	27
2.2.3 Imobilizované enzymy.....	27
3 METODIKA FÁZOVÉ SEPARACE	28
3.1 FYZIKÁLNÍ MECHANIZMUS VISKOELASTICKÉ FÁZOVÉ SEPARACE.....	30
3.2 METODA BREATH FIGURE.....	30
3.2.1 Princip metody.....	31
3.2.1.1 Tvorba pravidelné struktury.....	32
3.2.1.2 Princip metody bez proudění vzduchu.....	32
3.2.1.3 Princip metody v suchém prostředí.....	33
3.3 PRINCIP TEXTURIZACE PVRCHU POMOCÍ SMĚSÍ ROZPOUŠTĚDEL.....	35
4 POLYSACHARIDY	37

4.1	KYSELINA HYALURONOVÁ	37
II	PRAKTICKÁ ČÁST	39
5	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE POLYMERNÍCH FILMŮ	40
5.1	POUŽITÉ MATERIÁLY	40
5.2	POUŽITÉ METODY	41
5.2.1	Příprava roztoků polysacharidu.....	41
5.2.2	Odlévání polymerních filmů	41
5.2.2.1	Nosný substrát a jeho úprava	41
5.2.2.2	Sušení.....	42
5.2.3	Povrchová úprava filmů	43
5.2.4	Charakterizace povrchů.....	43
5.2.4.1	Vysekávání vzorků	44
5.2.4.2	Mikroskopie atomárních sil	44
5.2.4.3	Skenovací elektronová mikroskopie.....	46
5.2.4.4	Profilometrie	46
5.2.4.5	Tahová zkouška	47
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	48
6.1	PŘÍPRAVA MIKROPORÉZNÍCH FILMŮ NA BÁZI HYALURONANU SODNÉHO	48
6.1.1	Vliv poměru rozpouštědel ve směsi	48
6.1.2	Vliv časové sekvence dávkování roztoku	51
6.1.3	Vliv tloušťky nabitné povrchové vrstvy.....	54
6.1.4	Vliv počtu nanášených dávek směsi rozpouštědel	63
6.1.5	Vliv rychlosti rotace spin-coateru	68
6.1.6	Vliv střední molekulové hmotnosti	72
6.1.7	Vliv distribuce molekulové hmotnosti	76
6.1.8	Vliv povrchové úpravy na mechanické vlastnosti filmu.....	81
	ZÁVĚR	87
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	88
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	98
	SEZNAM OBRÁZKŮ	99
	SEZNAM TABULEK.....	103

ÚVOD

Kyselina hyaluronová se hojně vyskytuje ve všech živých organismech. Plní zde řadu funkcí, je součástí extracelulární matrix, funguje jako opora buněk, atd. Z tohoto důvodu nachází své uplatnění v biomedicíně, tkáňovém inženýrství a farmacii.

Z literatury je známo, že proces diferenciací kultivovaných kmenových buněk může záviset na tvaru a chemickém složení nosného substrátu. Nejen z tohoto důvodu je potřeba kontrolovat povrchovou texturu takto aplikovaných materiálů. V praxi se cíleně upravuje vzhled povrchů materiálů celou řadou metodik. Jednou z nich je fázová separace vyvolaná působením směsi dobrého rozpouštědla. Tento nebo podobný postup úpravy povrchu se aplikuje na celou řadu polymerních materiálů, nicméně chybí studie věnované texturizaci povrchu polysacharidů.

První kapitola teoretické části práce se zabývá příklady aplikací povrchově upravených materiálů. Druhá rozebírá možnosti přípravy texturovaných povrchů fyzikálně-chemickými a biologickými metodami. Třetí kapitola řeší s ohledem na zaměření této práce problematiku fázové separace, metodu Breath Figure a působení směsi dobrého a špatného rozpouštědla na povrch polymeru. V poslední kapitole je stručně popsán upravovaný materiál, tedy hyaluronan sodný.

Praktická část pojednává o vlivu jednotlivých procesních parametrů na tvorbu povrchových pórů ve filmu z hyaluronanu sodného. Je zde popsán proces texturizace tohoto materiálu metodou časově sekvenované fázové separace špatného rozpouštědla v nabotnané povrchové vrstvě na spin-coateru. Diskutovanými parametry jsou molekulová hmotnost polymeru a její distribuce, tloušťka nabotnané povrchové vrstvy, dávkování směsi rozpouštědel, jejich objemový poměr ve směsi, časová sekvence dávkování a rychlost rotace spin-coateru. Připravené filmy byly charakterizovány pomocí mikroskopu atomárních sil, skenovacího elektronového mikroskopu a profilometru. Mimo to jsou zde uvedeny výsledky z tahových zkoušek pro vybrané filmy.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VLIV POVRCHU POLYMERU NA APLIKAČNÍ MOŽNOSTI

Polymerní materiály nachází své uplatnění v mnoha odvětvích. Stále častěji se používají jako náhrada kovů, skla nebo dřeva. Polymery lze snadno připravit, zpracovat a následně upravit tak, aby bylo dosaženo požadovaných vlastností pro konkrétní aplikace.

Povrch látky specifikuje finální vlastnosti materiálu. Určuje, jak bude interagovat s okolním prostředím, zda dojde k adhezi nebo naopak k odpuzování látek. Hlavními parametry, které ovlivňují vlastnosti povrchu, jsou chemické složení, povrchová energie, smáčivost, morfologie a drsnost povrchu, tuhost a deformovatelnost substrátu, elektrický náboj a vodivost povrchu materiálu. Uvedená kritéria jsou například vysoce důležitá pro materiály používané ke kultivaci buněk, přičemž podmiňují, jaký typ buněk bude na daném substrátu schopen buněčné proliferace a diferenciaci [1].

1.1 Příklady aplikací strukturovaných povrchů

Mikrotexturované povrchy nacházejí uplatnění v oblastech elektroniky, optiky, biotechnologie [2, 3], přípravy mikroelektroniky, výroby solárních panelů, fotonických krystalů, aj. [4] Povrch polymerů lze upravit fyzikálními nebo chemickými metodami [5].

1.1.1 Superhydrofóbní povrchy

Jednou ze zásadních otázek, jež jsou v posledních letech předmětem výzkumu, je úprava smáčivosti povrchu tak, aby se na povrchu neusazovaly nečistoty, bakterie, aj. S rozvojem nanotechnologií je na toto téma publikováno čím dál více studií [6-8]. Velmi často se tyto studie inspiroují materiály z přírody, jako je například lotosový list, který přirozeně vykazuje superhydrofóbní chování, s čímž je spojen samočistící efekt. Smáčivost povrchů se běžně stanovuje pomocí měření kontaktního úhlu mezi pevnou látkou a kapalinou (vodou). Jestliže má povrch kontaktní úhel nižší než 90° , je označován jako hydrofilní. Pokud je vyšší než 90° , jedná se o hydrofóbní povrch. V případě, že je kontaktní úhel větší než 150° , je povrch označován jako superhydrofóbní [9].

Povrchová energie a drsnost jsou hlavní faktory, které určují, zda bude povrch smáčen nebo ne [9]. Ke zvýšení kontaktního úhlu může dojít čistě v důsledku mikrodrsnosti povrchu [5].

Hydrofóbní povrchy mohou být připraveny pomocí litografických metod, chemického napáování, sol-gel procesů, plazmatického leptání, laserové texturizace a jiných [9].

1.1.2 Optické, vodivé a magnetické aplikace

Filmy s uspořádanou porézní 3D strukturou, které mají velikost vzoru srovnatelnou s rozsahem vlnových délek elektromagnetických vln ve viditelném spektru, jsou nazývány filmy inverzních opálů. Materiály s tímto uspořádáním mohou být použity jako fotonický zakázaný pás pro kontrolu šíření světla nebo úpravu struktury pásu [5].

Fotonické chování je ovlivňováno prostorovou periodicitou struktur a indexem lomu materiálů. Výsledné vlastnosti závisí také na velikosti pórů a morfologii povrchu. V případě, že je použita metodika „Breath Figures“ pro přípravu filmů (princip bude podrobně popsán v následujících kapitolách a bude jí věnována vyšší pozornost s ohledem na hlavní téma této práce), je možné vytvořit velký rozsah velikosti pórů a tím umožnit specifické chování systému v infračervených, viditelných, ultrafialových, a dokonce i měkkých rentgenových vlnových délkách [5].

Vytvořením strukturovaných filmů na různém podkladu může být dosaženo difrakce světla, což je důsledkem interference slunečního světla na periodické struktuře materiálu. Úpravu povrchů metodou Breath Figures lze využít pro přípravu antireflexních povlaků v blízké infračervené oblasti [10]. Například pro přípravu strukturovaných filmů polystyrenu s obsahem nanočástic zlata bylo využito kombinace fázové separace nanočástic a formace pomocí Breath Figure. Spojením texturizace filmu a plnění částicemi se rozšiřuje uplatnění texturovaných povrchů [11]. Dále mohou být filmy připravené pomocí metody Breath Figure využity pro zlepšení světelné účinnosti LED světel [12], jako aktivní vrstvy optoelektronických zařízení a v případě přídavku krystalů zeolitu také jako elektronické nebo snímací zařízení. Mohou sloužit pro přípravu vodivých porézních materiálů za použití standardních polymerů ve spojení s vodivými polymery. Tímto přístupem lze zlepšit mechanické vlastnosti a zpracovatelnost, které jsou jinak u vodivých polymerů velmi nízké [5]. Použitím jiných polymerů (např. poly(2,5-bis[3-(N,Ndiethylamino)-1-oxapropyl]-1,4-fenylenvinylenu) mohou být vytvořeny filmy s potenciální aplikací na fotovoltaická okna, senzory nebo organické solární články [13].

1.1.3 Šablony

Aby bylo docíleno porézní struktury, musí být u některých materiálů využito šablony pro přenesení vzoru z vytvořeného filmu (např. u karbonových materiálů). V tomto procesu může být využito tvrdých nebo měkkých šablon. Pomocí tvrdých šablon je karbon upraven jednoduše, ale vyžaduje prefabrikaci a následné odstranění šablony, čímž se zvyšují ná-

klady na celý proces. V případě surfaktantů a blokových kopolymerů se využívá měkkých šablon, aby byly vytvořeny póry pomocí hydrofóbních nebo hydrofilních interakcí. Měkké šablony není nutné snímat z povrchu, ale mohou být zapojeny v rámci karbonizace za vysokých teplot, což zvyšuje efektivitu z hlediska snižování nákladů a šetrnosti k životnímu prostředí [14].

Pro povrchovou úpravu kovů je používán zesíťovaný polymerní film s daným vzorem. Na upravený polymer je napařován kov, následně je s pomocí adhezivní pásky sejmuto a tím je získán texturovaný povrch kovové vrstvy. Filmy upravené tímto postupem mohou být aplikovány v elektronice a fotonice. Další možností je přímo upravit povrch materiálu pomocí metody Breath Figure. Stejným postupem se připravují také vysoce uspořádané keramické mikrostruktury s použitím pyrolýzy kopolymeru zesíťovaného pomocí UV záření. Polymerní vrstvy mohou být obdobně připraveny nanášením na vzorovanou vrstvu s následným odstraněním vrstvy odloupením, rozpuštěním nebo pyrolýzou. Pokud je film odstraňován rozpouštěním, může dojít k reakci (například k tvorbě oxidů kovů), které mohou ovlivňovat výsledné vlastnosti. Tomuto jevu je třeba předcházet použitím jiné metody pro odstranění vrstvy [15].

Otiskem filmů vytvořených pomocí metody Breath Figure jsou mimo jiné připravovány mikročochky. Využívají se v odvětví fotoniky, elektroniky či biologie v aplikacích zahrnujících spojování optických kabelů, jako homogenizéry světla v LCD projektorech, atd. [16-21]

1.1.4 Membrány

Pro přípravu membrán pro různé aplikace lze opět použít metodu Breath Figure. Jednou z možností využití takto připravené membrány je separace vody od oleje [22]. Touto metodou lze rovněž připravovat membrány do palivového článku [5].

Mikrosíta můžeme charakterizovat jako pokročilé filtrační membrány. Mají jednotnou velikost pórů, vysokou hustotu rozmístění pórů a tloušťka membrány je nižší než průměr póru [23]. Díky přístupu Breath Figure vznikají póry pravidelně uspořádané přes celou plochu mikrosíta, což zvyšuje i odolnost vůči mechanickému namáhání. Bylo zjištěno, že vysoce jednotná membrána připravená na rozhraní vzduch/led umožňuje s velkým rozlišením separaci na základě velikosti. Díky metodě přípravy může být také přenesena na jakýkoliv jiný povrch [24]. Mikrofiltrační membrána připravená na ledovém substrátu metodou Bre-

ath Figure vykazuje vyšší permeabilitu než membrána odlévaná na skleněný substrát, protože led zvyšuje kondenzaci vodních kapek [25].

1.1.5 Lepené spoje

Při tvorbě lepeného spoje hrají významnou roli vlastnosti povrchu, zahrnující adhezi, kohezi a smáčivost. Tyto faktory ovlivňují možnost vytvoření lepeného spoje a jeho kvalitu. Vlastnosti lepidla určují, zda je povrchová vrstva správně připravena tak, aby vznikl permanentní nebo jen dočasný lepený spoj. Technologickým operacím zaměřeným na přípravu a obdržení specifických vlastností povrchu a povrchové vrstvy materiálu, stejně jako metodám modifikace vlastností, je připisována vysoká důležitost. Umožňují například získání vhodné povrchové energie a geometrických vlastností, které pozitivně ovlivňují adhezi. Tyto operace jsou rozhodující z hlediska tvorby a kvality hybridních lepených spojů, které jsou tvořeny materiály o různých fyzikálních, chemických i mechanických vlastnostech. Na základě požadavků lze připravit povrch lepeného materiálu nebo měnit vlastnosti lepidla, čímž se zvyšuje nebo snižuje adheze látky k substrátu. Modifikace vlastností je prováděna podle konkrétního typu materiálu tvořícího lepený spoj [26].

Pevnost vzniklého spoje může být ovlivněna geometrickou strukturou povrchu materiálu. Drsnost povrchu je důležitá z pohledu mechanické adheze, která přispívá k celkové adhezi. Před lepením je proto vhodné stanovit strukturu lepeného povrchu, například na skenovacím elektronovém mikroskopu. Aby byl vytvořen kvalitní lepený spoj, musí být splněn předpoklad dobré smáčivosti substrátu daným lepidlem [26].

1.1.6 Biomedicinální aplikace

V oblasti tkáňového inženýrství [5] a transplantační medicíny [1] je důležitý vývoj scaffoldů, tedy nosičů pro kultivaci buněk [5]. V posledních letech se stávají více významnými syntetické materiály, zčásti se jedná o syntetické polymery. Syntetické nosiče buněk by měly fungovat stejně jako přirozená extracelulární matrix. Aby byly vytvořeny pokročilé biosyntetické tkáně a orgány, nemělo by docházet k pouhému pasivnímu tolerování buňkami, ale je požadováno, aby aktivně podněcovaly specifické buněčné odpovědi [1]. Proto by měla být zajištěna přilnavost buněk prostřednictvím vazeb mezi receptory buněčné adheze (integriny) a aktivními částmi molekul extracelulární matrix (specifické sekvence aminokyselin) [27]. Interakce s buňkami [5] a v důsledku toho rozsah a síla buněčné adheze silně závisí na fyzikálních a chemických vlastnostech povrchu biomateriálu, čímž je

následně určována proliferace a diferenciaci buněk [1]. K hlavním požadavkům na tento typ biomateriálu tedy patří biokompatibilita, vhodné mechanické vlastnosti, ale také vysoká pórovitost [5].

Substráty pro kultivaci buněk mohou být rovněž připraveny například pomocí techniky Breath Figure [1].

Jednotlivé parametry, které ovlivňují výsledné vlastnosti povrchu materiálu a jeho schopnosti interagovat s buňkami, jsou diskutovány v následujících podkapitolách.

1.1.6.1 Chemické složení

Na základě chemického složení materiálu je určována hydrofobita či hydrofilita povrchu. Syntetické materiály vykazují příliš vysokou hydrofobitu, čímž jsou nevhodné pro aplikaci jako scaffoldy. Vyšší smáčivosti lze dosáhnout fyzikálními metodami, jako je ozáření ionty, plazmatem nebo UV-zářením. Druhou možností jsou metody chemické, tedy leptání pomocí kyselin a zásad. V průběhu tohoto postupu však může dojít k retenci toxických chemikálií a k jejich následnému uvolňování z materiálu [28-32].

V případě, že se v materiálu vyskytují funkční skupiny s obsahem kyslíku, stává se povrch více smáčivým, lepkavějším a tím více přístupným pro adhezi proteinů extracelulární matrix (fibronektin, kolagen a další). Zároveň dojde k oslabení absorpce molekul neadhezivních pro buňky (albumin), protože upřednostňují vazbu k méně oxidovaným či více hydrofóbním povrchům [33, 34]. Buňky většinou adherují přednostně k hydrofilnějším materiálům a jsou rozprostřeny po celé ploše tohoto substrátu. To je dáno prostorovou konformací adsorbovaných molekul [1]. Proteiny na smáčivých površích zaujímají více rozvinutou flexibilní konformaci, která stericly umožňuje přístup pro receptory buněčné adheze. Materiál ovšem nesmí být vysoce hydrofilní, neboť v tomto případě je vytvořeno velké množství slabých vazeb a v pozdějším stádiu kultivace se mohou navázat další buňky a následně může dojít ke spontánnímu oddělení od substrátu [35-37]. Jestliže je materiál příliš hydrofóbní, jsou molekuly proteinů adsorbovány v denaturovaném a tuhém stavu. Tato konformace není vhodná pro vytvoření vazby s buňkami, protože specifická místa na těchto molekulách jsou méně přístupná. Pro kultivaci je tedy vhodné zvolit mírně nebo středně hydrofilní materiál, kde bude adheze buněk optimální [1].

1.1.6.2 Modifikace substrátu

Polymerní substrát tvoří v průběhu ozařování reaktivní místa, jako jsou radikály, konjugované dvojné vazby mezi uhlíkovými atomy a skupinami obsahujícími kyslík. Tato místa mohou být využita při očkování různých molekul a nanočástic, které následně ovlivňují adhezi, růst, fenotypové zrání a fungování buněk [1].

Působením plazmatu lze dosáhnout čtyř hlavních efektů, a to čištění povrchu, leptání nebo odstranění povrchu, síťování a modifikace chemické struktury povrchu. Ošetření plazmatem vede ke štěpení C–C a C–H vazeb, což zapříčiňuje rozdělení makromolekul a vznik volných radikálů a konjugovaných dvojných vazeb na polymerním řetězci. Degradací produkty makromolekul s kyslíkem, který je přítomen v komoře reaktoru, a vytváří oxidované struktury (karbonylové, karboxylové a esterové skupiny), které zvyšují polaritu a smáčivost povrchu [32, 38]. Po vystavení čistých polymerů plazmatu vykazuje povrch různou morfologii a drsnost [39]. Například v jednom z popsáných experimentů byl povrch polymeru po aktivaci plazmatem naočkován polyethylenglykolem (PEG) a následně byly na tomto povrchu kultivovány buňky hladké cévní svaloviny krysy. Kultivace dosahuje mnohem lepších výsledků než při pouhém oplazmování polymeru. Přídavkem PEG je dosaženo vyšší adheze a proliferace naočkováných buněk a navíc dochází ke zlepšení proliferace s vyšší molekulovou hmotností této látky [40].

1.1.6.3 Elektrický náboj a vodivost povrchu substrátu

Elektrický náboj a vodivost povrchu materiálu jsou také významné parametry pro kolonizaci buňkami. Opakovaně bylo dokázáno, že buňky lépe adherují k pozitivně nabitým povrchům. Důvodem je negativní náboj v molekulách extracelulární matrix, které zprostředkovávají adhezi buněk [1].

Odlišný elektrický náboj ovlivňuje prostorovou orientaci a funkčnost adsorbovaných molekul, obdobně jako u různého chemického složení povrchu [1]. Negativní náboj nesnižuje pouze adhezi mezi buňkou a materiálem, ale i mezi buňkami navzájem [41].

1.1.6.4 Drsnost a morfologie povrchu materiálu

Drsnost povrchu může být rozdělena do několika kategorií vzhledem k rozmezí nerovností materiálu. Makrodrsnost materiálu je charakterizována nerovnostmi rozeznatelnými pomocí lidského oka, tj. alespoň od 100 μm po milimetry a větší rozměry. Mikrodrsnost může být definována nepravidelností od 1 do 100 μm . Submikronová drsnost se pohybuje v roz-

mezi 100 nm až 1 μm a nanodrsnost je specifická pro nerovnosti menší než 100 nm [42-44]. Každý typ povrchové drsnosti má specifický vliv na chování implantátů a také na adhezi buněk [1].

Makroskopická drsnost se jeví jako příznivá pro kultivaci buněk, protože díky relativně velkým nerovnostem povrchu může být zlepšeno mechanické ukotvení implantátu do okolní kostní tkáně. Zároveň jsou však tyto nerovnosti příliš velké na to, aby byly pocítny buňkami, to znamená, že buňky mají spoustu prostoru pro růst na nerovnostech nebo mezi nimi. Proto většinou makrodrsnost neomezuje adhezi a rozšíření buněk na povrchu [1].

Mikrodrsnost povrchu je spornější faktor ovlivňující chování buněk na syntetických materiálech. Buňky, které jsou typicky studovány na těchto površích, tj. buňky savců závislé na ukotvení, zahrnující cévní tkáň nebo kosti, mají většinou průměr mezi 10 a 50 μm v případě, že jsou ve formě suspenze, kde zaujímají kulovitý tvar. Pokud dochází k adhezi a rozšíření buněk po povrchu materiálu, plocha jejich rozprostření může dosáhnout od několika stovek až po několik tisíc μm^2 . Ve své podstatě jsou proto buňky citlivé na mikrotopografii jejich prostředí. Mnoho studií uvádí, že mikrodrsnost významně ovlivňuje reakci buněk na materiál. Některé studie dokládají, že mikroskopická drsnost povrchu má pozitivní vliv na adhezi, růst a zrání buněk, zatímco v některých studiích je tento vliv klasifikován jako negativní [1]. Nicméně mechanismus tohoto dvojího efektu mikrodrsnosti povrchu na kolonizaci buněk stále zůstává nejasný. Jeden z důvodů je nedostatek studií této proměnné [45, 46]. Zároveň může být tento problém spojen s obtížností definování drsnosti povrchu. Nejčastěji používaným parametrem pro charakterizaci povrchové drsnosti je R_a , tj. průměrná výška mezi vyvýšeninou (peakem) a prohlubní. Toto měření však neudává žádné informace o typu topografie povrchu, například o tvaru nerovností (pyramidy, kužely, hřebeny, drážky, kulovité póry), o zakřivení prohlubní a zejména o ostroty peaků, která může ztěžovat adhezi a šíření buněk [46-48]. Je tedy zřejmé, že data od rozdílných výzkumných skupin nemohou být vždy srovnávána [1].

Submikronová drsnost povrchu materiálu obdobně vykazuje duální efekt na adhezi, růst, životaschopnost a zrání buněk. Ve většině případů však převládá pozitivní vliv. Působení struktury povrchu se liší podle typu buněk naočkovaných na substrát. Jestliže má buňka větší rozměry a plochou morfologií, může být její následný růst zamezen v důsledku mikroskopických nerovností povrchu [37].

Uspořádání povrchu, které je vhodné pro buněčnou adhezi, růst a zrání buněk, je jednoznačně nanoskopická drsnost. Důvodem je podobnost nanostruktury uspořádání přirozené extracelulární matrix. V tomto prostředí se molekuly adhezivních proteinů adsorbují v náležité geometrické orientaci, čímž zajišťují receptorům buněčné adheze přístup ke specifickým místům na molekulách extracelulární matrix [1].

Na základě těchto znalostí lze říci, že nanodrsnost povrchu hraje společně s mírnou hydrofilitou významnou roli při kultivaci buněk. Vhodné vlastnosti povrchu podněcují adsorpci molekul zprostředkující buněčnou adhezi v bioaktivní fyziologické konformaci. Jeden z těchto faktorů může zlepšit nebo dokonce kompenzovat efekt druhého faktoru [1].

2 ZPŮSOBY ÚPRAV POLYMERNÍCH POVRCHŮ

Pro ošetření biomateriálů, a to včetně přírodních a syntetických polymerů, kovů a keramiky, bylo navrženo mnoho technik povrchové modifikace. Spousta těchto metod může být uvažována jako postprodukční procesní technika, zatímco u ostatních je docíleno finální modifikace povrchu. Výhodou povrchových úprav je, že nedojde ke změně vlastností materiálu v celém objemu. Aby byla technika modifikace považována za ideální, musí být splněny podmínky, aby upravená vrstva byla tenká a minimalizoval se tím vliv na celý objem materiálu, aby byla odolná delaminaci a aby byl proces jednoduchý pro možnost komercializace. Po úpravě je třeba předejít reorganizaci povrchu v důsledku volné energie a tím zničení modifikace, měly by být proto zahrnuty určité prostředky k jejímu potlačení [49].

Metody přípravy povrchově upraveného materiálu lze rozdělit na fyzikálně-chemické a biologické. Mezi fyzikálně-chemické metody lze zařadit kovalentní povlakování, nekovalentní povlaky, metody bez vzniku povlaku a laserové metody pro povrchovou modifikaci. Do biologických modifikací lze zahrnout kovalentní a nekovalentní povlaky a vznik imobilizovaných enzymů [49].

2.1 Fyzikálně-chemické metody

2.1.1 Kovalentní povlaky povrchu

Pro vytvoření povlaků přichycených kovalentními vazbami se využívá fyzikálních principů nebo chemických reakcí. Na rozdíl od biologických metod není předpokladem přichycení aktivních biomolekul [49].

2.1.1.1 Ošetření plazmatem

Vystavením materiálu plazmatickému výboji může dojít k povlakování povrchu nebo k ovlivnění vlastností bez vytvoření nové vrstvy (např. předčištění). Tato technika může být také použita pro úpravu biologických materiálů, a to pro nanášení hydroxylových nebo aminových skupin jakožto prekurzorů následné modifikace [49].

Plazmatickým výbojem dochází k disociaci plynného prostředí na různé formy, a to pozitivní a negativní ionty, volné radikály, elektrony, atomy, molekuly a fotony. Tyto částice interagují s povrchem vzorku a iniciují různé reakce povrchové vrstvy. Může dojít k depozici nové vrstvy nebo k odstranění a leptání. V případě, že je proces dostatečně

rychlý, probíhá leptání materiálu a tím chemická změna povrchu. Ve většině případů se však jedná o kombinaci obou procesů. Toho je využito při polymeraci plynných molekul volnými radikály nebo ke shlukování malých molekul do podoby větších částic, které se usazují na povrchu materiálu [49].

K výhodám této metody patří nízký obsah dutin a děr, snadná příprava a relativně jednoduchá charakterizace. Materiál je po vyjmutí z reaktoru sterilní a v průběhu procesu dochází k produkci malého množství rozpustných látek. Díky oplazmování je zajištěna dobrá adheze k substrátu a jednotné chemické vlastnosti filmu [50].

Díky uvedeným výhodám lze techniku plazmování využít při náhradě srdečních chlopní, cévních štěpů, výrobě kontaktních čoček nebo k úpravě misek pro kultivaci tkání [49].

Tato metoda samozřejmě má i své nevýhody. Pořizovací náklady na zařízení jsou obvykle vysoké. Dále je obtížné definovat chemické změny uvnitř reaktoru. V případě obsahu úzkých a dlouhých pórů na vzorku nelze zajistit jednotný průběh reakce ve všech místech. V průběhu celého procesu je nutné udržovat čistotu vzorků a předejít tak kontaminaci [49].

Zařízení pro plazmování může mít i podobu hořáku, který se používá pro tavení vysoko-teplotně odolných materiálů, jako je keramika. Tímto způsobem je nanášena vrstva keramiky na kovové zubní nebo ortopedické implantáty, aby byla zlepšena jejich integrace s okolní kostí [49].

2.1.1.2 Chemické napařování

Metoda chemického napařování je povrchová úprava, při které je vzorek vystaven směsi plynů za vysoké teploty. Toto prostředí způsobuje mnoho reakcí, které mají za výsledek rozpad jedné nebo více komponent plynné směsi a následnou depozici na substrát. Pro snížení teploty reakce je používáno prostředí plazmy, aby byla zvýšena reaktivita plynných částic. To je označováno jako chemické napařování asistované plazmou [49].

Chemické napařování nachází své použití při nanášení povlaků z pyrolytického uhlíku na substráty, jako je tantal, molybden/rhenium nebo grafit [49].

2.1.1.3 Fyzikální napařování

Technikami fyzikálního napařování lze docílit depozice atomů generovaných pomocí fyzikálního procesu na povrch vzorku. Mezi tyto metody řadíme mimo jiné napařování a tepelné napařování [49].

Naprašování probíhá ve dvou fázích. V první fázi dochází k bombardování materiálového terče pomocí energeticky nabitých iontů nebo atomů, které svou kinetickou energii předají atomům terče. Určitý počet povrchových atomů terče je tímto vymrštěn. V druhé fázi naráží uvolněné atomy na povrch vzorku a kondenzují za tvorby tenkého filmu. Touto metodou lze připravit jak kovalentní, tak nekovalentní povlaky. Obdobně jako chemické napařování může být i tato technika asistovaná plazmatem. Plazmatický výboj se využívá pro tvorbu vysokoenergetických částic, které se srazí s terčem [49].

Pomocí naprašování jsou vytvářeny povlaky na nevodivých vzorcích v podobě tenké vrstvy kovu, aby mohly být zobrazeny pomocí elektronového mikroskopu. Tato technika je využívána pro úpravu ortopedických implantátů, chirurgických nástrojů nebo ortodontických zařízení [49].

2.1.1.4 Radiační a světelné roubování

Ozářením vzorku radiačním, ultrafialovým nebo viditelným zářením dochází k vytvoření dobře přichycených povlaků. Substrát je vystaven zdroji radiace o vysoké energii, která vytváří reaktivní částice na povrchu za vzniku kovalentního spojení povlaku s podložním materiálem. Těmito metodami jsou často spojovány hydrogely s hydrofóbními substráty. Technika ozáření umožňuje zlepšit vlastnosti povrchu použitím směsi monomerů nebo jiných prekurzorů [49].

Ultrafialové nebo viditelné záření ovlivňuje velké množství chemických vazeb. Běžně se využívá dvou metod, a to štěpení fenylazidu nebo benzofenonu. V případě, že se tyto funkční skupiny vyskytují v prekurzoru, jsou po ozáření vybuzeny a vytvářejí volné radikály nebo jiné reaktivní částice. Následně se tyto aktivované molekuly mohou účastnit reakcí na povrchu substrátu a vytvářet kovalentní vazby povlaku k biomateriálu [49].

2.1.1.5 Samoorganizované monovrstvy

Povrchové ošetření použitím samoorganizovaných monovrstev je založeno na odlišném principu než předchozí techniky povlakování. Molekuly, které tvoří povlak, jsou uspořádány tak, že je pro ně termodynamicky výhodnější vytvořit vazby s povrchem biomateriálu. Proto není požadováno žádné speciální vybavení a modifikace může být prováděna za pokojové teploty a normálních tlakových podmínek [49].

Samoorganizované molekuly jsou amfifilní, což znamená, že ve své struktuře obsahují jak hydrofilní (polární), tak hydrofóbní (nepolární) části řetězce. Tyto molekuly obsahují tři

hlavní oblasti, a to vazebnou skupinu, dlouhý uhlovodíkový řetězec a funkční polární hlavičku. Vazebná skupina a dlouhý řetězec hrají velkou roli v samoorganizování, přičemž polární hlavička může být použita ke změnám hydrofobity materiálu substrátu nebo může být bodem následné chemické reakce k přichycení biologicky aktivních molekul [49].

