



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE VRSTEV
DEPONOVANÝCH METODOU PLAZMOVÉ POLYMERACE
NA BÁZI 2-ETHYL-2-OXAZOLINU**

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF LAYERS DEPOSITED BY PLASMA POLYMERIZATION
BASED ON 2-ETHYL-2-OXAZOLINE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Aneta Kucserová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Mgr. Věra Mazánková, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1398/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Aneta Kucserová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **doc. Mgr. Věra Mazánková, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Příprava a charakterizace vrstev deponovaných metodou plazmové polymerace na bázi 2-ethyl-2-oxazolinu

Zadání diplomové práce:

Práce je zaměřena na tvorbu a charakterizaci polymerních vrstev na bázi 2-ethyl-2-oxaolinu. V průběhu práce budou deponovány vrstvy metodou plazmové polymerace v dielektrickém bariérovém výboji za atmosférického tlaku. Vrstvy budou připravovány pro různé depoziční podmínky v závislosti zejména na teplotě substrátu a na koncentraci monomeru. Deponované vrstvy by měly vykazovat antibakteriální účinky.

Postup řešení:

1. Provedte rešerši na téma příprava antibakteriálních vrstev a použití 2-ethyl-2-oxaolinu.
2. Seznamte se s metodou plazmové polymerace a připravte navržené vrstvy.
3. Provedte základní charakterizace vrstev, jak biologické (antibakteriální testy a test na cytotoxicitu), tak i fyzikálně-chemické diagnostiky (SEM, FTIR a stanovení povrchové energie).
4. Získané výsledky vyhodnoťte z hlediska antibakteriálních účinků připravených vrstev.

Termín odevzdání diplomové práce: 29.5.2020:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Aneta Kucserová
student(ka)

doc. Mgr. Věra Mazánková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá depozicí vrstev z monomeru 2-ethyl-2-oxazolinu v dielektrickém bariérovém výboji v dusíkové atmosféře. V teoretické části jsou popsány polyoxazoliny, dielektrický bariérový výboj, plazmová polymerizace a diagnostické metody, které popisují charakteristiku připravených vrstev. Experimentální část se zabývá depozicí vrstev a stanovením fyzikálně chemických vlastností. V závěru jsou výsledky porovnány s vrstvami, které byly vyrobeny z 2-methyl-2-oxazolinu.

ABSTRACT

The diploma thesis deals with the deposition of layers of 2-ethyl-2-oxazoline monomer in a dielectric barrier discharge in a nitrogen atmosphere. The theoretical part describes polyoxazolines, dielectric barrier discharge, plasma polymerization and diagnostic methods that describe the characteristics of the prepared layers. The experimental part deals with the deposition of layers and the determination of physicochemical properties. Finally, the results are compared with layers that were made of 2-methyl-2-oxazoline.

KLÍČOVÁ SLOVA

polyoxazolin, plazmová polymerace, plazma, dielektrický bariérový výboj, kontaktní úhel, volná povrchová energie, FTIR, XPS

KEY WORDS

polyoxazoline, plasma polymerization, plasma, dielectric barrier discharge, contact angle, free surface energy, FTIR, XPS

KUCSEROVÁ, Aneta. *Příprava a charakterizace vrstev deponovaných metodou plazmové polymerace na bázi 2-ethyl-2-oxazolinu*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123956>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Centrum materiálového výzkumu. Vedoucí práce Věra Mazánková.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych velmi poděkovat vedoucí mé diplomové práce, doc. Mgr. Věře Mazánkové, Ph.D., za její ochotu a pomoc při experimentech, rady, připomínky a za věnovaný čas při zpracování diplomové práce. A dále bych ráda poděkovala doc. Mgr. Pavlu Sťahelovi, Ph.D., doc. RNDr. Antonínu Brablecovi, CSc. a Mgr. Jiřině Medalové, Ph.D. za pomoc při experimentech.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	10
	2.1 Polyoxazoliny	10
	2.2 Plazmová polymerace.....	12
	2.2.1 Mechanismus plazmové polymerace	13
	2.3 Plazma	13
	2.3.1 Generace plazmatu pomocí výbojů	14
	2.3.2 Aplikace plazmatu.....	16
	2.4 Dielektrický bariérový výboj.....	17
3	Diagnostické metody.....	19
	3.1 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR).....	19
	3.2 Kontaktní úhel	20
	3.3 Volná povrchová energie.....	21
	3.4 Nanoindentace	21
	3.4.1 Oliver-Pharrova metoda	22
	3.4.2 Tvrdost (H) a efektivní elastický modul (E_{eff})	22
	3.5 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS).....	23
	3.6 Cytokompatibilita	24
	3.7 Antibakteriální vlastnosti.....	24
4	Experimentální část.....	26
	4.1 Depozice vrstev	26
	4.1.1 Aparatura.....	26
	4.1.2 Metodika experimentu.....	28
	4.2 Stanovení cytokompatibility.....	29
	4.2.1 Metodika experimentu.....	29
	4.3 Antibakteriální testy	29
	4.3.1 Metodika experimentu.....	30
	4.4 FT-IR	31
	4.5 Kontaktní úhel	31
	4.6 Charakteristika mechanických vlastností	31
	4.7 XPS.....	31
5	Výsledky a diskuse.....	32

5.1	Stanovení cytotoxicity.....	32
5.2	Antibakteriální testy	34
5.3	FT-IR analýza	38
5.4	Kontaktní úhel	39
5.5	Charakteristika mechanických vlastností	40
5.6	XPS.....	41
6	Závěr.....	44
7	Literatura	46
8	Seznam použitých zkratk a symbolů	51

1 ÚVOD

V posledních letech byly syntetické kopolymerní materiály v biomedicínských vědách rozsáhle zkoumány pro jejich širokou škálu vlastností a funkcí, které lze modulovat jednoduše vyladěním jejich struktur. Mezi syntetickými kopolymery se „inteligentní“ kopolymery „stimulující na stimuly“ staly hlavní oblastí výzkumu polymerů především pro jejich potenciální aplikace v biomedicínských vědách jako nosičů pro kontrolované a spouštěné dodávání léčiv. Kromě toho inteligentní kopolymery reagující na podněty prokázaly mimo jiné vynikající aplikace v tkáňovém inženýrství a sanaci životního prostředí. Jsou také „ekologicky citlivé“ a „inteligentní“ biomateriály kvůli tomu, že podléhají nevratným změnám svých fyzikálních a chemických vlastností při malých změnách vnějších signálů, jako je pH, teplota, světlo, iontová síla, enzym, glukóza, CO₂, ultrazvuk, elektrická a magnetická pole.

Mezi přirozeně se vyskytujícími polymery reagujícími na podněty biomakromolekuly nebo biopolymery, jako jsou proteiny a nukleové kyseliny, vykazují vynikající stabilitu v živých orgánech. Tyto biopolymery však podléhají dramatickým změnám konformace v kritickém bodě fyziologických změn. Vědci tedy inspirováni přírodou navrhli syntetické polymerní materiály reagující na podněty napodobující funkce několika biopolymerů v živých systémech. Tyto syntetické, citlivé polymery však musí splňovat některé požadavky na účinné biomedicínské aplikace, to znamená, že musí být netoxické, biokompatibilní a biologicky rozložitelné. V posledních desetiletích byla většina těchto polymerních biomateriálů připravena pro biomedicínské aplikace za použití polyethylenglykolu (PEG). PEG je i přesto biologicky nerozložitelný a má jiná lékařská omezení, mimo jiné nespecifické interakce s krví, přecitlivělost, alergické reakce [1]. Proto jsou objevovány nové alternativy, kterými by mohly být právě polyoxazoliny (POx), které mají podobné vlastnosti jako PEG, ale mají také vlastnosti vhodnější pro různé biomedicínské aplikace.

Přehled literatury ukazuje, že zájem o POx existuje již posledních třicet let. Poprvé byl vyvinut jako potravinářská přídatná látka na počátku 80. let, pro které byly vypracovány a zdokumentovány vypracované studie bezpečnosti zvířat. Studie uváděné jinými vědci ukázaly, že POx lze použít v různých farmaceutických a lékařských aplikacích. Může být konjugován s proteiny a léky s malými molekulami, roubován na liposomální dvojvrstvy, formován do micel a aplikován na povrchy. Ve všech těchto aplikacích má POx stejné „tajné“ vlastnosti jako PEG bez nepříznivých účinků na zvířecích modelech. Nedávné studie ukončené radioaktivně značeným POx naznačují, že polymer je rychle vylučován ledvinami bez významné akumulace v tkáních. Polyoxazolinové polymery se připravují metodou živé kationtové polymerace. V literatuře bylo popsáno mnoho procesů. Jeden způsob pojednává o stechiometrickém přídatku elektrofilního iniciátoru, jako je alkyltosylát nebo alkyltriflát, k oxazolinovému monomeru, který je rozpuštěn v suchém organickém rozpouštědle a v inertní atmosféře. Propagační fáze se provádí při 80 °C po dobu přibližně 1 až 3 dnů. Ve druhém způsobu je polymerace prováděna pomocí mikrovlnné energie, aby se zkrátila doba propagace ze dnů na hodiny. V obou případech je živý kation ukončen zavedením nukleofilu, jako je OH⁻, NH⁻, COO⁻ nebo S⁻. Ukončení se provádí vodným uhlíčanem sodným za vzniku hydroxylové koncové skupiny nebo reakcí se sekundárním aminem, jako je morfolin nebo piperidin, za vzniku koncového terciárního aminu.

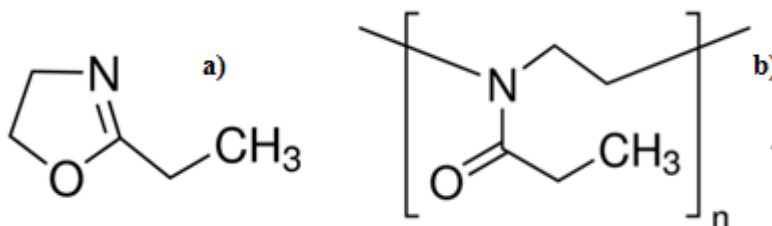
Syntetické metody popsané výše se zdají být jednoduché, ale ve skutečnosti mají řadu procesních obtíží ve vztahu k rozšiřování a reprodukovatelnosti. Různé vzniklé vedlejší reakce vedly k obtížně odstranitelným nečistotám, čímž se vytvořily produkty, které jsou žluté barvy [2]. Proto se nyní výroba POx soustředí na plazmovou polymeraci. Pomocí které lze vytvořit tenké vrstvy, jež jsou biokompatibilní a mají antibiofoulingové vlastnosti. Těto vlastnosti se využívá při potažení zdravotnických prostředků, na kterých dochází ke kolonizaci bakterií a způsobují tak u pacientů infekce.

Cílem této práce je připravit POx filmy pomocí plazmové polymerace. Ta bude prováděna v dielektrickém bariérovém výboji za atmosférického tlaku v dusíkové atmosféře. Pro výrobu POx filmů bude použit monomer 2-ethyl-2-oxazolin (99,9% čistoty). Vrstvy budou připraveny při různých průtocích monomeru a různých teplotách. Následně budou vrstvám stanoveny mechanické vlastnosti, spolu s cytokompatibilitou a antibakteriálními testy. V závěru diplomové práce budou vrstvy porovnány s POx filmy, vytvořenými z monomeru 2-ethyl-2-oxazolinu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Polyoxazoliny

Polyoxazoliny (POx) jsou důležitou třídou polymerů, které přitahují pozornost díky antibiofoulingovým vlastnostem. Jsou to tedy revoluční biomateriály, které vykazují srovnatelné a dokonce lepší vlastnosti než už zavedené protějšky, jako jsou například polyethylenglykoly (PEG). Biokompatibilní polyoxazolinové povlaky nanomateriálů jsou schopné kontrolovat adhezi proteinů a buněk a významně omezit tvorbu biofilmů [3]. Na *Obrázek 1* jsou uvedeny vzorce (a) 2-ethyl-2-oxazolinu a (b) poly(2-ethyl-2-oxazolinu).



Obrázek 1: (a) 2-ethyl-2-oxazolin [4]; (b) poly(2-ethyl-2-oxazolin) [5].

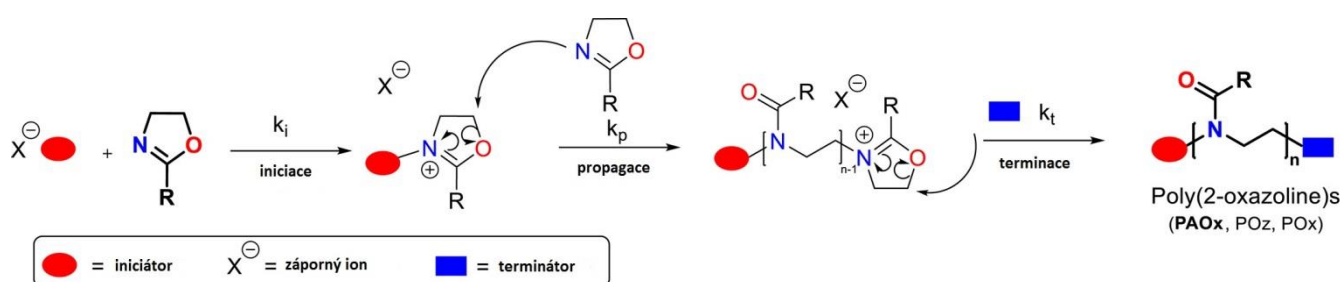
Jednou z hlavních oblastí použití polymerů v biologickém a zdravotnickém prostředí je dodávání léčiv a genů. V nejjednodušším případě je léčivo uzavřeno v polymerní matici a uvolněno v průběhu času difúzí. Alternativně jsou konstruovány komplexní multifunkční polymery s kovalentně navázanými skupinami léčiv. Kombinace polymeru s molekulou léčiva má oproti použití čisté molekuly léčiva několik hlavních výhod: (1) potenciálně zvýšená rozpustnost nerozpustných léčiv nebo léčiv s nízkou rozpustností ve vodě, (2) zlepšená farmakogenetika, (3) ochrana proti deaktivaci a degradaci během transportu a oběhu, (4) snížená antigenní aktivita a (5) možnost kombinovat léčivo s dalšími funkčními složkami, jako jsou kontrastní látky atd.

Uzavření v matici znamená buď smíchání molekuly léčiva s amorfním polymerem, jak je využíváno u stentů a polymerních implantátů, nebo zapouzdření do vehikula vytvořeného pomocí amfifilních blokových kopolymerů. Tyto nosiče mohou mít různé organizační tvary, ale všechny se spoléhají na princip, že amfifily se samy sestavují ve vodě a vytvářejí nanostruktury složené z hydrofobního jádra a hydrofilního obalu. Lipopolymery jako takové získaly značnou pozornost, přičemž nejvíce intenzivně zkoumanými lipopolymery jsou skupiny na bázi polyethylenglykolu (PEG-lipidy). Bylo však také připraveno množství lipopolyoxazolinů. Woodle a kol., uvedli syntézu lipidových konjugátů na bázi poly(2-methyl-2-oxazolinu) a poly(2-ethyl-2-oxazolinu) jako alternativu k materiálům na bázi PEG. Konjugáty byly připraveny spojením glutarátových esterů předem vytvořených polymerů s distearylfosfatidylethanolaminem (DSPE) nebo ukončením polymerace s tímto činidlem. Lipopolymery byly použity k přípravě liposomů značených ^{67}Ga , které byly následně injikovány do krevního oběhu potkanů, aby bylo možné sledovat jejich postup a distribuci pomocí měření hladiny v krvi a tkáni. Experimenty ukázaly, že chování liposomů na bázi

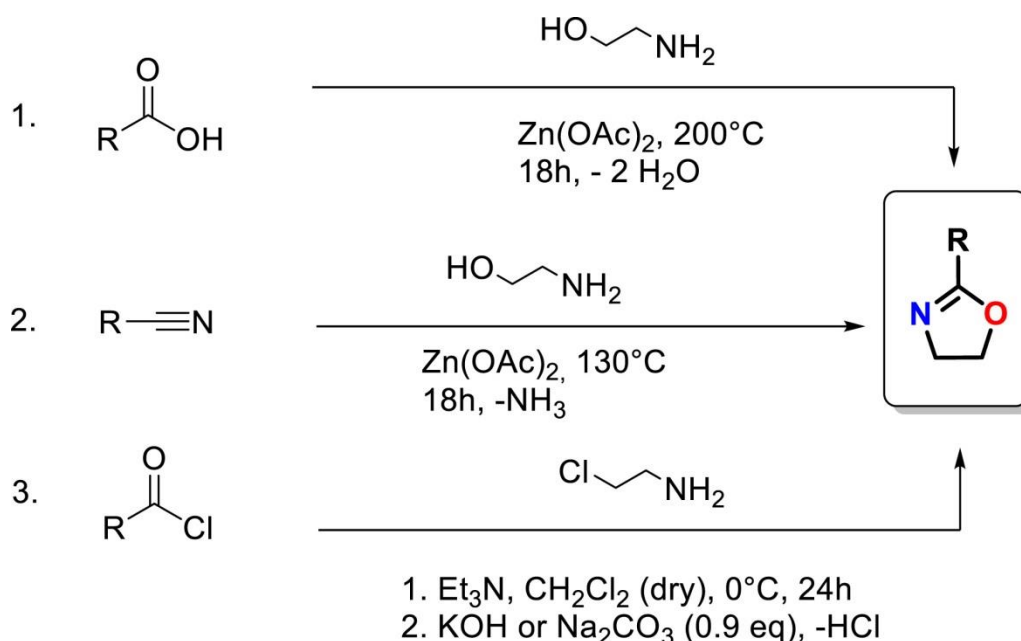
polyoxazolinu je podobné chování odpovídajících materiálů na bázi PEG, a to jak z hlediska oběhu v krevním řečišti (vykazující dlouhou životnost v oběhu), tak i z hlediska absorpce játry a slezinou. Toto chování lze přičíst faktorům podobným těm, které jsou odpovědné za „PEG-efekt“, tj. vysoká pohyblivost řetězců a schopnost vázat se na vodu, které oba přispívají ke sterické stabilizaci pozorované v liposomech typu polymer-lipid.