Hybnou silou samoorganizování je silná exotermní reakce mezi substrátem a vazebnou skupinou. Běžně jsou jako vazebné skupiny používány silany, protože snadno reagují s aminovými i hydroxylovými skupinami. Jako substrát je tedy vhodné použít materiál s obsahem velkého množství hydroxylových skupin, např. sklo nebo oxidy kovů. Ostatní materiály mohou být předupraveny například pomocí plazmového výboje, aby byl zvýšen počet vhodných reaktivních skupin přítomných na povrchu [49].

Jakmile se začnou shromažďovat molekuly samoorganizované vrstvy, vlastnosti alkylových řetězců se stanou důležité. Mezi jednotlivými molekulami, které jsou dostatečně přiblížené, dojde k působení van der Waalových sil, které způsobí krystalizaci nepolárních částí řetězců. Aby mohla proběhnout krystalizace, musí mít řetězce povlaku velkou mobilitu. Jen tak se mohou přiblížit na požadovanou vzdálenost a vytvořit dostatečně pevnou vazbu [49].

Technika modifikace povrchu pomocí samoorganizovaných monovrstev je výhodná zejména díky jednoduchosti procesu, chemické stabilitě povlaku a velké škále funkčních skupin, které lze tímto způsobem upravit. Tato modifikace může být také použita ke změnám fyzikálních vlastností podložního materiálu a k tvorbě molekulárně hladkých povrchů [49].

2.1.2 Nekovalentní povlaky povrchu

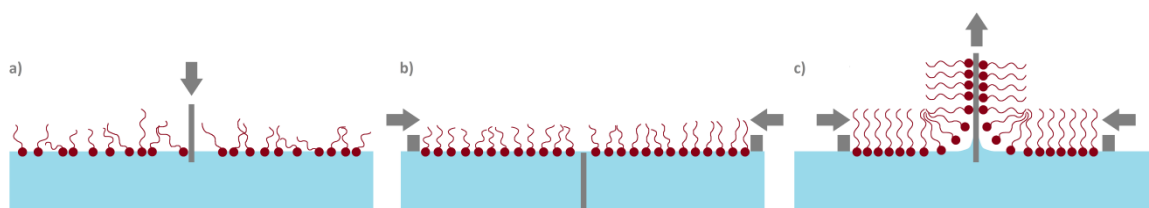
2.1.2.1 Povlaky tvořené odléváním

Metoda odlévání je nejméně komplikovanou metodou povrchových úprav, jimiž je tvořen nekovalentně vázaný povlak. Substrát je ponořen do roztoku s obsahem rozpuštěného materiálu, který má formovat povlak. Obvykle se jedná o roztok polymeru rozpuštěného v organickém rozpouštědle. Po vynoření je substrát ponechán, aby bylo odpařeno rozpouštědlo a tím vznikne povlak deponovaný na povrchu. Této metody se využívá také pro povlakování substrátů s bioaktivními molekulami. V tomto případě se však používá spíše vodný roztok než organický [49].

2.1.2.2 Langmuir-Blodgett filmy

Pro tvorbu Langmuir-Blodgett filmů jsou vyžadovány molekuly s podobnými vlastnostmi jako u samoorganizovaných monovrstev, tj. amfifilní molekuly obsahující hydrofilní hlavičku a hydrofóbní ocásek. Pomocí zařízení zvaného Langmuirův váh nebo Langmuirůvo korýtko mohou být molekuly přeneseny na povrch biomateriálu. Substrát je ponořen do prostředí vodného roztoku a následně jsou přidány amfifilní molekuly. Ihned dojde k orientaci řetězců tak, že polární hlavička interaguje s vodou a zbylá část molekuly zůstává v prostředí vzduchu. Pomocí pohyblivé bariéry jsou molekuly pomalu stlačovány, dokud nedojde k jejich orientaci tím způsobem, že jsou postaveny na polární hlavičce [49].

V tomto uspořádání dosahuje plocha pro každou molekulu minima. Přestože je plocha téměř konstantní, bariéra je udržována v dané poloze, protože stále dochází k růstu tlaku. V této pozici je dosaženo tzv. kritické plochy, jež je funkcí velikosti a typu hydrofóbních částí molekul. Za stálého udržování povrchového tlaku, který odpovídá kritické ploše, je pomalu vytahován materiál a tím na něm vzniká homogenní vrstva obsahující vysoce orientované molekuly [49]. Princip tvorby filmu je zobrazen na Obr. 1.



Obr. 1: Princip tvorby Langmuir-Blodgett filmů pomocí Langmuirůva korýtka: a) neuspořádaný stav molekul, ponoření substrátu, b) stlačování bariér, orientace řetězců, c) vznik vrstvy na substrátu.

Podobně jako samoorganizované monovrstvy mají Langmuir-Blodgett filmy mnoho výhod. Nanesená vrstva vykazuje jednotnost chemického složení a navíc lze tímto způsobem připravit filmy z různých chemických látek. Hlavní nevýhodou je relativní nestabilita povlaku, zejména protože není chemicky navázán na povrch. Zčásti lze zlepšit vlastnosti zesíťováním molekul povlaku přidáním vazebných skupin na hlavičku molekuly nebo na povrch biomateriálu [49].

2.1.2.3 Povrchově aktivní aditiva

Přidáním povrchově aktivních aditiv do materiálu dochází k samovolnému separování na povrch a tím k tvorbě povlaku s vlastnostmi danými jejich charakteristikou. Hnací silou tohoto přeuspořádání je snížení povrchové energie. Často jsou pro kovy používány slitiny stříbra nebo může být ocel ošetřena chromem pro zvýšení odolnosti korozi. Pro polymerní biomateriály je proces jednodušší. Využívá se blokových kopolymerů, přičemž blok A je kompatibilní a blok B nekompatibilní se zvoleným biomateriálem [49].

2.1.3 Modifikace bez tvorby povlaku

Vlivem fyzikálně-chemických metod modifikace povrchu může dojít ke změně vlastností biomateriálů bez tvorby samostatného povlaku. Tyto techniky modifikují atomy na povrchu, ale neváží novou vrstvu povlaku. Tímto může být docíleno např. změny hydrofobity povrchu, afinity proteinů nebo odolnosti otěru [49].

Mezi tyto techniky řadíme úpravu pomocí iontového svazku, plazmatického výboje (viz kapitola 2.1.1.1), přípravu konverzních povlaků a bioaktivních skel [49].

2.1.3.1 Úprava pomocí iontového svazku

V průběhu tohoto procesu jsou akcelerované ionty o vysoké energii posílány na povrch materiálu, většinou se jedná o kovy a keramiku, zřídka o polymerní látky. Díky vysoké energii může docházet k penetrování iontů do vrstvy povrchu a k interakcím s biomateriálem. Výsledkem interakcí jsou vakance nebo intersticiální atomy v krystalické mřížce. Tím může být vytvořena textura povrchu vzorku. Tato úprava se využívá pro zlepšení odolnosti otěru a únavovému namáhání ortopedických implantátů [49].

2.1.3.2 Příprava konverzních povlaků

Uvedenou technikou nevzniká povlak jako takový, nýbrž dochází k modifikaci atomů povrchu a tím k přípravě oxidované vrstvy na povrchu kovu. Substrát je upravován pomocí kyselin (např. ocel) nebo anodizací, což je elektrochemický proces používaný u hliníku a titanu. Vzniklá vrstva chrání kovový substrát vůči korozi [49].

2.1.3.3 Bioaktivní sklokeramika

V ortopedii se využívají bioaktivní sklokeramiky, které jsou tvořeny různými poměry oxidu vápenatého, sodného a křemičitého. Za fyziologických podmínek dojde na povrchu

těchto materiálů k vytvoření povlaku oxidu vápenatého, fosforečného a křemičitého, což následně umožňuje spojení s kostí v nativním prostředí [49].

2.1.4 Laserové metody modifikace

V mnoha případech bývá laser používán k vyvolání jednotlivých modifikací, které byly zmíněny výše. Soustředěním vysokoenergetického svazku světla na vzorek lze v krátkém čase vložit velké množství energie na malou plochu. Tím jsou usnadněny reakce jako žihání, slévání, leptání, depozice filmu a polymerizace na substrátu. Průběh procesu závisí mimo jiné na schopnosti substrátu absorbovat energii laseru, na množství mezifázového odrazu a rozptylu. S výhodou lze tuto techniku použít za atmosférických podmínek a při velkém rozsahu vlnových délek. Lasery mohou být použity i v kombinaci s tepelně nebo světelně indukovanou excitací pro iniciaci požadované reakce [49].

2.2 Biologické metody

Techniky biologické povrchové modifikace předpokládají navázání biologicky aktivních molekul na substrát. Tento proces může probíhat různými způsoby, z nichž byly mnohé zmíněny v kapitole 2.1. Zachycené molekuly je následně možné využít k interakci se specifickými cílovými místy na buňkách nebo s dalšími částmi tkání. Proto je požadováno, aby si pevně přichycená molekula zachovávala svou biologickou aktivitu. Většina biologicky aktivních molekul je citlivá na změny konformace, takže musí být zajištěna orientace a rotace jednotlivých molekul po vytvoření povlaku [49].

Biomolekuly, které jsou obvykle používány k povrchovým modifikacím, jsou enzymy, protilátky, peptidy, léčiva, lipidy, nukleové kyseliny a nukleotidy. Pro ošetření povrchu se využívá proteinů, DNA nebo RNA, případně uhlovodíků získaných z různých tkání, přičemž usnadňují interakci mezi určitými typy buněk. Dále se na povrch přidávají léčiva, která kontrolovaně řídí specifické buněčné funkce. Biologickými modifikacemi lze upravovat všechny typy biomateriálů [49].

2.2.1 Kovalentní povlaky povrchu

Díky vytvoření kovalentně vázané vrstvy může být u biomateriálů dosaženo vyšší stability a tím se mohou stát výhodnějšími pro některé aplikace. Aby k tvorbě povlaku došlo, musí substrát obsahovat hydroxylovou, karboxylovou nebo aminovou funkční skupinu. Pokud

nejdou v materiálu přítomny tyto funkční skupiny, je třeba povrch modifikovat, např. pomocí plazmatického výboje [49].

Navázání biomolekul na substrát může probíhat přímo nebo za pomoci inertní vazebné molekuly, která poskytuje místo v prostoru mezi biomolekulou a substrátem. Díky tomu je umožněn větší rotační pohyb a tím i vyšší aktivita molekuly. Vazebnou molekulu lze upravit tak, aby byla biodegradabilní a po implantaci biomateriálu došlo k uvolnění navázané biomolekuly v lokalizované oblasti [49].

2.2.2 Nekovalentní povlaky povrchu

Využití nekovalentních interakcí mezi biomolekulou a substrátem je možné především v aplikacích, kde je nežádoucí navázání povlaku kovalentními vazbami nebo je příliš složité s ohledem na chemické složení nosného materiálu. Průběh adsorpce cílených funkčních skupin je závislý na hydrofóbních a elektrostatických interakcích mezi nosným materiálem a vázanou skupinou [49].

2.2.3 Imobilizované enzymy

Většina metod, které byly diskutovány výše, může být použita pro imobilizaci enzymů, tzn. navázání enzymů na pevný substrát neboli nosič. Imobilizované enzymy jsou využívány jako biosenzory, zařízení pro řízené uvolňování a analýzu proteinů. Jako nosiče enzymů jsou vhodné hydrofilní hydrogely, jako polyakrylamid nebo polyethylenglykol, ale i hydrofóbní nosiče, jako nylon nebo polystyren. Optimální výsledky jsou dány vlastnostmi samotného enzymu [49].

V biomedicínských zařízeních musí nosič enzymu nutně splňovat geometrické podmínky tak, aby poskytoval dostatečně velkou plochu povrchu pro kontakt s enzymem. Dále musí být zajištěna difúze biomolekuly substrátu do místa imobilizovaného enzymu tak, aby mohlo dojít k vzájemné fyzikální interakci. Funkčnost zařízení je tedy závislá na chemické aktivitě enzymu a prostorové dostupnosti substrátu [49].

3 METODIKA FÁZOVÉ SEPARACE

Jedním ze základních fyzikálních jevů, jimiž lze připravit heterogenní struktury, je fázová separace [51]. Využití nachází u mnoha materiálů, jako jsou kovy, polovodiče, kapalné látky, polymery, surfaktanty, koloidy, emulze a biologické materiály [52, 53]. Působením tohoto jevu dochází k tvorbě specifického vzoru ve vícesložkové směsi materiálů, čímž lze kontrolovat jejich morfologii a s tím spojené mechanické, elektrické a transportní vlastnosti [51].

V případě tekutin může docházet k vytvoření dvou odlišných struktur. První struktura, tzv. bikontinuální morfologie, je uspořádána symetricky, přičemž dvě koexistující fáze zaujímají přibližně stejný objem. Druhý typ struktury, tzv. kapičkovitá morfologie, je formováno asymetrické uspořádání separovaných fází, kdy jedna fáze zaujímá daleko větší objem než druhá. U složitých tekutin je možné vytvořit mnoho zajímavých textur [51].

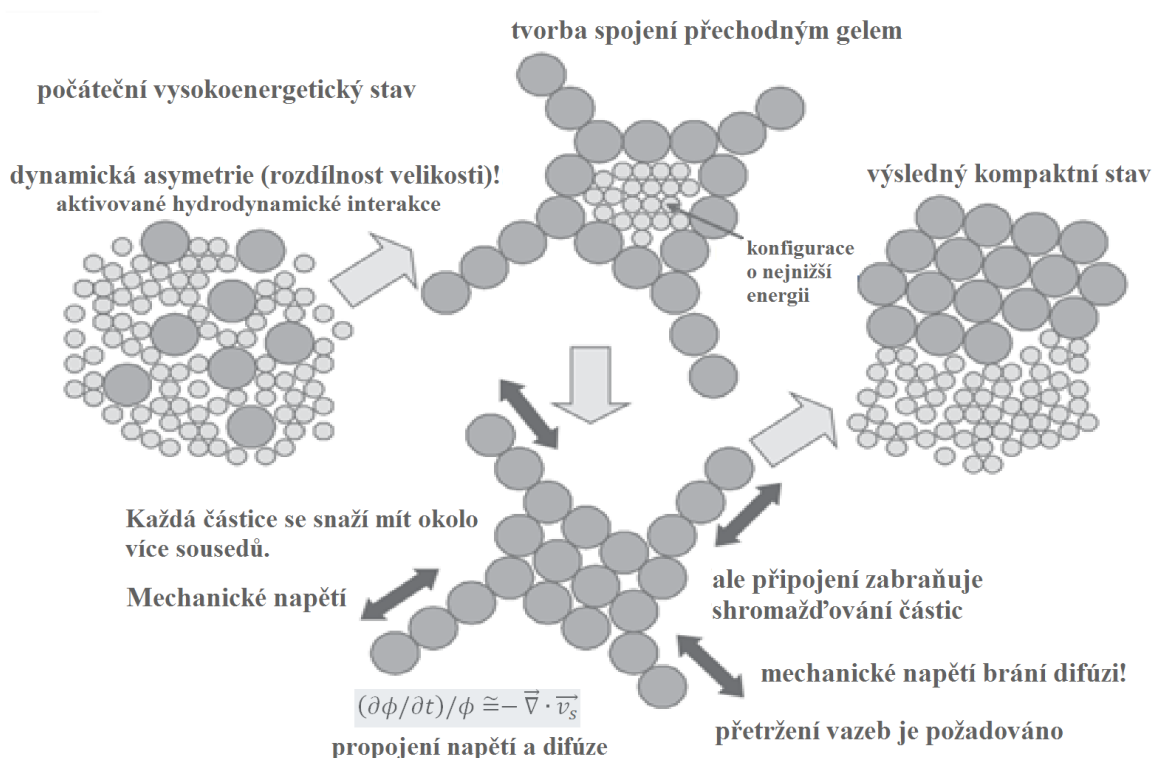
Je známo, že v klasické fázové separaci působí počáteční difúzní režim a konečný hydrodynamický režim. U polymerních roztoků se však objevuje ještě vliv přechodného viskoelastického režimu, který určuje výslednou morfologii systému. Ta je dána rovnováhou elastických sil, na rozdíl od klasické fázové separace, kde je ovlivněna mezifázovým napětím. Struktura kontinuální sítě může být v tomto případě tvořena dokonce i fází, která je obsažena v menším množství. Typický pro tento jev je přechod mezi charakteristickou rychlostí deformace, která je vyvolána samotnou fázovou separací, a mezi charakteristickou rychlostí viskoelastické relaxace, mluvíme o tzv. „viskoelastické fázové separaci“ (VPS) [54].

V případě fázové separace pevných látek je relevantním transportním mechanismem difúze, u tekutin je to difúze a tok, při VPS difúze, tok i mechanická síla. Ve fázové separaci tekutin je průběh difúze a toku řízen gradientem osmotického tlaku, kdežto ve VPS je hnací silou navíc i gradient mechanického napětí. Na základě rozdílnosti těchto mechanismů je následně určován průběh vývoje vzoru [51].

Aby docházelo k viskoelastické fázové separaci, je nutná dynamická asymetrie mezi dvěma složkami směsi. Dynamická asymetrie znamená, že relaxace malých rychlých molekul probíhá v řádově kratším časovém horizontu než u velkých pomalých molekul. Tento jev může být vyvolán značným rozdílem velikostí molekul nebo velkým rozdílem teplot skelného přechodu mezi jednotlivými složkami směsi. Například řetězce polymeru se v roztoku kvůli své velikosti pohybují mnohem pomaleji než okolní molekuly rozpouště-

dla [51]. Typickými příklady jsou složité tekutiny a biologické systémy, mezi které patří polymerní roztoky [54-58], koloidní suspenze [59-62], roztoky proteinů [63], roztoky surfaktantů [64] a emulze [65]. Jak bylo například popsáno v literatuře může být členění jádra biologických buněk vysvětleno pomocí VPS, kde významnou roli hrají dynamicky odlišné složky jádra, přičemž v tomto procesu má nezanedbatelnou úlohu i sterické uspořádání makromolekul a vlastnosti přítomných koloidních částic [66].

Princip VPS je vyobrazen na Obr. 2 spolu s označením jednotlivých vlivů, které podporují či limitují fázovou separaci.



Obr. 2: Princip viskoelastické fázové separace (VPS) s označením hnacích mechanismů [51].

Pomocí viskoelastické fázové separace mohou být připraveny síťové a buněčné (pěnové) struktury, které nelze připravit klasickou fázovou separací. Takto připravené struktury lze aplikovat jako umělé kosti, substráty pro kultivaci buněk a filtry. Klíčovým faktorem, který udává transportní schopnost a mechanické vlastnosti vzniklých struktur, je propojení fází. Příkladem jsou síťové struktury cév, které jsou dostatečně mechanicky pevné, ale přitom mají nízkou hmotnost a umožňují volné proudění krve [51].

3.1 Fyzikální mechanismus viskoelastické fázové separace

Jak již bylo zmíněno výše, dynamická asymetrie vyskytující se ve směsi má původ v rozdílu velikostí molekul nebo teplot skelného přechodu jednotlivých složek směsi [67, 68]. Aby došlo k VPS, je nutné, aby fáze bohatá na pomalou složku měla nižší rychlost relaxace než charakteristickou rychlost deformace vyvolanou fázovou separací a díky tomu se mohla po určitou časovou periodu chovat jako elastická opora [51]. Síťová morfologie je řízena pomocí podmínky rovnováhy elastických sil, která vychází ze zákona zachování hybnosti [67, 68], tím pádem z přítomnosti kapalné složky v průběhu procesu [51].

Kritickým okamžikem pro tvorbu vzoru je vytvoření přechodného gelu v důsledku odlišné velikosti částic. Poté následuje jednoduchá difúzí řízená fázová separace. Tato část procesu působí na následné viskoelastické vlastnosti a rychlost relaxace. V případě, že polymer tvoří v roztoku zapleteniny, dochází ke snížení dynamiky fáze bohaté na polymer [69]. U vzorků ze zředěného polymeru, roztoku proteinu a koloidní suspenze bylo zjištěno, že bez ohledu na původ dynamické asymetrie byly vytvořeny síťové struktury. To ukazuje na obecnou možnost využití procesu VPS pro formování různých směsí materiálů [51].

V konečné fázi procesu se systém blíží dosažení finálního rovnovážného stavu, takže již nedochází k výrazné změně povrchu. Rychlost deformace s časem klesá, případně může být nižší než charakteristický reologický čas fáze bohaté na pomalou složku. Systém se poté chová spíše jako kapalina než elastická opora. Pro morfologii se stává dominantní mechanické napětí namísto mezifázového napětí. To způsobuje následnou relaxaci struktur do podoby kapek nebo bikontinuální struktury. Síťové i buněčné struktury se stávají nestabilní a ve snaze dosáhnout co nejnižší energie se struktury mění [51].

Pro průmyslové aplikace je důležité stabilizovat přechodné morfologie fázové separace, jako jsou struktury buněk nebo sítě. Pro tento účel lze použít chemické reakce, zmrazení gelací nebo vitrifikací [51].

3.2 Metoda Breath Figure

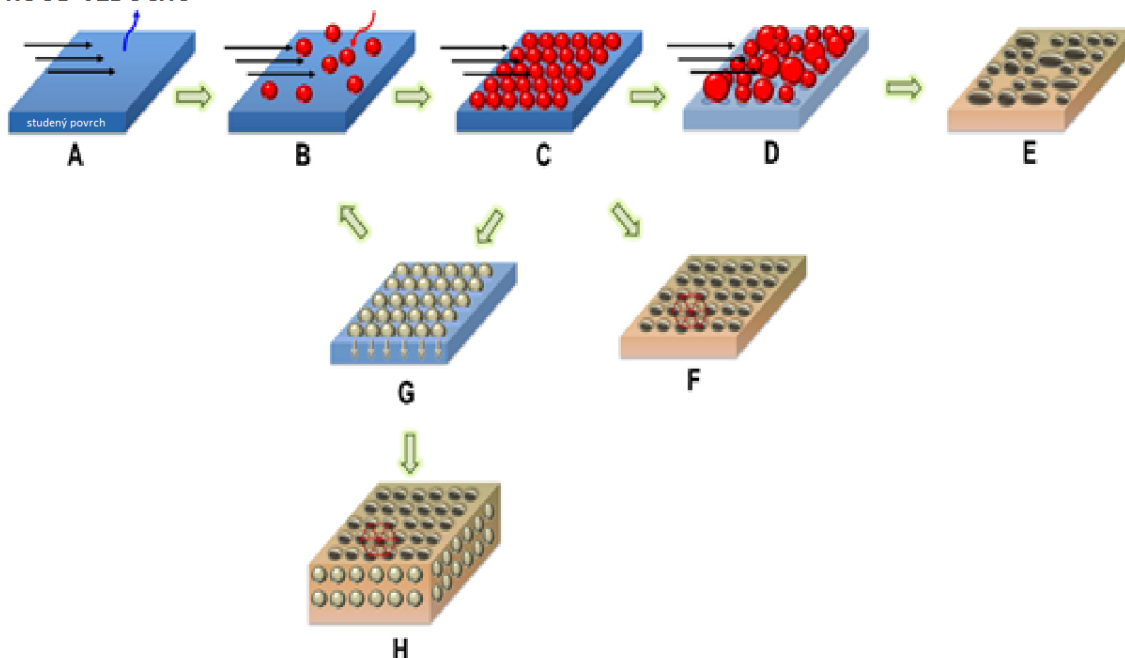
V kapitole 1 byly rozebírány možnosti využití texturovaných povrchů připravených pomocí metody Breath Figure. Tato technika se s výhodou využívá pro mnoho aplikací díky své relativní jednoduchosti, rychlosti a možnosti rovnoměrné texturizace celé plochy vzorku [70]. Pomocí této metody lze kromě struktury povrchu kontrolovat i jeho chemické složení [71], což v konečném důsledku umožňuje přípravu pravidelných struktur na mikro-

nebo nanoúrovni [72]. Princip je založen na kondenzaci a samouspořádání kapek vody v případě, že vlhkost přijde do kontaktu se studeným substrátem, jako je tomu při dýchání. Jestliže je například polymerní roztok odléván za vysoké vlhkosti, mohou být tímto způsobem připraveny vysoce organizované porézní filmy [71].

3.2.1 Princip metody

Mechanismus přípravy porézního filmu je relativně jednoduchý, jelikož vyžaduje pouze přípravu roztoku polymeru a následně odpařování ve vlhkém prostředí. Na Obr. 3 jsou znázorněny jednotlivé kroky procesu. Na počátku (krok A) dochází k endotermickému odpařování rozpouštědla z roztoku a tím k poklesu jeho povrchové teploty. V případě, že má povrch hydrofobní charakter, začíná na něm kondenzovat vlhkost, která je heterogenní nukleací uspořádána do samostatných kapiček vody (krok B). Protože jsou kapky termodynamicky stabilní, nedochází k jejich odpaření. Jakmile započne nukleace kapky na substrátu, zvětšuje svůj objem na úkor páry z okolního prostředí, dokud nedojde k pokrytí celého povrchu kapkami vody (krok C).

PROUD VZDUCHU



Obr. 3: Proces tvorby texturovaného povrchu pomocí metody Breath Figure [5].

V této fázi mohou následovat tři různé situace. Poté, co roztok se ochladí na teplotu okolí, začne odpařování zbytkového rozpouštědla, kdy je udržováno pravidelné uspořádání kapek vody [73]. Následně dojde k odpaření kondenzované vody za tvorby voštinové

struktury [5, 71]. V části F na Obr. 3 je zobrazena výsledná struktura, která byla vytvořena úplným odpařením rozpouštědla obsahující monovrstvu pravidelně uspořádaných pórů o stejné velikosti. Situace na obrázku G popisuje ponoření vrstvy kondenzovaných kapek do roztoku. Tím dojde ke stabilizaci kapek polymerem, zabránění koagulaci a odpaření zbytku rozpouštědla. Jestli bude vytvořena monovrstva nebo vícevrstvá struktura, určuje hustota použitého rozpouštědla [5, 71], struktura polymeru a další jevy [74]. Po vnoření kapek do roztoku může kondenzovat nová vrstva kapek na povrch (krok H). Poslední případ (D) nastává, pokud je proces nedostatečně řízen z pohledu časového hlediska a dalších parametrů. V případě, že dojde ke kontaktu kapek, interagují splynutím (koalescencí). Nová kapka tak dosáhne nižší povrchové energie. Výsledkem procesu koalescence a následného odpaření kapek vody a použitého rozpouštědla je řada neuspořádaných, odlišně velkých pórů (E) [5, 71].

3.2.1.1 Tvorba pravidelné struktury

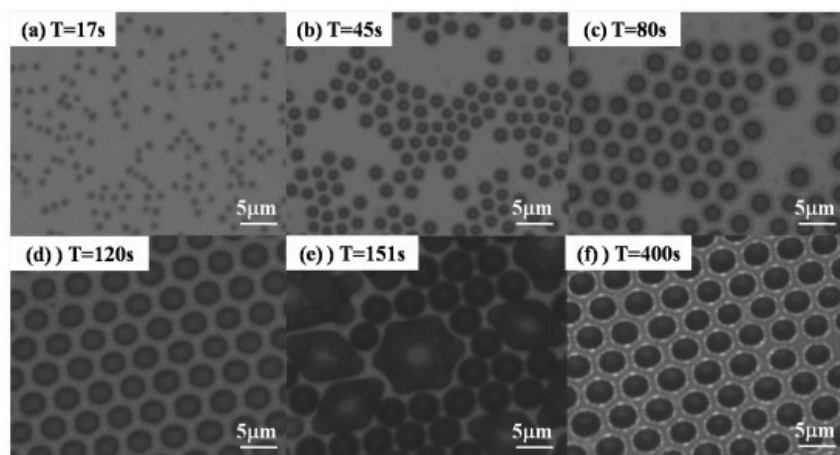
Pro dosažení rovnoměrně uspořádaného pole kapek vody je nezbytné, aby došlo ke stabilizaci kapek v průběhu procesu odpařování. Přidáním surfaktantu do roztoku polymeru lze předejít koalescenci. Surfaktant působí na rozhraní kapek vody s roztokem polymeru a upravuje mezifázové napětí mezi danými prostředím. Vzniklá struktura je závislá na koncentraci a struktuře surfaktantu. Pomocí fosfolipidů bylo dosaženo velikosti kapek řádově v milimetrech, což je klasickým způsobem dosti problematické [73].

Srovnáním struktur připravených na nepolárním a polárním substrátu bylo stanoveno, že polarita polymeru má zásadní vliv na tvorbu Breath Figure vzorů. V důsledku Bénard-Marangoniho mikrokonekce dochází k pohybu v roztoku. V průběhu tohoto pohybu se polární skupiny dostávají k povrchu roztoku a zvyšují tak jeho afinitu ke kapkám vody. Díky tomu jsou umožněny interakce mezi roztokem a kapkami, k nimž v jiných případech nedojde. Pokud polymer použitý k tvorbě struktur neobsahuje dostatečné množství polárních struktur, nebo nevzniká dostatečně aktivní Bénard-Marangoniho konvekce, výsledné vzorování je méně výrazné nebo se vůbec neobjeví [75].

3.2.1.2 Princip metody bez proudění vzduchu

Na Obr. 4 je uveden průběh procesu Breath Figure za absence proudu vzduchu. Proces byl analyzován pomocí dynamických mikroskopických snímků v určitých časových intervalech. Na Obr. 4a) lze vidět kapičky vody kondenzované na hladině roztoku v důsledku tep-

lotního gradientu, který je způsoben lokálním ochlazováním povrchu díky odpařování rozpouštědla. Na obrázcích b) a c) je zřejmé, že kapky vody zvětšují svůj objem a dochází k jejich organizaci do úzce spjatých hexagonálních vzorů. V této etapě zaujímají vysoce mobilní stav a kolektivním pohybem kapek se objevuje silný konvektivní proud pod povrchem roztoku. Typická hexagonální struktura je formována na obrázku d), tedy po 120 sekundách od počátku tvorby vzoru. Kvůli kontinuální kondenzaci vzduchu na povrchu vzorku byly v určitých místech vytvořeny dokonce „bazény“ vody, jak je znázorněno na obrázku e). Po odpaření veškeré vody došlo k vytvrzení filmu s pravidelnou porézni strukturou, viz obrázek f) [72].



Obr. 4: Průběh metody Breath Figure bez proudění vzduchu. Podrobný popis obrázků je uveden v textu [72].

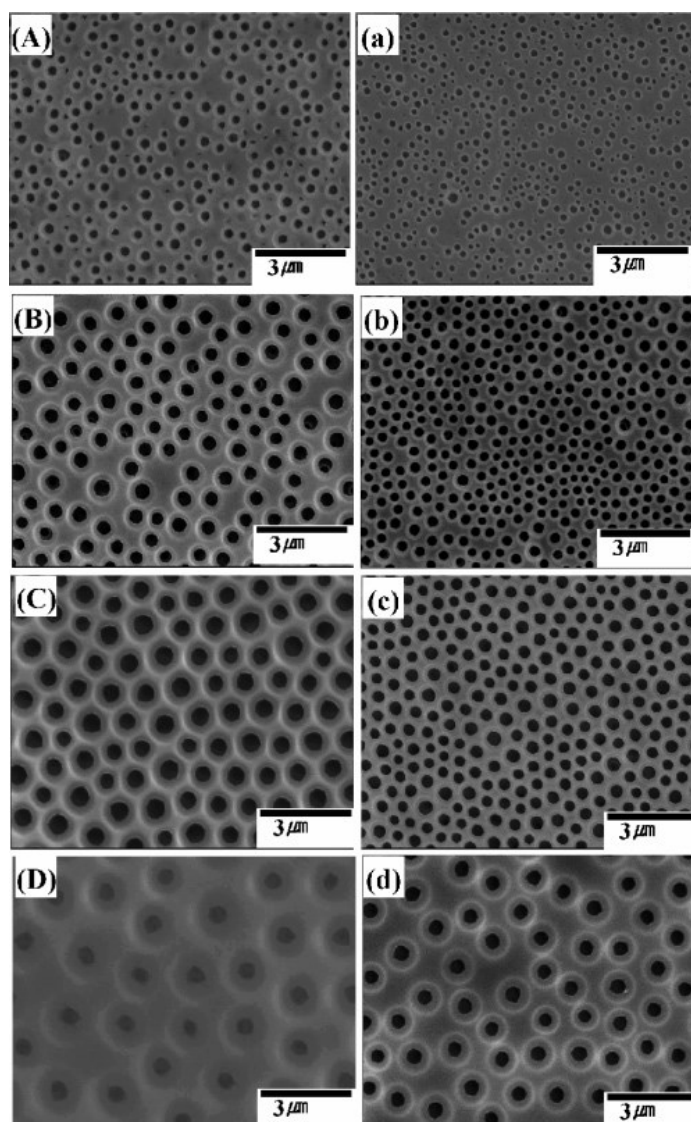
3.2.1.3 Princip metody v suchém prostředí

Přestože metoda Breath Figure nabízí spoustu výhod, jak bylo uvedeno na začátku kapitoly 3.2, není vhodnou technikou pro úpravu povrchů všech materiálů. Mnoho polymerů musí být připravováno za suchých podmínek a v čistých prostorech. Pomocí spin-coatingu v suchém prostředí lze připravit vzorovaný povrch homogenních polymerů. Tímto způsobem je také snazší připravit filmy o velké ploše a jednotné šířce [76].

Spin-coatingem byly upraveny filmy acetát-butyrát celulózy (CAB), karboxylovaného polystyrenu a polymethylmetakrylátu. Jako dobré rozpouštědlo těchto polymerů byl zvolen tetrahydrofuran (THF), do něhož byla přidána voda, aby byly napodobeny vlhké podmínky metody Breath Figure. Pomocí této metody byla úspěšně připravena řada struktur, u nichž

byla odlišná velikost pórů v závislosti na množství vody v roztoku THF a na rychlosti spin-coateru [76].

Přestože běžná metoda Breath Figure u homopolymerů funguje pouze v případě, že polymer obsahuje asociativní nebo amfifilní funkční skupiny, byly tyto struktury vytvořeny i u výše zmíněných polymerů, ve kterých se uvedené skupiny nevyskytují [76].



Obr. 5: Filmy CAB upravené pomocí spin-coatingu nanesením směsi THF a vody za různých podmínek, popsanych v textu [76].

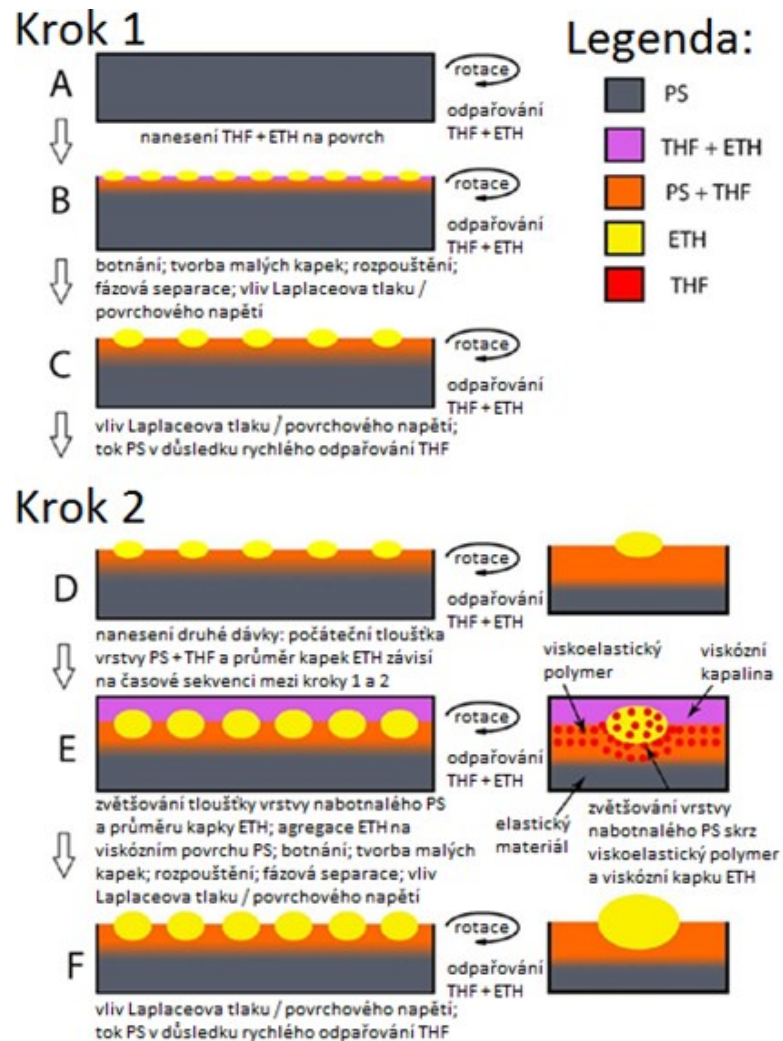
Na Obr. 5 jsou zobrazeny snímky filmů acetát-butyrátu celulózy ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). Povrch filmů byl upraven pomocí spin-coatingu nanášením směsi tetrahydrofuranu s odlišným obsahem vody: (A), (a) 1,5 hm. %, (B), (b) 3 hm. %, (C), (c) 5 hm. %, (D), (d) 10 hm. %.

(C), (c) 5 hm. %, (D), (d) 9 hm. %. Filmy na snímcích označených velkými písmeny (A, B, C, D) byly upravovány rychlostí 1000 otáček za minutu, kdežto filmy na snímcích označených malými písmeny (a, b, c, d) 3000 ot./min. Bylo stanoveno, že s vyšší rychlostí spin-coateru dochází ke snížení velikosti pórů. V případě obsahu 5 hm. % vody v THF a při úpravě rychlostí 1000 ot./min bylo dosaženo hexagonální voštinové struktury [76].

3.3 Princip texturizace povrchu pomocí směsí rozpouštědel

K tvorbě homogenní textury povrchu lze v suchém prostředí využít spin-coatingu, kdy dochází k úpravě pomocí směsi dobrého a špatného rozpouštědla. V průběhu komplexního procesu působí na systém mnoho proměnných: rotace vzorku při 2200 ot./min, bobtnání polymeru, rozpuštění povrchové vrstvy [70], fázová separace [67, 77], rozdělení systému na elastickou, viskoelastickou a viskózní složku [70], vznik sekundárních proudů v důsledku rychlé změny viskozity odpařováním rozpouštědla a s tím spojené difúze díky koncentračnímu gradientu [78-81], dále volné povrchové napětí [70] a mezifázové napětí [75, 82].

V popsaném postupu [70] je směs dobrého a špatného rozpouštědla deponována na povrch upravovaného vzorku (polystyrenu – PS) umístěného na spin-coateru v určitých časových sekvencích. Namísto jedné dávky 1000 μl je nanášeno $5 \times 200 \mu\text{l}$ směsi. Schéma procesu úpravy polystyrenové misky je názorně zobrazeno na Obr. 6. Tetrahydrofuran (THF) jako dobré rozpouštědlo začíná nabobtnávat povrchovou vrstvu polymeru, viz Obr. 6B, přičemž dochází k rozpouštění povrchu, fázové separaci a tvorbě malých kapek špatného rozpouštědla, 2-ethoxyethanolu (ETH). Nanesením další dávky směsi THF:ETH je docíleno uspořádání na Obr. 6E. Na výřezu je znázorněno rozdělení systému na elastickou, viskoelastickou a viskózní složku. Díky difúzi dochází ke zvětšení nabobtnalé vrstvy polystyrenu a kapek ETH, jak lze vidět na Obr. 6F. Následně dochází k dalším dávkám směsi rozpouštědel a postupnému zvětšování obou fází. Posledním krokem je odpaření dobrého rozpouštědla za současného vytvrzení strukturovaného filmu a až posléze odpaření špatného rozpouštědla [70].



Obr. 6: Princip modifikace povrchu PS metodou časově sekvencované fázové separace vyvolané působením směsi rozpouštědel [70].

Aby mohl výše popsaný proces správně fungovat, je nutné dodržet podmínky výběru jednotlivých rozpouštědel. Jednak musí být složky směsi vzájemně mísitelné, a jednak musí být rychlost odpařování dobrého rozpouštědla mnohem vyšší, než je u špatného rozpouštědla. Výběr lze provést na základě Hansenových rozpustnostních parametrů [83] s nutností experimentálního ověření [70].

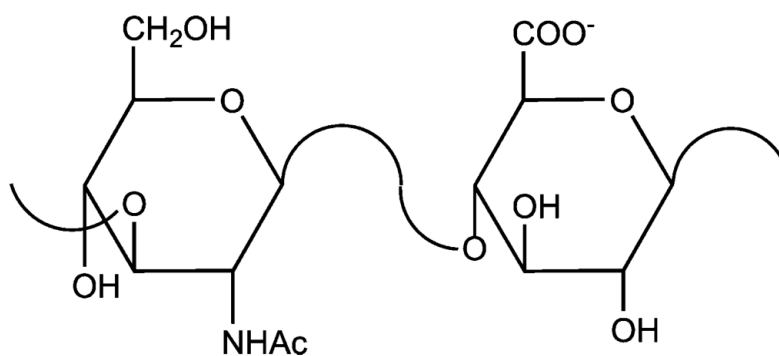
Touto metodou lze připravit substráty pro kultivaci buněk. Ideálním postupem je nanesení 5 dávek směsi THF:ETH v poměru 1,5:8,5 v časové sekvenci 5 sekund za laboratorní teploty s následnou rotací po dobu 120 s. Pro snížení povrchové energie a zlepšení adheze buněk je třeba materiál ošetřit plazmou [70].

4 POLYSACHARIDY

Hlavními složkami, které jsou nezbytné pro život, jsou polysacharidy, nukleové kyseliny a proteiny. Tyto makromolekuly s vysoce uspořádanou strukturou společně určují funkčnost a specifčnost živého organismu. Polysacharidy jsou hojně zastoupeny v přírodě a v lidském těle, přičemž fyziologické funkce polysacharidů jsou dány konformací molekuly. Strukturní polysacharidy (celulóza, pektin, chitin) tvoří stěny buněk, zásobní polysacharidy (škrob, glykogen) slouží jako rezervoáry energie. K dalšímu typu polysacharidů formujících gel patří alginát a glykosaminoglykany. Mimo to se polysacharidy v organismech podílejí na přenosech signálu, adhezi buněk a dalších [84].

4.1 Kyselina hyaluronová

Kyselina hyaluronová se často vyskytuje ve formě sodné soli, tedy hyaluronanu sodného (HA). Jedná se o nerozvětvený glykosaminoglykan, který se skládá z disacharidových jednotek D-glukuronové kyseliny a N-acetyl-D-glukosaminu. Strukturní vzorec je uveden na Obr. 7. Její molekuly dosahují velmi vysokých molekulových hmotností v rozmezí 10^5 až 10^7 Daltonů, nicméně mohou existovat i ve formě oligosacharidů [85]. Ve všech tkáních dospělých obratlovců se HA vyskytuje jako hlavní složka extracelulární matrix (ECM) [86], dále je přítomna v kůži, synoviální tekutině a očním sklivci [87].



Obr. 7: Strukturní vzorec HA (Ac = acetylová skupina) [85].

Kyselině hyaluronové se přisuzuje mnoho různorodých biologických funkcí, účastní se fyziologického vývoje, ovulace [85] a hojení ran [86, 88]. Dále má nezanedbatelný účinek při různých nemocech. Koronární ateroskleróza je onemocnění způsobené akumulací buněk, složek extracelulární matrix a usazenin tuků v podobě lipoproteinů, které vytváří aterosklerotický plak uvnitř cév. S časem může dojít k utrnutí plaku, což může vést

k trombóze a okluzi [89, 90], tedy uzavření cévy. Hyaluronan jako rozhodující složka ECM přispívá ke zúžení stěny cév a ovlivňuje biologii vaskulárních buněk zapojených do vývoje cévní léze [85]. Dále hraje roli při zánětlivém onemocnění střev a rakovině [91, 92]. Hyaluronan je spojován s nepříznivým chováním buněk v průběhu vývoje a progresu rakoviny, ale také při tvorbě metastáz. V řadě tumorů bylo zaznamenáno obohacení buněk o oligomerní molekuly HA. Z těchto informací lze ovšem vycházet při výzkumu terapeutické léčby rakoviny. V jednodušší formě roztoku zajišťuje hyaluronan pro určitá místa v lidském těle výplň, lubrikaci či filtraci [85]. Vysoká funkční rozmanitost HA je s výhodou využívána pro specifické interakce s proteiny zvanými hyaladheriny [93].

Hlavní oblastmi použití jsou oční chirurgie [94, 95], léčba artritidy [96], kosmetika [97, 98], dermatologie, plastická chirurgie, revmatologie a ortopedická chirurgie, farmakologie, atd. [99].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE POLYMERNÍCH FILMŮ

Tato práce se zabývá přípravou polymerních filmů z vodných roztoků polysacharidu, konkrétně hyaluronanu sodného (HA). Zředěné roztoky HA byly rozpouštěny třepáním za laboratorních podmínek. Následně byly odlévány na texturované polystyrenové misky upravené pomocí směsi dobrého a špatného rozpouštědla a sušeny v laboratorní sušárně bez nucené cirkulace vzduchu. Vysušené filmy byly upravovány metodou časově sekvenované fázové separace na spin-coateru tak, aby došlo ke vzniku specifické povrchové mikro-struktury.

Charakterizace vzniklých povrchů probíhala pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM), skenovací elektronové mikroskopie (SEM), profilometrie a tahové zkoušky.

5.1 Použité materiály

Roztoky a filmy byly připravovány ze sodné soli kyseliny hyaluronové (hyaluronanu sodného – HA) o různých středních molekulových hmotnostech. Hyaluronan sodný o farmaceutické čistotě byl zakoupen od společnosti Contipro, a. s. Střední molekulová hmotnost (M_w) a její distribuce jsou uvedeny v Tab. 1. V diskuzi výsledků jsou molekulové hmotnosti označovány tak, jak je uvedeno v níže uvedené tabulce.

Tab. 1: Značení použitých vzorků HA podle střední molekulové hmotnosti M_w a její distribuce.

Střední M_w [kDa]	Distribuce M_w [kDa]	Označení
124	100–150	M124
243	150–350	M243
370	250–450	M370
600	500–1200	M600
1180	500–1200	M1180
1500	1400–1600	M1500

Pomocí reverzní osmózy na zařízení Direct-Q byla připravena ultračistá voda o měrném odporu 18 $M\Omega \cdot cm$. Pro zachování vysoké čistoty vzorků byla takto připravená voda používána pro veškeré experimenty.

Další chemikálie, jako např. n-butanol, isopropylalkohol, tetrahydrofuran, 2-ethoxyethanol, byly v p.a. čistotě zakoupeny od společnosti Sigma-Aldrich.

5.2 Použité metody

Reprodukovatelnost výsledků u biologických materiálů je značně závislá na čistotě všech použitých nástrojů a nádob. Čištění všech nádob použitých pro přípravu roztoku HA probíhalo dle následujícího postupu. Skleněné nádoby byly čištěny v lázních obsahujících kyselinu sírovou, destilovanou vodu, kyselinu chlorovodíkovou, opět destilovanou vodu a peroxid vodíku, přičemž v každé lázni byly ponechány 20 minut. Poté byly opláchnuty destilovanou vodou, acetonem, znovu destilovanou vodou a ethanolem. Sterilizace probíhala v sušárně při 120 °C po dobu 20 minut.

Kovové laboratorní pomůcky byly čištěny pouze pomocí vody, ethanolu a vody s následným osušením proudem čistého vzduchu. Plastové komponenty (vyjma PS misek) byly ponořeny do lázně peroxidu vodíku a následně opláchnuty a sterilizovány stejně jako skleněné nádoby. Použité PS misky nebyly nijak čištěny, protože jejich sterilita byla zaručena od dodavatele.

5.2.1 Příprava roztoků polysacharidu

Všechny roztoky byly připravovány metodou třepání, kdy docházelo k rozpuštění kyseliny hyaluronové z práškové formy do vodného roztoku za laboratorní teploty, tj. při (24 ± 1) °C. Pro přípravu roztoku byla použita určitá molekulová hmotnost či jejich směs o daných hmotnostních podílech. Pro molekulovou hmotnost M124, M243, M370 a směsi M_w byla dána koncentrace 3 hm. %, dále byly připraveny roztoky 1,5% M600 a 0,7% M1500. Použitým zařízením pro rozpouštění byla horizontálně oscilující třepačka. Doba rozpouštění byla vždy 24 hodin. Po uplynutí této doby byl roztok ihned odléván na nosný substrát.

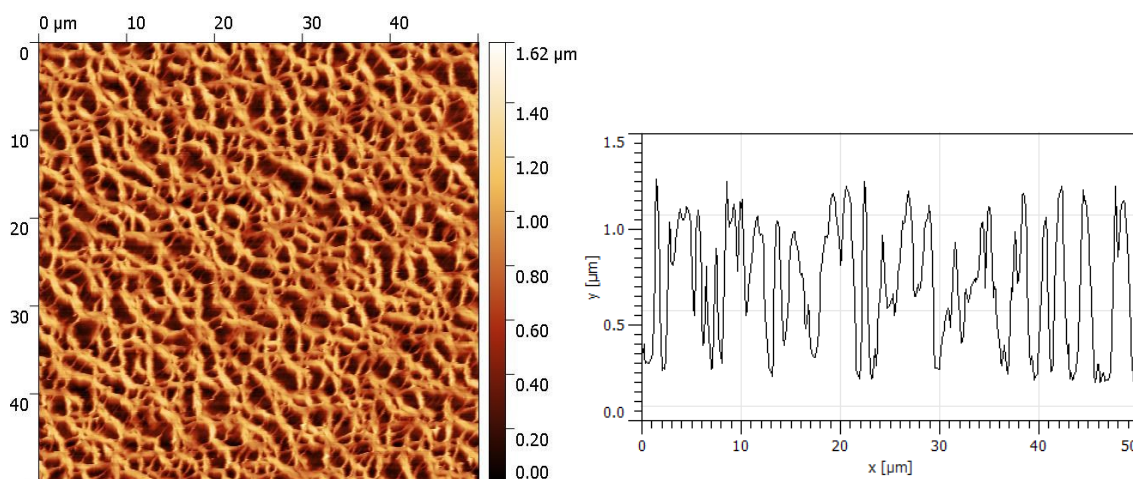
5.2.2 Odlévání polymerních filmů

5.2.2.1 Nosný substrát a jeho úprava

Pro odlévání filmů byly použity malé polystyrenové Petriho misky o průměru 3,4 cm. Tyto misky, určené pro kultivaci buněk, byly zakoupeny od firmy TPP Techno Plastic Products AG. Výrobce misek garantuje, že jsou sterilizovány pomocí radiace a neobsahují pyrogeny ani molekuly DNA nebo RNA.

Před odléváním roztoku HA byl povrch misek upraven pomocí směsi dobrého a špatného rozpouštědla, princip metody je uveden v podkapitole 3.3. Texturizace povrchu PS před

odlíváním roztoku HA byla provedena z důvodu zajištění dostatečné adheze solidifikovaného filmu HA na tomto typu substrátu. Dostatečná adheze HA na povrchu nosného substrátu je nezbytnou podmínkou pro následnou texturizaci samotného filmu HA. Na spin-coateru bylo při 2200 ot./min dávkováno $5 \times 200 \mu\text{l}$ směsi THF:ETH v poměru 1,5:8,5 v časové sekvenci 5 s. Celkový čas rotace misky byl 120 s. Výsledný povrch je zobrazen pomocí AFM na Obr. 8. V pravé části Obr. 8 je zobrazen profil upraveného PS povrchu vedený ve středu vlevo zobrazeného povrchu pomocí AFM.



Obr. 8: Povrch PS misky upravené na spin-coateru dávkováním $5 \times 200 \mu\text{l}$ směsi THF:ETH v poměru 1,5:8,5 v časové sekvenci 5 s, vlevo zobrazení vzhledu povrchu pomocí AFM, vpravo výškový profil připraveného povrchu.

Aby bylo dosaženo vyššího smáčení upravených misek připraveným roztokem a bylo tak umožněno zatečení do všech pórů povrchu, byly misky ošetřeny plazmatem. Úprava byla provedena v nízkotlakém plazmatickém reaktoru značky FEMTO SRS od společnosti Diener electronic. Na mističky působilo plazma v atmosféře vzduchu po dobu 60 s při výkonu 100 W.

Roztoky HA byly po rozpuštění ihned odlévány na povrchově upravené misky podrobené plazmatické úpravě. Výška roztoku odpovídala výšce misky, tj. 6 mm.

5.2.2.2 Sušení

Solidifikace filmu probíhala v laboratorní sušárně Memmert, viz Obr. 9. Pro minimalizování možnosti kontaminace povrchu filmu HA prachovými částicemi byla použita sušárna bez nucené cirkulace vzduchu. Teplota sušení byla nastavena vždy na 50 °C. Polymerní

vrstva byla zcela vysušena po 24 hodinách a misky se solidifikovanými filmy byly následně skladovány v exsikátoru. Vysušený film dosahoval výšky okolo 100 μm .



Obr. 9: Použitá sušárna značky Memmert [100].

5.2.3 Povrchová úprava filmů

Vysušené filmy s hladkým povrchem byly na spin-coateru upraveny pomocí směsi dobrého a špatného rozpouštědla. Vzorky rotovaly rychlostí 2100 ot./min (pokud není uvedeno jinak) po různou dobu a vždy alespoň 3 minuty po nanesení poslední dávky směsných rozpouštědel. Časová sekvence dávkování se pohybovala od 2,5 do 15 s. První krok úpravy spočíval v nanesení několika dávek ultračisté vody sloužící k nabotnění povrchové vrstvy. Poté následovalo dávkování směsi rozpouštědel, n-butanolu jako špatného rozpouštědla a isopropylalkoholu jako částečně dobrého rozpouštědla v různém poměru. Po ukončení rotace byly vzorky na celý den umístěny do exsikátoru, aby došlo k odpaření zbytkových rozpouštědel.

Jednotlivé procesní parametry byly optimalizovány v rámci experimentální části práce. V následující kapitole jsou uvedeny vlivy střední molekulové hmotnosti, distribuce M_w , botnění, počtu dávek směsi rozpouštědel, poměru rozpouštědel, časové sekvence dávkování a otáček spin-coateru.

5.2.4 Charakterizace povrchů

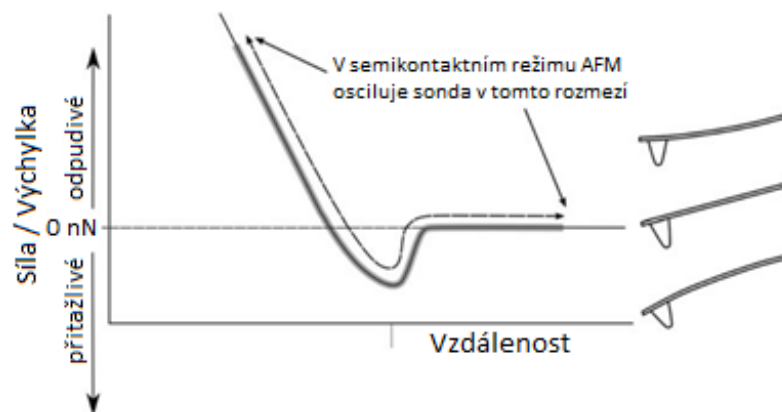
Pro charakterizaci a srovnání jednotlivých vzorků byly vybrány metody AFM, SEM, profilometrie a tahová zkouška.

5.2.4.1 Vysekávání vzorků

Upravené polystyrenové mističky neumožňují přímé zobrazení povrchu danými metodami. Proto je třeba připravit menší vzorky pro dané charakterizace. K tomuto účelu byl použit laboratorní lis, kde bylo vysekávacím nožem vyseknuto kolečko o průměru 22 mm. Toto kolečko bylo vysekáváno vždy ze středu připraveného filmu, aby byly eliminovány okrajové jevy způsobené nerovnoměrným napětím u okrajů misek, kumulací rozpouštědel, atd.

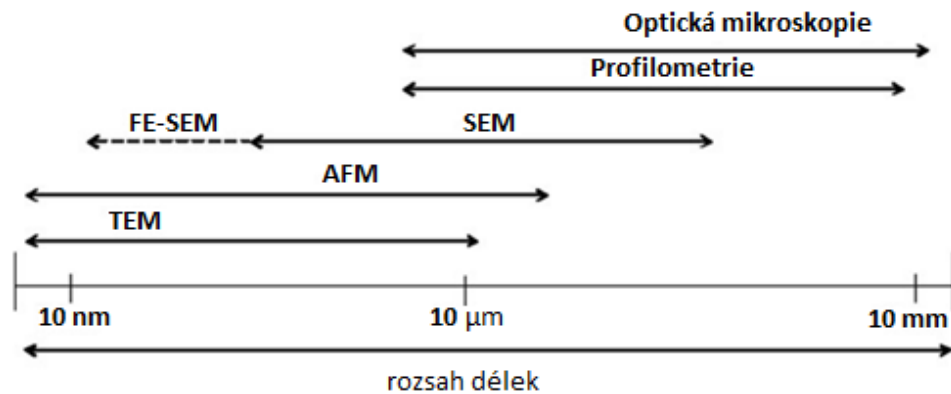
5.2.4.2 Mikroskopie atomárních sil

Přesné informace o změnách morfologie povrchu lze ve velkém rozlišení získat pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM). Pomocí této metody lze měřit všechny typy vzorků, tvrdou keramiku, nanočástice kovů, flexibilní polymery, lidské buňky i molekuly DNA. Proto je AFM používána ve všech oblastech vědy. V principu je tato metoda založena na mapování povrchu vzorku ostrou sondou. Mezi hrotem sondy a vzorkem se vytvářejí přitažlivé nebo odpudivé síly. Vlivem těchto sil dochází k ohýbání ramínka, na němž je umístěna sonda, jak je zobrazeno na Obr. 10. Změny polohy ramínka se detekují, pomocí laserového paprsku odraženého od horní strany ramínka se sondou [101].



Obr. 10: Přitažlivé a odpudivé síly mezi vzorkem a hrotem sondy, odpovídající zakřivení sondy [101].

Rozsah měření a porovnání s ostatními mikroskopickými metodami je vyjádřeno na Obr. 11. Odchylka AFM přístroje je pouhých 0,1 nm [101].

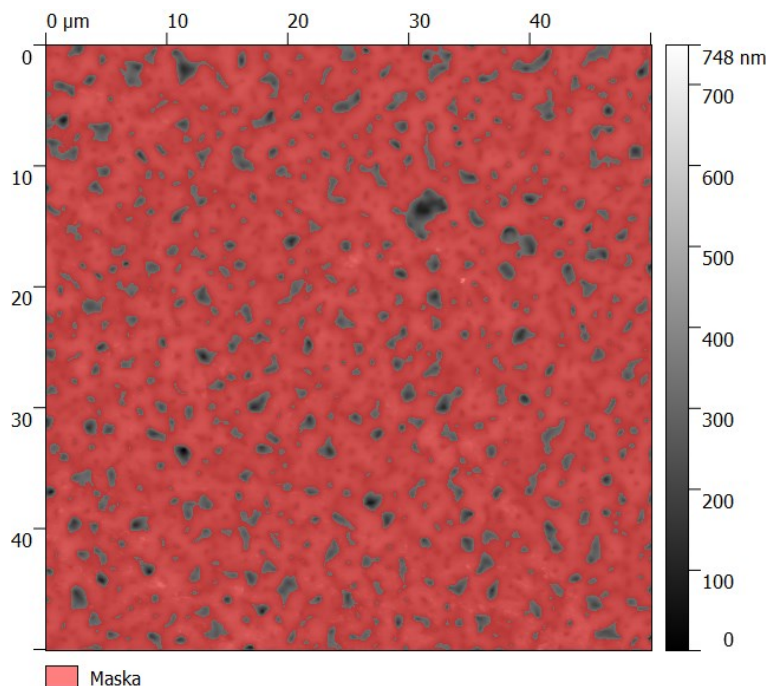


Obr. 11: Porovnání rozsahu měření jednotlivých mikroskopických metod [101].

Měření probíhalo na zařízení značky NTEGRA Prima od společnosti NT-MDT. Vybrané typy vzorků byly měřeny v pokleповém režimu AFM v prostředí vzduchu při laboratorní teplotě. Pro všechna měření byla použita silikon nitridová sonda NSG01 od společnosti NT-MDT. Plochy o rozměru $50 \times 50 \mu\text{m}$ s rozlišením 512×512 dpi byly skenovány rychlostí 0,4–1 Hz. To znamená, že vyobrazené snímky jsou sestaveny z 512 naměřených profilů, kde jeden z nich (střední profil z pozice $25 \mu\text{m}$) je prezentován samostatně v podobě profilového řezu. Z této křivky jsou v příslušné tabulce stanoveny hodnoty průměrné drsnosti R_a , střední kvadratické drsnosti R_q , šikmosti a špičatosti. Druhá tabulka udává hodnoty těchto veličin stanovených z celé plochy snímku. Proložení snímku pomocí masky lze zjistit počet vytvořených pórů a jejich průměrné velikosti.

5.2.4.2.1 Stanovení počtu pórů

Pro úpravu a analýzu snímků pořízených pomocí mikroskopu atomárních sil byl použit program Gwyddion 4.0. Proložení snímku rovinou v dané výšce byla vytvořena maska. Výška masky je volena tak, aby došlo k separaci jednotlivých pórů a byla umožněna jejich charakterizace (obrazová analýza). Příklad snímku proloženého maskou je uveden na Obr. 12. Pomocí dalších funkcí programu lze stanovit počet pórů, tedy prohlubní, které se vyskytují pod úrovní masky. Mezi další charakteristiky, které je možné zjistit, patří specifická plocha pórů, průměrná plocha a velikost póru.



*Obr. 12: Maska proložená snímkem filmu odlévaného z roztoku 3% HA M243, úprava povrchu $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $25 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, časová sekvence 5 s.*

5.2.4.3 Skenovací elektronová mikroskopie

Pro charakterizaci vzhledu povrchu vzorků byl mimo AFM použit skenovací elektronový mikroskop (SEM) značky Nova NanoSEM 450 od společnosti FEI. Měření bylo provedeno v prostředí vysokého vakua v režimu zpětně odražených elektronů. Vzorek byl měřen bez předešlého pokovení. Pro měření bylo použito urychlovací napětí 2 kV. Byla zobrazena plocha o rozměru $50 \times 30 \mu\text{m}$.

5.2.4.4 Profilometrie

Pro stanovení topografie povrchu byl použit mimo AFM kontaktní profilometr značky DektakXT od firmy Bruker. Ze získaných křivek byly určeny hodnoty průměrné drsnosti R_a , střední kvadratické drsnosti R_q , šikmosti a špičatosti. Tyto hodnoty lze srovnat s výsledky stanovenými pomocí AFM.

Pro vytvoření 3D snímku povrchové topografie, byl využit bezkontaktní profilometr Contour GT-K od společnosti Bruker. Tento přístroj pracuje na principu interference světla.

Výhodou této techniky je možnost zobrazení větší plochy vzorku, na úkor rozlišení v ose z (viz srovnání na Obr. 11).