Lipidy mohou být také použity jako iniciátory, spíše než jako terminátory: funkční tosyláty, jako je 1,2-di-dodekanoylpropyl-p-toluensulfonát, mohou být použity k iniciaci polymerace buď 2-methyl- nebo 2-fenyl-1,3-oxazolinu. Jordan a kol., popsali přípravu poly(N-propionyloxazolinů), která byla funkčně ukončena řadou různých lipofilních skupin (methyl-, N-hexadecyl-, (C16-) a 1,2-O-dioktadecyl-sn-glyceril-). Polymerace byly zahájeny za použití derivátů trifluormethansulfonátu lipidů a pokračovaly obvyklým mechanismem kationtového otevírání kruhu. Tento způsob přípravy lipopolymerů byl následně označen jako „iniciační metoda“. Polymery byly zakončeny 4-aminobutyldimethylsiloxanem, což umožňuje vytvoření vrstvených polymerních vrstev roubováním na pevný podklad. Další příklad lipopolyoxazolinu poskytl Volet, který připravil telechelické polymery PMOXA obsahující jeden alkylový koncový uzávěr s dlouhým řetězcem polymerací 2-methyl-2-oxazolinu s otevřeným kruhem, který byl zahájen buď 1-jodododekanem nebo 1-jodoktadekanem. Kritické micelární koncentrace v těchto systémech lze regulovat pomocí hydrofilní nebo lipofilní rovnováhy [6].

Příprava POx se většinou provádí pomocí živé kationtové polymerace otevírající kruh (CROP), zobrazena na *Obrázek 2*. Je to zdlouhavý mokrá proces v organických rozpouštědlech. Další možné polymerizační techniky jsou fotospojování a roubování, které vyžadují předběžnou úpravu substrátů. Tvorba polyoxazolinových povlaků za použití obvyklých metod je tedy pomalý a složitý víceúrovňový postup, který lze provádět pouze na omezeném rozsahu substrátů. Právě díky plazmové polymeraci mohou být tyto konvenční metody překonány [7]. Na *Obrázek 3* je uveden přehled syntézy monomeru 2-oxazolinu.



Obrázek 2: Polymerace 2-oxazolinů otevírajících kationtový kruh: mechanismus ve třech krocích s kroky iniciace, propagace a ukončení [8].



Obrázek 3: Syntézy monomeru 2-oxazolinu: (1) přímá syntéza prostřednictvím neaktivovaných karboxylových kyselin; (2) Seeligerova metoda vycházející z nitrilů; (3) modifikovaná Wenkerova metoda [8].

2.2 Plazmová polymerace

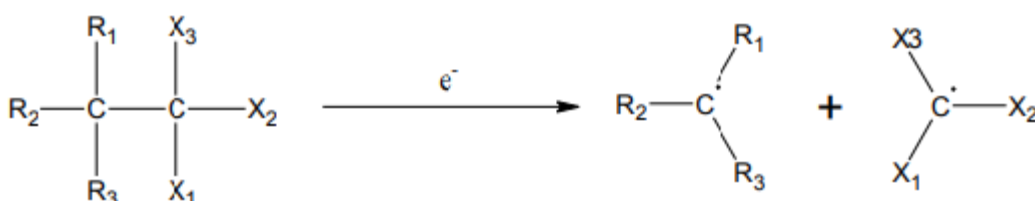
Jednou z metod přípravy tenkých vrstev je právě plazmová polymerace, kdy výsledkem je tenký organický film. Polymery, které byly připraveny klasickou polymerací a plazmovou polymerací se od sebe liší v chemických i fyzikálních vlastnostech. Polymery připravené plazmochemicky nemají pravidelnou strukturu a jsou silně větvené a síťované, protože během procesu dochází k fragmentaci molekuly monomeru na mnoho částí [9].

Při plazmové polymeraci dochází ke srážce urychlené částice, tj. elektronu s monomerem za vzniku excitovaných fragmentů, volných iontů a radikálů. Tyto fragmenty se vzájemně rekombinují a vytvářejí tenkou vrstvu. Monomer může být organická sloučenina s nasycenými i nenasycenými uhlovodíky nebo s organokovy [10].

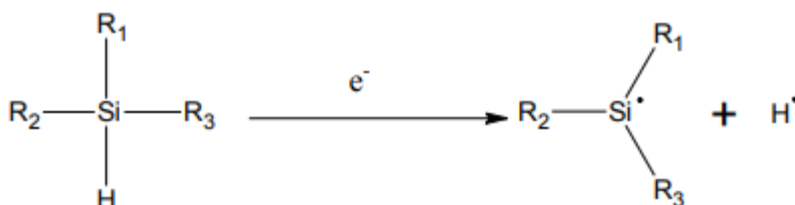
Touto technikou lze vytvořit velmi rozmanité polymery, od diamantových uhlíkových až po polystyrenové a PTFE filmy. Tato technika umožňuje nanášet polymery na velmi velké množství substrátů. Plazmové polymery se používají pro dielektrické potahování (mikroelektronika), ochranu proti korozi, biokompatibilní povrchy nebo plynovou bariéru (balení potravin). Oproti tradičním polymerům mají několik výhod. Například to, že vykazují vyšší stupeň zesíťování a mají proto vynikající mechanické vlastnosti, které umožňují nanášení ultratenkých filmů, které vykazují dobrou adhezi na různých substrátech. Jelikož plazma modifikuje pouze vrchní vrstvy vzorku, jsou pro analýzu polymerů modifikovaných plazmou potřebné povrchově specifické techniky. Jedna z hlavních technik používaných k charakterizaci plazmaticky modifikovaných polymerů je kontaktní úhel vody (WCA). WCA je „skutečná“ technika povrchové analýzy s hloubkovou analýzou přibližně 0,5 nm [11].

2.2.1 Mechanismus plazmové polymerace

Fragmentace molekul monomeru, tvorba aktivních částic a rekombinace aktivních fragmentů jsou elementární reakce v plazmové polymeraci. V této polymeraci se nevyžadují dvojné ani trojné, či cyklické struktury. Je to postupná rekombinace mezi mono- a bi-radikály, které jsou tvořeny fragmentací monomeru. Na *Obrázek 4* a *Obrázek 5* jsou uvedeny dva typy reakcí, které vznikají při fragmentaci monomeru [10].



Obrázek 4: Štěpení C-C vazby [10].



Obrázek 5: Eliminace vodíku [10].

2.3 Plazma

Plazma je ionizovaný plyn, označovaný jako čtvrté skupenství hmoty. Většina pevných látek má krystalovou mřížku, která je vyplněna elektronovým plynem. Pevná látka se mění na kapalnou při stálém tlaku a zvyšující se teplotě. Pokud teplota stále stoupá, mění se látka na plyn. Při zahřívání plynu nastává nejprve disociace a poté tepelná ionizace, kdy se z neutrálních částic stávají kladně a záporně nabitě částice. Částice, které vzniknou tímto procesem, se nazývají jako ionizovaný plyn. Pokud budeme v tomto plynu postupně zvyšovat počet nabitých částic, tak elektrické pole bude působit na kladně nabitě částice a ty se budou pohybovat směrem k záporné elektrodě a elektrony opačným směrem. Tím nastane polarizace ionizovaného plynu, kdy bude u záporné elektrody přebytek kladného náboje a u kladné elektrody zase přebytek záporně nabitých částic. Tento prostorový náboj vytváří elektrické pole, které je orientováno opačně, než pole elektrod. V centru ionizovaného plynu tak vzniká slabší elektrické pole a v blízkosti elektrod zase silnější. V tomto případě už lze určit pole jednoduchým způsobem. Vlivem prostorového náboje se změnili původní vlastnosti ionizovaného plynu, z kterého se tedy stala plazma. Procesem ionizace vzniká kvazineutrální plazma, kdy v určitém objemu je počet kladných a záporných částic stejný. Tím, že je plyn kvazineutrální, vykazuje kolektivní chování. Jednou z vlastností plazmatu je vyrovnávat rozdíly v koncentraci opačně elektricky nabitých částic. Právě jeho velká elektrická vodivost usnadňuje dosažení kvazineutrálnosti, ta je jen vnějším projevem. Uvnitř plazmatu se nachází lokální magnetická a elektrická pole [12, 13].

Plazma rozdělujeme na slabě a silně ionizované. Silně ionizované plazma je takové, ve kterém koncentrace nabitých částic převládá nad koncentrací neutrálních částic. U slabě ionizovaného plazmatu je koncentrace nabitých částic zanedbatelná v porovnání s neutrálními molekulami. Energie vzájemného působení je při srážkách nabitých částic s molekulami plynu dána polarizačními silami. Jejichž potenciální energie se zeslabuje se vzdáleností r jako r^{-4} . U silně ionizované plazmy je charakter sil dán Coulombovými silami. Silně a slabě ionizované plazma má odlišný charakter sil i vlastnosti [13].

Díky střední energii rozlišujeme vysokoteplotní a nízkoteplotní plazma. Jelikož neexistují fyzikální důvody, jak stanovit přesnou hranici, využívá se zde konvence. Plazma se považuje za vysokoteplotní, pokud střední energie nabitých částic je větší než 100 eV, čemuž přísluší teplota větší než 1 MK. A na základě této konvence se vysokoteplotní plazma využívá v experimentech s řízenou termonukleární syntézou. Zatímco plazma využívané ve výbojích a v plazmových technologiích se považuje za nízkoteplotní [13]. Teploty jsou uvedeny v *Tabulka 1*.

Tabulka 1: Rozdělení plazmatu podle teploty částic [13].

Nízkoteplotní plazma		Vysokoteplotní plazma
Izotermní plazma	Neizotermní plazma	$T_i \approx T_e > 10^7 \text{ K}$ Fúzní plazma
$T_e \approx T_i \approx T < 2 \cdot 10^4 \text{ K}$	$T_i \approx T \approx 300 \text{ K}$ $T_i \ll T_e < 10^5 \text{ K}$	
Plazma za normálního tlaku	Nízkotlaký doutnavý výboj	

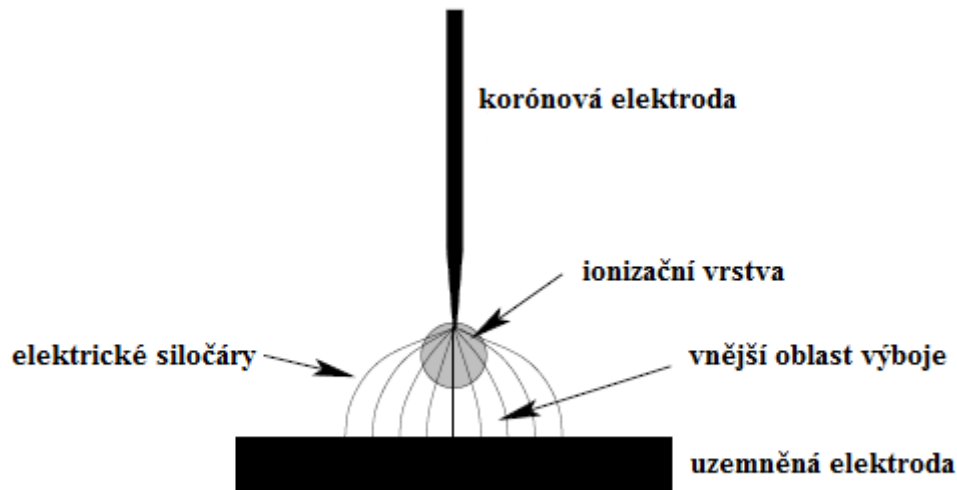
Přirozeně se plazma může objevovat při bouřce v blescích. Zatímco ve vesmíru tvoří plazma 99 % vesmírné hmoty, což jsou hvězdy, Slunce, mezihvězdný či meziplanetární prostor. Vesmírná plazma je silně ionizovaná. V běžném životě se setkáváme spíše se slabě ionizovaným plazmatem [13].

Další možností generace plazmatu je v laboratoři. To lze dvěma způsoby, prvním a také častěji vyžívaným z nich je generace plazmatu pomocí elektrických výbojů. Toto plazma je v nerovnovážném stavu a jeho vlastnosti se popisují pomocí kinetiky. Druhým způsobem je ohřívání plynu za vysoké teploty, až několik tisíc Kelvinů, když nastává termická ionizace. Takto vytvořená plazma je v termodynamické rovnováze [13].

2.3.1 Generace plazmatu pomocí výbojů

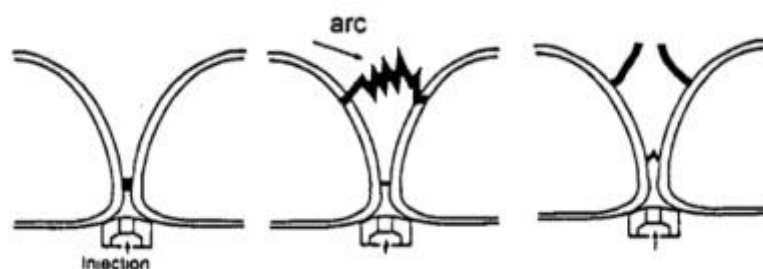
Vlastnosti plazmových výbojů se odvíjí od druhu pracovního plynu, elektrickém napětí a prostředí. V ustáleném stavu může výboj existovat jen díky toku elektrického proudu, ten neustále dodává do výboje energii, která se z něj odvádí do okolí ve formě světla a tepla. Výboj rychle zaniká, jakmile dojde k přerušení proudu. Jedním z výbojů je korónový, kdy je

mezi dvěma elektrodami s rozdílnými poloměry aplikováno vysoké napětí. Tento výboj může existovat jen v nehomogenním elektrickém poli a při tlacích vyšších než 1 kPa. Na *Obrázek 6* lze vidět schéma korónového výboje.



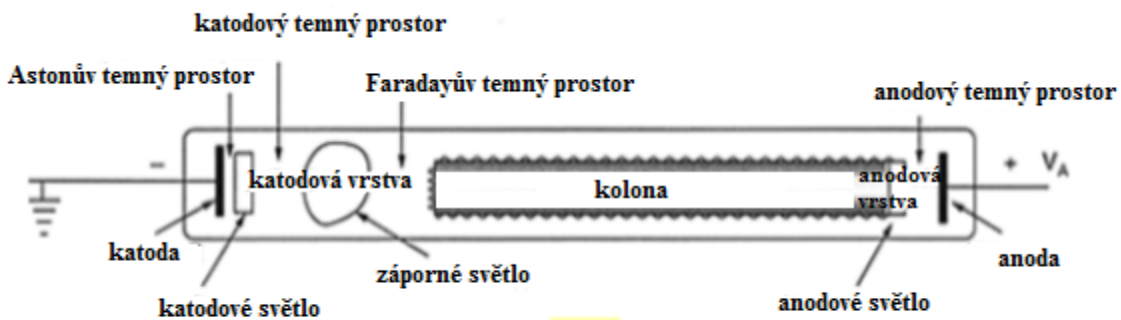
Obrázek 6: Korónový výboj s geometrií hrot-rovina [13].

Dalším typem je dielektrický bariérový výboj, který vzniká mezi dvěma rovinnými elektrodami, a mezi nimi se nachází dielektrická vrstva, jako bariéra. Podrobněji je popsán v kapitole 2.4. U klouzavého obloukového výboje se vysoké napětí vkládá mezi dvě oblé elektrody a každá z nich má jiný potenciál. Patří do atmosférických výbojů s vysokou proudovou hustotou. V místě, kde jsou si elektrody nejbliž, se zapaluje výboj a poté stoupá vzhůru. Příčinami, proč výboj stoupá vzhůru, může být proud plynu, který je umístěn tak, aby se plyn pohyboval vzhůru anebo vztaková síla. Ta vzniká na základě rozdílných hustot a chladnějšího okolního plynu a horkého výbojového kanálu. Na *Obrázek 7* lze vidět vývoj klouzavého výboje [14, 15].



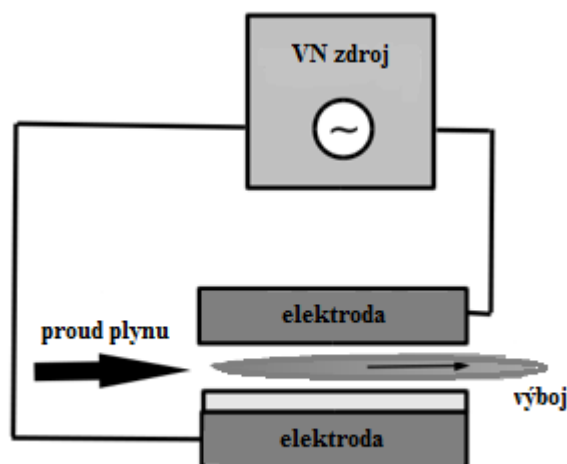
Obrázek 7: Vývoj klouzavého výboje. Zapálení, průběh a vyhasnutí [15].

U doutnavého výboje je základním rysem tvorba lavinové ionizace, ta vzniká srážkami náhodného elektronu, který je urychlen v elektrickém poli, s okolními částicemi. Pokud je použit dostatečně nízký proud, je možné ho udržet i při atmosférickém tlaku. Pokud ne, přechází v obloukový výboj. Obvykle se pro doutnavý výboj využívá výbojová trubice. Schéma výboje je uvedeno na *Obrázek 8* [15].



Obrázek 8: Schéma doutnavého výboje [15].

Plazmová tryska se také skládá ze dvou elektrod, mezi kterými vzniká podobný výboj jako DBD. S tím rozdílem, že proudící plyn strhává částice plazmatu, což vypadá jako plamen. Schéma lze vidět na *Obrázek 9*. Tryska je nejvíce využívaným zdrojem pro nízkoteplotní plazma [14].



Obrázek 9: Schéma plazmového hořáku [16].

2.3.2 Aplikace plazmatu

Aby mohlo být plazma využíváno v medicíně, musí plazmové zařízení pracovat při atmosférickém tlaku a laboratorní teplotě, kvůli přímé interakci s živou tkání. Dále musí pracovat stabilně a musí být přizpůsoben konkrétní aplikaci. Také se musí zahrnout vliv plazmatu na vodní prostředí, antimikrobiální účinnost a vliv na intracelulární DNA [14].

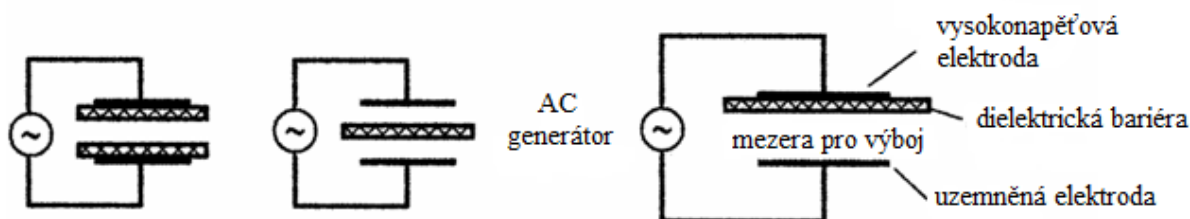
Jednou z aplikací, kde se využívá plazma je v medicíně, při dekontaminace kůže. Jelikož se na kůži nachází spousta bakterií, od grampozitivní *Staphylococcus epidermidis*, přes stafylokoky až po gramnegativní bakterie a plísně. Plazma má baktericidní účinky a tím

je vhodné na choroboplodné zárodky, které způsobují kožní infekce. Další aplikací je léčba ekzému, především atopického, který se řadí mezi chronická onemocnění. Aplikace plazmatu zmírňuje pocit svědění a také snižuje kolonizaci bakterií na kůži. Ve stomatologii je plazma využíváno k inaktivaci bakterií *Streptococcus mutans*, které stojí za vznikem zubního kazu. Pomocí plazmatu bývají upravovány také povrchy, kovové a polymerní materiály, které slouží jako nosiče léčiv v těle. V odpadních vodách se využívá k degradaci škodlivých látek a to také z ovzduší [14].

V technice se využívá výboje v plynech ve rtuťových usměrňovačích, u blesku, zářivek a v neonových trubicích. Dalším využitím je opracování materiálů nebo příprava tenkých vrstev. Právě plazmové napařování slouží k ochraně materiálů před vnějšími vlivy nebo k úpravě povrchových vlastností. Plazmové technologie jsou také využívány v textilním průmyslu, kvůli zvýšení odolnosti proti vodě a olejům. Tyto textilie se pak dále využívají v automobilech, stavebním průmyslu či u ochranných oděvů. Plazma obloukového výboje je dlouhodobě využíváno při sváření [13, 17].

2.4 Dielektrický bariérový výboj

Dielektrický bariérový výboj (DBD) je vysokotlaký výboj se střídavým proudem, kvůli přítomnosti bariéry, která je nevodivá. Mezi dvěma kovovými elektrodami se nachází jedna nebo více pevných dielektrických bariérových vrstev. Tato bariéra kontroluje energii mikrovýbojů a distribuci náboje na povrchu elektrody, tak aby byl rozprostřen rovnoměrně po celé elektrodové oblasti. Jako dielektrikum je nejčastěji využíváno sklo a keramické nebo polymerní materiály. Mezi elektrodami se nachází prostor v rozmezí několika desetin milimetrů až několika centimetrů a napětí zde bývá většinou v rozsahu 1-100 kV. Frekvence bývá v desítkách Hz až MHz. DBD budí nerovnovážné nízkoteplotní plazma s vysokou střední energií elektronů. Tento výboj se rozlišuje na tři typy, kterými jsou povrchový, objemový a koplanární [18, 19]. Na *Obrázek 10* jsou zobrazeny konfigurace dielektrického bariérového výboje.

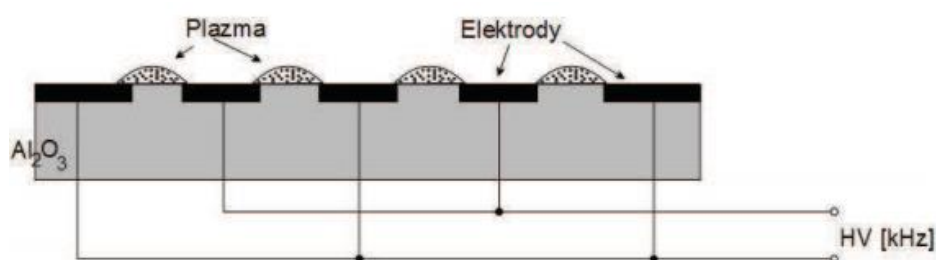


Obrázek 10: Schéma dielektrického bariérového výboje [20].

V uspořádání objemového bariérového výboje musí být alespoň jedna elektroda pokryta dielektrikem. Výboj vzniká v objemu a dotýká se jen na začátku a na konci výbojového kanálu. Využívaným uspořádáním elektrod je buď paralelní rovinné, nebo válcovité. Ve výboji vznikají filamentární mikrovýboje trvající v řádu desítek nanosekund. Tyto filameny jsou kolmé na dielektrickou bariéru. Pokud je plazma nehomogenní a zvětšuje

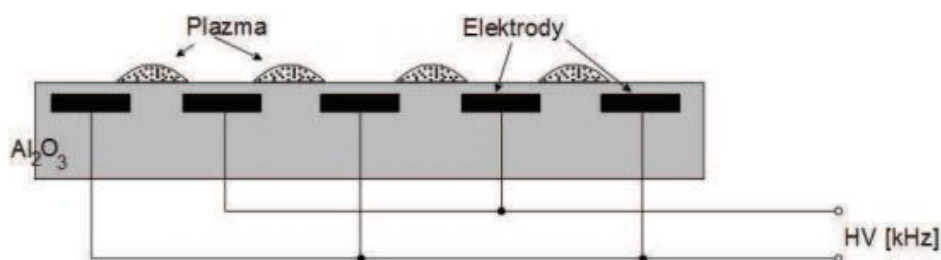
se budící napětí, narůstá i počet filamentů. Výhodou je vytvoření velkého objemu plazmatu a nízké nároky na dielektrickou pevnost použitého dielektrika [18].

U povrchového bariérového výboje je povrch elektrody tvořen řadou kovových pásek, ty jsou odděleny dielektrikem. Výboj je buzen střídavým napětím na elektrodách a probíhá jen za atmosférického tlaku. Výhodou tedy je, že není potřeba vakuové aparatury. Tento výboj obsahuje vlastní mikrovýboje, které se na povrchu dielektrické bariéry zvětšují a pokrývají tak větší oblast. Mikrovýboj vzniká tehdy, když se dosáhne průrazné hodnoty napětí plynu. Pokud stoupá intenzita elektrické pole, vznikají nové výboje. Teploty, které se při tomto výboji dosáhne je okolo 500 K, tedy nízkoteplotní plazma [18]. Na *Obrázek 11* je zobrazeno uspořádání povrchového bariérového výboje.



Obrázek 11: Uspořádání povrchového dielektrického bariérového výboje [18].

Díky paralelnímu uspořádání dvojic elektrod, které jsou od sebe v řádu 1 mm, vzniká na povrchu dielektrika koplanární bariérový výboj. Tyto elektrody mají páskový tvar a jsou opačné polarity. Nad oblastí elektrod se tvoří mikrovýboje a jejich počet roste úměrně vůči napětí. Tvar tohoto výboje není závislý na polaritě a kombinuje výhody obou předchozích výbojů [18]. Na *Obrázek 12* je zobrazeno uspořádání koplanárního dielektrického bariérového výboje.

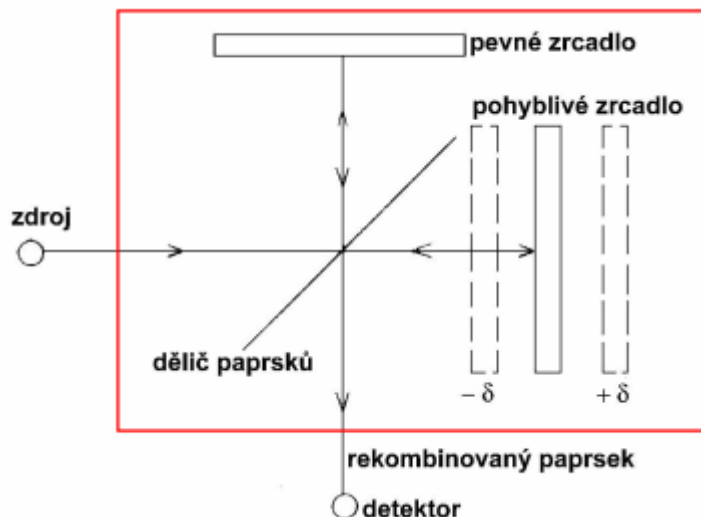


Obrázek 12: Uspořádání koplanárního dielektrického bariérového výboje [18].

3 DIAGNOSTICKÉ METODY

3.1 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR)

Infračervená spektroskopie je analytickou metodou využívána k charakterizaci a identifikaci struktury analyzovaného materiálu. Principem této metody je pohlcení infračerveného (IČ) záření měřeným vzorkem. Signál získaný interferometricky převeden Fourierovou transformací na infračervené spektrum [21]. Základem tohoto měření je Michelsonův interferometr, který je zobrazen na *Obrázek 13*. Právě při průchodu IČ dochází ke změně rotačně vibračních stavů molekuly a v závislosti těchto změn se mění i dipólový moment molekuly. Infračervené spektrum se dělí na tři oblasti podle vlnočtů. Na blízkou NIR (near infrared), která je v rozmezí $12500-4000\text{ cm}^{-1}$, střední MIR (middle infrared) v rozmezí $4000-200\text{ cm}^{-1}$ a vzdálenou FIR (far infrared) v rozmezí $200-20\text{ cm}^{-1}$ [22]. K získávání biochemických informací z biomedicínských vzorků se využívá infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR). Tato variabilita je do značné míry způsobena skutečností, že vzorky, obvykle buňky nebo neporušená tkáň jsou daleko od ideálního spektra. Získání spektra, které spolehlivě představuje biochemii vzorku, je obtížné získat, protože rozptylové vlastnosti biomedicínských vzorků, vyplývající ze změn v morfologii, vedou k závažným zkreslením v měřeném spektru. Nedávno se ukázalo, že převládající příčinou zkreslení je jev nazývaný rezonanční Mieho rozptyl (RMieS) a v menší míře odrazy z povrchu vzorku [23].



Obrázek 13: Schéma Michelsonův interferometr [24].

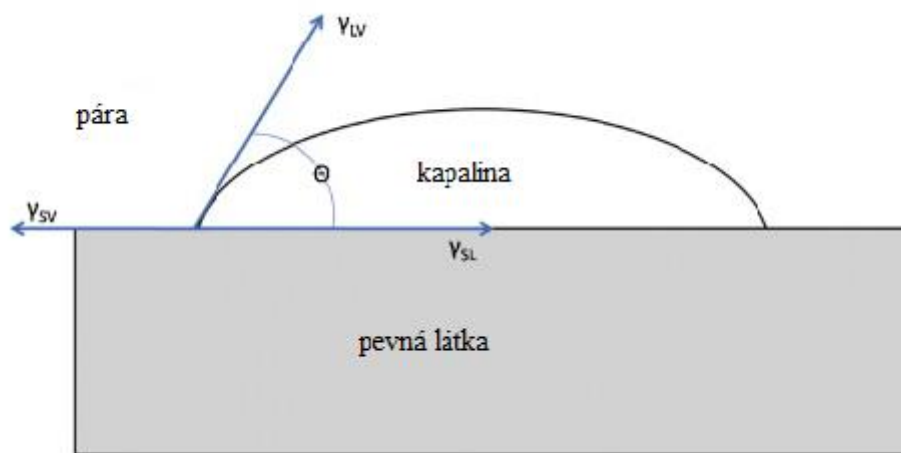
Princip metody zeslabeného totálního odrazu (FT-IR ATR) spočívá v odrazu infračerveného svazku záření na rozhraní vzorku a krystalu. Krystal musí být propustný pro IČ záření a musí mít vysoký index lomu. Pomocí soustavy zrcadel je do krystalu přivedeno záření a to kvůli totálnímu odrazu. Analyzovaný vzorek absorbuje část záření a paprsek je tak oslaben v odrazu o absorbovanou energii vzorkem. Vlnová délka záření a index lomu krystalu a vzorku ovlivňuje hloubku průniku paprsku do vzorku. Na základě geometrie paprsku a tvaru krystalu jsou ATR krystaly rozdělovány na jednodrazové a víceodrazové. Technika je vhodná

pro pasty, gely, viskózní kapaliny, práškové vzorky a polymerní vrstvy, které jsou silně absorbující [21, 25].

3.2 Kontaktní úhel

Měření kontaktního úhlu je jednoduchá analytická technika a může být provedena několika způsoby. Existují tři možnosti, jak měřit jednotlivé kontaktní úhly. První je metoda přímého pozorování (neboli metoda tečen). Jedná se o měření úhlu mezi tečnami k profilu v bodě kontaktu s pevným povrchem. Druhá se nazývá metoda odraženého světla, kde světelný paprsek emitovaný z mikroskopu se odráží zpět, když je mikroskop zaostřen na třífázový kontaktní bod. Nevýhodou této metody je však její platnost pouze pro úhly menší než 90°. Třetí metoda se používá k měření opravdu malých úhlů (asi 10°) a nazývá se metoda interferenční mikroskopie. Monochromatické světlo s rozdělovačem paprsků se odráží na substrátu a vytváří tak interferenční pásy rovnoběžné s hranou kapky [26].