5.2.4.5 Tahová zkouška

Mechanické vlastnosti vybraných typů připravených filmů byly stanoveny pomocí trhacího přístroje Instron, typ 3345J8169. Pro tyto účely byla použita hlava o maximálním rozsahu měření do 100 N. Přesnost stanovení síly byla v řádu 10^{-5} N, u protažení obdobně 10^{-5} mm. Rychlost protahování vzorku byla 10 mm/min. Měření probíhala při laboratorní teplotě a vlhkosti. Před provedením tahové zkoušky vybraných vzorků HA byly tyto folie skladovány v exsikátoru po dobu minimálně sedmi dnů tak, aby poměr zbytkové vody v měřených materiálech byl co nejsrovnatelnější.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V souladu s hlavním cílem této práce byly optimalizovány postupy mikro-texturizace povrchu hyaluronanu sodného metodou fázové separace. V následujícím textu bude popsán postup, jak vyvolat vznik mikro-pórů na povrchu zvoleného polymeru. Budou diskutovány parametry ovlivňující množství, velikost a rovnoměrnost rozložení vznikajících pórů.

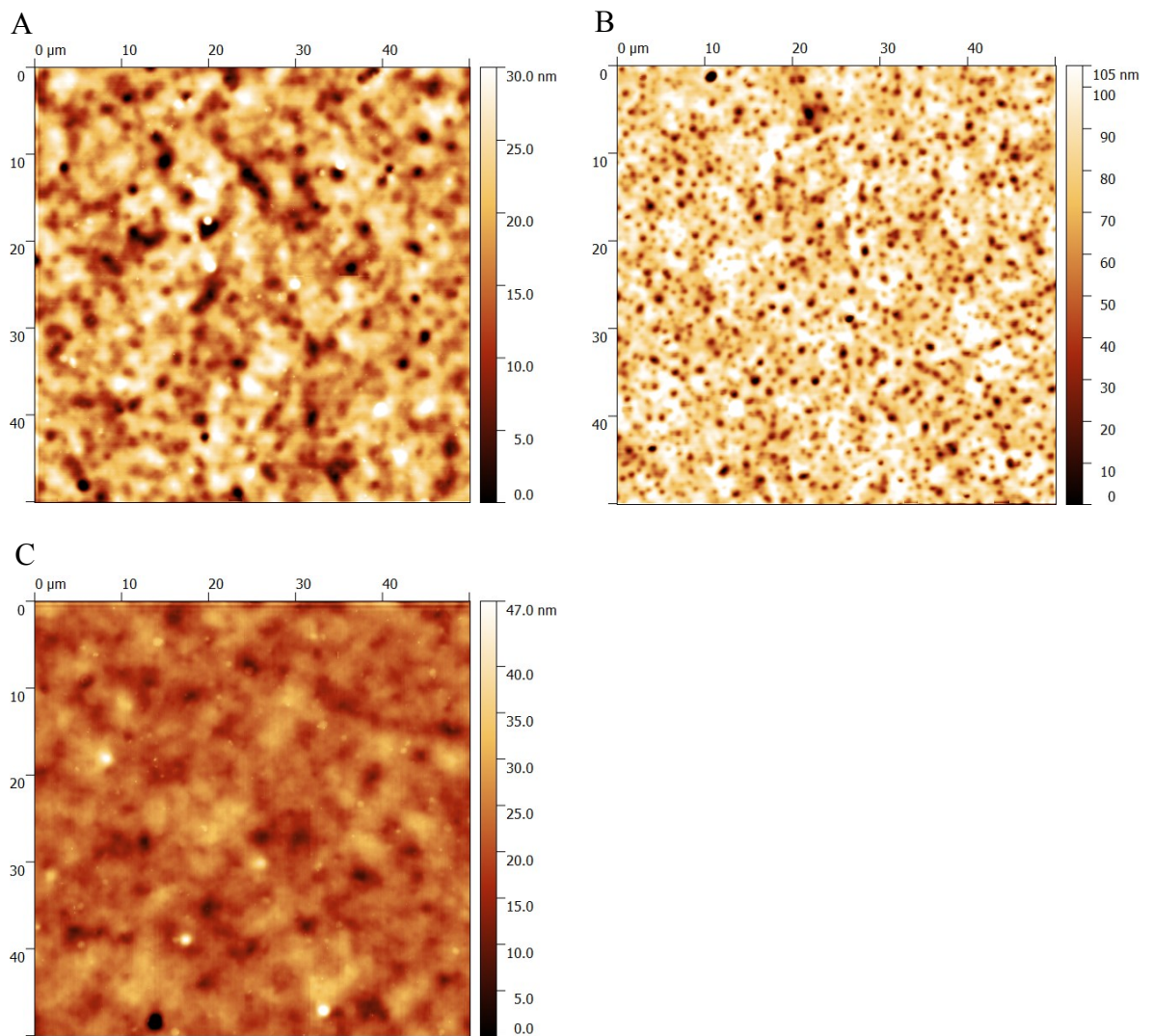
6.1 Příprava mikroporézních filmů na bázi hyaluronanu sodného

Pro charakterizaci jednotlivých filmů byla primárně používána mikroskopie atomárních sil. Výsledky z AFM jsou pro každý vzorek prezentovány v podobě snímku z AFM (pokud není uvedeno jinak) a horizontálního profilu proloženého středem snímku. Dále jsou uvedeny tabulky s hodnotami drsnosti, šikmosti a špičatosti, s počtem pórů, jejich specifickou plochou, průměrnou plochou a velikostí póru.

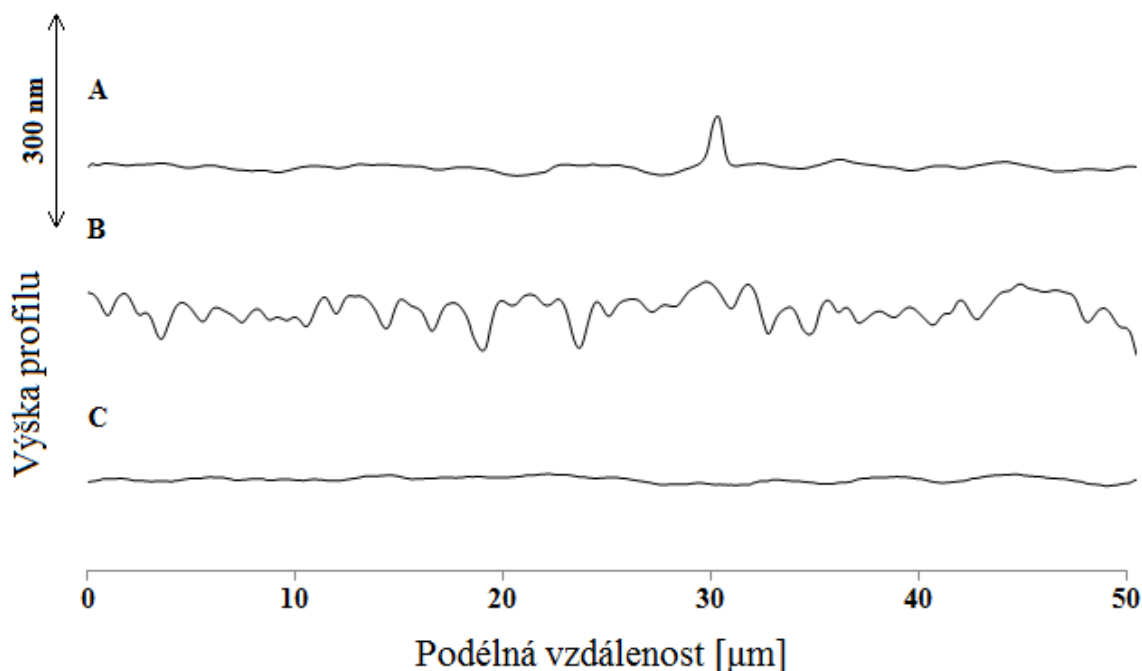
6.1.1 Vliv poměru rozpouštědel ve směsi

Správný poměr směsi dobrého a špatného rozpouštědla je zásadní proměnnou determinující možnost vzniku povrchové mikro-textury. V rámci prvotních experimentů byla připravena škála roztoků o objemovém poměru složek 1:9 až po 9:1 se změnou podílu vždy o jeden díl. Bylo zjištěno, že pro povrchovou úpravu je ideální směs n-butanolu a isopropylalkoholu o objemovém poměru 3:7.

Význam této proměnné je demonstrován na třech rozdílných poměrech složek směsi. Výsledky tohoto experimentu jsou uvedeny na Obr. , pro směsi odlišující se o čtvrtinu objemového dílu jednotlivých složek, tj. 3,25:6,75, 3:7 a 2,75:7,25. Z uvedených snímků je zřetelné, že pouhé odlišení o čtvrt dílu je zásadní pro tvorbu povrchové struktury. Na snímku A sice dochází k tvorbě několika pórů, ale ve větším přiblížení lze tento film charakterizovat jako mírně zvlňný vzhledem k výškovým nerovnostem do 30 nm. Na snímku B lze vidět pravidelně pórovitou strukturu povrchu. V případě snímku C vůbec nedochází k tvorbě pórů, což může být způsobeno malým obsahem špatného rozpouštědla, které se má uspořádat ve formě kapek, a velkým obsahem dobrého rozpouštědla, které příliš rozpouští povrchovou vrstvu.



Obr. 13: Vliv poměru složek dobrého a špatného rozpouštědla na změnu vzhledu texturovaných filmů HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $10 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru A) 3,25:6,75, B) 3:7, C) 2,75:7,25, sekvence dávkování 5 s.



Obr. 14: Vliv poměru složek dobrého a špatného rozpouštědla na změnu profilu texturovaných filmů HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $10 \times 200 \mu\text{l}$ směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru A) 3,25:6,75, B) 3:7, C) 2,75:7,25, sekvence dávkování 5 s.

Srovnání profilů filmů upravených pomocí směsi rozpouštědel o různém poměru je názorně ukázáno na Obr. 14. Z obrázku je naprosto zřejmé, že jediný poměr rozpouštědel, který umožňuje tvorbu pravidelné pórovité struktury, je 3 díly n-butanolu ku 7 dílům isopropylalkoholu. V případě použití jiného poměru je film rovný (profil A a C).

Uvedené výsledky jsou potvrzeny stanovením hodnot drsnosti v Tab. 2 a Tab. 3. Výsledky se očividně velmi liší a stanovují hladkost povrchů A a C. Pro veškeré experimenty byl proto zvolen poměr rozpouštědel 3:7 bez ohledu na další procesní parametry.

Tab. 2: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených směsí rozpouštědel o různém poměru.

Poměr rozpouštědel	3,25:6,75	3:7	2,75:7,25
Ra [nm]	1,3	5,7	0,4
Rq [nm]	2,8	7,3	0,5
Šikmost [1]	0,91	-0,08	-0,46
Špičatost [1]	26,45	3,28	3,87

Tab. 3: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů upravených směsí rozpouštědel o různém poměru.

Poměr rozpouštědel	3,25:6,75	3:7	2,75:7,25
Sa [nm]	4,2	14,0	3,2
Sq [nm]	5,5	18,3	4,1
Šikmost [1]	0,09	-0,77	-0,04
Špičatost [1]	5,50	1,62	1,82

Charakteristiky pórů na povrchu filmu, uvedené v tabulce 17 jsou zatíženy jednou problematickou skutečností obrazové analýzy, která se projevuje právě u tohoto typu vzorků. Při pohledu na snímky filmů (viz Obr. 13) lze zaznamenat, že povrch je zvrásněn a při proložení maskou počítá použitý program nerovnosti jako jednotlivé póry. Z tohoto důvodu je třeba data uvedená v Tab. 4 brát s určitou rezervou. Ze stanovených hodnot průměrné plochy útvaru je zřejmé, že se jedná o zvrásnění, nikoliv o póry jako takové.

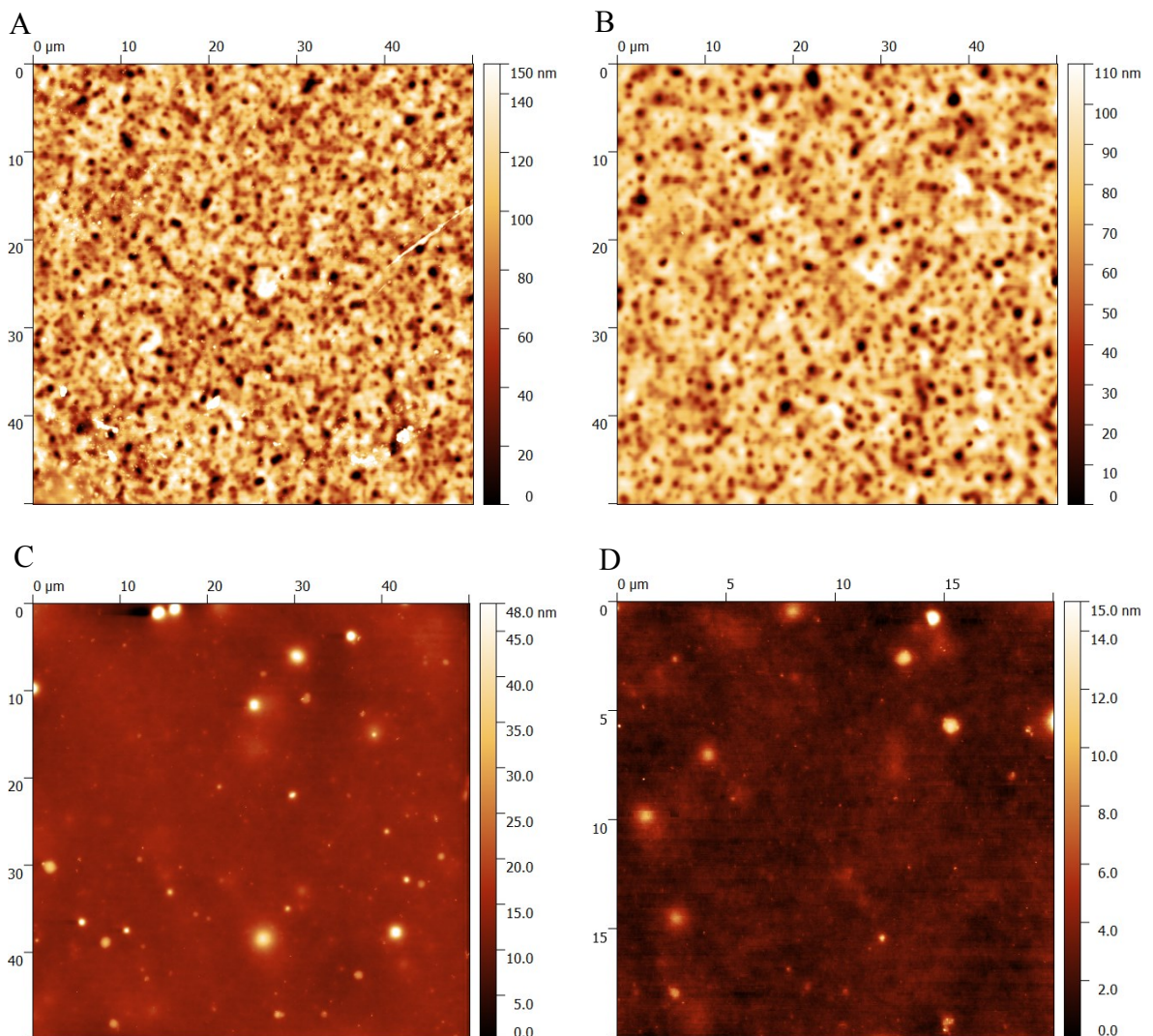
Tab. 4: Charakteristiky povrchu texturovaných filmů upravených směsí rozpouštědel o různém poměru.

Počet dávek vody	3,25:6,75	3:7	2,75:7,25
Počet pórů [1]	24	48	31
Specifická plocha pórů [10^{-9} m^2]	2,02	1,45	2,13
Průměrná plocha póru [μm^2]	84,04	30,25	68,66
Průměrná velikost póru [μm]	2,20	1,39	1,67

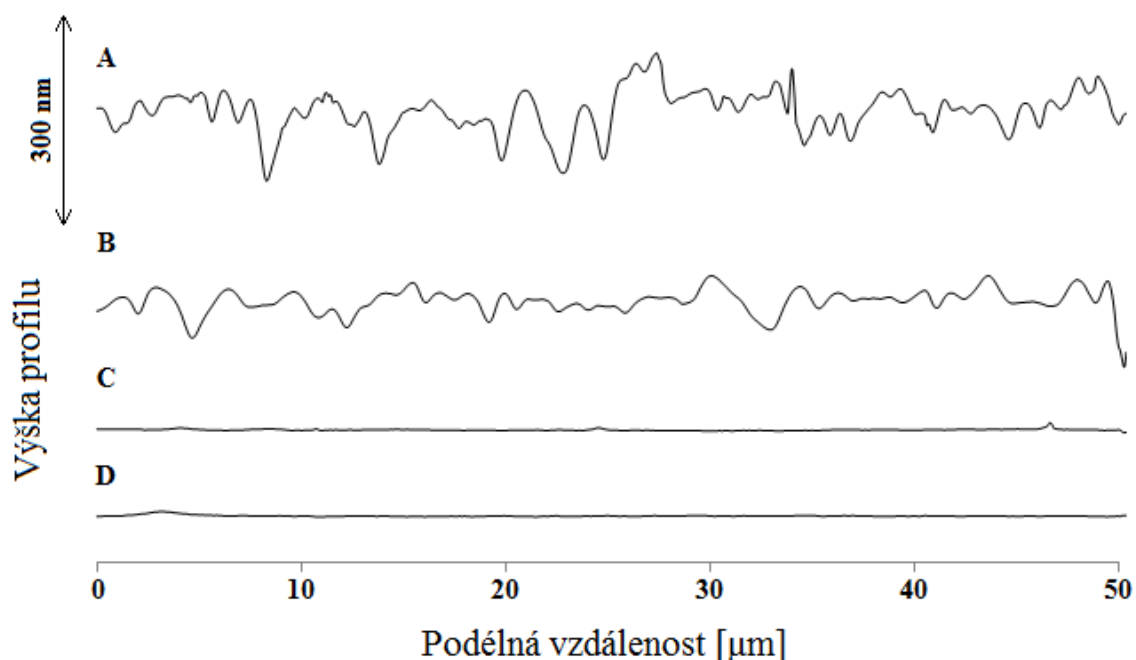
6.1.2 Vliv časové sekvence dávkování roztoku

Dávkování roztoku n-butanolu a isopropylalkoholu by mělo probíhat v dané časové sekvenci tak, aby docházelo k ideálnímu uspořádání povrchu. Pokud je interval mezi dávkami příliš dlouhý, dochází k částečnému vytvrzení povrchové vrstvy během rotace a není umožněno další nabobtnání a zvětšování jednotlivých kapek špatného rozpouštědla, jak je popsáno v literatuře [70].

Vliv časové sekvence dávkování je znázorněn na Obr. 15. Směs rozpouštědel byla nanášena s odstupem 2,5; 5; 10 nebo 15 sekund. Na obrázku A jsou vzniklé póry rovnoměrně rozprostřeny po celé ploše snímku. Jejich velikost se vzájemně odlišuje v důsledku rychlého dávkování směsi. V případě B se póry více podobají, ale jsou více odděleny polymerní maticí. Jak již bylo zmíněno, při velkém časovém intervalu mezi jednotlivými dávkami dochází k částečnému vytvrzení polymeru, a není proto umožněna tvorba pórovité struktury, viz C a D.



Obr. 15: Vliv časové sekvence dávkování směsi dobrého a špatného rozpouštědla na změnu povrchové mikrotextury filmů z HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $10 \times 200 \mu\text{l}$ směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování A) 2,5 s, B) 5 s, C) 10 s, D) 15 s.



Obr. 16: Vliv časové sekvence dávkování směsi dobrého a špatného rozpouštědla na změnu profilu filmů z HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $10 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování A) 2,5 s, B) 5 s, C) 10 s, D) 15 s.

Na základě srovnání povrchů uvedených na Obr. 16 lze říci, že se zvyšujícím se časovým intervalem dávkování směsi rozpouštědel se snižuje množství vytvořených pórů. Na profilu A jsou póry hustě uspořádané, dosahují velké hloubky a šířky. Profil B je tvořen menším množstvím pórů o malé hloubce. Na profilech C a D nejsou přítomny žádné póry, jedná se o hladké povrchy filmů.

Hodnoty drsnosti stanovené z profilu i z řezu korespondují s předcházejícími tvrzeními. V Tab. 5 a Tab. 6 jsou uvedeny výsledné hodnoty. Největší drsnost vykazuje film upravený dávkováním po 2,5 sekundách. Dále drsnost klesá s časovým intervalem dávkování. Pro všechny experimenty byla přesto směs rozpouštědel dávkována v intervalu 5 sekund z důvodu komplikovanosti dávkování v krátkém intervalu 2,5 s.

Tab. 5: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených v různé časové sekvence dávkování směsného rozpouštědla.

Časová sekvence dávkování [s]	2,5	5	10	15
Ra [nm]	9,3	4,8	0,3	0,1
Rq [nm]	11,8	6,5	0,5	0,2
Šikmost [1]	-0,01	0,28	4,31	0,46
Špičatost [1]	3,59	6,84	55,16	6,15

Tab. 6: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů upravených v různé časové sekvence dávkování směsného rozpouštědla.

Časová sekvence dávkování [s]	2,5	5	10	15
Sa [nm]	21,0	14,0	1,2	0,6
Sq [nm]	26,8	18,0	2,6	0,9
Šikmost [1]	-0,46	-0,75	6,35	4,48
Špičatost [1]	0,41	0,95	62,60	39,10

Porovnání charakteristik pórů, viz Tab. 7, je možné pouze pro časové sekvence 2,5 a 5 s. Při vyšší sekvenci dávkování byl počet pórů stanoven jako nulový. Z Tab. 7 vyplývá, že u filmu upraveného v intervalu 2,5 s je vytvořeno dvakrát vyšší množství pórů, které mají dvakrát menší průměrnou velikost a téměř dvakrát menší průměrnou plochu.

Tab. 7: Charakteristika povrchu filmů upravených v různé časové sekvenci dávkování směsného rozpouštědla.

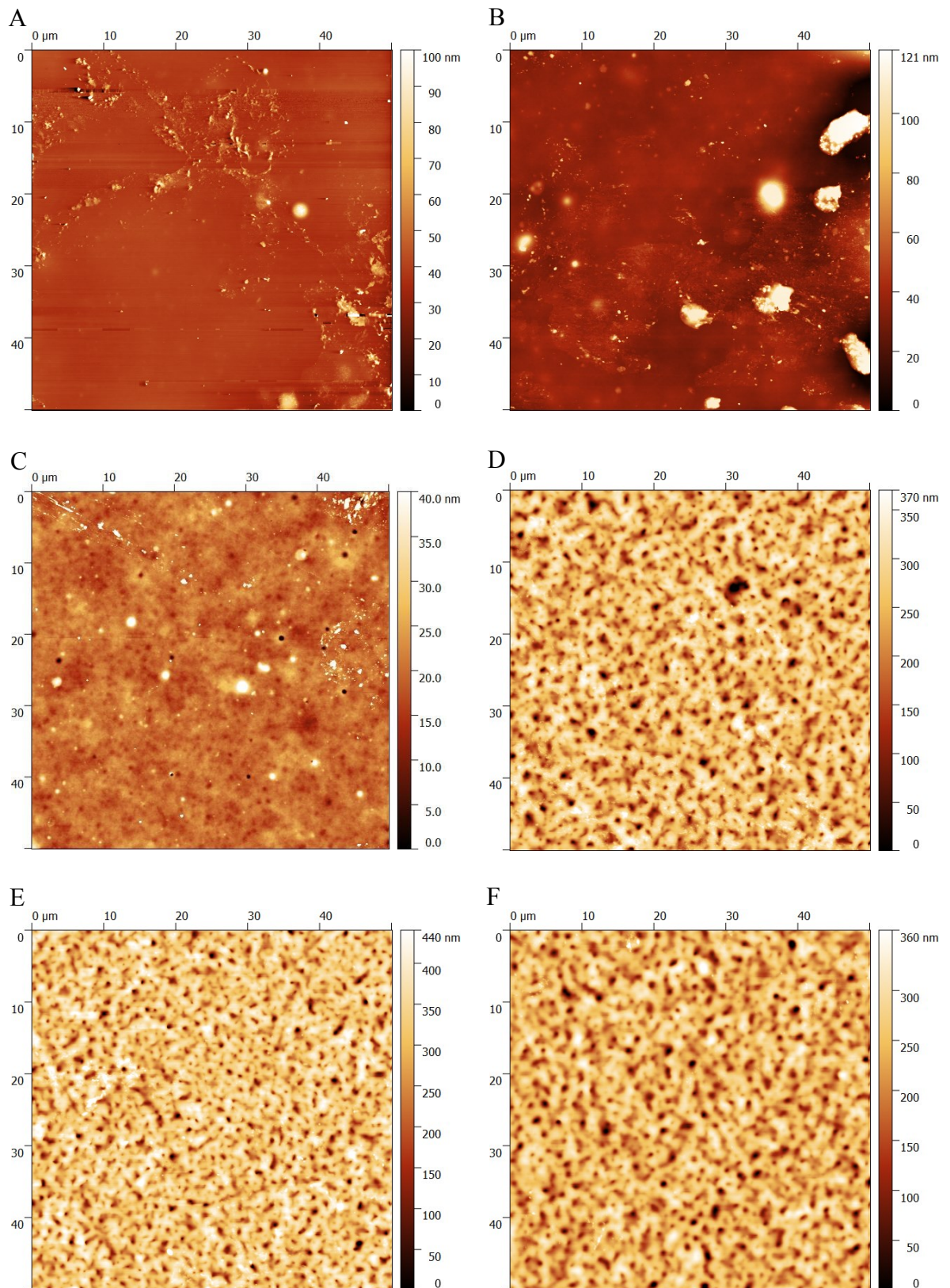
Časová sekvence dávkování [s]	2,5	5	10	15
Počet pórů [1]	67	35	0	0
Specifická plocha pórů [10^{-9} m^2]	1,810	1,540	-	-
Průměrná plocha póru [μm^2]	27,02	44,00	-	-
Průměrná velikost póru [μm]	0,810	1,625	-	-

6.1.3 Vliv tloušťky nabotnalé povrchové vrstvy

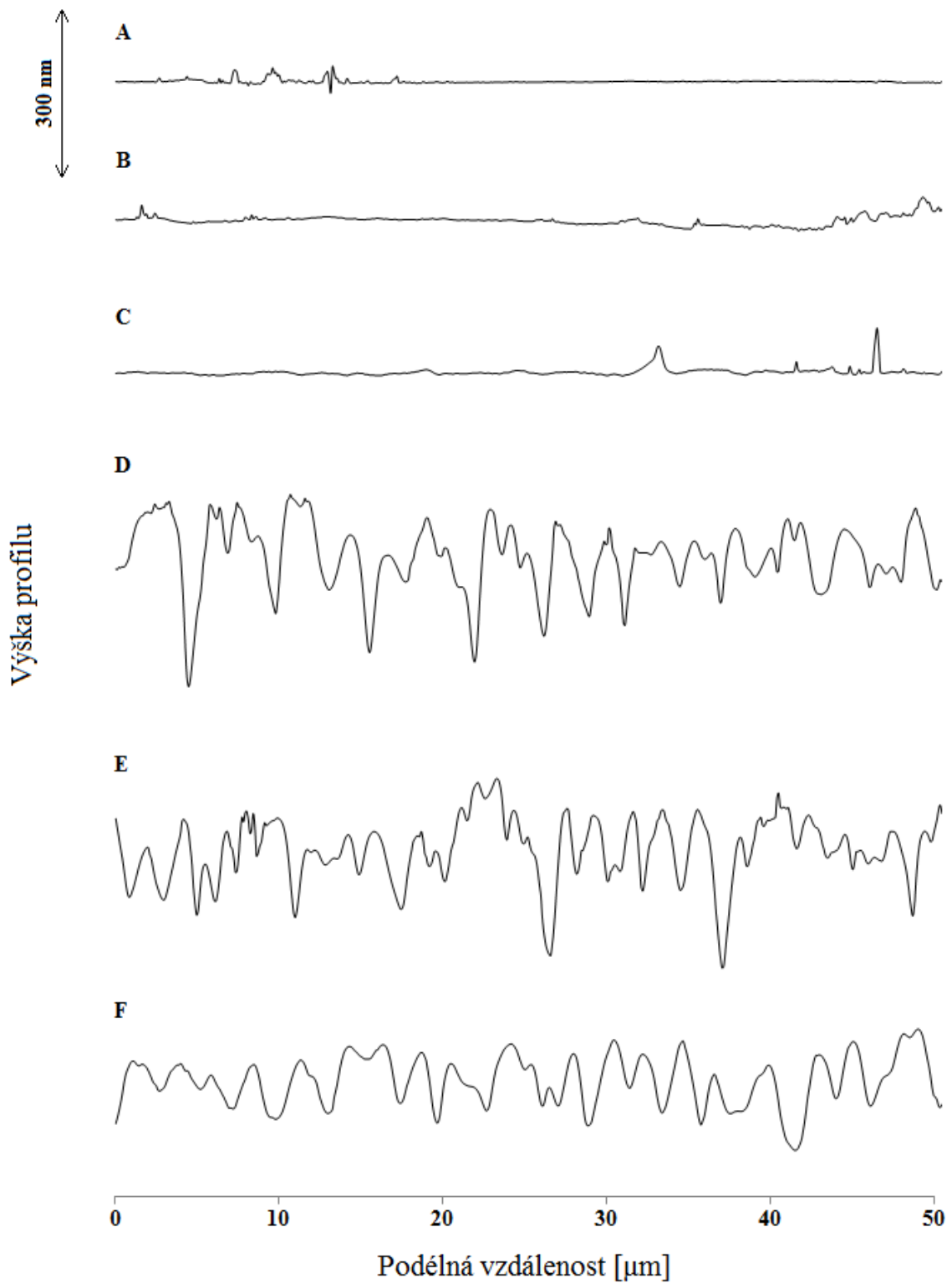
Pro povrchovou úpravu působením směsi rozpouštědel na rotující povrch vysušeného filmu HA je důležité, aby došlo v prvním kroku k nabotnutí svrchní vrstvy polymeru, což zvýší pohyblivost makromolekul nezbytnou pro přeuspořádání polymeru do podoby mikro-pórů. Čím je rozpuštěná vrstva vyšší, tím větší hloubky pórů lze dosáhnout. Je-li povrchově upravován polystyren, probíhá rozpuštění povrchu pomocí tetrahydrofuranu přítomného v dávkované směsi rozpouštědel, viz kapitola 3.3. V případě úpravy filmů

z kyseliny hyaluronové je třeba vzít v úvahu botnací vlastnosti polysacharidů obecně. Proto jsou nejprve nanášeny dávky vody botnající povrch HA.

Pro znázornění důležitosti nabotnání povrchové vrstvy byly připraveny filmy upravené 0, 1, 2, 3, 4 a 5 dávkami 200 μ l ultračisté vody a 25 dávkami směsi rozpouštědel o stejném objemu. Na Obr. 17A je snímek filmu upraveného bez dávkování vody. Povrch je rovný s malým zvrásněním díky mírnému nabotnání směsí rozpouštědel za rotace. Na snímku B je vytvořeno pouze menší množství větších útvarů na relativně rovném povrchu. Snímek C zobrazuje situaci, kdy začíná mít prvotní botnání vodou výraznější význam. Nabotnání je účinnější a vzniká několik pórů o malé velikosti, velmi vzdálených od sebe. Skoková změna je pozorovatelná na obrázku D, kde došlo vytvoření pravidelné mikro-struktury povrchu. Póry jsou rozmístěné přes celou plochu snímku. Použitím většího množství dávek vody byla vytvořena silnější nabotnalá vrstva polymeru, s čímž souvisí vznik hlubších pórů, jak lze vidět na snímku E. Vytvořené póry jsou ale užší než na snímku D. Na obrázku F je vytvořená struktura upravena pěti dávkami vody. Povrch je uspořádán nepravidelně z hlediska šířky i hloubky jednotlivých pórů. To naznačuje, že je třeba optimálně volit míru botnání povrchové vrstvy polymeru, více neznamená lépe.