Pro měření kontaktního úhlu byla použita první metoda tečen. Při této metodě je nanášena malá kapka na povrch vzorku a následně je měřen úhel mezi povrchem vzorku a kapkou (Obrázek 14). Kontaktní úhel je výsledkem adhezních, tj. přílnavých sil a kohezních, tj. soudržných sil mezi pevnou a kapalnou fází. Pokud je úhel 180°, mezi kapalnou a pevnou fází nejsou interakce, zatímco při kontaktním úhlu 0° dosahují interakce maxima [11].



Obrázek 14: Měření kontaktního úhlu kapky kapaliny na pevném vzorku [11].

Povrchová energie souvisí s kosinem WCA pomocí Young-Laplaceovy rovnice (1):

$$\gamma_{SV} - \gamma_{SL} = \gamma_{LV} \cos \theta \quad (1)$$

kde γ_{SV} je povrchové napětí pevné látky a páry, γ_{SL} je povrchové napětí pevné látky a kapaliny, γ_{LV} je povrchové napětí kapaliny a páry, θ je kontaktní úhel [11].

3.3 Volná povrchová energie

Molekuly, které se nachází na povrchu kapaliny, mají větší potenciální energii než ty, které jsou uvnitř. Povrchová energie je ta, kterou mají částice navíc. Při zvětšení povrchu kapaliny tato energie vzroste [27].

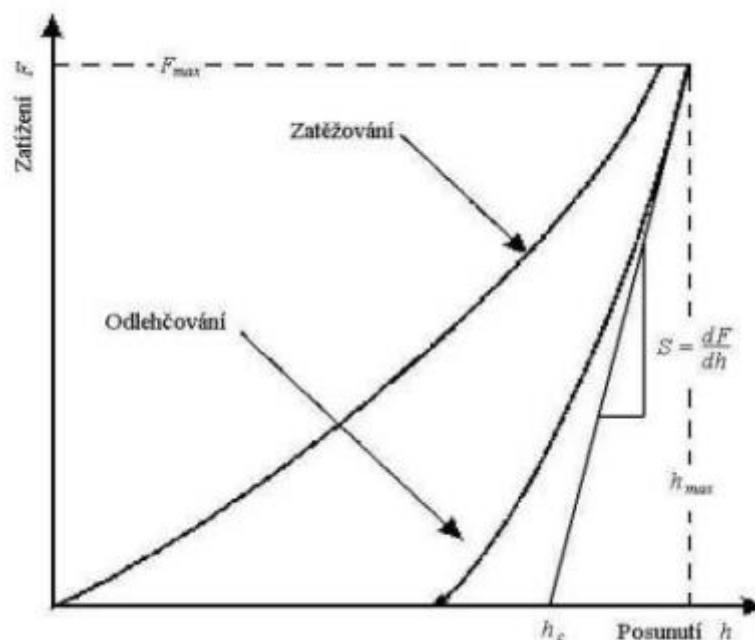
Na základě měření kontaktního úhlu kapaliny na pevném povrchu je stanovena volná povrchová energie. Je to součást potenciální energie povrchových molekul a vztahuje se na práci potřebnou pro prodloužení povrchu na vzdálenost Δx . Obecně je tato energie popsána rovnicí (2):

$$W_s = \gamma \cdot \Delta S \quad (2)$$

kde rozšíření oblasti se rovná součinu délky povrchu a vzdálenosti: $\Delta S = l \cdot \Delta x$ [26]. Volná povrchová energie bývá obvykle vyhodnocena pomocí Young-Laplaceovy rovnice (1), která je uvedena v předchozí kapitole.

3.4 Nanoindentace

Principem nanoindentace je zatlačení malého hrotu do materiálu a následného vytvoření otisku, ke kterému jsou použity různé druhy hrotů. Tato technika je výkonná a využívá se pro vyhodnocování mechanických vlastností v nano i makro měřítku. Z experimentálních dat zatížení indenteru a hloubky penetrace lze získat parametry, jako jsou model pružnosti, tvrdost, mez kluzu nebo také viskózní parametry [28]. Na *Obrázek 15* je uveden příklad nanoindentační křivky.



Obrázek 15: Příklad nanoindentační křivka zatížení a posunu hrotu [29].

3.4.1 Oliver-Pharrova metoda

Oliver-Pharrova metoda (Oliver a Pharr, 1992) byla původně vyvinuta k měření tvrdosti a elastického modulu jednofázového elastoplastického materiálu ze zatížení indenteru a hloubky penetrace s ostrými zarážkami, jako je pyramidální Berkovichova špička. Bylo prokázáno, že tato metoda může být také použita v libovolné osově symetrické vnitřní geometrii včetně koule [30].

Tato metoda začíná tím, že se část dat grafu indentace připojí k mocenskému vztahu, jak je uvedeno níže

$$F = B(h - h_f)^m, \quad (3)$$

kde B a m jsou parametry přízpůsobení a h_f je konečná hloubka indentace po úplném odlehčení. Z těchto dat lze počáteční zatěžovací sklon, tj. kontaktní tuhost, S , odhadnout analyticky rozlišením rovnice (3) a vyhodnocení výsledku při maximální hloubce indentace, tj.

$$S = \left(\frac{dF}{dh} \right)_{h=h_{\max}} = Bm(h_{\max} - h_f)^{m-1} \quad (4)$$

Získaná kontaktní tuhost z rovnice (4) se potom použije pro odhad kontaktní hloubky h_c při maximální indentační síle,

$$h_c = h_{\max} - \varepsilon \frac{F_{\max}}{S}, \quad (5)$$

kde ε je konstanta, která závisí na vnitřní geometrii. Promítnutá kontaktní plocha, A , při maximální indentační síle pro ostrý kuželový vnitřek je určena úhlem, θ a odhadovanou hloubkou kontaktu, h_c z rovnice (5) tj.

$$A = \pi(h_c \tan \theta)^2 \quad (6)$$

Použití rovnice (5) a (6) pro odhad promítnuté kontaktní plochy je přísně založeno na jevu vtačování do jímky, kde povrch kolem indenteru je nižší než vzorek jako celek [31].

3.4.2 Tvrdost (H) a efektivní elastický modul (E_{eff})

Při vtačování indenteru do vzorku dochází k plastické i elastické deformaci. Po vysunutí se vrací jen elastická deformace.

Mechanickou vlastností materiálu je tvrdost, definovaná jako odpor materiálu proti vniknutí indenteru do vzorku. Ovlivňuje jí mnoho parametrů, mezi kterými jsou například elastické vlastnosti materiálů, velikost síly, tvar a rozměr indenteru, tření mezi vzorkem a indentorem,

doba zatížení a tloušťka vzorku. Nejvyužívanějšími zkouškami tvrdosti jsou podle Brinella, Rockwella, Vickerse nebo Knoop. Měření tvrdosti lze dělit na statické a dynamické podle toho, jak je zkoušený materiál zatěžovaný. A také podle druhu vzniklé deformace na dynamicko-plastické a dynamicko-elastické metody. Tvrdost lze vyjádřit podle obecného vztahu (7), kde P_{max} je maximální zatížení a A je plocha vtlačena indentorem [32, 33].

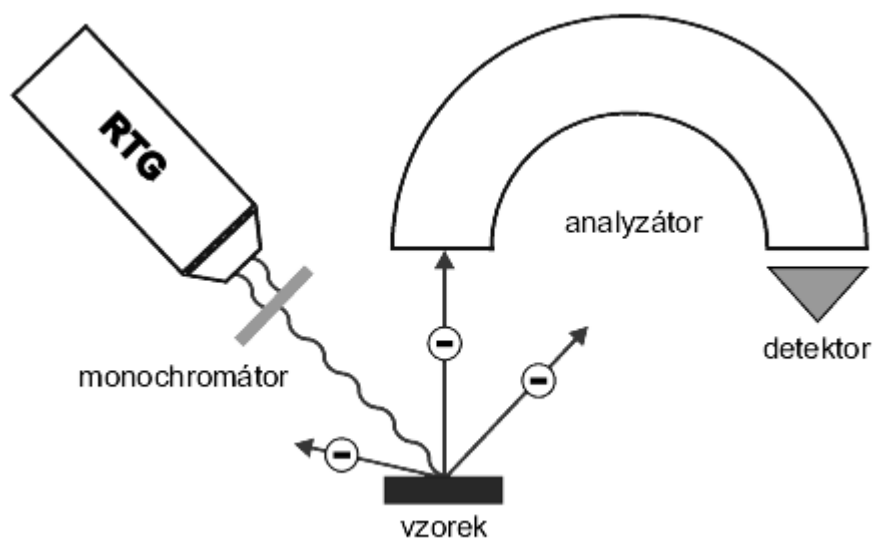
$$H = \frac{P_{max}}{A} \quad (7)$$

Efektivní modul pružnosti lze vyjádřit podle rovnice (8), kde ν a E jsou Poissonův poměr a Youngův modul materiálu.

$$E_{eff} = \frac{E}{(1 - \nu^2)} \quad (8)$$

3.5 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS)

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie je využívána k chemické analýze povrchů materiálů. Principem je měření energetického rozdělení elektronů, které byly emitovány z povrchu pevné látky vlivem ozáření. V elektronových spektroskopích se využívají energetické analyzátoři, které pracují jako energetické filtry s elektrostatickým polem propouštějícím elektrony o určité energii. Pomocí XPS lze získat kvantitativní i kvalitativní informaci, také podává informace o koncentraci jednotlivých prvků a o chemickém stavu [21, 34]. Na *Obrázek 16* je zobrazeno schéma této techniky. Jako zdroj RTG záření se využívá rentgenka o energii $h\nu$.



Obrázek 16: Schéma rentgenové fotoelektronové spektroskopie [35].

3.6 Cytokompatibilita

Pro diagnostiku cytokompatibility lze použít vaskulární buňky hladkého svalstva (VSMC), jsou to hlavní buněčné komponenty stěn krevních cév, které se propletou s elastickými vláknitými vrstvami za vzniku vaskulárního média, které poskytuje strukturální integritu. VSMC hrají důležitou roli v regulaci krevního tlaku a distribuce krve do různých tkání těla prostřednictvím dynamické kontrakce a relaxace v reakci na vazoaktivní podněty, jako jsou hormony, metabolity a neurotransmitery.

Morfologické a biochemické studie odhalily, že ve stěně cév existují vedle sebe dva odlišné fenotypy VSMC, což jsou diferencované kontraktilní a syntetické proliferativní fenotypy. Tyto dva fenotypy VSMC jsou diktovány jejich environmentálními a funkčními požadavky a také odrážejí odlišné vzorce genové exprese. Kontraktilní VSMC jsou charakterizovány specifickými kontraktilními proteiny, iontovými kanály a buněčnými povrchovými receptory, které regulují kontraktilní proces. Syntetické VSMC, také nazývané sekreční VSMC, se vyznačují významnou proliferační a migrační aktivitou, jako je produkce velkého množství extracelulární matrice během vývoje, v reakci na fyziologické změny (dlouhodobé cvičení a těhotenství) a patologické poškození (zánět, hypertenze, cukrovka). Ukázalo se, že různé fenotypy VSMC se mohou reverzibilně změnit, ale nevratná změna z kontraktilní na syntetický fenotyp je předpokladem pro progresi vaskulárního onemocnění. Během fenotypového přepínání nastávají změny v expresi transportních proteinů a kanálů, které mění Ca^{2+} signalizaci buněk hladkého svalstva. V kontraktilním fenotypu převládají prudké a krátké výkyvy v koncentraci intracelulárního Ca^{2+} , zatímco u syntetického fenotypu převládají pomalé a dlouhotrvající výkyvy Ca^{2+} [36, 37].

Při zvýšené koncentraci intracelulárního Ca^{2+} dochází k vasokonstrikci, při níž jsou cévy zúženy, a tím je regulován odpor oběhového systému. Pokud dojde k tepelným ztrátám nebo ke krvácení, je tento proces důležitý. Při vasodilataci je zvětšen průsvit cév a dochází k relaxaci VSMC, průtok krve se tak zvyšuje a krevní tlak zase snižuje [37].

3.7 Antibakteriální vlastnosti

Staphylococcus epidermidis je rod čeledi *Staphylococcaceae*, je to grampozitivní fakultativně anaerobní bakterie způsobující nozokomiální infekce a tvoří nepravidelné shluky. Běžně se vyskytující na kůži a v nemocničním prostředí. *S. epidermidis* se stal primárním patogenem v infekcích, které jsou spojené s protetickými prostředky. Vyžaduje však predisponovaného hostitele, aby se změnil z normálního obyvatele lidské kůže na infekční agens, a proto musí být jasně popsán jako oportunistický. Diagnostika je zde obtížná, jelikož je infekce indolentní, a jejich variabilní rezistence ztěžuje výběr účinného antibiotika.

S. epidermidis je obvykle organismus s nízkou virulencí. Pokud jsou ale v obraně hostitele způsobené přestávky chirurgickým zákrokem, umístěním katétru, vložením protézy nebo imunosupresí obvykle dochází k infekci. Přestože byla *S. epidermidis* identifikována jako patogen v infekcích močových cest a chirurgických ran, její asociace s infekcemi zahrnujícími protetické přístroje je jedinečná a má největší morbiditu. Při záměně srdeční chlopně nebo totální náhrady kyčle představuje *S. epidermidis* velkou část jak infekcí

časného, tak pozdního nástupu. Organismus také často způsobuje infekce cévních štěpů a kardiostimulátorů a také peritonitidu u pacientů na peritoneální dialýze. *S. epidermidis* je také jednou z nejčastějších příčin sepse u novorozenců vyžadujících katétry pupečnickových cév a u pacientů s rakovinou, kteří vyžadují dlouhodobou cévní katetrizaci [38, 39].

Staphylococcus aureus (přezdívaný také jako zlatý stafylokok) je jedním z nejvýznamnějších druhů rodu *Staphylococcus*. Řadí se mezi fakultativně anaerobní grampozitivní bakterie. Je to mikrob, který se vyskytuje ve vzduchu, vodě, prachu, na kůži a na sliznicích respiračního ústrojí, především v ústní a nosní dutině u lidí i zvířat. Přenášet se může dotykem nebo kapénkou z nosu a úst, jelikož se nejčastěji nacházejí v kožních rankách a oděrkách, či v infikovaných vřídkách. U jedince s oslabenou imunitou dokáže vyvolat různá onemocnění, způsobuje infekce kůže a měkkých tkání a pneumonie. Tato infekční onemocnění mohou vést k bakterémii a následně mohou vést v několika případech k metastatickým infekcím. *S. aureus* je nejčastěji pozorovaným patogenem u bakteriálních infekcí v krevním řečišti. Je také velmi odolný proti chladu, a jeho toxiny jsou odolné i teplotám nad 100 °C. Často tak zvládne i tepelné zpracování potravin. Tyto bakterie se mohou vyskytovat v sýrech, ve zmrzlině, v mase, rybích výrobcích, žloutkových krémech apod. [40, 41, 42].

Escherichia coli je gramnegativní fakultativně anaerobní bakterií, která může, ale nemusí u jedince způsobit onemocnění. Běžně se vyskytuje v trávicím traktu lidí i zvířat a má důležitou roli v produkci některých vitaminů ze skupiny B a vitaminu K. Teplotní optimum je pro tuto bakterii 37 °C a relativně dlouho přetrvává ve vlhkém prostředí. Vynikají rychlým růstem a množením a jsou vysoce rezistentní k benzylpenicilinům. Spolu s dalšími koliformními bakteriemi slouží jako indikátor znečištění vody a potravin. Také se využívá při detekci kancerogenních a mutagenních účinků. Některé z kmenů této bakterie jsou patogenními a produkují toxiny, které způsobují průjem a infekce močových cest [43, 44].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

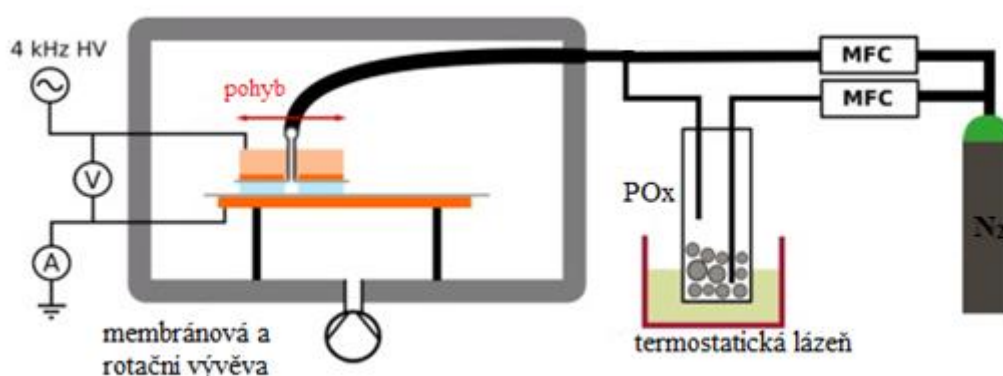
V experimentální části byly připraveny polymerní vrstvy z monomeru 2-ethyl-2-oxazolinu na skleněný substrát pomocí plazmové polymerace. Plazma bylo generováno pomocí dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku. Vrstvy byly připraveny při teplotách 20, 60, 90, 120 a 150 °C a průtocích 60, 100, 140, 200 a 400 sccm.

4.1 Depozice vrstev

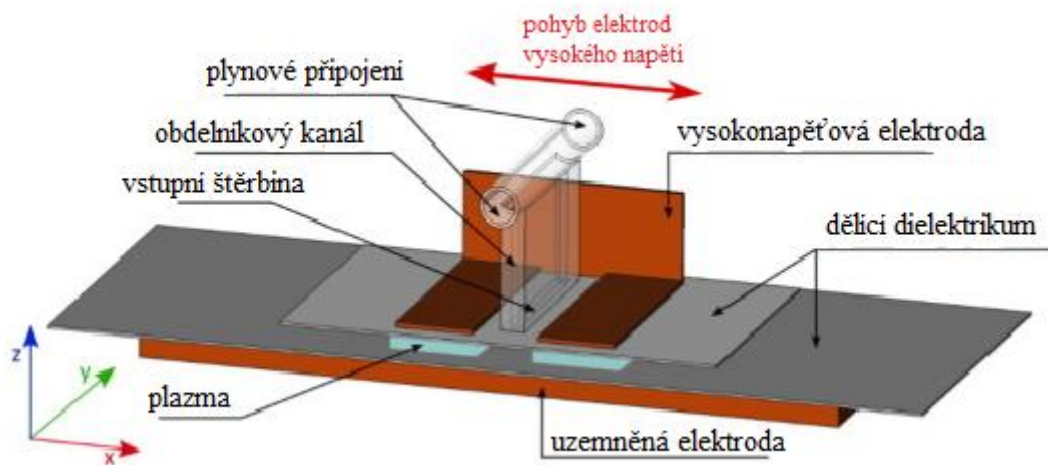
Vrstvy jsem připravila osobně na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity, na Ústavu fyzikální elektroniky, pod vedením doc. RNDr. Antonína Brablece, CSc. a doc. Mgr. Pavla Sťahela, Ph.D.

4.1.1 Aparatura

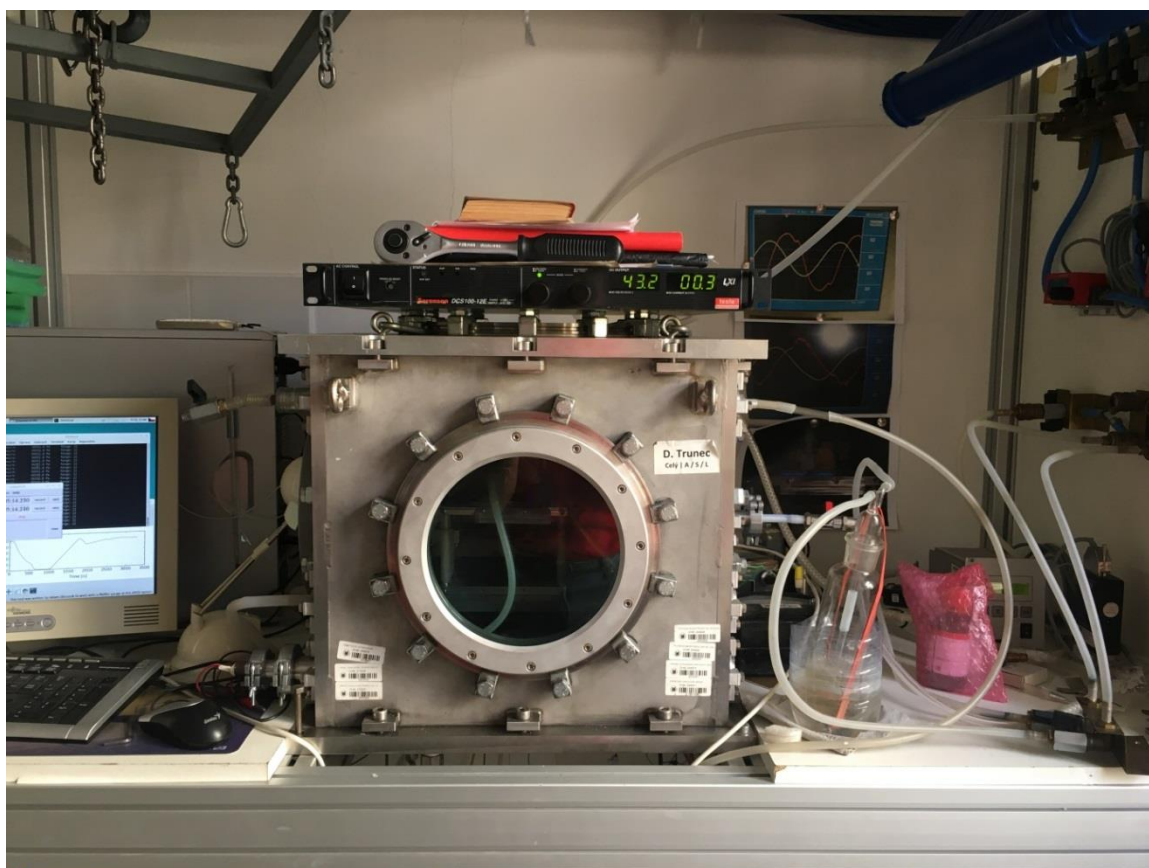
Vrstvy z monomeru 2-ethyl-2-oxazolinu, 99% čistoty od firmy Aldrich, byly nanášeny na sodnovápenaté skleněné destičky o rozměrech 150x100 mm a tloušťce 1,1 mm. Skleněné substráty byly čištěny ve směsi cyklohexanu a isopropylalkoholu (1:1) a poté byly vloženy do reaktoru mezi elektrody. Kovový reaktor o rozměrech 500x500x500 mm, byl vyroben experimentálně, speciálně pro tuto plazmovou polymeraci. Schéma používané aparatury je zobrazeno na *Obrázek 17*. Dielektrický bariérový výboj byl generován v systému dvou rovinných kovových elektrod s dielektrikem. Spodní elektroda byla zahřívána topnou spirálou a horní byla pokryta sklem o tloušťce 1,5 mm. Štěrbina, kterou byl dodáván do výboje pracovní plyn spolu s monomerem, byla umístěna ve středu horní elektrody. Jako pracovní plyn byl využíván dusík o čistotě 4.9 a schéma elektrod pro depozici je zobrazeno na *Obrázek 18*. Na *Obrázek 19* je vyfocen reaktor, který byl využíván při experimentu a dielektrický bariérový výboj mezi elektrodami je zobrazen na *Obrázek 20*.



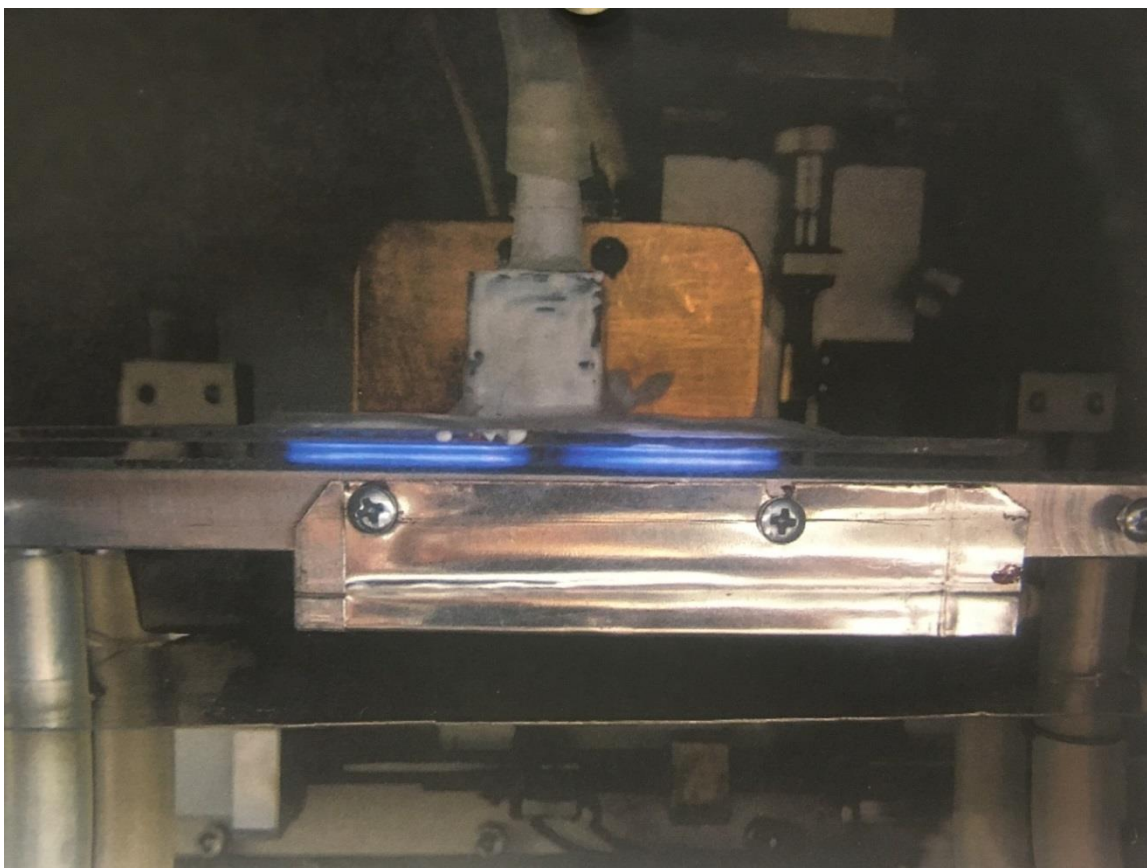
Obrázek 17: Schéma dodání plynu, elektrického připojení a čerpání v reaktoru dielektrického bariérového výboje. MFC (regulátor hmotnostního toku) [45].



Obrázek 18: Schéma elektrod pro depozici [45].



Obrázek 19: Reaktor využívaný pro plazmovou polymeraci.



Obrázek 20: Dielektrický bariérový výboj mezi rovinnými kovovými elektrodami.

4.1.2 Metodika experimentu

Do reaktoru byl vložen mezi dvě elektrody skleněný substrát. Pomocí membránové a rotační vývěvy byl vyčerpán vzduch z reaktoru. Byl spuštěn ohřev na různé teploty a to na 20, 60, 90, 120 a 150 °C. Poté byl reaktor napuštěn dusíkem. Po ustálení tlaku na 98 kPa byly nastaveny průtoky dusíku na 0,5 l/min a průtoky monomeru na 60, 100, 140, 200 a 400 l/min, ten byl do reaktoru přiváděn přes promývačku. Po spuštění posuvu elektrody, aby vznikla homogenní vrstva po celé ploše substrátu, byl zapnut zdroj pro DBD výboj a to vždy na dobu 23 minut. Pomocí ventilu a membránové vývěvy byl regulován tlak v reaktoru po celou dobu depozice. Poté byl vypnut zdroj výboje a ohřevu. A atmosféra v reaktoru byla vyčerpána zase pomocí membránové a rotační vývěvy. Substrát byl vyjmut z reaktoru.

Vyrobené polymerní vrstvy byly dále diagnostikovány. Na *Obrázek 21* je zobrazena vrstva, připravena při 150 °C a průtoku 100 sccm.



Obrázek 21: Skleněný substrát s vrstvou monomeru 2-ethyl-2-oxazolinu.

4.2 Stanovení cytokompatibility

Stanovení cytokompatibility bylo provedeno na Masarykově Univerzitě, Přírodovědecké fakultě. Na oddělení fyziologie a imunologie živočichů. Experiment jsem provedla osobně, pod vedením Mgr. Jiřiny Medalové, Ph.D.

4.2.1 Metodika experimentu

Kultivace krysích VSMC (vascular smooth muscle cells, izolované v laboratoři Biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AVČR, Praha pasáž 10-15) byla prováděna za konstantních inkubačních podmínek (HERAcell, Haereus, Thermo Fisher Scientific, 37 °C, vzduchová atmosféra s 5 % CO₂ a 95% vlhkost) v DMEM (Dulbeccovo modifikované Eagleovo médium) s přidavkem 20 % FBS (Fetální bovinní sérum), 1,2 mM L- glutaminu vše od Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) a 100 U mL⁻¹ Penicillin/ Streptomycin (HyClone, Thermo Fisher Scientific). Buňky v pasáži se kultivovaly ve standardních laboratorních miskách pro tkáňové kultury (TPP, USA). Během pasážování byl pro opláchnutí buněk použit fosfátový pufr (PBS; pH 7,4) a poté byly enzymaticky uvolněny z povrchu 1 × trypsin-EDTA (ethylene-diamine tetraacetic acid, Biotech, Onsala, Sweden). Pro proliferační experimenty byly buňky, v koncentraci 50 000 buněk na jamku, vysety do šesti jamek. Každá jamka obsahovala vždy dva kousky (cca 1×1 cm) stejně upravených substrátů - sklíček. Jedna jamka byla kontrolní, ve které byl substrát bez úpravy. Buňky byly kultivovány po dobu dvou dnů.

Pro vizuální kontrolu buněk během pasážování a výsevu byl použit inverzní mikroskop CKX 41. Pro nafocení výsledků byl použit inverzní mikroskop IX51 s kamerou Camedia (vše Olympus, Tokio, Japonsko).

4.3 Antibakteriální testy

Antibakteriální testy byly provedeny u *Staphylococcus epidermidis* (CCM 4418), dodaného Českou sbírkou mikroorganismů v Brně. Na komerčním médiu BHI (Brain Heart Infusion Broth, HiMedia, Mumbai, Indie) byla pěstována bakteriální kultura. A pro vizualizaci

biofilmů bylo použito barvivo Basic Red 2 (Safranin O, Sigma-Aldrich, Mnichov, Německo). Testy byly provedeny na Vysokém učení technickém, Fakultě chemické, na Ústavu chemie potravin a biotechnologií Ing. Petrou Matouškovou, Ph.D. Testy s bakteriemi *Staphylococcus aureus* (CCM 4516) a *Escherichia coli* (CCM 4517) byly provedeny Ing. Danielou Veselou a Ing. Hanou Pištěkovou na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně, Centrum polymerních systémů.

4.3.1 Metodika experimentu

Bakteriální kultura *Staphylococcus epidermidis* byla pěstována do infuzního média mozkového srdce (BHI) a teplota pro kultivaci mikroorganismů byla 37 °C. Po 24 hodinách inkubace, byl *S. epidermidis* zředěn novým sterilním médiem na 1×10^8 CFU na ml na základě zákalu (NanoPhotometer™ P300, Implen, Mnichov, Německo). Poté byla ke každému vzorku přidána suspenze *S. epidermidis* (500 µl). Bakterie na povrchu vzorků byly inkubovány po dobu 24 hodin, aby se umožnila tvorba biofilmů. Po inkubaci byly všechny vzorky dvakrát promyty vodou Milli-Q, aby se odstranil jakýkoli volně vázaný biofilm. Pro vizualizaci biofilmů bylo použito 200 µl barviva Basic Red 2. Přebytek barvením Basic Red 2 byl poté odplaven a výsledky byly vyhodnoceny pomocí optické mikroskopie (optický mikroskop Intraco Micro LM 666 PC / ∞ se softwarem Dino-Capture 2.0, Tachlovice, Česká republika). Vzorky byly zobrazeny nejméně 15krát v náhodných bodech a plocha pokrytá bakteriemi byla kvantifikována pomocí obrázků. Počet životaschopných bakterií byl stanoven metodou kultivace pour plate (PCA, HiMedia laboratoře, Indie).