Obr. 17: Vliv míry nabitání povrchové vrstvy HA na změnu mikro-textury filmů M243, předúprava povrchu: A) 0×, B) 1×, C) 2×, D) 3×, E) 4×, F) 5× 200 μ l ultračisté vody + 25× 200 μ l směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.



Obr. 18: Vliv míry nabití povrchové vrstvy HA na změnu profilů texturovaných filmů M243, předúprava povrchu: A) 0×, B) 1×, C) 2×, D) 3×, E) 4×, F) 5× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.

Rozdílnost upravených filmů je na první pohled zřejmá také z Obr. 18. Při předúpravě filmu HA 0, 1 nebo 2 dávkami vody nedochází k vytvoření povrchové struktury. K rapidní změně dochází při dávkování 3 a více dávek vody. Povrch obsahuje uspořádané póry s jednotnou hloubkou a šířkou. V těchto profilech je rozmístění pórů pravidelné. V případě 5 dávek vody mají póry vytvořené struktury menší hloubku, protože dochází již k velkému toku a polymer není schopen zachytit kapky špatného rozpouštědla v dané pozici na povrchu.

Následující tabulka (Tab. 8) uvádí parametry drsnosti upravených filmů stanovené z příslušných profilů. Nejvyšší drsnosti je dosaženo pomocí 4 dávek vody, o něco nižší hodnota je u 3 dávek. Při nanášení 5 dávek je drsnost filmu středně velká, nejnižší hodnoty byly naměřeny u 2 a méně dávek.

Plošně stanovené hodnoty drsnosti (viz Tab. 9) jsou nejvyšší u 4 dávek vody, následuje 5 dávek a poté 3 dávky vody. Poměrně vysokou drsnost má film upravený jednou dávkou vody, což je ovšem bezpředmětné, známe-li přesně jeho vzhled ze snímku AFM. Tato skutečnost je pravděpodobně způsobená velkými lokálními agregáty na povrchu filmu.

Tab. 8: Parametry drsnosti stanovené z profilů texturovaných filmů předupravených různým počtem dávek vody.

Počet dávek vody	0	1	2	3	4	5
Ra [nm]	3,0	1,5	1,03	11,7	16,4	8,0
Rq [nm]	7,1	2,5	1,97	15,7	20,6	10,5
Šikmost [1]	0,46	0,94	2,86	-0,77	-0,28	-0,24
Špičatost [1]	28,68	12,76	24,62	4,72	2,94	3,88

Tab. 9: Parametry plošné drsnosti stanovené z texturovaných filmů předupravených různým počtem dávek vody.

Počet dávek vody	0	1	2	3	4	5
Sa [nm]	2,6	9,2	2,1	29,6	47,5	38,5
Sq [nm]	6,1	22,7	3,2	39,2	61,9	50,1
Šikmost [1]	7,41	5,75	2,09	-1,09	-0,85	-0,85
Špičatost [1]	140	51,5	12,9	2,59	1,70	1,71

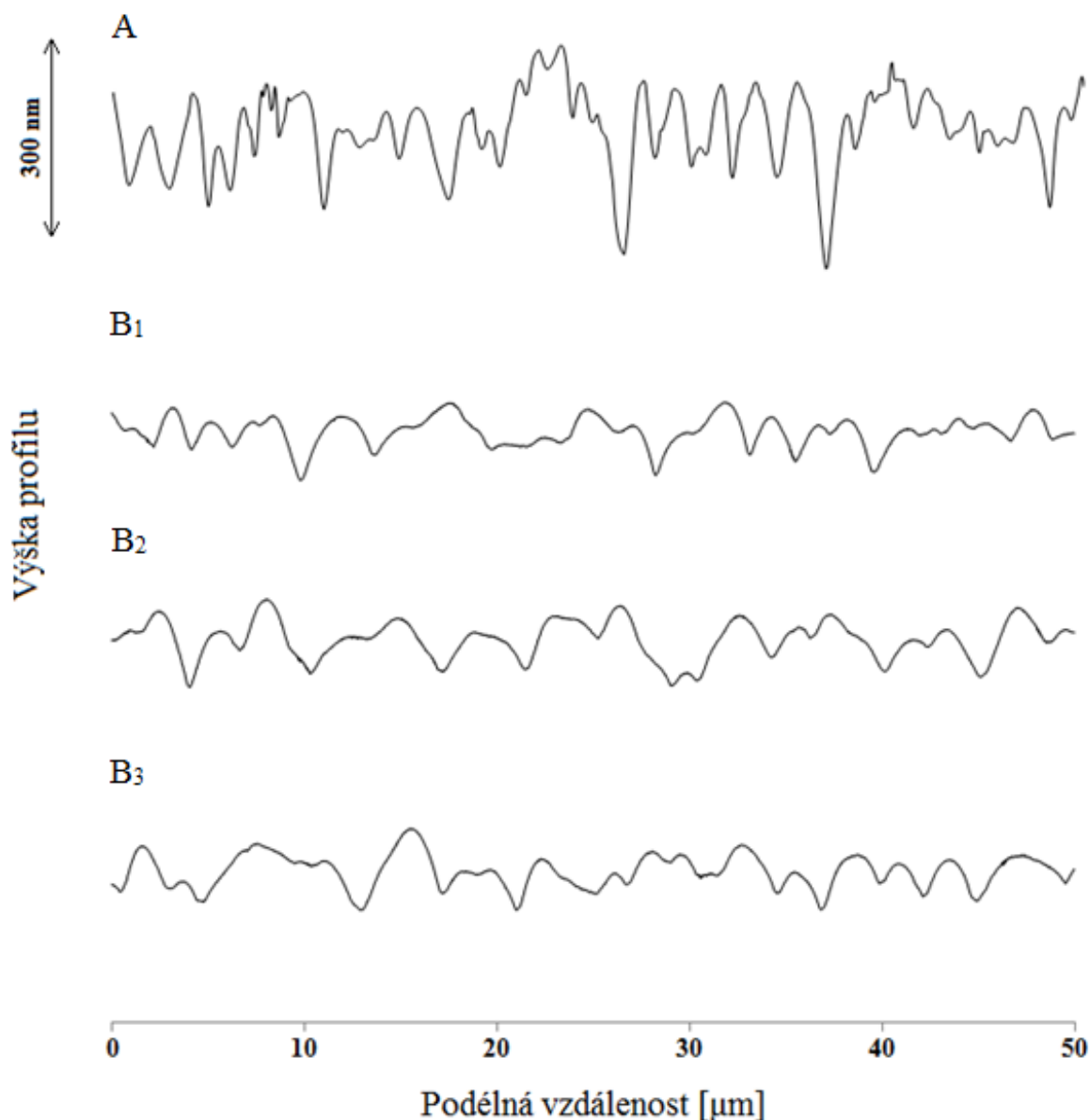
Počet pórů (stanovení v Tab. 10) u filmů upravených bez dávek vody a jednou dávkou je nulový. Několik pórů o velkém průměru je vytvořeno u 2 dávek vody. Povrchovou úpravou 3 dávkami vody docílíme vytvoření velkého množství menších pórů. Oproti 4 a 5 dávkám je počet dvojnásobný. Zároveň je ovšem průměrná velikost i plocha póru poloviční.

Na základě uvedených hodnot je zřejmé, že póry filmu upraveného 5 dávkami jsou méně hluboké, protože průměrná plocha póru je daleko nižší než u 4 dávek vody.

Tab. 10: Charakteristika povrchu texturovaných filmů předupravených různým počtem dávek vody.

Počet dávek vody	0	1	2	3	4	5
Počet pórů [1]	0	0	4	99	50	65
Specifická plocha pórů [10^{-9} m^2]	-	-	2,503	1,564	1,609	1,35
Průměrná plocha póru [μm^2]	-	-	6,26	15,8	32,19	20,8
Průměrná velikost póru [μm]	-	-	12,59	0,61	1,11	1,20

Film upravený pomocí 4 dávek vody a 25 dávek směsi byl zobrazen pomocí dalších metod stanovujících povrchovou topografií. Pro porovnání byly vybrány metody profilometrie a skenovací elektronová mikroskopie. Kontaktním profilometrem byly naměřeny křivky o délce 50 μm , takže tyto profily mohou být srovnány s křivkami získanými z mikroskopu atomárních sil. Na Obr. 19 je uveden profil AFM (A) a tři profily z kontaktního profilometru měřené na odlišném místě filmu (B_1 , B_2 a B_3). Z obrázku je patrná rozdílnost výšky profilů z odlišných metod. Tato skutečnost je dána řádově vyšším poloměrem křivosti hrotu (12,5 μm) u kontaktního profilometru, zatímco struktury na povrchu filmu dosahují menších rozměrů, ale větší hloubky. Hrot proto není schopen kopírovat povrch ve všech prohlubních, takže je stanovení velmi nepřesné. Z tohoto důvodu byla pro většinu měření používána mikroskopie atomárních sil, kde se poloměr křivosti sondy pohybuje v rozmezí 5 až 10 nm.



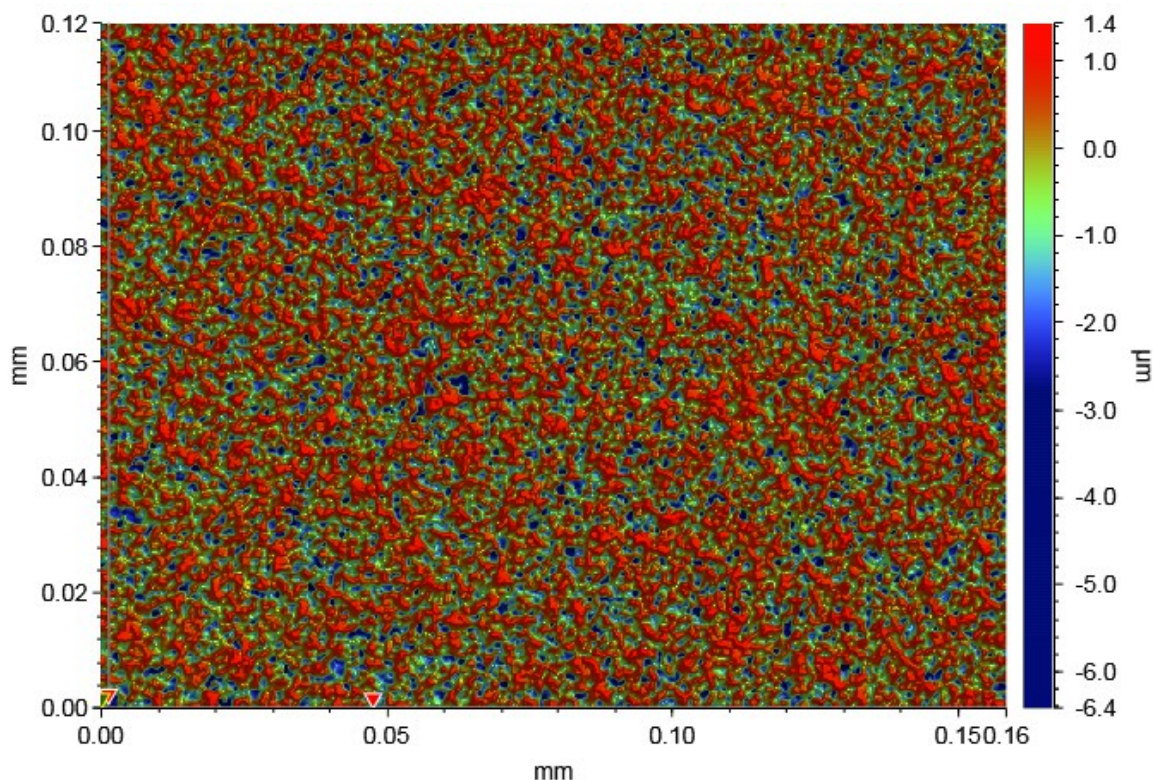
Obr. 19: Vzhled profilů texturovaných filmů HA M243, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $25 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, časová sekvence 5 s, zobrazených pomocí A) AFM, B) kontaktního profilometru.

Z profilometru lze také stanovit hodnoty průměrné drsnosti R_a , střední kvadratické drsnosti R_q , šikmosti a špičatosti. Výsledná drsnost byla určena pro jednotlivé profily naměřené na různých místech filmu a je uvedena v Tab. 11. Drsnost se na různých místech liší. Porovnáním s hodnotami získanými z mikroskopie atomárních sil (viz Tab. 8) lze říci, že se těmto nejvíce podobají hodnoty získané z profilu z prvního místa B1.

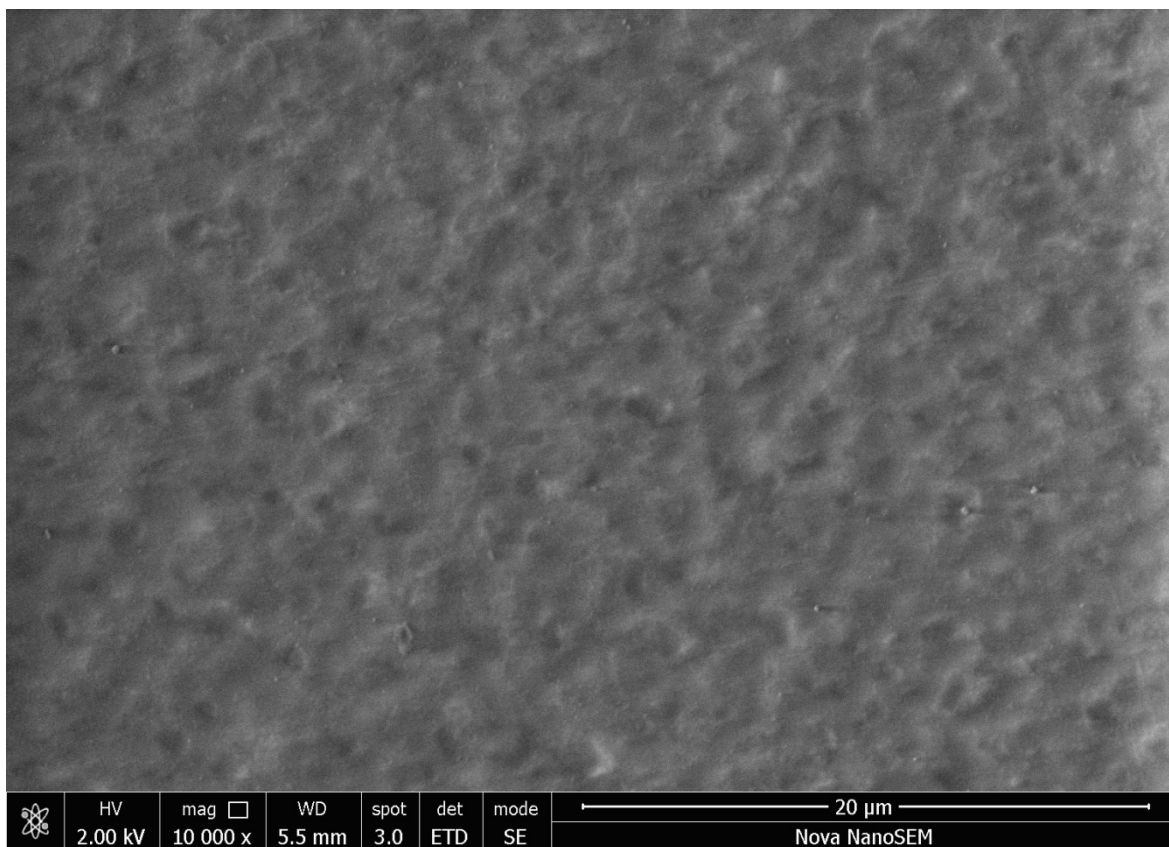
Tab. 11: Porovnání parametrů drsnosti stanovených pomocí AFM a kontaktního profilometru z profilů získaných z různých míst filmu upraveného dávkováním $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $25 \times 200 \mu\text{l}$ směsi rozpouštědel.

Profil č.	A	B1	B2	B3
Ra [nm]	16,4	16,9	22,9	20,4
Rq [nm]	20,6	22,2	29,2	25,2
Šikmost [1]	-0,28	-0,62	-0,32	-0,17
Špičatost [1]	2,94	3,61	2,50	2,41

Stejný film HA byl zobrazen pomocí bezkontaktní optické profilometrie. Snímek je uveden na Obr. 20. Výsledná struktura je obdobná jako při zobrazení mikroskopem atomárních sil. Přístroj ovšem nedosahuje tak vysoké přesnosti měření. Proto lze opět říci, že nejvhodnější metodou pro stanovení textury je AFM.



Obr. 20: Snímek texturovaného filmu HA M243, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $25 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s, zobrazený pomocí bezkontaktního profilometru.



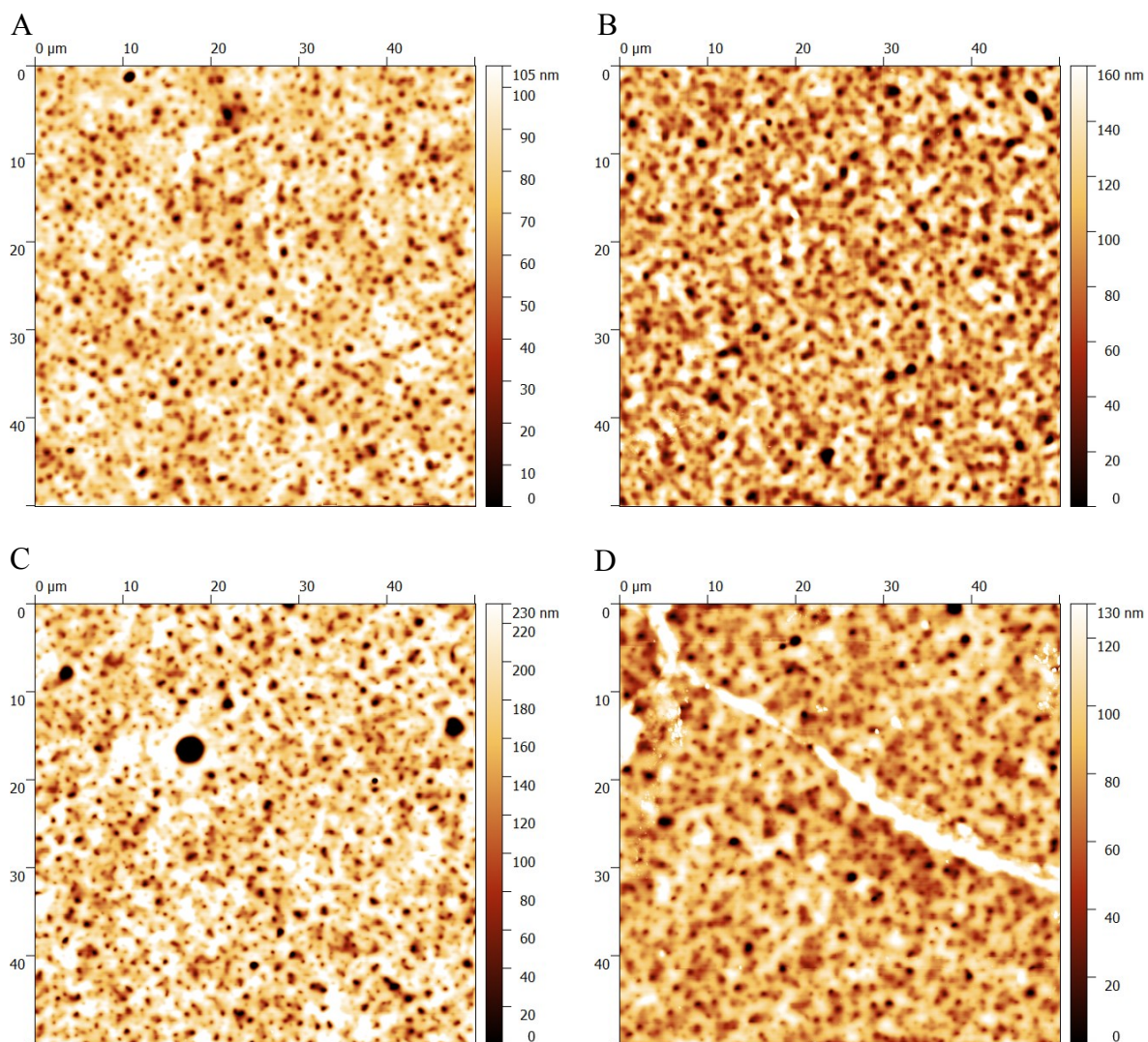
*Obr. 21: SEM snímek texturovaného filmu HA M243, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $25 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.*

Na Obr. 21 je zobrazen snímek ze skenovací elektronové mikroskopie. Zobrazení vytvořené struktury, členění a hloubku lze porovnat s Obr. 17E, který byl naměřen pomocí AFM. Vzhledem ke skutečnosti, že zobrazování povrchů HA na SEM probíhalo bez předešlého pokovení, nebyl zajištěn dostatečný odvod povrchového náboje generovaného svazkem urychlených elektronů. Tato skutečnost znemožňovala použití vysokých urychlovacích napětí pro zvýšení rozlišení pořizovaných snímků a mimo jiné docházelo k deformaci povrchu vzorku v důsledku jeho přehřívání. Lze tedy konstatovat, že využití SEM pro zobrazení tohoto typu materiálu bez předešlého pokovení není vhodné. Pokovení samotné může částečně zkreslovat informace o povrchu. Z výše uvedeného a porovnání příslušných obrázků opět plyne, že nejvhodnější metodou je AFM.

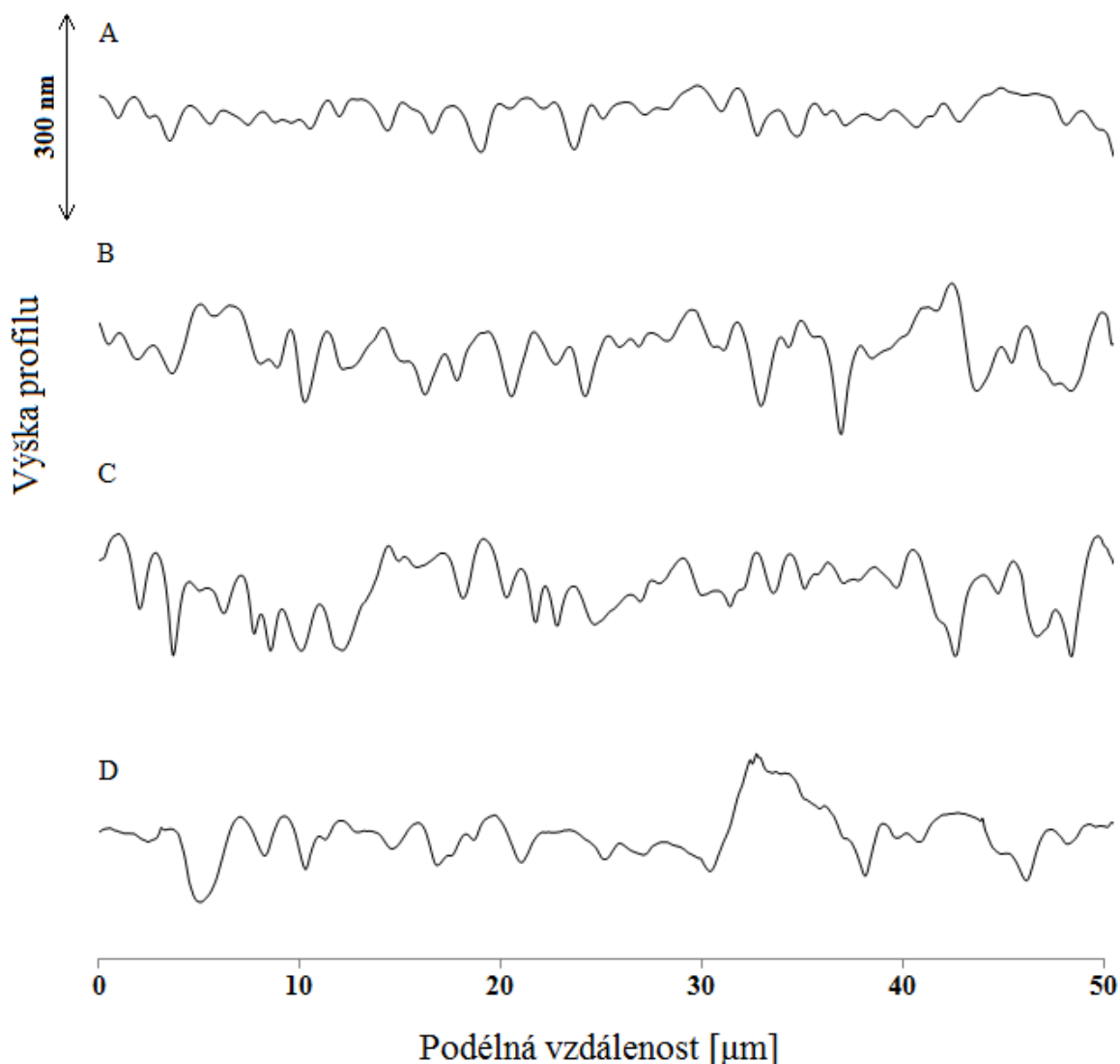
6.1.4 Vliv počtu nanášených dávek směsi rozpouštědel

Jakmile dojde k nabotnutí povrchové vrstvy filmu pomocí vody, může být dávkována směs rozpouštědel, kdy isopropylalkohol difunduje do nabotnalé vrstvy polysacharidu a n-butanol vytváří fázově separované kapky, jejichž velikost a míra koalescence určují rozměry jednotlivých pórů. Pokud je dávkováno větší množství směsi rozpouštědel, dochází k tvorbě větších pórů. Platí zde určitá závislost, kde pro určité množství botnajících dávek ultračisté vody je nezbytné aplikovat specifické množství dávek směsi rozpouštědel. V případě dávkování velkého množství dávek směsi po malém množství vody nedochází k tvorbě velkých pórů. Naopak pokud je povrch hodně nabotnán, ale počet dávek směsi rozpouštědel je nízký, dochází pouze k toku polymeru, nikoliv však k tvorbě pórovité struktury.

Vliv počtu dávek je demonstrován na Obr. 22, a to na filmech upravených nanášením 10, 20, 30 a 40 dávek směsi rozpouštědel po nabotnutí 3 dávkami vody. Na snímku A lze vidět pravidelné uspořádání pórů kulovitého tvaru. Uvnitř struktury byly vytvořeny malé póry, jejichž rozměr a hloubka by se zvětšovaly teprve při dávkování dalšího objemu směsi rozpouštědel. To je ukázáno na snímku B, kde je velikost vzniklých pórů jednotnější. Mimo to roste jejich počet. Hloubka struktury je větší jednak díky vyšší difúzi rozpouštědla do HA, a jednak díky intenzivnějšímu vtačování kapek špatného rozpouštědla do zvyšující se nabotnané vrstvy polymeru. V případě vzorku C dochází k výraznější koalescenci separovaných kapek špatného rozpouštědla, což způsobuje vznik nerovnoměrně rozprostřených pórů přes plochu filmu. Jestliže je počet dávek ještě zvýšen (snímek D), polymerní vrstva je příliš nabotnána, takže dochází k jejímu toku, což opět umožňuje ještě rychlejší koalescenci kapek špatného rozpouštědla. Mimo to je po ořezání výška textury filmu poloviční oproti předcházejícímu případu. To naznačuje, že asi polovina nabotnané vrstvy byla rozpuštěna a vlivem odstředivé síly přesunuta na okraj misky s filmem.



Obr. 22: Vliv počtu dávek směsného rozpouštědla na změnu mikro-textury povrchu filmů HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + A) 10 \times , B) 20 \times , C) 30 \times , D) 40 \times 200 μl směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.



Obr. 23: Změny profilů mikro-texturovaných filmů v závislosti na počtu dávek směsného rozpouštědla deponovaných na vzorky HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračistě vody + A) $10 \times$, B) $20 \times$, C) $30 \times$, D) $40 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.

Profily diskutovaných filmů jsou porovnány na Obr. 23. Na profilu A lze vidět, že 10 dávek směsi je nedostačující pro povrchovou úpravu filmu HA. I když je povrch uspořádán pravidelně, póry dosahují malé hloubky. Ke zvětšení dochází v části B, což koresponduje s vysvětlením u Obr. 22. Zvyšující se počet dávek směsi rozpouštědel způsobuje více nepravidelné uspořádání. Na profilu C se objevuje větší množství malých pórů vedle větších prohlubní. Na obrázku D je zřejmá struktura o menší hloubce s občasným vychýlením ve formě výškových útvarů nebo prohlubní.

S výsledky uvedenými na předcházejících obrázcích (Obr. 22 a Obr. 23) koresponduje rozdílnost hodnot drsnosti stanovená z příslušných profilů i celé plochy snímku (Tab. 12 a Tab. 13). Největší drsnost byla stanovena u filmu upraveného 30 dávkami směsi. Méně drsný je film s 20 dávkami, přibližně stejně upravený povrch mají filmy upravené 10 a 40 dávkami. Proto lze tvrdit, že vhodné textury lze dosáhnout pomocí nanášení 3 dávek vody a následně 20 až 30 dávek směsi rozpouštědel.

Tab. 12: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených různým počtem dávek směsi rozpouštědel.

Počet dávek směsi	10	20	30	40
Ra [nm]	5,7	8,2	11,0	4,5
Rq [nm]	7,3	9,7	14,7	5,9
Šikmost [1]	-0,08	-0,18	-0,53	-0,14
Špičatost [1]	3,28	2,33	5,00	4,06

Tab. 13: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů upravených různým počtem dávek směsi rozpouštědel.

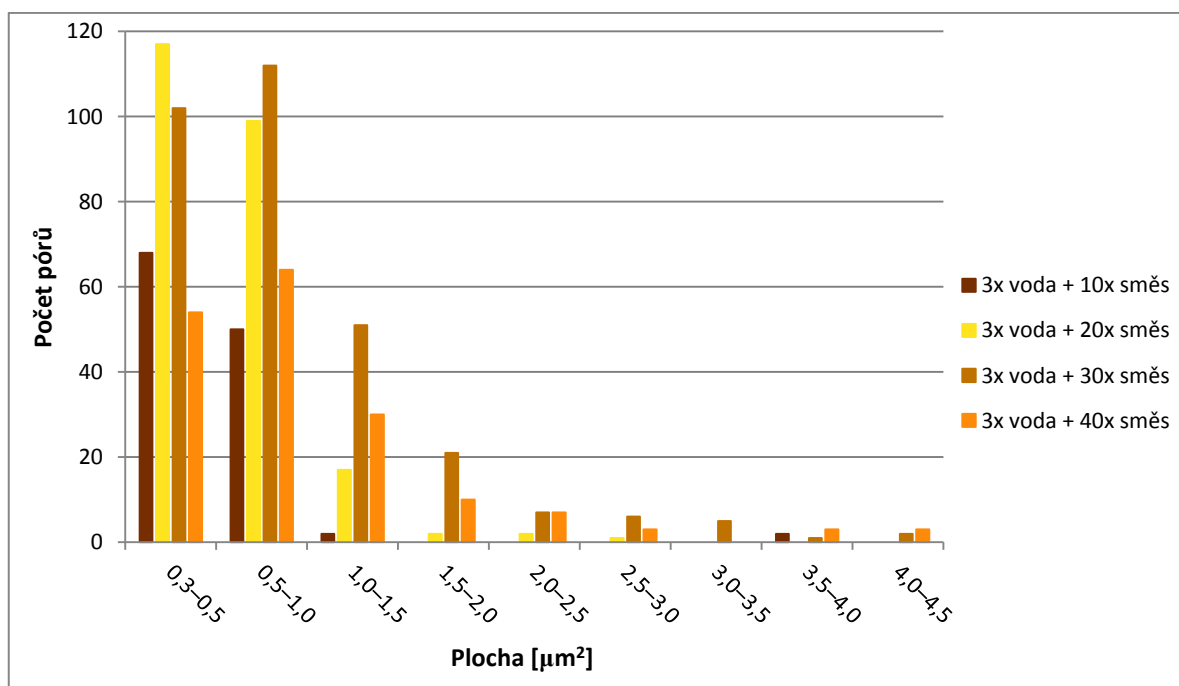
Počet dávek směsi	10	20	30	40
Sa [nm]	14,0	26,0	36,1	18,6
Sq [nm]	18,3	33,6	49,6	25,8
Šikmost [1]	-0,77	-0,48	-1,60	-0,55
Špičatost [1]	1,62	1,31	7,31	13,30

Porovnáním počtu vytvořených pórů a jejich charakteristik (viz Tab. 14) lze usoudit, že v případě 10 dávek je vytvořeno nejmenší množství pórů s největší průměrnou velikostí i plochou póru. Naopak největší množství pórů bylo stanoveno u filmu upraveného 20 dávkami směsi. Zároveň byla určena nejmenší plocha póru o malé velikosti. Mezi těmi-to dvěma filmy se pohybují charakteristiky filmů s 30 a 40 dávkami, přičemž po dávkování 40 dávek bylo získáno větší množství pórů o menší velikosti (nejmenší z uvedených), ale větší ploše.