Další antibakteriální testy byly provedeny s bakteriemi *Staphylococcus aureus* (CCM 4516) o koncentraci inokula $1,7 \cdot 10^5$ CFU/ml a *Escherichia coli* (CCM 4517) o koncentraci inokula $2,4 \cdot 10^6$ CFU/ml. Testy byly provedeny podle postupu ISO 22196 s modifikacemi. Před testováním byly vzorky dezinfikovány UV zářením po dobu 30 minut po obou stranách (kvůli možnému poškození vzorků nebyla možná sterilizace v autoklávu ani dezinfekce etanolem), krycí fólie z polypropylenu o rozměrech 25 x 25 mm byla vydezinfikována 70% etanolem. Na sterilní Petriho misku byla umístěna krycí fólie, na ni byla pipetou nanášena bakteriální suspenze (25 µl na jeden vzorek) a na ni byl opatrně položen vzorek aktivní stranou dolů tak, aby suspenze nevytekla a byla rozprostřena po celé zkoumané ploše. Takto byly umístěny na jednu krycí fólii čtyři vzorky, aby se minimalizovaly ztráty při manipulaci a zvýšila přesnost testu. Poté byly vzorky v uzavřených Petriho miskách vloženy do inkubátoru o teplotě 35 °C a relat. vlhkosti 95 % na dobu 24 hodin.

Po inkubaci byly vzorky včetně krycí fólie sterilně přeneseny do sterilních uzavíratelných PP zkumavek (čtyři stejné/paralelní vzorky do jedné zkumavky). Do zkumavek bylo přidáno neutralizační médium (SCDLP) o objemu 2,5 ml a dalšími 2,5 ml tohoto média byla kvantitativně opláchnuta Petriho miska. Zkumavky se vzorky byly poté intenzivně promíchány s neutralizačním médiem na vortexu po dobu 20 s. Následně byla metodou postupného ředění, zalévání do agaru (PCA) a inkubaci (při 35 °C po dobu 24 hodin) stanovena koncentrace životaschopných bakterií (CFU/cm²).

4.4 FT-IR

Pomocí spektrometru FT-IR Alpha (Bruker, Billerica, MA, USA) byla měřena infračervená spektra připravených vrstev, s použitím odrazového modulu ATR Platinum. Spektra byla stanovena Mgr. Ing. Lubomírem Prokešem, Ph.D. na Masarykově univerzitě, na Přírodovědecké fakultě, Ústavu fyzikální elektroniky.

4.5 Kontaktní úhel

Na povrch oxazolinových vrstev bylo nanášeno vždy několik kapek pomocí pipety, tří různých kapalin. Pomocí náhledu na monitoru počítače byla kapka nanášena do středu zorného pole kamery, pomocí posuvů se dala pozice kapky měnit. Dále bylo upraveno osvětlení kapky na vzorku, aby bylo co nejlépe vidět fázové rozhraní mezi kapalinou a pevnou látkou (substrátem). Pomocí programu See System 7.6 byla kapka vyfocena a byl vyhodnocen kontaktní úhel a volná povrchová energie. Pro každou kapalinu a substrát se vzorkem bylo uděláno několik snímků. Měřeními kapalinami byla voda, ethylenglykol a diiodmethan. Experiment jsem provedla osobně, pod vedením doc. Mgr. Pavla Štáhela, Ph.D. na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity, na Ústavu fyzikální elektroniky.

4.6 Charakteristika mechanických vlastností

Tvrdość (H) a efektivní elastický modul (E_{eff}) filmů POx byly hodnoceny nanoindentačním testerem Hysitron TI 950 TriboIndenter (Bruker, Minneapolis, MN, USA) s rozlišením zátěže 1 nN, který měří složité a nepravidelné biomateriály a poskytuje různé mechanické parametry relevantní pro mechanické fenotypování. Pro výpočet výše uvedených parametrů byla použita standardní Oliverova a Pharrova metoda. Pro spolehlivou charakterizaci mechanických vlastností filmů POx bylo použito několik odsazovacích režimů, včetně základních kvazistatických odsazovacích testů s funkcí lichoběžníkového zatížení (5 s zatížení, 2 s creep, 5 s vykládka) a kvazistatických nanoindentačních testů s 33 částečnými vykládacími segmenty. Mechanické vlastnosti byly stanoveny doc. RNDr. Vilmou Buršíkovou, Ph.D. z Masarykovy univerzity, Přírodovědecké fakulty, z Ústavu fyzikální elektroniky.

4.7 XPS

Měření XPS byla provedena na ESCALAB 250Xi (Thermo Fisher Scientific, East Grinstead, Velká Británie). Byl použit rentgenový paprsek s výkonem 200 W (velikost bodu 650 mikronů). Průzkumná spektra byla získána s průchodnou energií 50 eV a energetickým krokem, 1 eV. Skeny s vysokým rozlišením byly získány při průchodu energií 20 eV a energetickém kroku 0,1 eV. Za účelem kompenzace nábojů na povrchu, byl použit elektronový záplavový kanón. Spektra byla vztažena na uhlovodíkový typ C1 s komponenty nastavenými na vazebnou energii 284,8 eV. Pomocí softwaru Advantage byly provedeny kalibrace spekter a zpracování. Měření XPS bylo provedeno RNDr. Monikou Stupavskou, Ph.D. z Masarykovy univerzity, Přírodovědecké fakulty, z Ústavu fyzikální elektroniky.

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Stanovení cytokompatibility

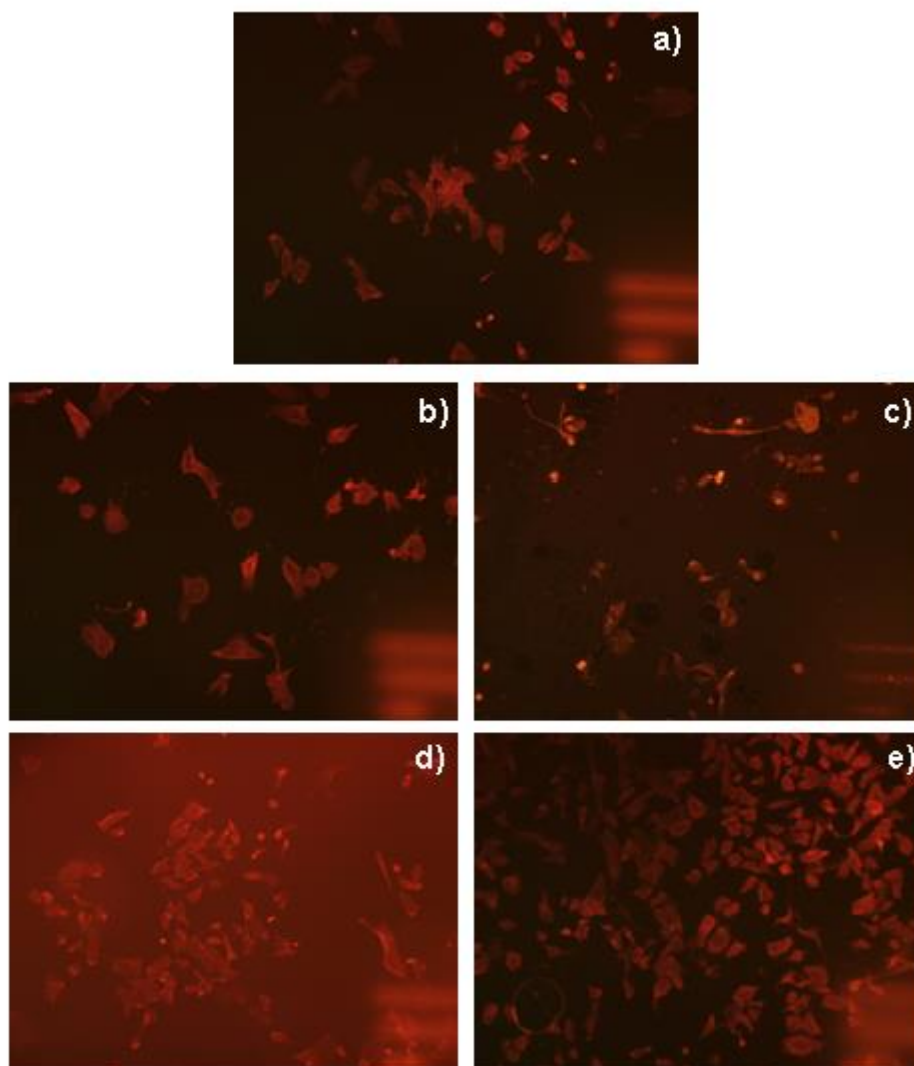
Test cytokompatibility in vitro byl proveden na krysích vaskulárních buňkách hladkého svalstva na sadě substrátů sestávající z teplotní řady (20, 60, 90, 120, 150 °C). Po dvoudenní kultivaci byly vzorky pozorovány a vyfoceny pod inverzním mikroskopem a můžeme získané (třikrát opakované výsledky) shrnout tak, že žádná z modifikací substrátu nepodporoval růst buněk. To lze vidět na (*Obrázek 22 a*), kde je uveden jeden ze substrátů, který byl připraven při teplotě 60 °C a koncentraci monomeru 100 scm, kde není ani jedna buňka. Na kontrolním čistém skleněném substrátu bez oxazolinové vrstvy (*b*) vidíme, že na něm buňky rostou, i když ve výrazně nižší denzitě než v okolí substrátů, tj. na misce s optimálním povrchem (*c*). Původní záměr byl kvantifikovat množství buněk rostoucích na substrátu pomocí stanovení relativního množství ATP, nicméně vzhledem k absenci buněk bylo od tohoto úmyslu upuštěno.



Obrázek 22: (a) substrát s vrstvou, která byla připravena při 60 °C a 100 sccm; (b) kontrolní substrát bez vrstvy; (c) kontrolní vzorek v okolí substrátu.

Výsledky jsou neočekávané a ojedinělé, neboť na základě literatury byl předpokládán úspěšný růst alespoň na některých substrátech.

Pro srovnání jsou na *Obrázek 23* uvedeny snímky vrstev deponovaných z monomeru 2-methyl-2-oxazolinu při různých teplotách substrátu (60, 90, 120 a 150 °C) s VSMC buňkami barvenými phalloidinem a DRAQ 5. Ze snímků lze vidět, že se zvyšující se teplotou substrátu roste životaschopnost buněk na polyoxazolinové vrstvě. A lze také říci, že teplota depozice výrazně ovlivňuje buněčnou adhezi k povrchu. Snímky byly pořízeny konfokálním mikroskopem.

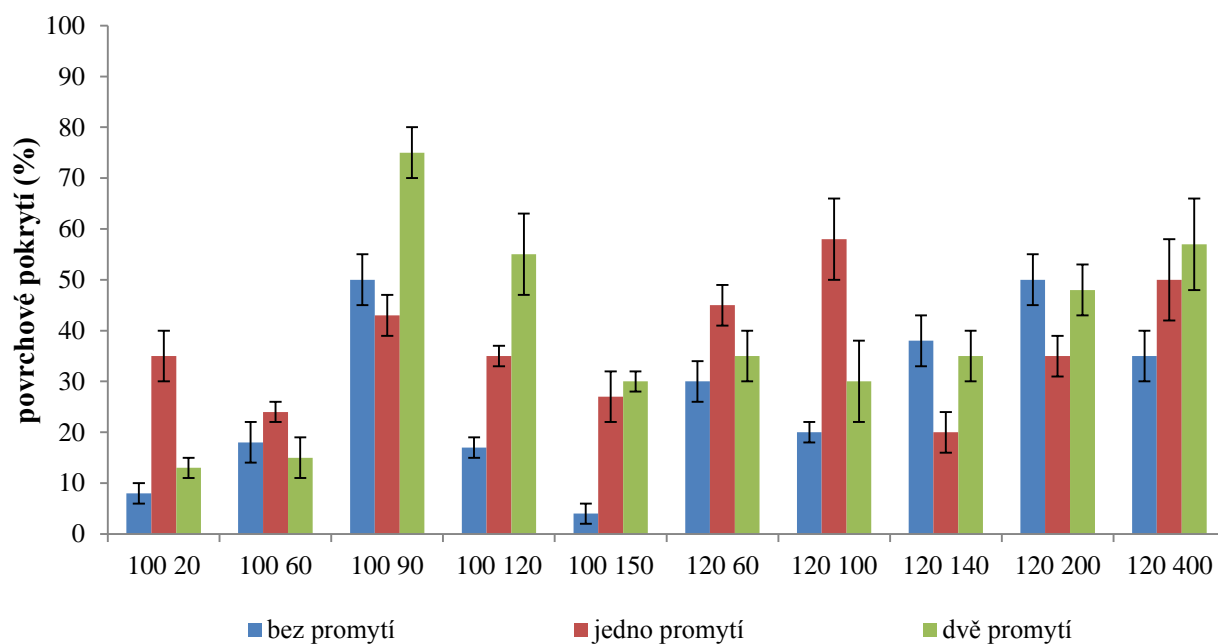


Obrázek 23: Snímky vrstev deponovaných při různých teplotách substrátu s VSMC buňkami barvenými phalloidinem a DRAQ 5 (a) substrát; (b) 60 °C; (c) 90 °C; (d) 120 °C; (e) 150 °C

5.2 Antibakteriální testy

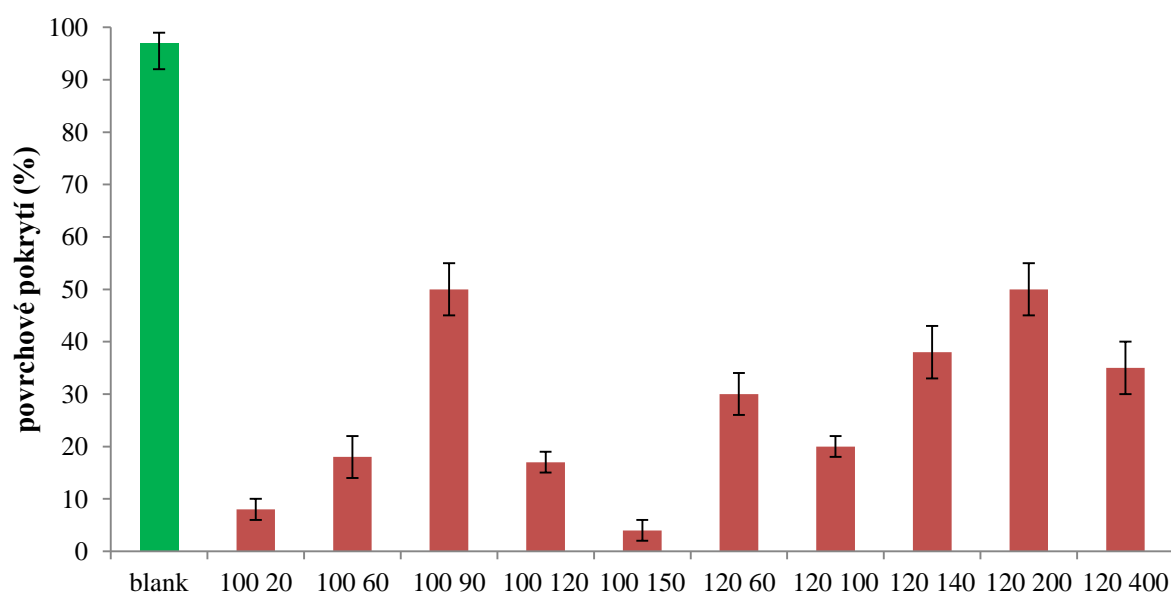
Za použití *Staphylococcus epidermidis* byl proveden antibakteriální test. Experiment byl opakován dvakrát pomocí dvou identických řad. Na Obrázek 26 lze pozorovat rozdíly mezi nepotaženým referenčním vzorkem a potaženým vzorkem. Právě na těchto vzorcích s vrstvou 2-ethyl-2-oxazolin nebyly bakterie schopny vytvořit biofilm. Zatímco u neupraveného vzorku bakterie biofilm vytvořily.

Před inkubací a přidáním mikroorganismů, byly vzorky promyty jednou nebo dvakrát sterilní vodou Milli-Q, aby byla otestována stabilita vrstev. Výsledky jsou uvedeny na Obrázek 24.

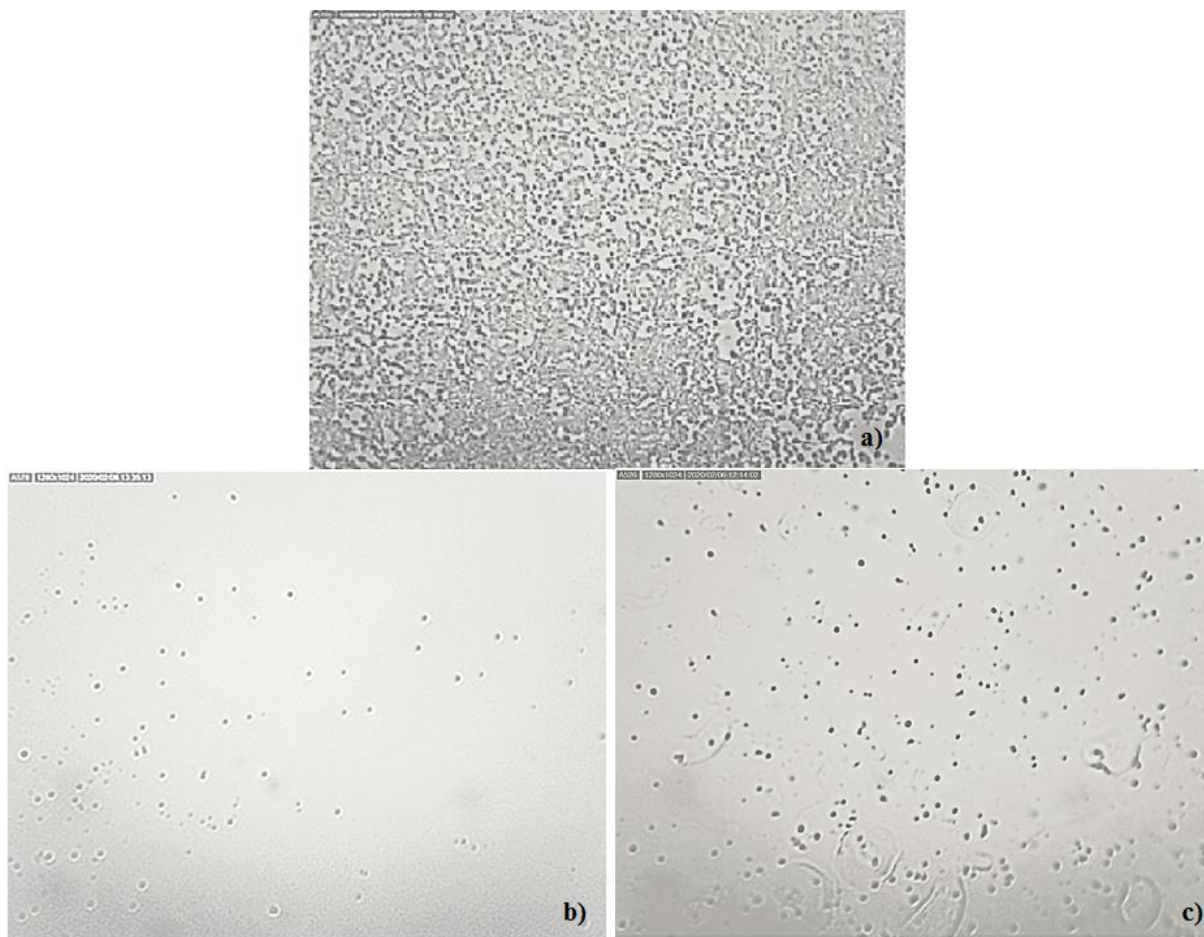


Obrázek 24: Plocha povrchového pokrytí biofilmu (*S. epidermidis*) s a bez promytí před kultivací.

Z grafu lze vidět, že po promytí vodou ztrácejí připravené biofilmy antibakteriální vlastnosti. Na Obrázek 25 je zobrazen celkový biofilm vytvořený na vzorcích v procentech. Nejlepší vrstva, která je nejvíce odolná proti bakteriím *S. epidermidis*, byla vyrobena při teplotě 150 °C a průtoku 100 scm.



Obrázek 25: Plocha povrchového pokrytí biofilmu (*S. epidermidis*) představující celkový biofilm vytvořený na vzorcích.



Obrázek 26: Snímky filmů uložených na substrátu s bakteriemi *S. epidermidis* (a) substrát bez vrstvy [7]; (b) 20 °C; (c) 60 sccm.

Na Obrázek 26 lze vidět snímky substrátu a vzorků, které jsou pokryty biofilmem *S. epidermidis*. Na snímku (a) je čistý substrát, na snímku (b) je vrstva připravená při 20 °C a na snímku (c) je vrstva připravená při průtoku monomeru 60 sccm.

Výsledky počtu životaschopných bakterií vyjádřených jako počet kolonietvorných jednotek N (CFU/cm²) a hodnot antibakteriální aktivity (R) proti růstu *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* jsou uvedeny v Tabulka 2. Výpočet těchto hodnot byl proveden dle normy ISO 22196:2011 s modifikací, kdy velikost vzorků byla velmi malá (ČSN ISO 22196 doporučuje nejmenší velikost vzorků 25 x 25 mm), což značně komplikovalo práci (musel být zvolen postup, aby byl test vůbec proveditelný). Všechny objemy použitých médií byly úměrně přizpůsobeny velikosti plochy vzorku. Bakteriální suspenzi nebylo možno kvůli malým rozměrům a množstvím neutralizačního roztoku splachovat, jak je uvedeno v ISO 22196, proto byly vzorky vytřepávány na vortexu. Na vytřepávání se použilo dvojnásobné množství splachovacího roztoku SCDLP, než uvádí ISO 22196, protože v menším množství by to nebylo proveditelné

Tabulka 2: Výsledky antibakteriální aktivity

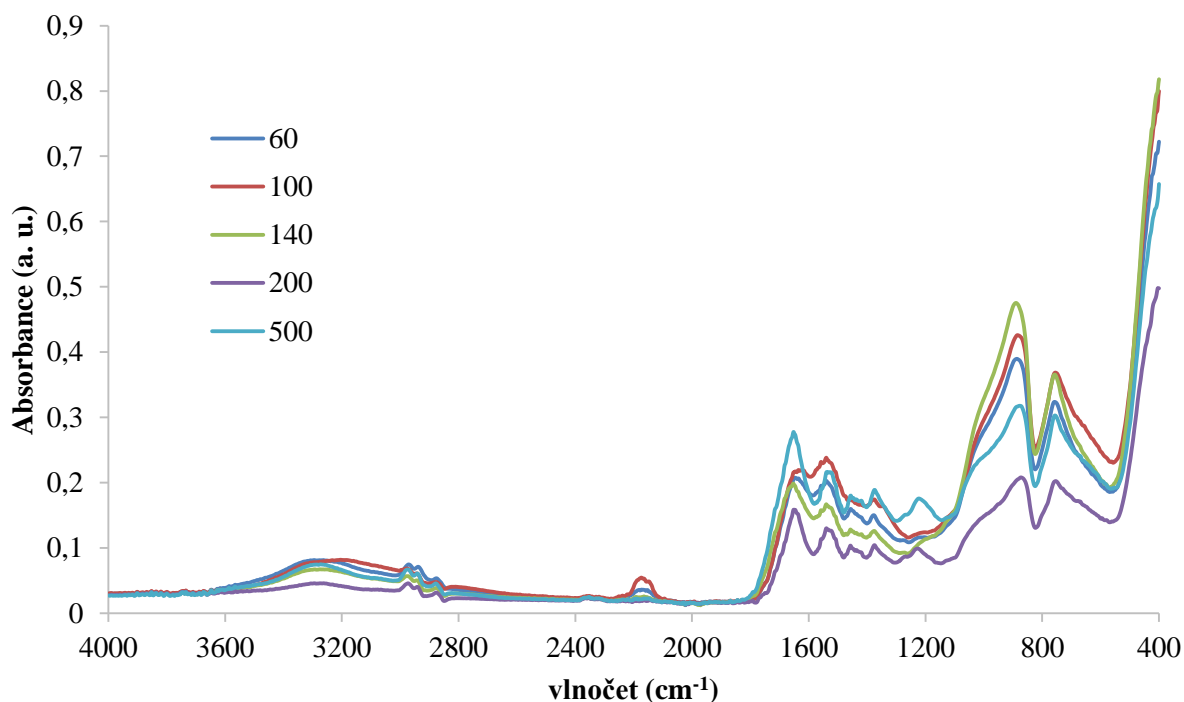
Označení vzorku	<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516		<i>Escherichia coli</i> CCM 4517	
	N (CFU/cm ²)	R = U _t - A _t	N (CFU/cm ²)	R = U _t - A _t
Blank	3,6.10 ⁴	U _t = 4,6	4,4.10 ⁴	U _t = 4,6
20 °	< 1	≥ 4,6	< 1	≥ 4,6
60 °	< 1	≥ 4,6	< 1	≥ 4,6
90 °	< 1	≥ 4,6	< 1	≥ 4,6
120 °	< 1	≥ 4,6	5,1.10 ³	0,9
150 °	< 1	≥ 4,6	1,1.10 ³	1,6
60 ccm	< 1	≥ 4,6	< 1	≥ 4,6
100 ccm	< 1	≥ 4,6	< 1	≥ 4,6
200 ccm	< 1	≥ 4,6	< 1	≥ 4,6
500 ccm	1,7.10 ⁰	4,3	3,3.10 ⁰	4,1
140 ccm	1,7.10 ⁰	4,3	2,4.10 ³	1,3

Všechny testované vzorky vykázaly silnou antibakteriální účinnost vůči Gram pozitivním bakteriím *Staphylococcus aureus*. Antibakteriální účinek vůči Gram negativním *Escherichia coli* se projevil u vzorků s označením 20, 60, 90 °C a 60, 100, 200 a 500 sccm, zatímco vzorky s označením 120, 150 °C a 140 sccm působily vůči těmto bakteriím pouze slabě.

Všechny výsledky mohou však být zatíženy velkou chybou kvůli velmi malým rozměrům dodaných vzorků. Navíc byly strany vzorků ořezány natolik křivě, že nebylo možné spočítat přesnou plochu vzorků. Výsledky testu mohly být rovněž ovlivněny částečným rozpuštěním popisků v neutralizačním médiu po vortexování inkubovaných vzorků, kdy došlo k viditelnému zabarvení neutralizačního média. Vzhledem k tomu, že chyba u metod pro stanovení počtu bakterií je ±0,5 logaritického řádu, můžeme považovat antibakteriální činidlo za efektivní.

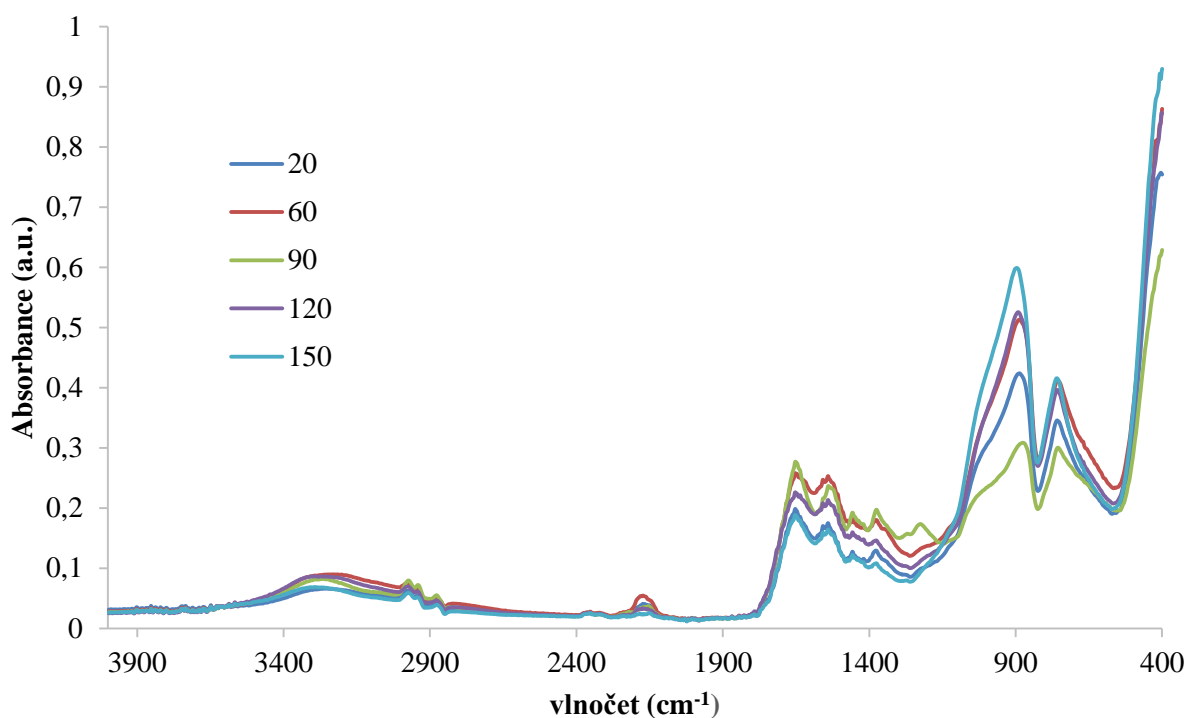
5.3 FT-IR analýza

FTIR spektra nanesených 2-ethyl-2-oxazolinových vrstev průtokové řady jsou zobrazeny na *Obrázek 27* a na **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** *Obrázek 28* jsou zobrazeny spektra teplotní řady.



Obrázek 27: FTIR spektra koncentrační řady.

Absorpční pás v rozmezí 3000-3600 cm⁻¹ je složen z několika vrcholů skupin OH, NH a NH₂. Pás při 2975 cm⁻¹ a 1450 cm⁻¹ jsou charakteristické pro CH₂ skupiny. Pás 2945 cm⁻¹ je zase charakteristický pro skupiny CH₃CH₂. Při 2170 cm⁻¹ může být pás přiřazen alkynu C≡C nebo isokyanátu O=C=N nebo nitrilu C≡N. Tyto vazby se při klasické polymeraci oxazolinů se nevyskytují, a tak lze říct, že mohou vznikat při rekombinaci a fragmentaci oxazolinového monomeru během plazmové polymerizace. Pás 1720 cm⁻¹ naznačuje skupinu C=O karboxylové kyseliny/esteru, může být ale také zaměněn s amidovým píkem, ze spekter to není jasně viditelné. Intenzity spekter nebyly příliš velké a nejspíše z důvodu nehomogenity vrstvy a její nesterjnoměrné tloušťky. Počet měření závisel na velikosti vzorku a opakované měření bylo provedeno na různých místech téhož vzorku. Spektra jsou obdobná pro obě řady, jak teplotní, tak i průtokovou.



Obrázek 28: FTIR spektra teplotní řady.

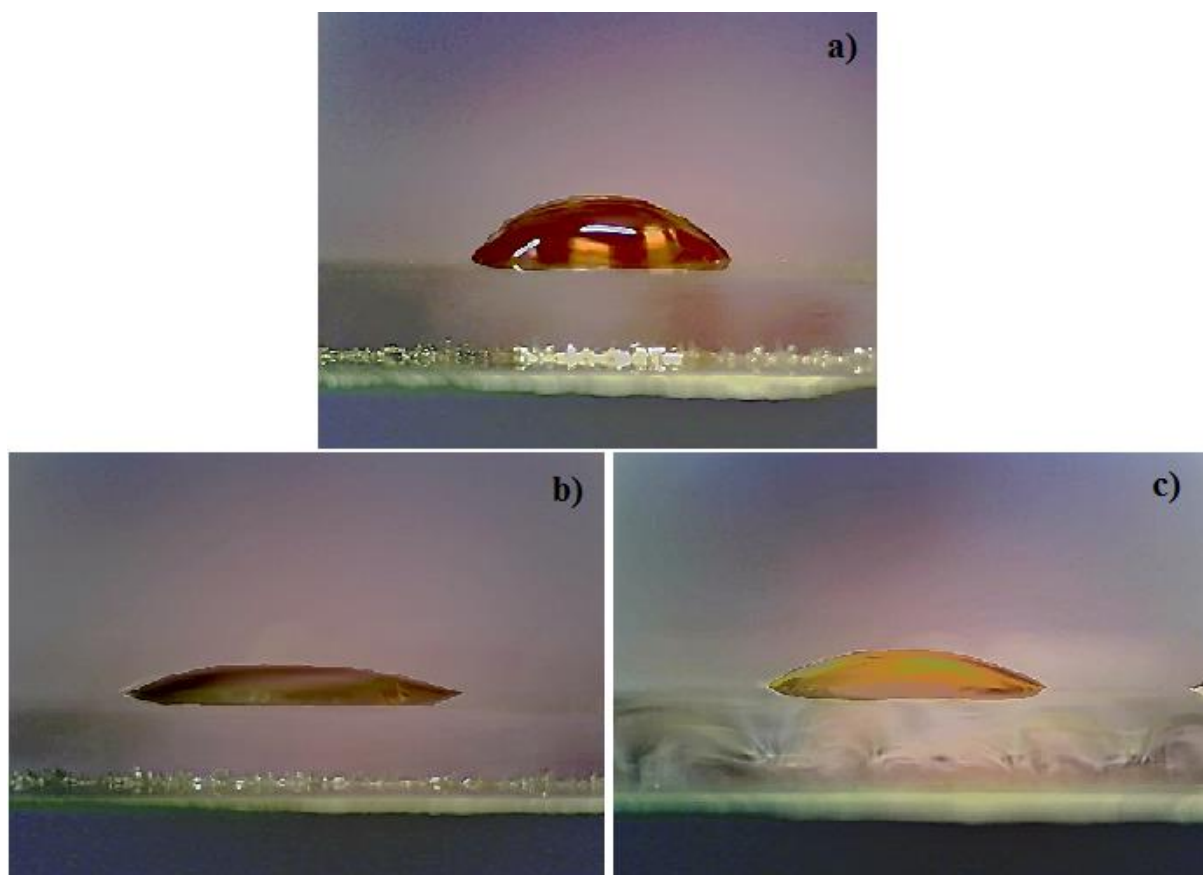
5.4 Kontaktní úhel

Mezi třemi kapalinami a vrstvou oxazolinu na substrátech byl měřen kontaktní úhel, za účelem stanovení volné povrchové energie. Testovanými kapalinami byly voda, ethylenglykol a diiodmethan. Teorie kyselina-báze s vícenásobnou regresí byla použita pro výpočet celkové volné povrchové energie a jejich složek, kterými byly Lifshitz-van der Waals (LW) a kyselina báze (AB). V *Tabulka 3* jsou uvedeny hodnoty pro kontaktní úhly průtoků i teplot substrátů, spolu s hodnotami volné povrchové energie.