Tab. 14: Charakteristika povrchu texturovaných filmů upravených různým počtem dávek směsi rozpouštědel.

Počet dávek směsi	10	20	30	40
Počet pórů [1]	48	59	52	57
Specifická plocha pórů [10^{-9} m^2]	1,45	1,36	1,34	1,61
Průměrná plocha póru [μm^2]	30,2	23,1	25,7	28,2
Průměrná velikost póru [μm]	1,39	1,24	1,37	1,04

Na Obr. 24 je uveden graf porovnání rozložení plochy vytvořených pórů na filmech upravených 3 dávkami ultračisté vody a různým počtem dávek směsi rozpouštědel. Největší množství pórů obsahovaly filmy upravené 20 a 30 dávkami směsi rozpouštědel. U všech filmů lze pozorovat největší zastoupení pórů o velikosti menší než $1 \mu\text{m}^2$. Porovnáním rozložení velikosti u jednotlivých filmů lze vidět, že v případě úpravy 10 a 20 dávkami směsi je největší množství pórů o velikosti od $0,3$ do $0,5 \mu\text{m}^2$, zatímco v případě 30 a 40 dávek je dosaženo maxima v intervalu $0,5$ – $1,0 \mu\text{m}^2$. V následujících intervalech množství u všech stanovení exponenciálně klesá. Nutno dodat, že počet jednotlivých pórů neodpovídá počtu stanovenému v Tab. 14, protože stanovení probíhalo v jiném programu.

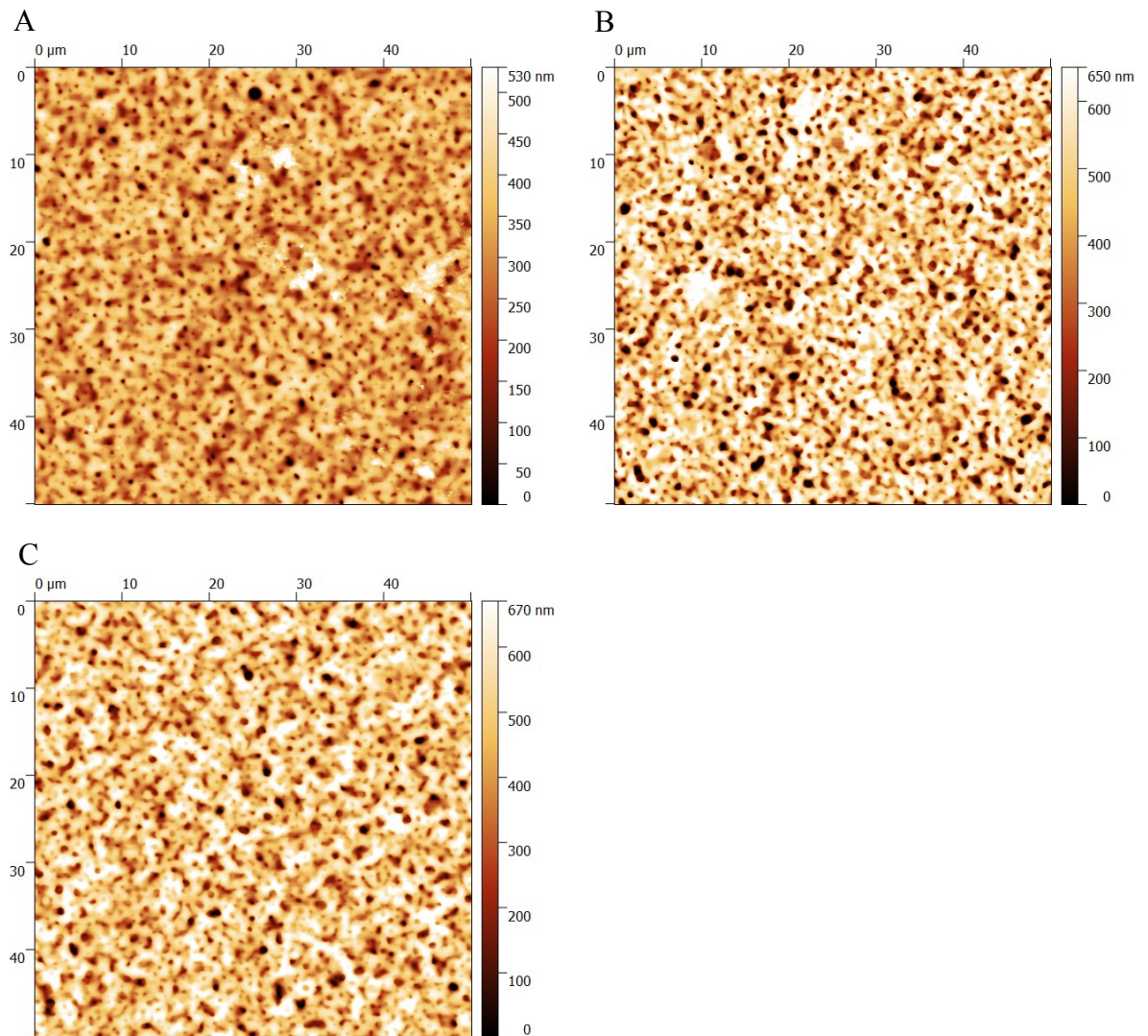


Obr. 24: Histogram plochy pórů vytvořených na povrchu mikro-texturovaných filmů v závislosti na počtu dávek směsného rozpouštědla deponovaných na vzorky HA M243, úprava povrchu: $3 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $10 \times$, $20 \times$, $30 \times$ nebo $40 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.

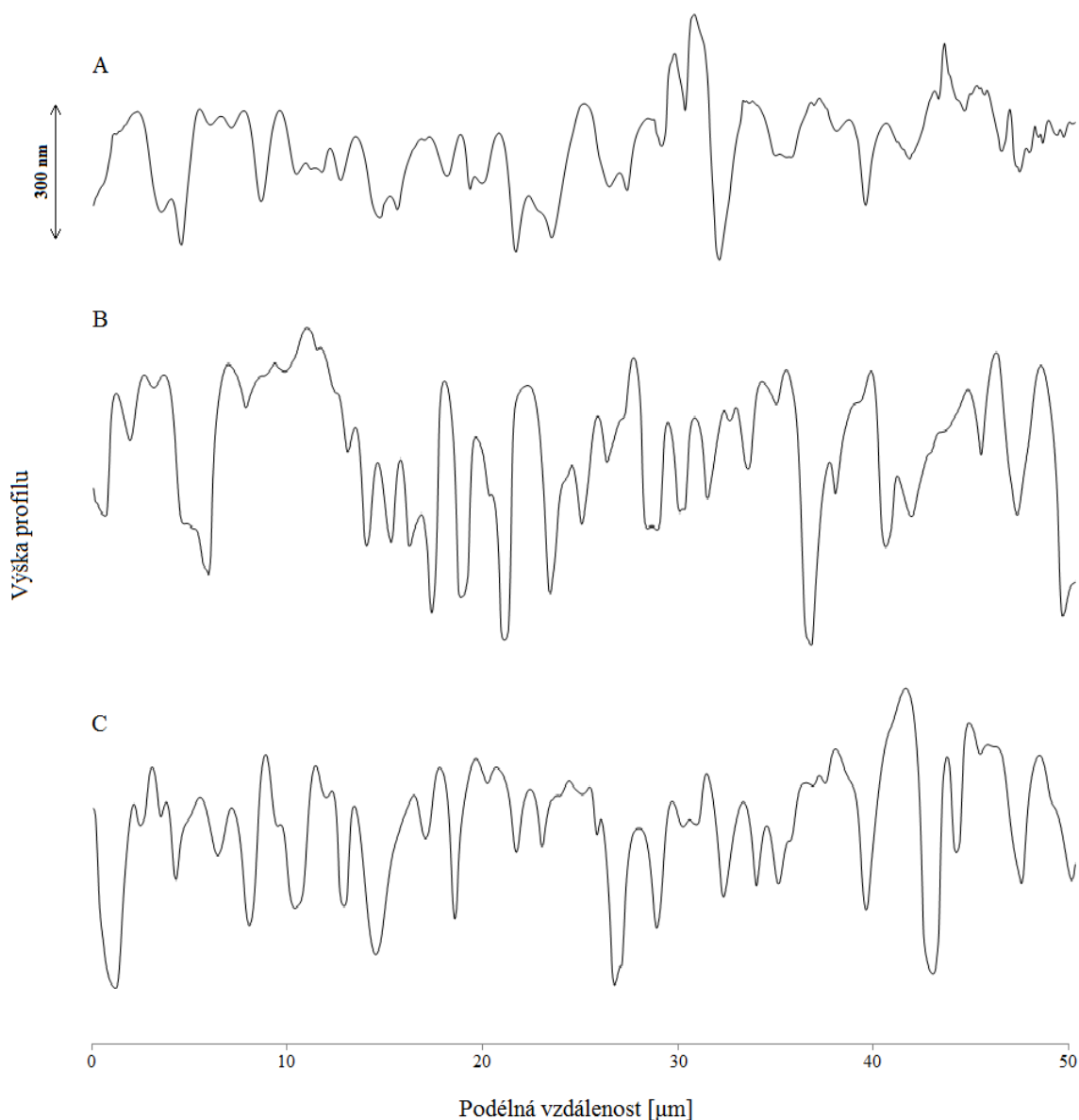
6.1.5 Vliv rychlosti rotace spin-coateru

V případě, že je film na spin-coateru upravován při nižších otáčkách, dochází k tvorbě větších pórů. Směs rozpouštědel není odstředivou silou odmrštěna do krajů mističky, ale zůstává po delší dobu v kontaktu s filmem. Může proto dojít k většímu nabotnutí polymeru a k lepší fázové separaci kapek špatného rozpouštědla. Polymerní systém má větší čas k tomu, aby se mohl přeuspořádat kolem kapek špatného rozpouštědla.

Obr. 25 zobrazuje vývin pórovité struktury povrchu filmů se změnou otáček spin-coateru. V případě obrázku A je vytvořeno velké množství pórů o různé velikosti. Díky rychlé rotaci je také přítomno mnoho pórů o malé velikosti. Molekuly rozpouštědel jsou odmrštěny a kapky n-butanolu se nemohou dále zvětšovat. Na obrázku B vznikají daleko větší póry s větší hloubkou. Zachytávání molekul rozpouštědel je účinnější díky nižším otáčkám při povrchové úpravě. Film na obrázku C obsahuje nejhlubší póry, ale škála jejich velikostí je stejná jako u filmu A. Povrch obsahuje větší množství pórů o velkém průměru.



Obr. 25: Vliv rychlosti rotace na změnu povrchové mikrotextury upravovaného filmu HA M243, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $30 \times 200 \mu\text{l}$ směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s, rychlost rotace A) 2100, B) 1600 a C) 900 ot./min.



Obr. 26: Vliv rychlosti rotace na změnu povrchové profilu upravovaného filmu HA M243, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $30 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s, rychlost rotace A) 2100, B) 1600 a C) 900 ot./min.

Profily získané ze snímků jednotlivých filmů jsou zobrazeny na Obr. 26. Je zřejmé, že povrch je upraven do větší hloubky v případě pomalejší rotace. Póry na profilu A dosahují malé hloubky a jsou rozmístěny nepravidelně. Profil B zobrazuje póry o větší hloubce, struktura je pravidelně uspořádaná. Několik porů vedle sebe má stejné rozměry, vedle nich se objevuje hlubší pór nebo vyšší výstupky. Póry na profilu C jsou pravidelnější z hlediska

hloubky. Nedochází ke tvorbě rozlišně hlubokých prohlubní, ale dosahují podobných rozměrů.

Následující tabulky přehledně ukazují porovnání filmů upravených při odlišné rychlosti rotace (viz Tab. 15 a Tab. 16). Hodnoty drsnosti stanovené jak z profilu, tak z plochy jsou nejnižší při 2100 ot./min. Při snížení rotace na 1600 ot./min je drsnost největší. Takto upravený film je dokonce nejdrsnější ze všech filmů připravených v rámci této práce. V případě, že je film upraven na spin-coateru rotujícím rychlostí 900 ot./min, výsledná drsnost se pohybuje přibližně v polovině mezi hodnotami předchozích dvou filmů. Z tohoto porovnání plyne, jak je nezbytné optimálně volit rychlost rotace upravovaných filmů.

Tab. 15: Parametry drsnosti stanovené z profilů filmů upravených při rozdílných rychlostech rotace.

Rychlost rotace spin-coateru [ot./min]	2100	1600	900
Ra [nm]	24,2	60,6	44,4
Rq [nm]	32,2	76,5	56,0
Šikmost [1]	-0,32	-0,24	-0,10
Špičatost [1]	4,45	2,98	3,36

Tab. 16: Parametry drsnosti plošně stanovené u filmů upravených při rozdílných rychlostech rotace.

Rychlost rotace spin-coateru [ot./min]	2100	1600	900
Sa [nm]	60,2	112,7	98,9
Sq [nm]	78,3	142,2	125,1
Šikmost [1]	-0,62	-0,90	-0,74
Špičatost [1]	1,71	0,47	0,55

V Tab. 17 je uvedena charakteristika pórů, podle které je největší množství pórů o nejmenších rozměrech u filmu upraveného při 1600 ot./min. Při nižších otáčkách (900 ot./min.) je stanovená průměrná plocha i velikost větší, ale počet pórů je nižší. U vyšších otáček jsou hodnoty obdobné, ale průměrná velikost póru je nejmenší z uvedených.

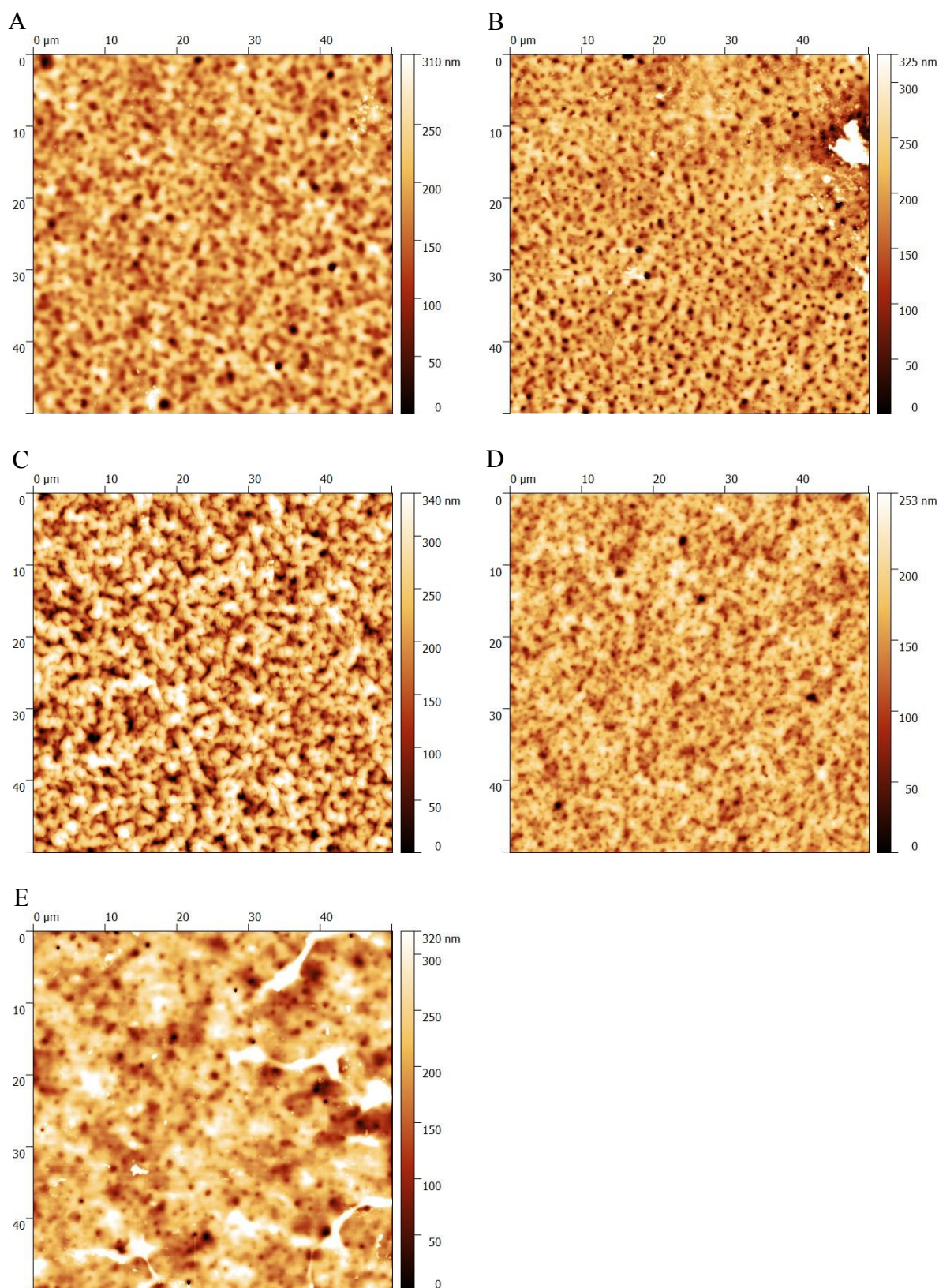
Tab. 17: Charakteristika povrchu filmů upravených při rozdílných rychlostech rotace.

Rychlost rotace spin-coateru [ot./min]	2100	1600	900
Počet pórů [1]	64	87	63
Specifická plocha pórů [10^{-9} m^2]	1,510	1,298	1,405
Průměrná plocha póru [μm^2]	23,59	14,92	22,30
Průměrná velikost póru [μm]	0,862	1,031	1,137

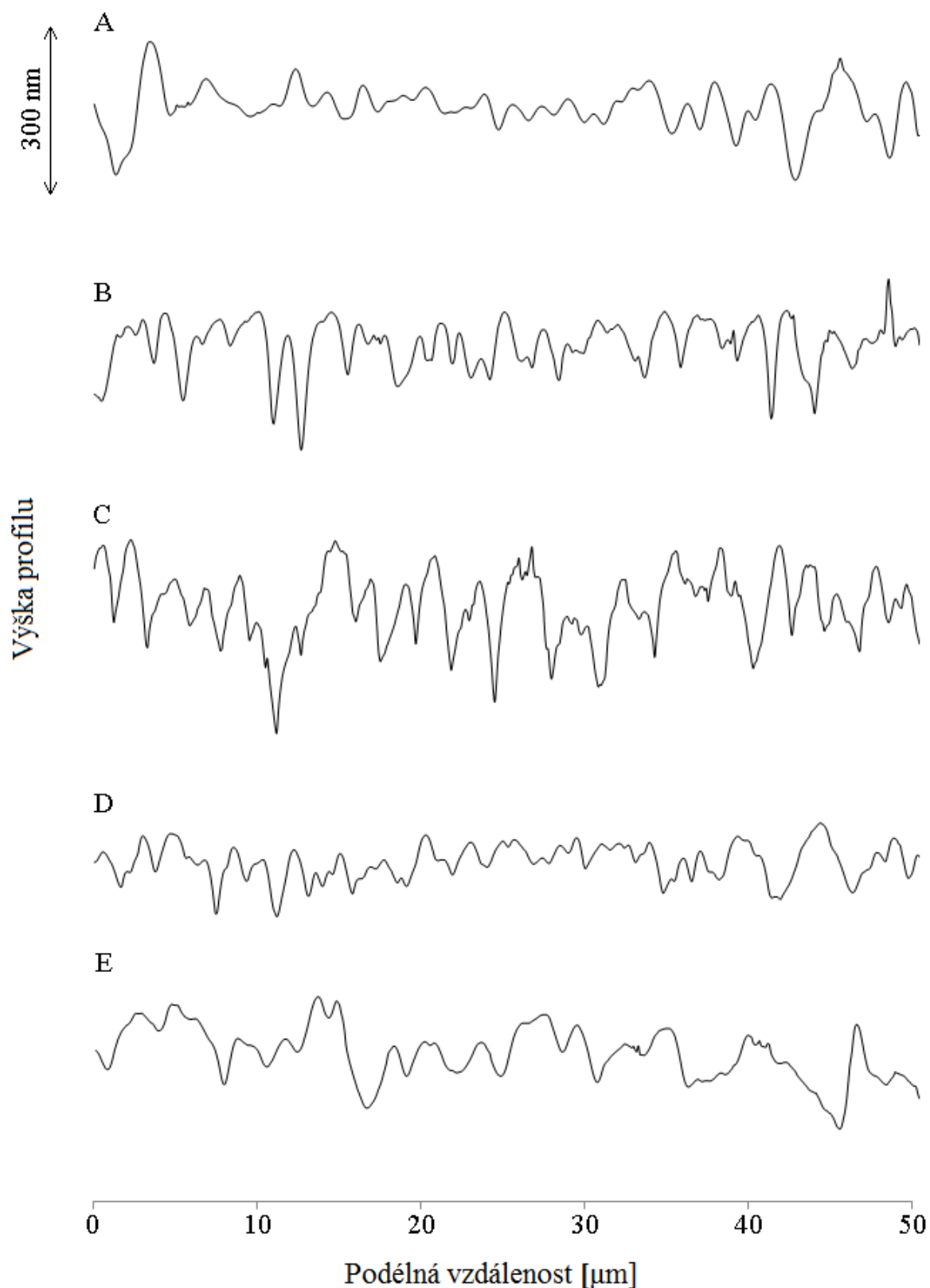
6.1.6 Vliv střední molekulové hmotnosti

Mnoho vlastností je výrazně závislých na molekulové hmotnosti polymeru. V případě úpravy povrchové vrstvy je třeba počítat s obtížným provedením mikrotextrizace u vysokých M_w v porovnání s nízkomolekulárním polymerem. Jak je známo z literatury, vysokomolekulární HA vytváří mnoho zapletenin a stabilních nadmolekulárních struktur.

Na Obr. 27 je uvedeno porovnání snímků texturovaných filmů připravených za shodných podmínek, lišící se střední molekulovou hmotností polymeru. Z těchto snímků lze porovnat tvar, velikost a rozmístění pórů. Na filmu z HA o nízké střední molekulové hmotnosti, tj. 124 kDa, bylo vytvořeno velké množství pórů kulovitěho tvaru umístěných blízko u sebe, částečně propojených mezi sebou, viz Obr. 27A. U vyšší molekulové hmotnosti M243 jsou póry více oddělené polymerní maticí. Póry mají kulovitý tvar, ale dochází k mírné deformaci do protáhlého tvaru v důsledku rotace při spin-coatingu. Mezi velkými póry lze vidět i díry o menší velikosti (Obr. 27B). Na Obr. 27C je snímek filmu z HA M370, kde jsou vytvořené póry užší, ale částečně propojené mezi sebou. U M600 je omezeno bobtnání polymeru a tím i samotné uspořádání povrchu. Póry mají nejmenší hloubku i velikost, ale stále jsou ve velkém množství rozprostřeny přes plochu snímku. Na snímku filmu z HA o nejvyšší molekulové hmotnosti 1500 kDa lze zřetelně vidět, že jsou póry umístěny daleko od sebe. U velkých molekul HA je omezena možnost vtlačování kapek špatného rozpouštědla do nedostatečně nabobtnalé polymerní vrstvy.



Obr. 27: Změny vzhledu texturovaných filmů HA o rozdílných středních M_w : A) M124, B) M243, C) M370, D) M600, E) M1500, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $30 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.



Obr. 28: Změny profilu texturovaných filmů HA o rozdílných středních M_w : A) M124, B) M243, C) M370, D) M600, E) M1500, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $30 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.

Obr. 28 přehledně znázorňuje profily filmů, které byly získány proložením odpovídajícího snímku z AFM. Pomocí těchto křivek lze porovnat pravidelnost vytvořené struktury, hloubku a šířku pórů v závislosti na odlišné molekulové hmotnosti. V případě nízké molekulové hmotnosti HA jsou vytvořené póry nepravidelné, na okrajích snímku mají větší hloubku i šířku, kdežto uprostřed jsou velmi malé, profil A. Povrchy filmů prezentovaných na obrázcích B a C jsou upraveny více pravidelně, jak plyne z příslušných profilových řezů. U molekulové hmotnosti M370 je dosaženo větší hloubky jednotlivých pórů. U filmu připraveného z HA M600 (Obr. 28D) je sice struktura povrchu pravidelná, ale hloubka pórů je oproti ostatním menší. Poslední profil, obrázek E, je velmi nepravidelný, a to jak v šířce, tak v hloubce pórů.

Z uvedených profilů byly určeny parametry drsnosti, jejichž porovnání lze vidět v Tab. 18. Pro každou molekulovou hmotnost polymeru, z něhož byl připraven film, je stanovena průměrná drsnost Ra, střední kvadratická drsnost Rq, šikmost a špičatost. Nejvyšší hodnoty Ra a Rq byly stanoveny u M243 a M370.

Stejně parametry (u plošného stanovení označované jako Sa a Sq) byly také vyhodnoceny z celé plochy snímku a jsou uvedeny v Tab. 19. Nejvyšší drsnosti bylo dosaženo u filmu z HA M370. Vysoké hodnoty Sa i Sq stanovené u HA M1500 jsou v důsledku přítomnosti velkých výstupků označených bíle na Obr. 27E. Drsnost klesá v řadě M370–M243–M124–M600.

Tab. 18: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů připravených z HA o různé M_w .

M_w [kDa]	124	243	370	600	1500
Ra [nm]	10,2	18,0	19,6	10,5	8,8
Rq [nm]	13,0	23,7	24,0	13,8	11,2
Šikmost [1]	-0,02	-0,47	-0,38	-0,44	-0,01
Špičatost [1]	2,92	4,37	2,68	3,81	3,86

Tab. 19: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů připravených z HA o různé M_w .

M_w [kDa]	124	243	370	600	1500
Sa [nm]	31,7	35,1	52,1	24,0	42,5
Sq [nm]	40,9	48,3	65,6	30,7	57,9
Šikmost [1]	-0,34	-0,42	-0,40	-0,60	0,52
Špičatost [1]	1,38	3,65	0,19	1,42	2,60

V následující tabulce (Tab. 20) lze vidět porovnání počtu pórů, specifického povrchu a průměrné plochy a velikosti pórů vytvořených na povrchu jednotlivých filmů z Obr. 27. Charakteristiky se výrazně odlišují u HA M243, kde bylo vytvořeno velké množství pórů o velmi malé velikosti, tím pádem i ploše.

Pro veškeré experimenty stanovující vliv různých procesních parametrů byla jako modelový systém zvolena molekulová hmotnost 243 kDa, u které dochází tvorbě největšího množství pórů.

Tab. 20: Charakteristika povrchu texturovaných filmů připravených z polymerů o různé M_w .

M_w [kDa]	124	243	370	600	1500
Počet pórů [1]	52	305	53	56	67
Specifická plocha pórů [10^{-9} m ²]	1,58	1,36	1,57	1,52	1,86
Průměrná plocha póru [μm^2]	30,3	4,5	29,7	27,1	27,8
Průměrná velikost póru [μm]	1,24	0,36	1,22	1,14	0,86

Z analýzy dat uvedených v Tab. 18 až Tab. 20 plyne, že na změnu počtu pórů má zásadní vliv velikost střední molekulové hmotnosti a její distribuce, jak bude prokázáno a diskutováno v následující podkapitole.

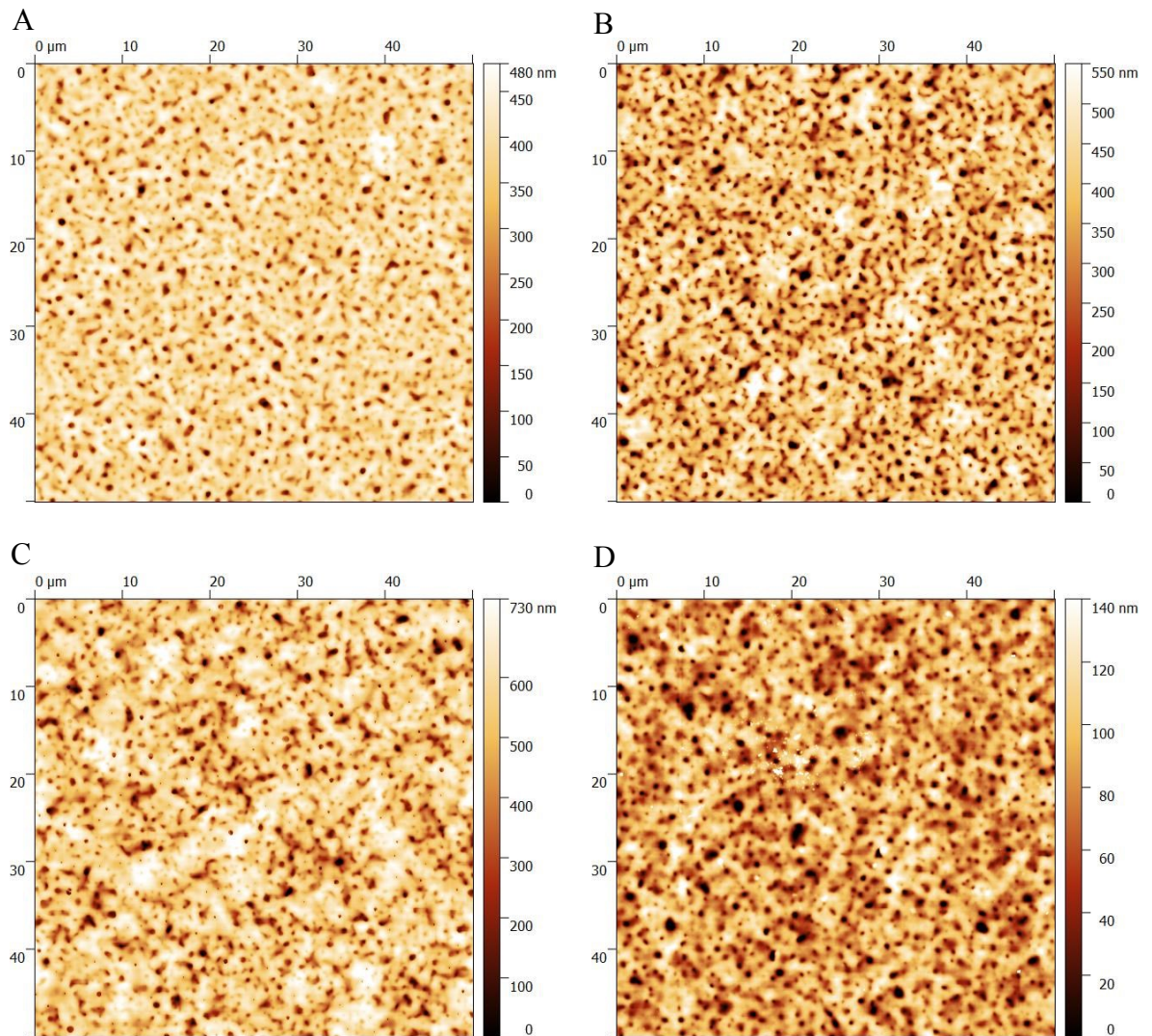
6.1.7 Vliv distribuce molekulové hmotnosti

Pro diskuzi vlivu distribuce M_w byly připraveny filmy ze směsi různých středních molekulových hmotností. Pro rozšíření zastoupení polymeru byly konkrétně využity směsi M_w M243 + M1180 a M124 + M600 + M1500. Na základě Tab. 1 je zřejmá distribuce M_w vytvořených směsí.

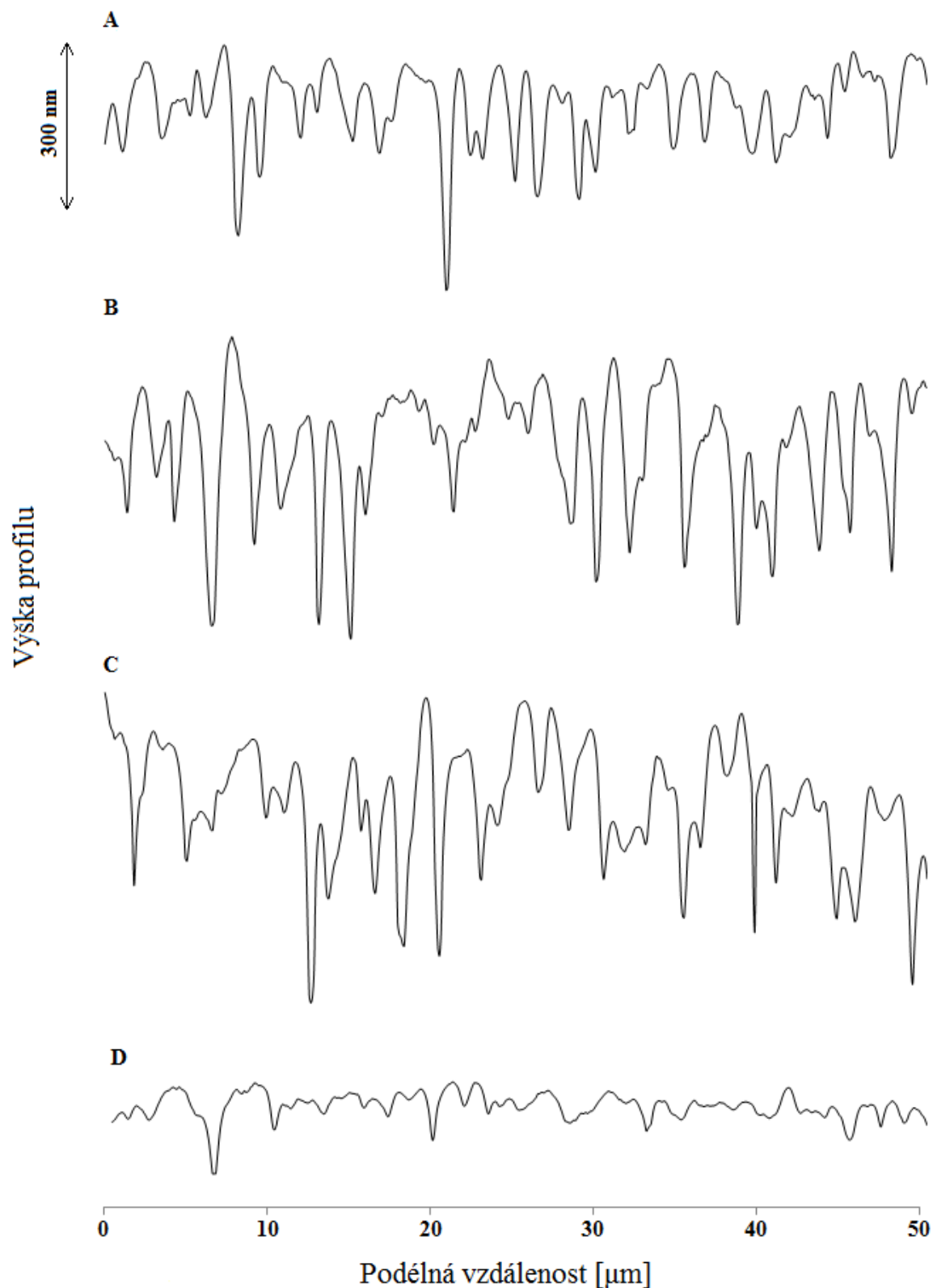
Povrchovou úpravou filmů připravených z těchto směsí lze získat póry o velké hloubce, rovnoměrně rozprostřené přes plochu snímku. Na Obr. 29 jsou snímky z AFM filmů připravených ze směsí M_w o hmotnostním poměru 1:1, 2:1 a 4:1 (u první směsi) nebo

7:1,5:1,5 (pro případ druhé směsi) za jinak shodných podmínek. Ze snímků vyplývá, že při větším zastoupení HA o nižší molekulové hmotnosti ve směsi je vytvořena struktura s hlubšími póry. Zároveň se však vytváří „ostrůvky“ HA mezi póry zřejmě v důsledku větší fázové separace HA o jednotlivých M_w . Vytvořenou strukturu lze také porovnat s filmem vytvořeným pouze z M243, tedy s úzkou distribucí M_w . Film je zobrazen na Obr. 27B a při srovnání lze vidět, že je povrch tvořen póry o větším průměru s menší hloubkou. Filmy HA, které mají větší distribuci molekulových hmotností, jsou více citlivé na povrchovou úpravu vyvolanou časově sekvenovaným dávkováním směsi dobrého a špatného rozpouštědla.

Druhá směs má sice větší distribuci molekulových hmotností a větší zastoupení nízkomolekulární HA, dochází však k tvorbě pórů o velmi malé hloubce. Toto může být důsledkem nízkého zastoupení polymeru o velké molekulové hmotnosti. Stanovení ideálního poměru HA ve směsi však nepatří mezi hlavní cíle této práce.



Obr. 29: Změny vzhledu texturovaných filmů HA připravených ze směsi M243 + M1180 v hmotnostním poměru: A) 1:1, B) 2:1, C) 4:1, D) M124 + M600 + M1500 v hmotnostním poměru 7:1,5:1,5, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $30 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.



Obr. 30: Změny profilů texturovaných filmů HA připravených ze směsi M243 + M1180 v hmotnostním poměru: A) 1:1, B) 2:1, C) 4:1, D) M124 + M600 + M1500 v hmotnostním poměru 7:1,5:1,5, úprava povrchu: $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $30 \times 200 \mu\text{l}$ směsi *n*-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s.

Jak lze pozorovat z porovnání profilových řezů na Obr. 30, zvýšením zastoupení nízkomolekulární HA ve směsi je dosaženo větší hloubky pórů. Nejvíce pravidelná struktura je na profilu A, ale póry mají malou hloubku. Na profilu B jsou póry od sebe více odděleny ostrůvky fázově separovaného polymeru. Profil C má nejhlubší póry, ale málo pravidelně uspořádané. Jak již bylo uvedeno, druhá směs obsahuje póry o malé hloubce, což názorně zobrazuje profil D.

Povrchové charakteristiky v Tab. 21 udávají, že nejvyšší drsnost vykazují filmy první směsi v poměru 2:1 a 4:1. O něco nižší drsnost je u filmu s poměrem 1:1. Výrazně nižší hodnota je u filmu druhé směsi. Výsledky korespondují s daty prezentovanými na Obr. 29 a Obr. 30.

Obdobně jako u drsnosti stanovené z profilu AFM, hodnoty určené z plošného měření (Tab. 22) jsou nejnižší pro druhou směs, dvakrát vyšší jsou u filmu s poměrem HA 1:1. Plošně je nejdrsnější texturovaný film připravený v poměru 4:1, což je nejspíše podmíněno nejvyšším podílem nízkomolekulární HA.

Tab. 21: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů připravených z HA o různé distribuci molekulových hmotností.

M_w [kDa]	243 + 1180			124 + 600 + 1500
Hmotnostní poměr	1:1	2:1	4:1	7:1,5:1,5
Ra [nm]	28,9	39,0	36,7	7,8
Rq [nm]	39,0	49,8	49,3	10,3
Šikmost [1]	-0,50	-0,47	-0,93	-0,69
Špičatost [1]	5,06	3,52	5,72	4,67

Tab. 22: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů připravených z HA o různé distribuci molekulových hmotností.

M_w [kDa]	243 + 1180			124 + 600 + 1500
Hmotnostní poměr	1:1	2:1	4:1	7:1,5:1,5
Sa [nm]	46,6	80,0	91,3	19,69
Sq [nm]	62,6	104,9	119,0	25,90
Šikmost [1]	-1,51	-1,15	-1,03	-0,98
Špičatost [1]	3,36	1,78	1,49	2,54

Charakteristika pórů uvedená v Tab. 23 vypovídá o již zmíněném rozprostření a velikosti. Největší množství pórů o malé velikosti a ploše je u filmu připraveného pro texturizaci v poměru 1:1. S rostoucím obsahem nízkomolekulární HA se tyto hodnoty zvyšují. Jedině

průměrná plocha póru je vyšší pro poměr 2:1 než pro poměr 4:1, což lze posoudit také z Obr. 29. Póry filmu s poměrem 4:1 sice dosahují větší hloubky, nejedná se však o hloubku všech vzniklých pórů. V případě poměru 2:1 jsou vytvořeny póry o mnohem jednotnější velikosti a více z nich dosahuje hloubky uvedené na snímku. Proto je uvedený průměr plochy jednoho póru vyšší. Filmy připravené z druhé směsi mají nejmenší množství pórů o malé velikosti, ale velké ploše. To může být dáno propojením větších pórů, ale zároveň přítomností velkého množství malých pórů.

Tab. 23: Charakteristika povrchu texturovaných filmů připravených z HA o různé distribuci molekulových hmotností.

M_w [kDa]	243 + 1180			124 + 600 + 1500
Hmotnostní poměr	1:1	2:1	4:1	7:1,5:1,5
Počet pórů [1]	100	58	65	53
Specifická plocha pórů [10^{-9} m^2]	1,18	1,43	1,41	1,59
Průměrná plocha póru [μm^2]	11,8	24,6	21,7	30,1
Průměrná velikost póru [μm]	1,00	1,24	1,45	1,09

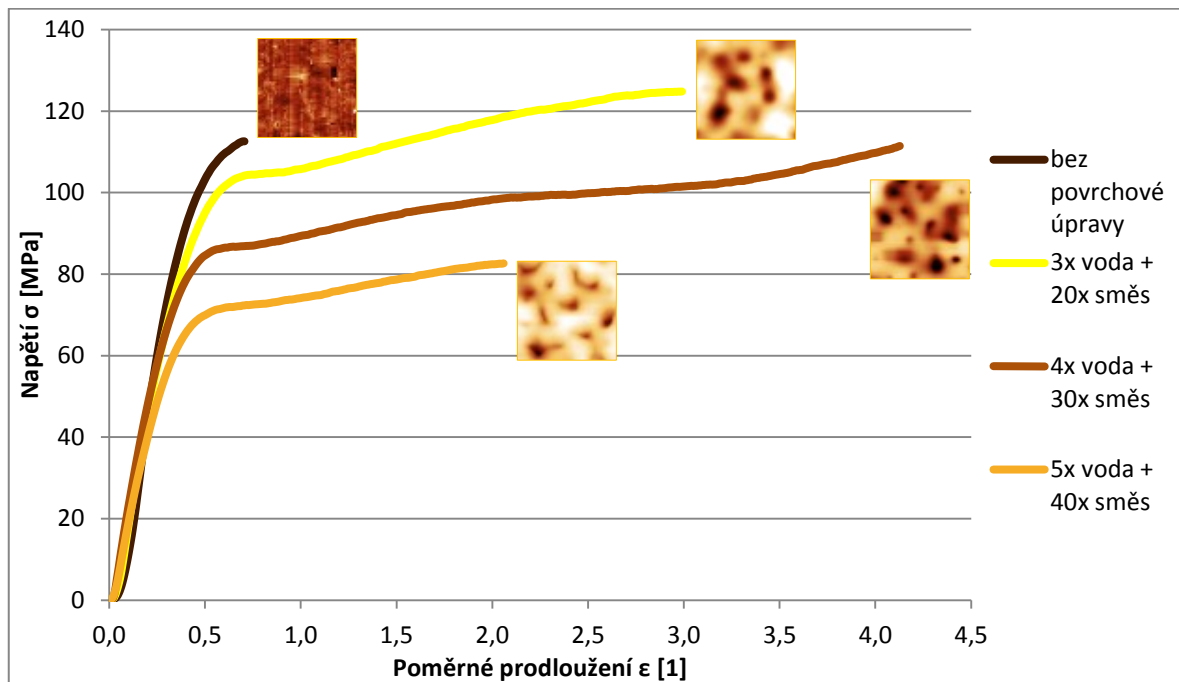
6.1.8 Vliv povrchové úpravy na mechanické vlastnosti filmu

Struktura povrchu určuje mechanické vlastnosti, zejména u tenkých filmů lze pozorovat velkou závislost pevnosti na textuře povrchu. Tento vliv byl testován pomocí tahové zkoušky u filmu bez povrchové úpravy v porovnání s filmy s odlišnou povrchovou úpravou, tzn. různou velikostí vytvořených pórů. Nutno podotknout, že po odlévání filmu na upravené PS mističky vzniká ze spodní strany folie HA otisk struktury, nicméně vliv této struktury lze zanedbat vzhledem ke skutečnosti, že byla u všech srovnávaných vzorků totožná.

Na Obr. 31 jsou znázorněny výsledky tahové zkoušky filmů bez povrchové úpravy a s úpravou pomocí 200 μl ultračisté vody a 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7 s dávkováním 3 \times voda + 20 \times směs rozpouštědel; 4 \times voda + 30 \times směs rozpouštědel a 5 \times voda + 40 \times směs rozpouštědel. U příslušných vzorků jsou přiloženy snímky struktury povrchu před provedením tahové zkoušky o velikosti 5 \times 5 μm . Z uvedené Tab. 24 lze vyčíst konkrétní stanovené hodnoty pevnosti v tahu a poměrného prodloužení.

Z výsledků tahové zkoušky vyplývá, že film bez povrchové úpravy je křehčí než filmy upravené pomocí směsi rozpouštědel. Všechny filmy dosahují vysoké pevnosti, ale liší se především poměrným prodloužením. Nejvíce tažný je film upravený dávkováním 4 \times voda

+ 30× směs rozpouštědel, následuje film s dávkováním 3× voda + 20× směs rozpouštědel, poté 5× voda + 40× směs rozpouštědel. Pevnost filmu klesá s rostoucím počtem dávek vody, protože dochází k prohloubení vzniklých pórů. Nejvíce mechanicky namáhané je nejužší místo na vzorku, což odpovídá vytvořeným pórům.



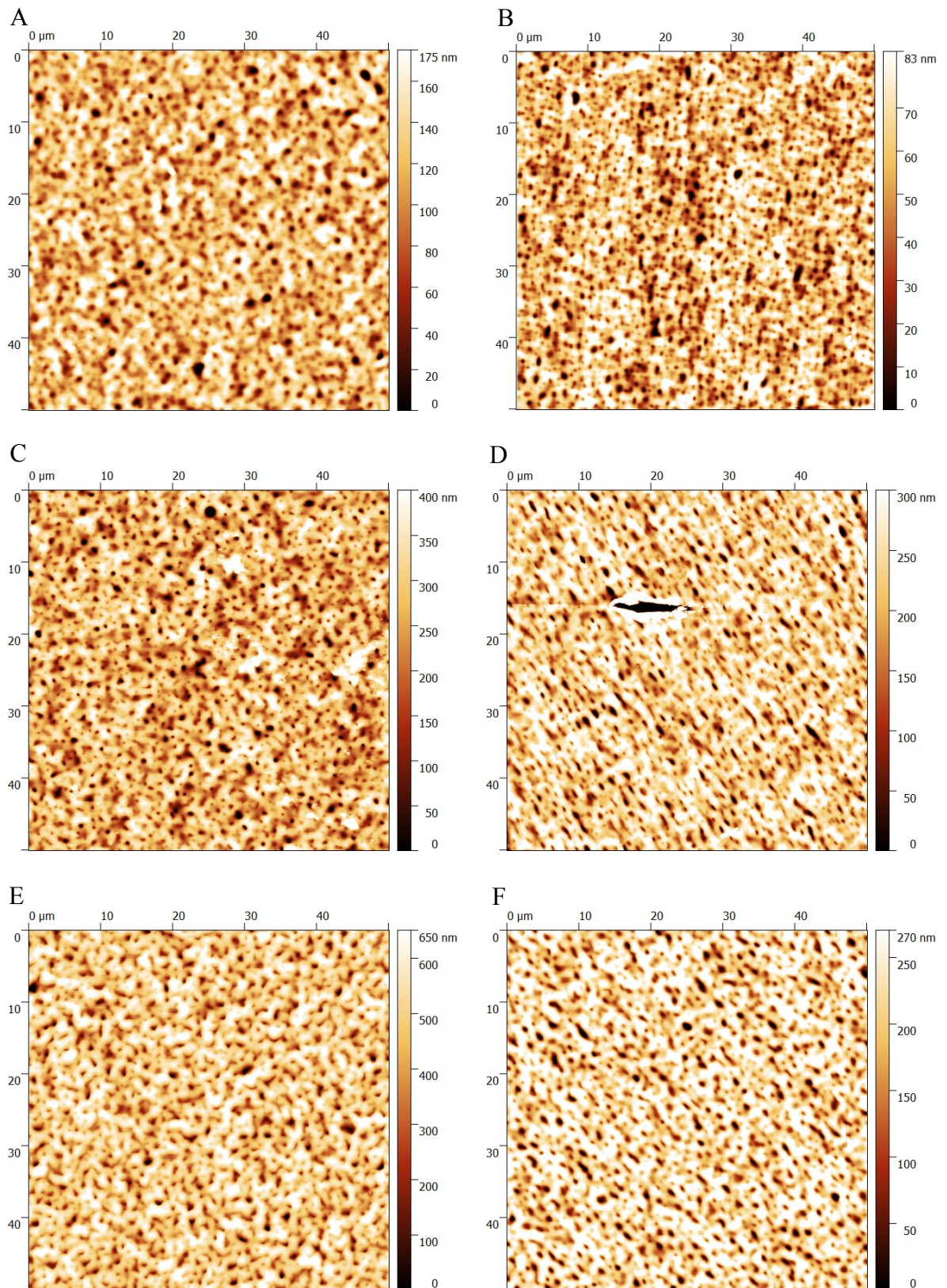
Obr. 31: Tahové křivky pro filmy HA M243, bez úpravy a s úpravami povrchu: pomocí dávek 200 μ l ultračisté vody + 200 μ l směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7. Bylo dávkováno 3× voda + 20× směs rozpouštědel, 4×voda + 30× směs rozpouštědel a 5× voda + 40× směs rozpouštědel, sekvence dávkování 5 s. Příslušné snímky povrchu z AFM odpovídají velikosti 5×5 μ m.

Tab. 24: Hodnoty pevnosti v tahu a poměrného prodloužení stanovené pomocí tahové zkoušky

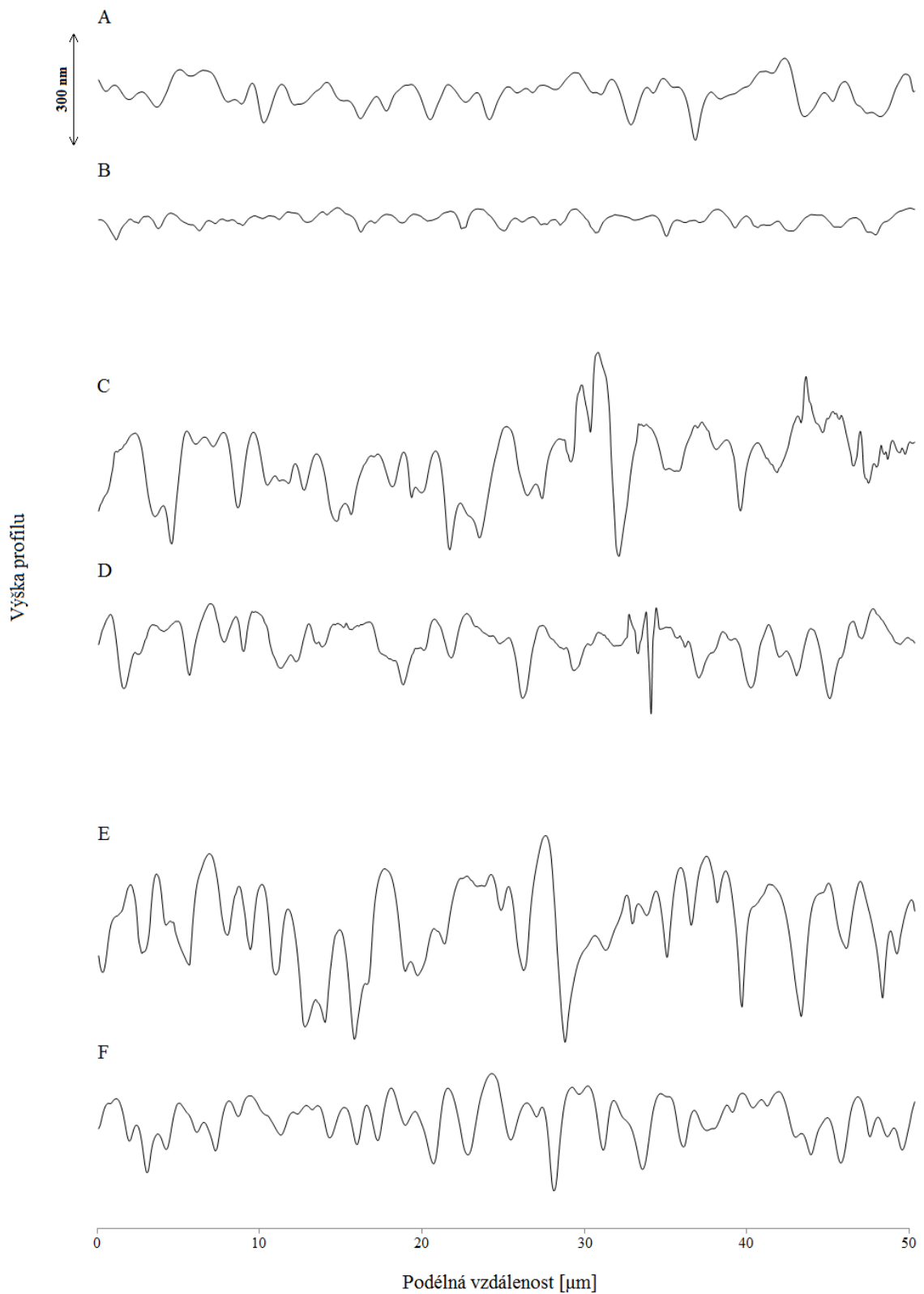
	napětí při přetržení [MPa]	poměrné prodloužení [1]
bez povrchové úpravy	112,58	0,71
3x + 20x	124,81	2,99
4x + 30x	111,44	4,13
5x + 40x	82,64	2,06

Pomocí AFM byla zobrazena struktura filmů po tahové zkoušce. Snímky tří povrchově upravených folií lze vidět na Obr. 32, vlevo (obrázky A, C, E) jsou snímky před tahovou zkouškou, vpravo (obrázky B, D, F) snímky po provedení tahové zkoušky. Na obrázcích

před provedením zkoušky lze vidět rozdílnost povrchového uspořádání. S vyšším dávkováním se jednotlivé póry prohlubují, mění se jejich tvar a rozložení velikosti. Snímek A zobrazuje film s rovnoměrně rozloženými póry o přibližně stejné velikosti, mezi kterými je pouze menší množství malých pórů. Po mechanickém namáhání dojde k protažení velkých pórů ve směru tahu, nicméně malé póry své rozměry nijak nemění. Dá se říci, že jsou pouze unášeny polymerní matricí, která mění svůj tvar v místě velkých pórů. V důsledku protažení se zmenšuje hloubka pórů, jak je zřejmé ze stupnice snímku B. Při dávkování většího množství vody i směsi rozpouštědel (snímek C) je vytvořena struktura s větším zastoupením malých pórů, textura je více oddělena polymerem. Snímek D ukazuje povrch po namáhání zkušebního tělíška v tahu. Zde je názorně ukázáno protažení pórů o velkém průměru. Na snímku je zřetelný útvar, který nejspíš vznikl protažením pórů umístěných blízko sebe a následně propojení v důsledku přetržení polymerní přepážky. Úpravou filmu pomocí 5 dávek vody a 40 dávek směsi rozpouštědel jsou vytvořeny hlubší póry o specifickém tvaru (snímek E). Během tahové zkoušky dochází k natažení úzkých zahnutých pórů, k jejich napřímení a zúžení. U tohoto filmu je také patrná velká změna povrchové textury, póry nejsou tak hluboké a jsou více rozděleny polymerem v důsledku protažení vzorku.



Obr. 32: Rozdílnost povrchu filmů před (vlevo) a po (vpravo) namáhání filmů HA M243 tahem, úprava povrchu pomocí dávek 200 μl ultračisté vody + 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7 dávkováním A), B) 3× voda + 20× směs, C), D) 4× voda + 30× směs a E), F) 5× voda + 40× směs, sekvence dávkování 5 s.



Obr. 33: Rozdílnost profilů filmů před (vlevo) a po (vpravo) namáhání filmů HA M243 tahem, úprava povrchu pomocí dávek 200 μ l ultračisté vody + 200 μ l směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7 dávkováním A), B) 3 \times voda + 20 \times směs, C), D) 4 \times voda + 30 \times směs a E), F) 5 \times voda + 40 \times směs, sekvence dávkování 5 s.

Změna povrchové struktury po tahové zkoušce provedené u filmů s odlišnou úpravou je názorně ukázána na Obr. 33. Po tahové zkoušce (obrázky B, D, F) mají profily nižší výšku, neboť dochází ke zploštění tažením vzorku. Zároveň má film pravidelnější uspořádání pórů. Před provedením zkoušky jsou přítomny větší póry, spousta vyvýšení a velká různorodost v šířce pórů. Při namáhání tahem dochází k sjednocení tvaru pórů.

Parametry drsnosti profilu i plochy snímku, uvedené v Tab. 25 a Tab. 26, rostou při větším počtu dávek během spin-coatingu. Hodnoty drsnosti jsou po provedení tahové zkoušky vždy nižší, protože jsou struktury zploštěny. Pouze v případě dávkování $4\times + 30\times$ je stanovena drsnost nižší před tahovou zkouškou. Tato rozdílnost výsledků může být způsobena přítomností náhodné lokální vyvýšeniny nebo prohlubně.

Tab. 25: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených odlišným dávkováním vody a směsi rozpouštědel před a po namáhání tahem.

Počet dávek vody + směsi	$3\times + 20\times$		$4\times + 30\times$		$5\times + 40\times$	
Provedení tahové zkoušky	před	po	před	po	před	po
Ra [nm]	8,2	5,4	24,2	25,9	32,6	21,0
Rq [nm]	9,7	6,9	32,2	34,1	41,1	26,5
Šikmost [1]	-0,18	-0,38	-0,32	-0,52	-0,45	-0,26
Špičatost [1]	2,33	3,42	4,45	4,04	3,20	3,25

Tab. 26: Parametry drsnosti plošně stanovené u texturovaných filmů upravených odlišným dávkováním vody a směsi rozpouštědel před a po namáhání tahem.

Počet dávek vody + směsi	$3\times + 20\times$		$4\times + 30\times$		$5\times + 40\times$	
Provedení tahové zkoušky	před	po	před	po	před	po
Sa [nm]	26,0	14,0	60,2	47,5	88,7	44,6
Sq [nm]	33,6	17,5	78,3	60,9	112,6	56,4
Šikmost [1]	-0,48	-0,59	-0,62	-1,05	-0,83	-1,10
Špičatost [1]	1,31	0,12	1,71	1,28	0,83	1,04

ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byly studovány možnosti texturizace filmů hyaluronanu sodného. Filmy byly povrchově upravovány pomocí časově sekvenované fázové separace za rotace na spin-coateru. Změny povrchového reliéfu upravených filmů byly zobrazovány pomocí mikroskopie atomárních sil, skenovací elektronové mikroskopie a profilometrie. Mimo to byly testovány změny jejich mechanických vlastností pomocí tahové zkoušky.

Bylo zjištěno, že zásadní proměnnou pro vznik povrchové textury je poměr složek směsi dobrého a špatného rozpouštědla (n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7). Pokud jsou složky ve směsi zastoupeny v nevhodném poměru, nedochází k tvorbě pórů na povrchu filmů. Dalším vlivem determinujícím texturizaci je časová sekvence nanášení směsi rozpouštědel. Póry jsou na povrchu tvořeny pouze v případě, že je interval mezi nanášením jednotlivých dávek na povrchu upravovaného materiálu v rozmezí 2,5 až 5 s. Posledním zásadním vlivem, který je kritický pro texturizaci povrchu na bázi hyaluronanu sodného, je tloušťka nabotnané povrchové vrstvy vodou. Aby bylo možné na studovaném povrchu generovat mikroporézní strukturu je třeba ho předupravit nejméně 3 dávkami vody o objemu 200 μl .

Na předupravený povrch filmu bylo následně dávkováno různé množství směsi rozpouštědel. Bylo zjištěno, že do určitého počtu dávek roste velikost a hloubka vznikajících pórů. Nicméně po překročení určité hranice nelze pozorovat další zvyšování hloubky vznikajících pórů. Povrchová textura filmů z HA o vyšší střední molekulové hmotnosti se vyznačuje nepravidelně uspořádanými póry o menší velikosti. Použití HA o nižší střední molekulové hmotnosti umožňuje vznik pravidelných, hlubokých pórů o mnohem uniformnějším průměru. Další provedené experimenty ukázaly, že filmy tvořeny HA o široké distribuci molekulových hmotností jsou více citlivé na nastavení parametrů úpravy povrchu pomocí metody fázové separace. Dále bylo zjištěno, že je třeba optimálně volit rychlost rotace upravovaných vzorků. Rychlost rotace ovlivňuje počet a hloubku vznikajících pórů.

U hladké folie a vybraných texturovaných folií byla provedena tahová zkouška. Bylo stanoveno, že folie bez povrchové úpravy jsou málo tažné a velmi pevné. Folie s povrchovou texturou dosahují vysoké tažnosti, přičemž hodnoty pevnosti jsou obdobné jako u hladké folie.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BAČÁKOVÁ, L., et al. Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants. *Biotechnology Advances*. **2011** [cit. 2017-03-14], 29 (6), s. 739–767.
- [2] OSTUNI, E., et al. Selective deposition of proteins and cells in arrays of microwells. *Langmuir*. **2001** [cit. 2017-03-29], 17 (9), s. 2828–2834.
- [3] JOANNOPOULOS, J.D., et al., *Photonic Crystals: Molding the Flow of Light*. 1995: Princeton University Press. s. 137.
- [4] DENG, C., et al. Adhesion effect of interface layers on pattern fabrication with GeSbTe as laser thermal lithography film. *Microelectronic Engineering*. **2013** [cit. 2017-03-30], 103, s. 7–11.
- [5] MUÑOZ-BONILLA, A., et al. Towards hierarchically ordered functional porous polymeric surfaces prepared by the breath figures approach. *Progress in Polymer Science*. **2014** [cit. 2017-03-28], 39 (3), s. 510–554.
- [6] HUANG, Y., et al. Superhydrophobic aluminum alloy surfaces prepared by chemical etching process and their corrosion resistance properties. *Applied Surface Science*. **2015** [cit. 2017-05-18], 356, s. 1012–1024.
- [7] SALEEMA, N., et al. Chemical nature of superhydrophobic aluminum alloy surfaces produced via a one-step process using fluoroalkyl-silane in a base medium. *ACS applied materials & interfaces*. **2011** [cit. 2017-05-18], 3 (12), s. 4775–4781.
- [8] WU, R., et al. The superhydrophobic aluminum surface prepared by different methods. *Materials Letters*. **2015** [cit. 2017-05-18], 142, s. 176–179.
- [9] SARBADA, S. a Y. C. SHIN. Superhydrophobic contoured surfaces created on metal and polymer using a femtosecond laser. *Applied Surface Science*. **2017** [cit. 2017-04-02], 405, s. 465–475.
- [10] PARK, M. S. a J. K. KIM. Broad-Band Antireflection Coating at Near-Infrared Wavelengths by a Breath Figure. *Langmuir*. **2005** [cit. 2017-04-02], 21 (24), s. 11404–11408.

- [11] SAMANTA, S., et al. Multifunctional Porous Poly(vinylidene fluoride)-graft-Poly(butyl methacrylate) with Good Li⁺ Ion Conductivity. *Macromolecular Chemistry and Physics*. **2011** [cit. 2017-04-02], 212 (2), s. 134–149.
- [12] WANG, J., et al. Multifunctional ionomer-derived honeycomb-patterned architectures and their performance in light enhancement of light-emitting diodes. *Journal of Materials Chemistry*. **2012** [cit. 2017-04-02], 22 (9), s. 4089–4096.
- [13] TSAI, H., et al. Structural dynamics and charge transfer via complexation with fullerene in large area conjugated polymer honeycomb thin films. *Chemistry of Materials*. **2011** [cit. 2017-04-02], 23 (3), s. 759–761.
- [14] YANG, Z.-C., et al. Hollow spheres of nanocarbon and their manganese dioxide hybrids derived from soft template for supercapacitor application. *Journal of Power Sources*. **2013** [cit. 2017-04-02], 240, s. 713–720.
- [15] de BOER, B., et al. Microporous Honeycomb-Structured Films of Semiconducting Block Copolymers and Their Use as Patterned Templates. *Advanced Materials*. **2000** [cit. 2017-04-02], 12 (21), s. 1581–1583.
- [16] YABU, H. a M. SHIMOMURA. Simple Fabrication of Micro Lens Arrays. *Langmuir*. **2005** [cit. 2017-04-02], 21 (5), s. 1709–1711.
- [17] WU, C.Y., et al. Fabrication of microlens array diffuser films with controllable haze distribution by combination of breath figures and replica molding methods. *Optics Express*. **2008** [cit. 2017-04-02], 16 (24), s. 19978–19986.
- [18] ZANDER, N. E., et al. Super-Hydrophobic Surfaces via Micrometer-Scale Templated Pillars. *Chemistry of Materials*. **2007** [cit. 2017-04-02], 19 (25), s. 6145–6149.
- [19] GALEOTTI, F., et al. Breath figures-mediated microprinting allows for versatile applications in molecular biology. *European Polymer Journal*. **2009** [cit. 2017-04-02], 45 (11), s. 3027–3034.
- [20] GALEOTTI, F., et al. CdTe nanocrystal assemblies guided by breath figure templates. *Soft Matter*. **2011** [cit. 2017-04-02], 7 (8), s. 3832–3836.
- [21] HAN, Y., et al. Fabrication of conducting polypyrrole film with microlens arrays by combination of breath figures and replica molding methods. *Polymer*. **2012** [cit. 2017-04-02], 53 (13), s. 2599–2603.

- [22] BORMASHENKO, E., et al. Honeycomb structures obtained with breath figures self-assembly allow water/oil separation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2012** [cit. 2017-04-02], 415, s. 394–398.
- [23] GREISER, C., et al. Using Breath Figure Patterns on Structured Substrates for the Preparation of Hierarchically Structured Microsieves. *Langmuir*. **2008** [cit. 2017-04-03], 24 (3), s. 617–620.
- [24] WAN, L.-S., et al. Ordered Microporous Membranes Templated by Breath Figures for Size-Selective Separation. *Journal of the American Chemical Society*. **2012** [cit. 2017-04-03], 134 (1), s. 95–98.
- [25] CONG, H., et al. Preparation of a highly permeable ordered porous microfiltration membrane of brominated poly(phenylene oxide) on an ice substrate by the breath figure method. *Soft Matter*. **2012** [cit. 2017-04-03], 8 (34), s. 8835–8839.
- [26] RUDAWSKA, A., *Adhesive properties*. 2012: INTECH Open Access Publisher. 28 s.
- [27] BAČÁKOVÁ, L., et al. Adhesion and growth of vascular smooth muscle cells in cultures on bioactive RGD peptide-carrying polylactides. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. **2007** [cit. 2017-04-04], 18 (7), s. 1317–1323.
- [28] BAČÁKOVÁ, L., et al. Molecular mechanisms of improved adhesion and growth of an endothelial cell line cultured on polystyrene implanted with fluorine ions. *Biomaterials*. **2000** [cit. 2017-03-30], 21 (11), s. 1173–1179.
- [29] BAČÁKOVÁ, L., et al. Fluorine ion-implanted polystyrene improves growth and viability of vascular smooth muscle cells in culture. *Journal of Biomedical Materials Research*. **2000** [cit. 2017-03-30], 49 (3), s. 369–379.
- [30] BAČÁKOVÁ, L., et al. Adhesion and proliferation of rat vascular smooth muscle cells (VSMC) on polyethylene implanted with O⁺ and C⁺ ions. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. **2001** [cit. 2017-03-30], 12 (7), s. 817–834.
- [31] HEITZ, J., et al. Cell Adhesion on polytetrafluoroethylene modified by UV-irradiation in an ammonia atmosphere. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. **2003** [cit. 2017-03-30], 67 (1), s. 130–137.

- [32] KASÁLKOVÁ, N., et al. Cell Adhesion and Proliferation on Modified Polyethylene. *Materials Science Forum*. **2008** [cit. 2017-03-30], 567–568, s. 269–272.
- [33] BAČÁKOVÁ, L., et al. Adhesion and proliferation of cultured human vascular smooth muscle cells on polystyrene implanted with N^+ , F^+ and Ar^+ ions. *Biomaterials*. **1996** [cit. 2017-04-04], 17 (11), s. 1121–1126.
- [34] ŠVORČÍK, V., et al. Surface properties and biocompatibility of ion-implanted polymers. *Journal of Materials Chemistry*. **1995** [cit. 2017-04-04], 5 (1), s. 27–30.
- [35] GRAUSOVÁ, L., et al. Molecular markers of adhesion, maturation and immune activation of human osteoblast-like MG 63 cells on nanocrystalline diamond films. *Diamond and Related Materials*. **2009** [cit. 2017-04-04], 18 (2–3), s. 258–263.
- [36] GRAUSOVÁ, L., et al. Nanodiamond as promising material for bone tissue engineering. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. **2009** [cit. 2017-04-04], 9 (6), s. 3524–3534.
- [37] GRAUSOVÁ, L., et al. Bone and vascular endothelial cells in cultures on nanocrystalline diamond films. *Diamond and Related Materials*. **2008** [cit. 2017-04-04], 17 (7–10), s. 1405–1409.
- [38] PAŘÍZEK, M., et al. Improved adhesion, growth and maturation of vascular smooth muscle cells on polyethylene grafted with bioactive molecules and carbon particles. *International journal of molecular sciences*. **2009** [cit. 2017-04-04], 10 (10), s. 4352–4374.
- [39] ŘEZNÍČKOVÁ, A., et al. Comparison of glow argon plasma-induced surface changes of thermoplastic polymers. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. **2011** [cit. 2017-04-04], 269 (2), s. 83–88.
- [40] ŠVORČÍK, V., et al. Plasma-modified and polyethylene glycol-grafted polymers for potential tissue engineering applications. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. **2012** [cit. 2017-04-04], 12 (8), s. 6665–6671.

- [41] MASUI, M., et al. Cell adhesion and the negative cell surface charges in embryonic cells of the starfish *Asterina pectinifera*. *Electrophoresis*. **2002** [cit. 2017-04-04], 23 (13), s. 2087–2095.
- [42] PRICE, R. L., et al. Nanometer surface roughness increases select osteoblast adhesion on carbon nanofiber compacts. *Journal of biomedical materials research Part A*. **2004** [cit. 2017-04-04], 70 (1), s. 129–138.
- [43] WEBSTER, T. J., et al. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. **2000** [cit. 2017-04-04], 51 (3), s. 475–483.
- [44] WEBSTER, T. J., et al. Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. *Biomaterials*. **2000** [cit. 2017-04-04], 21 (17), s. 1803–1810.
- [45] STEVENS, M. M. a J. H. GEORGE. Exploring and engineering the cell surface interface. *Science*. **2005** [cit. 2017-04-05], 310 (5751), s. 1135–1138.
- [46] ZHAO, G., et al. Osteoblast-like cells are sensitive to submicron-scale surface structure. *Clinical oral implants research*. **2006** [cit. 2017-04-05], 17 (3), s. 258–264.
- [47] BAČÁKOVÁ, L., et al. Polishing and coating carbon fiber-reinforced carbon composites with a carbon-titanium layer enhances adhesion and growth of osteoblast-like MG63 cells and vascular smooth muscle cells in vitro. *Journal of biomedical materials research*. **2001** [cit. 2017-04-05], 54 (4), s. 567–578.
- [48] BAČÁKOVÁ, L., et al. Cell adhesion on artificial materials for tissue engineering. *Physiol Res*. **2004** [cit. 2017-04-05], 53 (Suppl 1), s. S35–S45.
- [49] TEMENOFF, J. S. a A. G. MIKOS. *Surface Properties of Biomaterials v Biomaterials: The Intersection of Biology and Materials Science*. Pearson Prentice Hall Bioengineering, 2008, s. 228–278. ISBN: 9780130097101.
- [50] RATNER, B. D. a A. S. HOFFMAN. *Physicochemical Surface Modification of Materials Used in Medicine v Biomaterials Science*. San Diego: Elsevier Academic Press, 2013, s. 259–276. ISBN: 978-0-12-374626-9.
- [51] TANAKA, H. Formation of network and cellular structures by viscoelastic phase separation. *Advanced Materials*. **2009** [cit. 2017-04-17], 21 (18), s. 1872–1880.

- [52] GUNTON, J. D., et al. *The Dynamics of First Order Phase Transitions v Phase Transitions and Critical Phenomena*. New York: Academic, 1983. ISBN: 0122203089.
- [53] ONUKI, A., *Phase transition dynamics*. 2002: Cambridge University Press. 714 s.
- [54] TANAKA, H. Unusual phase separation in a polymer solution caused by asymmetric molecular dynamics. *Physical review letters*. **1993** [cit. 2017-04-17], 71 (19), s. 3158.
- [55] TANAKA, H. a T. NISHI. Initial stage of phase separation in a binary mixture of poly (vinyl methyl ether) and water. *Japanese journal of applied physics*. **1988** [cit. 2017-04-17], 27 (10), s. L1783–L1786.
- [56] TANAKA, H. Appearance of a moving droplet phase and unusual networklike or spongelike patterns in a phase-separating polymer solution with a double-well-shaped phase diagram. *Macromolecules*. **1992** [cit. 2017-04-17], 25 (23), s. 6377–6380.
- [57] TANAKA, H. Critical dynamics and phase-separation kinetics in dynamically asymmetric binary fluids: New dynamic universality class for polymer mixtures or dynamic crossover? *The Journal of chemical physics*. **1994** [cit. 2017-04-17], 100 (7), s. 5323–5337.
- [58] KOYAMA, T. a H. TANAKA. Generic kinetic pathway of phase separation of deeply quenched polymer solutions: Transient gelation. *EPL (Europhysics Letters)*. **2007** [cit. 2017-04-17], 80 (6), 68002 s.
- [59] TANAKA, H. Viscoelastic model of phase separation in colloidal suspensions and emulsions. *Physical Review E*. **1999** [cit. 2017-04-17], 59 (6), s. 6842.
- [60] TANAKA, H., et al. Network-forming phase separation of colloidal suspensions. *Journal of Physics: Condensed Matter*. **2005** [cit. 2017-04-17], 17 (15), L143 s.
- [61] SHALKEWICH, A., et al. Cluster, glass, and gel formation and viscoelastic phase separation in aqueous clay suspensions. *Langmuir*. **2007** [cit. 2017-04-17], 23 (7), s. 3570–3580.

- [62] TANAKA, H. a T. ARAKI. Spontaneous coarsening of a colloidal network driven by self-generated mechanical stress. *Europhysics Letters*. **2007** [cit. 2017-04-17], 79 (5), 58003 s.
- [63] TANAKA, H. a Y. NISHIKAWA. Viscoelastic phase separation of protein solutions. *Physical review letters*. **2005** [cit. 2017-04-17], 95 (7), 78103 s.
- [64] IWASHITA, Y. a H. TANAKA. Self-organization in phase separation of a lyotropic liquid crystal into cellular, network and droplet morphologies. *Nature materials*. **2006** [cit. 2017-04-17], 5 (2), s. 147–152.
- [65] MOSCHAKIS, T., et al. Microstructural evolution of viscoelastic emulsions stabilised by sodium caseinate and xanthan gum. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2005** [cit. 2017-04-17], 284 (2), s. 714–728.
- [66] IBORRA, F. J. Can visco-elastic phase separation, macromolecular crowding and colloidal physics explain nuclear organisation? *Theoretical Biology and Medical Modelling*. **2007** [cit. 2017-04-17], 4 (1), 15 s.
- [67] TANAKA, H. Viscoelastic phase separation. *Journal of Physics: Condensed Matter*. **2000** [cit. 2017-04-12], 12 (15), s. R207–R264.
- [68] TANAKA, H. a T. ARAKI. Viscoelastic phase separation in soft matter: Numerical-simulation study on its physical mechanism. *Chemical engineering science*. **2006** [cit. 2017-04-17], 61 (7), s. 2108–2141.
- [69] DOI, M. a A. ONUKI. Dynamic coupling between stress and composition in polymer solutions and blends. *Journal de Physique II*. **1992** [cit. 2017-04-17], 2 (8), s. 1631–1656.
- [70] WRZECIONKO, E., et al. Variations of Polymer Porous Surface Structures via the Time-Sequenced Dosing of Mixed Solvents. *ACS Applied Materials & Interfaces*. **2017** [cit. 2017-04-17], 9 (7), s. 6472–6481.
- [71] RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J. *Nano-microporous structured surfaces prepared by the breath figures approach and their biorelated applications* v Surface Chemistry of Nanobiomaterials. William Andrew Publishing, 2016, s. 107–133. ISBN: 978-0-323-42861-3.
- [72] KUO, C.-T., et al. Dynamics of single-layer polymer breath figures. *Optics express*. **2010** [cit. 2017-03-12], 18 (17), s. 18464–18470.

- [73] FUKUHIRA, Y., et al. Interfacial tension governs the formation of self-organized honeycomb-patterned polymer films. *Soft Matter*. **2009** [cit. 2016-04-04], 5 (10), s. 2037–2041.
- [74] BUNZ, U. H. F. Breath figures as a dynamic templating method for polymers and nanomaterials. *Advanced Materials*. **2006** [cit. 2016-04-14], 18 (8), s. 973–989.
- [75] BOLOGNESI, A., et al. Self-organization of polystyrenes into ordered microstructured films and their replication by soft lithography. *Langmuir*. **2005** [cit. 2016-10-25], 21 (8), s. 3480–3485.
- [76] PARK, M. S. a J. K. KIM. Breath figure patterns prepared by spin coating in a dry environment. *Langmuir*. **2004** [cit. 2017-04-18], 20 (13), s. 5347–5352.
- [77] XUE, L., et al. Phase separation induced ordered patterns in thin polymer blend films. *Progress in Polymer Science*. **2012** [cit. 2016-03-15], 37 (4), s. 564–594.
- [78] de GENNES, P.-G. Instabilities during the evaporation of a film: Non-glassy polymer+ volatile solvent. *The European Physical Journal E*. **2001** [cit. 2017-04-24], 6 (1), s. 421–424.
- [79] de GENNES, P. G. Solvent evaporation of spin cast films: “crust” effects. *The European Physical Journal E: Soft Matter and Biological Physics*. **2002** [cit. 2017-04-24], 7 (1), s. 31–34.
- [80] SAKURAI, S., et al. Control of mesh pattern of surface corrugation via rate of solvent evaporation in solution casting of polymer film in the presence of convection. *Polymer*. **2002** [cit. 2015-12-07], 43 (11), s. 3359–3364.
- [81] STRAWHECKER, K. E., et al. The critical role of solvent evaporation on the roughness of spin-cast polymer films. *Macromolecules*. **2001** [cit. 2017-04-24], 34 (14), s. 4669–4672.
- [82] PERICET-CAMARA, R., et al. Microstructuring of polystyrene surfaces with nonsolvent sessile droplets. *ChemPhysChem*. **2008** [cit. 2017-04-24], 9 (12), s. 1738–1746.
- [83] deROSA, M. E., et al. Microtextured polystyrene surfaces for three-dimensional cell culture made by a simple solvent treatment method. *Journal of Applied Polymer Science*. **2014** [cit. 2017-04-24], 131 (14), 40181 s.

- [84] DUMITRIU, S., *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. 2004: CRC press.
- [85] GARG, H. G. a C. A. HALES, *Chemistry and biology of hyaluronan*. 2004, Boston: Elsevier. 624 s.
- [86] FRASER, J., et al. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of internal medicine*. **1997** [cit. 2017-04-25], 242 (1), s. 27–33.
- [87] MEYER, K. a J. W. PALMER. The polysaccharide of the vitreous humor. *Journal of Biological Chemistry*. **1934** [cit. 2017-04-25], 107 (3), s. 629–634.
- [88] CAMENISCH, T. D. a J. A. MCDONALD. Hyaluronan: is bigger better? *American journal of respiratory cell and molecular biology*. **2000** [cit. 2017-04-25], 23 (4), s. 431–433.
- [89] BENDITT, E. P. a S. M. SCHWARTZ. *Blood vessels v Pathology*. Philadelphia: J.P. Lippincott, 1996, s. 452–495.
- [90] ROSS, R. a V. FUSTER. *The pathogenesis of atherosclerosis v Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996, s. 441–462.
- [91] TOOLE, B. P., et al. Hyaluronan-cell interactions in cancer and vascular disease. *Journal of Biological Chemistry*. **2002** [cit. 2017-04-25], 277 (7), s. 4593–4596.
- [92] CAROL, A., et al. Mononuclear leukocytes preferentially bind via CD44 to hyaluronan on human intestinal mucosal smooth muscle cells after virus infection or treatment with poly (I· C). *Journal of Biological Chemistry*. **1999** [cit. 2017-04-25], 274 (43), s. 30747–30755.
- [93] DAY, A. J. a J. K. SHEEHAN. Hyaluronan: polysaccharide chaos to protein organisation. *Current opinion in structural biology*. **2001** [cit. 2017-04-25], 11 (5), s. 617–622.
- [94] HAMMER, M. E. a T. BURCH. Viscous corneal protection by sodium hyaluronate, chondroitin sulfate, and methylcellulose. *Investigative ophthalmology & visual science*. **1984** [cit. 2017-04-25], 25 (11), s. 1329–1332.
- [95] BALAZS, E. A. *The development of sodium hyaluronate as a viscosurgical material in ophthalmic surgery v Ophthalmic Viscosurgery: A Review of Standards, Techniques and Applications*. Montreal: Medicopea, 1988.

- [96] MILAS, M. a M. RINAUDO. *Characterization and properties of hyaluronic acid (hyaluronan)* v Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility. USA: CRC Press, 2004, s. 535–550.
- [97] BOUDET, D. a K. VOSKAMP. L'acide hyaluronique: propriétés et applications. *Parfums, cosmétiques, arômes*. **1986** [cit. 2017-04-25], 68, 53 s.
- [98] BALAZS, E. A. a P. BAND. Hyaluronic acid: its structure and use. *Cosmetic & Toiletries*. **1984** [cit. 2017-04-25], 99, 65 s.
- [99] KOGAN, G., et al. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology letters*. **2007** [cit. 2017-04-25], 29 (1), s. 17–25.
- [100] INDUSTRY, R.E.C. *Validation of the Memmert hot-air steriliser*. Editor: openPR. 2010 [cit. 2017-04-25].
- [101] EATON, P. a P. WEST, *Atomic force microscopy*. 2010, New York: Oxford University Press. 257 s.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

LED	dioda emitující světlo
UV	ultrafialový
LCD	displej z tekutých krystalů
PEG	polyethylenglykol
DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
VPS	viskoelastická fázová separace
CAB	acetát-butyrát celulózy
THF	tetrahydrofuran
PS	polystyren
ETH	2-ethoxyethanol
HA	hyaluronan sodný
Ac	acetylová skupina
AFM	mikroskopie atomárních sil
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
M_w	střední molekulová hmotnost
M124	střední molekulová hmotnost 124 kDa
M243	střední molekulová hmotnost 243 kDa
M370	střední molekulová hmotnost 370 kDa
M600	střední molekulová hmotnost 600 kDa
M1180	střední molekulová hmotnost 1180 kDa
M1500	střední molekulová hmotnost 1500 kDa
Ra (Sa)	(plošná) průměrná drsnost
Rq (Sq)	(plošná) střední kvadratická drsnost

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Princip tvorby Langmuir-Blodgett filmů pomocí Langmuirova korýtko: a) neuspořádaný stav molekul, ponoření substrátu, b) stlačování bariér, orientace řetězců, c) vznik vrstvy na substrátu.	24
Obr. 2: Princip viskoelastické fázové separace (VPS) s označením hnacích mechanismů [51].	29
Obr. 3: Proces tvorby texturovaného povrchu pomocí metody Breath Figure [5].	31
Obr. 4: Průběh metody Breath Figure bez proudění vzduchu. Podrobný popis obrázků je uveden v textu [72].	33
Obr. 5: Filmy CAB upravené pomocí spin-coatingu nanesením směsi THF a vody za různých podmínek, popsanych v textu [76].	34
Obr. 6: Princip modifikace povrchu PS metodou časově sekvenované fázové separace vyvolané působením směsi rozpouštědel [70].	36
Obr. 7: Strukturní vzorec HA (Ac = acetylová skupina) [85].	37
Obr. 8: Povrch PS misky upravené na spin-coateru dávkováním 5× 200 μl směsi THF:ETH v poměru 1,5:8,5 v časové sekvenci 5 s, vlevo zobrazení vzhledu povrchu pomocí AFM, vpravo výškový profil připraveného povrchu.	42
Obr. 9: Použitá sušárna značky Memmert [100].	43
Obr. 10: Přitažlivé a odpudivé síly mezi vzorkem a hrotem sondy, odpovídající zakřivení sondy [101].	44
Obr. 11: Porovnání rozsahu měření jednotlivých mikroskopických metod [101].	45
Obr. 12: Maska proložená snímkem filmu odlévaného z roztoku 3% HA M243, úprava povrchu 3× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, časová sekvence 5 s.	46
Obr. 13: Vliv poměru složek dobrého a špatného rozpouštědla na změnu vzhledu texturovaných filmů HA M243, úprava povrchu: 3× 200 μl ultračisté vody + 10× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru A) 3,25:6,75, B) 3:7, C) 2,75:7,25, sekvence dávkování 5 s.	49
Obr. 14: Vliv poměru složek dobrého a špatného rozpouštědla na změnu profilu texturovaných filmů HA M243, úprava povrchu: 3× 200 μl ultračisté vody + 10× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru A) 3,25:6,75, B) 3:7, C) 2,75:7,25, sekvence dávkování 5 s.	50

- Obr. 15: Vliv časové sekvence dávkování směsi dobrého a špatného rozpouštědla na změnu povrchové mikrotextury filmů z HA M243, úprava povrchu: 3× 200 μl ultračisté vody + 10× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování A) 2,5 s, B) 5 s, C) 10 s, D) 15 s 52
- Obr. 16: Vliv časové sekvence dávkování směsi dobrého a špatného rozpouštědla na změnu profilu filmů z HA M243, úprava povrchu: 3× 200 μl ultračisté vody + 10× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování A) 2,5 s, B) 5 s, C) 10 s, D) 15 s 53
- Obr. 17: Vliv míry nabotnění povrchové vrstvy HA na změnu mikro-textury filmů M243, předúprava povrchu: A) 0×, B) 1×, C) 2×, D) 3×, E) 4×, F) 5× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s 56
- Obr. 18: Vliv míry nabotnění povrchové vrstvy HA na změnu profilů texturovaných filmů M243, předúprava povrchu: A) 0×, B) 1×, C) 2×, D) 3×, E) 4×, F) 5× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s 57
- Obr. 19: Vzhled profilů texturovaných filmů HA M243, úprava povrchu: 4× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, časová sekvence 5 s, zobrazených pomocí A) AFM, B) kontaktního profilometru 60
- Obr. 20: Snímek texturovaného filmu HA M243, úprava povrchu: 4× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s, zobrazený pomocí bezkontaktního profilometru 61
- Obr. 21: SEM snímek texturovaného filmu HA M243, úprava povrchu: 4× 200 μl ultračisté vody + 25× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s 62
- Obr. 22: Vliv počtu dávek směsného rozpouštědla na změnu mikro-textury povrchu filmů HA M243, úprava povrchu: 3× 200 μl ultračisté vody + A) 10×, B) 20×, C) 30×, D) 40× 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s 64
- Obr. 23: Změny profilů mikro-texturovaných filmů v závislosti na počtu dávek směsného rozpouštědla deponovaných na vzorky HA M243, úprava povrchu:

- 3× 200 µl ultračisté vody + A) 10×, B) 20×, C) 30×, D) 40× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s. 65
- Obr. 24: Histogram plochy pórů vytvořených na povrchu mikro-texturovaných filmů v závislosti na počtu dávek směsného rozpouštědla deponovaných na vzorky HA M243, úprava povrchu: 3× 200 µl ultračisté vody + 10×, 20×, 30× nebo 40× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s. 67
- Obr. 25: Vliv rychlosti rotace na změnu povrchové mikrotextury upravovaného filmu HA M243, úprava povrchu: 4× 200 µl ultračisté vody + 30× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s, rychlost rotace A) 2100, B) 1600 a C) 900 ot./min. 69
- Obr. 26: Vliv rychlosti rotace na změnu povrchové profilu upravovaného filmu HA M243, úprava povrchu: 4× 200 µl ultračisté vody + 30× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s, rychlost rotace A) 2100, B) 1600 a C) 900 ot./min. 70
- Obr. 27: Změny vzhledu texturovaných filmů HA o rozdílných středních M_w : A) M124, B) M243, C) M370, D) M600, E) M1500, úprava povrchu: 4× 200 µl ultračisté vody + 30× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s. 73
- Obr. 28: Změny profilu texturovaných filmů HA o rozdílných středních M_w : A) M124, B) M243, C) M370, D) M600, E) M1500, úprava povrchu: 4× 200 µl ultračisté vody + 30× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s. 74
- Obr. 29: Změny vzhledu texturovaných filmů HA připravených ze směsi M243 + M1180 v hmotnostním poměru: A) 1:1, B) 2:1, C) 4:1, D) M124 + M600 + M1500 v hmotnostním poměru 7:1,5:1,5, úprava povrchu: 4× 200 µl ultračisté vody + 30× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s. 78
- Obr. 30: Změny profilů texturovaných filmů HA připravených ze směsi M243 + M1180 v hmotnostním poměru: A) 1:1, B) 2:1, C) 4:1, D) M124 + M600 + M1500 v hmotnostním poměru 7:1,5:1,5, úprava povrchu: 4× 200 µl ultračisté vody + 30× 200 µl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7, sekvence dávkování 5 s. 79

- Obr. 31: Tahové křivky pro filmy HA M243, bez úpravy a s úpravami povrchu: pomocí dávek 200 μl ultračisté vody + 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7. Bylo dávkováno 3 \times voda + 20 \times směs rozpouštědel, 4 \times voda + 30 \times směs rozpouštědel a 5 \times voda + 40 \times směs rozpouštědel, sekvence dávkování 5 s. Příslušné snímky povrchu z AFM odpovídají velikosti 5 \times 5 μm 82
- Obr. 32: Rozdílnot povrchu filmů před (vlevo) a po (vpravo) namáhání filmů HA M243 tahem, úprava povrchu pomocí dávek 200 μl ultračisté vody + 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7 dávkováním A), B) 3 \times voda + 20 \times směs, C), D) 4 \times voda + 30 \times směs a E), F) 5 \times voda + 40 \times směs, sekvence dávkování 5 s. 84
- Obr. 33: Rozdílnot profilů filmů před (vlevo) a po (vpravo) namáhání filmů HA M243 tahem, úprava povrchu pomocí dávek 200 μl ultračisté vody + 200 μl směsi n-butanolu a isopropylalkoholu v poměru 3:7 dávkováním A), B) 3 \times voda + 20 \times směs, C), D) 4 \times voda + 30 \times směs a E), F) 5 \times voda + 40 \times směs, sekvence dávkování 5 s. 85

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Značení použitých vzorků HA podle střední molekulové hmotnosti M_w a její distribuce.	40
Tab. 2: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených směsí rozpouštědel o různém poměru.	51
Tab. 3: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů upravených směsí rozpouštědel o různém poměru.	51
Tab. 4: Charakteristiky povrchu texturovaných filmů upravených směsí rozpouštědel o různém poměru.	51
Tab. 5: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených v různé časové sekvence dávkování směsného rozpouštědla.	54
Tab. 6: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů upravených v různé časové sekvence dávkování směsného rozpouštědla.	54
Tab. 7: Charakteristika povrchu filmů upravených v různé časové sekvenci dávkování směsného rozpouštědla.	54
Tab. 8: Parametry drsnosti stanovené z profilů texturovaných filmů předupravených různým počtem dávek vody.	58
Tab. 9: Parametry plošné drsnosti stanovené z texturovaných filmů předupravených různým počtem dávek vody.	58
Tab. 10: Charakteristika povrchu texturovaných filmů předupravených různým počtem dávek vody.	59
Tab. 11: Porovnání parametrů drsnosti stanovených pomocí AFM a kontaktního profilometru z profilů získaných z různých míst filmu upraveného dávkováním $4 \times 200 \mu\text{l}$ ultračisté vody + $25 \times 200 \mu\text{l}$ směsí rozpouštědel.	61
Tab. 12: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených různým počtem dávek směsi rozpouštědel.	66
Tab. 13: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů upravených různým počtem dávek směsi rozpouštědel.	66
Tab. 14: Charakteristika povrchu texturovaných filmů upravených různým počtem dávek směsi rozpouštědel.	67
Tab. 15: Parametry drsnosti stanovené z profilů filmů upravených při rozdílných rychlostech rotace.	71

Tab. 16: Parametry drsnosti plošně stanovené u filmů upravených při rozdílných rychlostech rotace.....	71
Tab. 17: Charakteristika povrchu filmů upravených při rozdílných rychlostech rotace.	72
Tab. 18: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů připravených z HA o různé M_w	75
Tab. 19: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů připravených z HA o různé M_w	76
Tab. 20: Charakteristika povrchu texturovaných filmů připravených z polymerů o různé M_w	76
Tab. 21: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů připravených z HA o různé distribuci molekulových hmotností.....	80
Tab. 22: Parametry plošné drsnosti stanovené u texturovaných filmů připravených z HA o různé distribuci molekulových hmotností.....	80
Tab. 23: Charakteristika povrchu texturovaných filmů připravených z HA o různé distribuci molekulových hmotností.....	81
Tab. 24: Hodnoty pevnosti v tahu a poměrného prodloužení stanovené pomocí tahové zkoušky.....	82
Tab. 25: Parametry drsnosti stanovené z profilu texturovaných filmů upravených odlišným dávkováním vody a směsi rozpouštědel před a po namáhání tahem.....	86
Tab. 26: Parametry drsnosti plošně stanovené u texturovaných filmů upravených odlišným dávkováním vody a směsi rozpouštědel před a po namáhání tahem.....	86