Tabulka 3: Kontaktní úhly pro různé kapaliny a volná povrchová energie.

vzorek	kontaktní úhel (°)			volná povrchová energie (mJ/m ²)
	voda	ethylenglykol	CH ₂ I ₂	celkem
substrát	37,4 ± 1,8	32,5 ± 1,4	47,3 ± 2,8	39,1 ± 8,0
20 °C	26,8 ± 3,0	21,4 ± 3,3	40,9 ± 2,8	43,7 ± 9,0
60 °C	8,7 ± 2,3	8,7 ± 2,5	44,9 ± 3,0	37,7 ± 4,0
90 °C	24,1 ± 3,0	14,7 ± 2,9	37,8 ± 2,0	44,2 ± 7,0
120 °C	49,0 ± 2,3	30,5 ± 3,0	38,3 ± 1,6	40,7 ± 4,0
150 °C	32,1 ± 3,0	22,5 ± 3,0	55,9 ± 3,0	39,3 ± 4,0
60 sccm	52,6 ± 2,6	28,1 ± 1,5	39,0 ± 0,9	43,4 ± 2,7
100 sccm	49,0 ± 2,3	30,5 ± 3,0	38,3 ± 1,6	40,7 ± 4,0
140 sccm	37,4 ± 3,0	23,4 ± 2,8	41,3 ± 3,0	39,0 ± 5,0
200 sccm	50,8 ± 3,0	24,0 ± 3,0	37,2 ± 2,5	44,9 ± 4,0
400 sccm	46,5 ± 2,6	27,9 ± 2,0	41,2 ± 2,5	40,7 ± 3,0

Povrchová energie vzorků se pohybovala v rozmezí 38,97 až 44,86 mJ/m². Všechny vrstvy jsou hydrofilní. Na *Obrázek 29* jsou zobrazeny snímky z měření kontaktního úhlu vrstvy připravené při teplotě 150 °C a průtoku 100 sccm.



Obrázek 29: Snímky kapek z měření kontaktního úhlu vrstvy připravené při 150 °C a 100 sccm s (a) diiodmethanem; (b) ethylenglykolem a (c) vodou.

5.5 Charakteristika mechanických vlastností

Hodnoty tloušťky, tvrdosti a efektivního elastického modulu vrstev oxazolinů jsou uvedeny v *Tabulka 4*. Tloušťka vrstev připravených při teplotách 20, 60 a 120 °C a koncentraci monomeru 100 sccm klesala, zatímco tvrdost rostla. U vrstev připravených s různým průtokem monomerů 60, 200 a 500 sccm a teplotě 120 °C tloušťka roste, tvrdost je zde konstantní. Modul pružnosti u teplotní řady roste, u koncentrační řady je pro průtok monomeru 60 a 200 sccm stejný.

Tabulka 4: Tloušťka, tvrdost a efektivní elastický modul nanesených POx vrstev při různých teplotách a průtocích.

vzorek	tloušťka [μm]	tvrdost [GPa]	E_{eff} [GPa]
60 sccm	1,29	0,65 \pm 0,05	15 \pm 1
200 sccm	1,52	0,70 \pm 0,10	15 \pm 1
500 sccm	1,91	0,60 \pm 0,07	11 \pm 1
20 °C	1,34	0,3 – 0,9	10 - 15
60 °C	0,61	0,60 \pm 0,20	20 \pm 5
120 °C	0,36	1,00 \pm 0,05	22 \pm 1

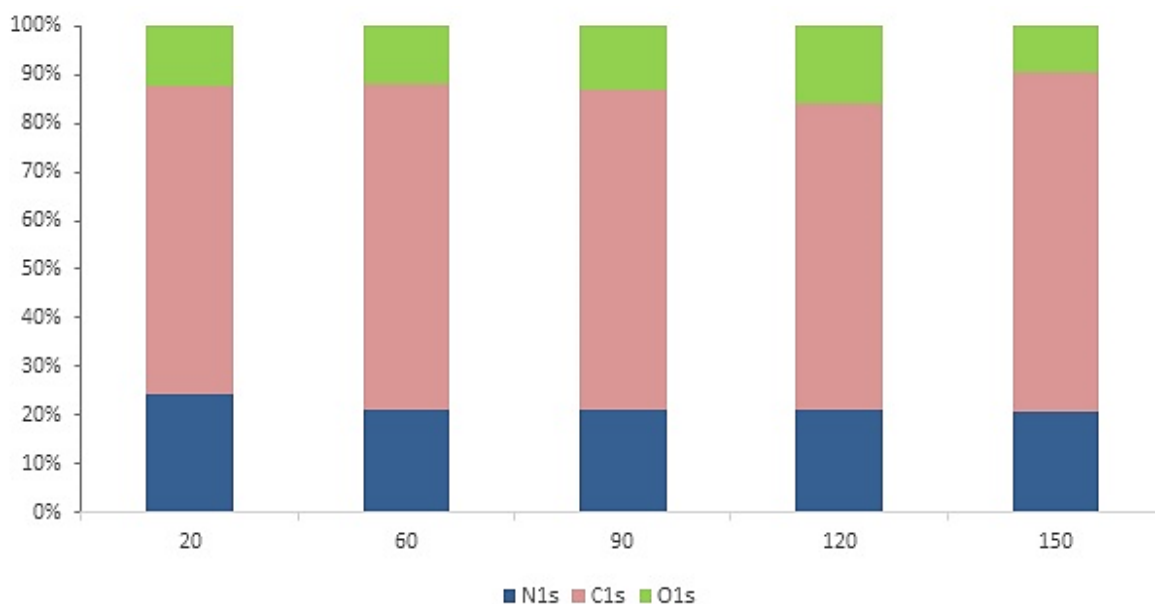
5.6 XPS

XPS analýza byla využita ke stanovení chemie oxazolinových vrstev. V Tabulka 5 jsou uvedeny hodnoty pro atomové složení připravených vrstev a dále jsou zde vyhodnoceny poměry kyslíku k uhlíku (O/C) a poměry dusíku k uhlíku (N/C).

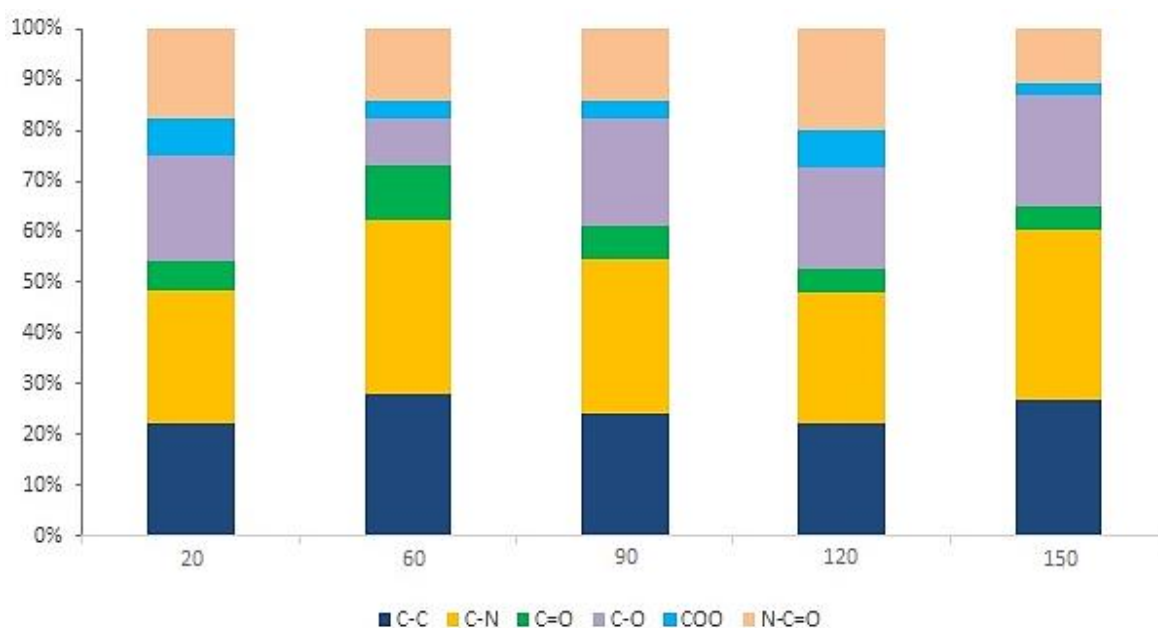
Tabulka 5: Atomové složení (at%) a koncentrace (%) chemických vazeb pro různé teploty substrátů a průtoky monomeru

vzorek		N1s	C1s	O1s	O/C	N/C	C-C	C-N	C=O	C-O	COO	N-C=O
teplota (°C)	20	24,2	63,4	12,4	0.195	0.382	22,4	26,2	5,7	20,7	7,2	17,8
	60	21,2	67,0	11,8	0.176	0.316	28,0	34,5	10,6	9,2	3,5	14,4
	90	21,0	65,9	13,2	0.200	0.318	24,2	30,4	6,4	21,3	3,5	14,2
	120	21,1	63,1	15,8	0.250	0.335	22,1	26,1	4,4	20,3	7,3	19,9
	150	20,9	69,5	9,6	0.138	0.301	26,7	33,7	4,7	22,0	2,0	10,9
koncentrace (sccm)	60	28,4	62,9	8,7	0.319	0.451	24,0	29,6	4,8	21,2	2,4	18,0
	100	23,8	61,8	14,5	0.234	0.385	22,2	26,2	4,1	23,9	4,8	18,9
	140	15,2	68,5	16,3	0.238	0.221	25,6	33,9	5,5	14,5	8,4	12,2
	200	35,5	55,7	8,8	0.158	0.638	17,9	22,9	10,9	18,2	6,4	23,8
	500	18,3	68,1	13,6	0.199	0.263	26,5	34,2	4,3	18,3	4,1	12,6

Celkové poměry (O/C) a (N/C) měřené pro filmy na bázi POx se významně neměnily se zvyšující se teplotou. Mírné zvýšení poměru (O/C) lze nalézt pro 120 °C, kde se koncentrace kyslíku snížila na rozdíl od koncentrace uhlíku, která měla rostoucí tendenci. V případě poměru (N/C), vyšší teplota podporuje mírný růst, který není statisticky významný. Obrázek 30 zobrazuje vliv teploty substrátu na atomové složení vrstvy. Obecně má teplota substrátu pouze mírný vliv na atomové složení.

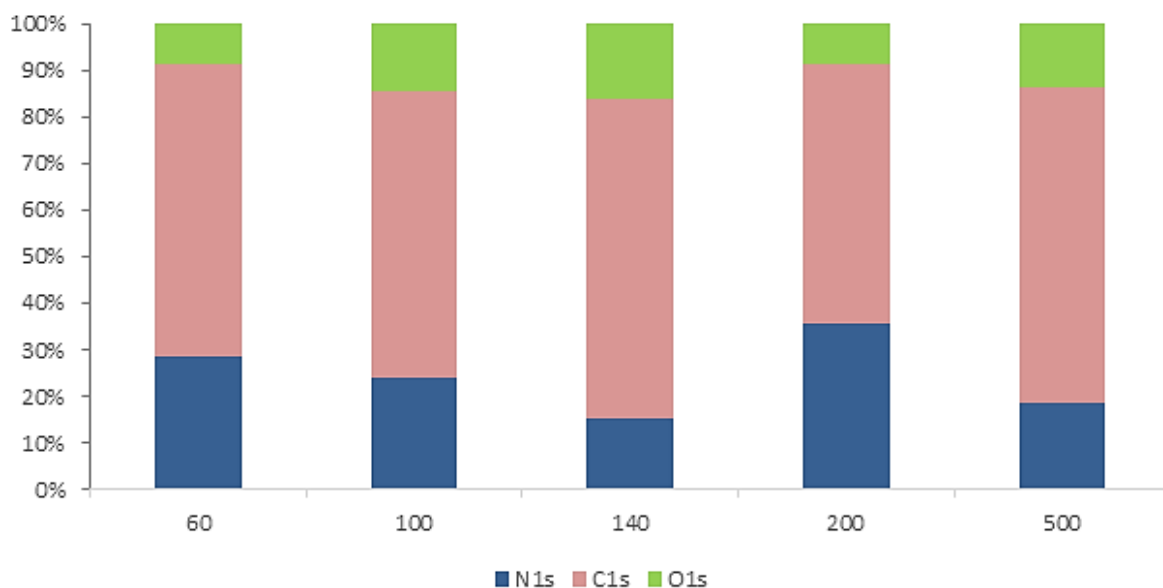


Obrázek 30: Atomové složení (at%) vrstvy pro různé teploty.

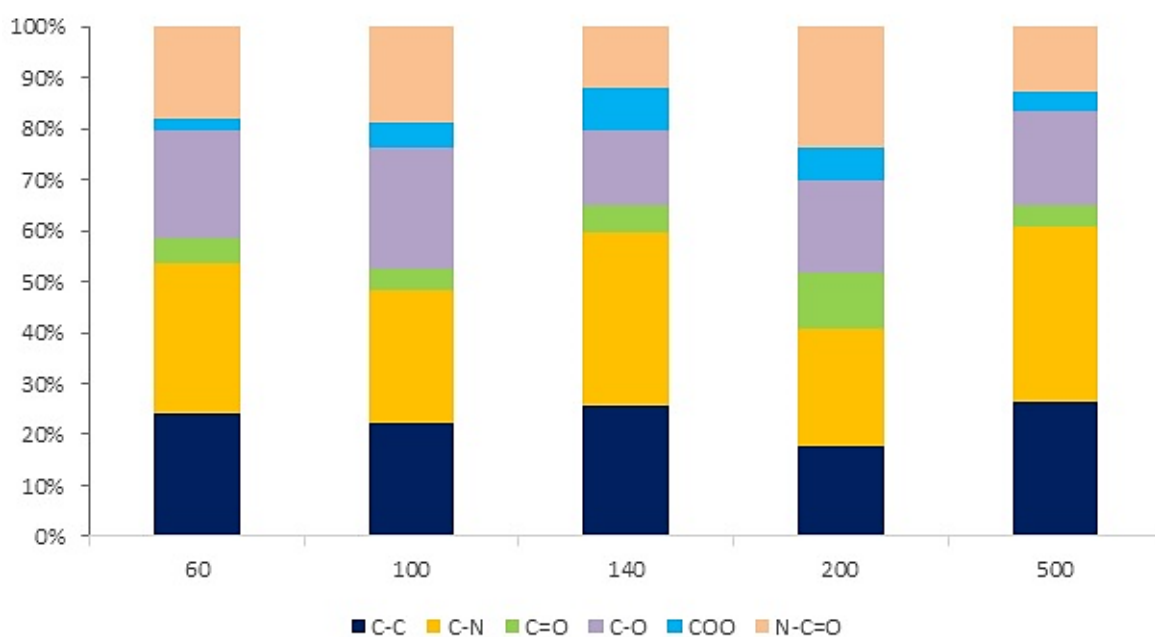


Obrázek 31: Koncentrace (%) chemických vazeb pro různé teploty.

Vliv koncentrace monomeru na chemii modifikovaných povrchů je znázorněn na *Obrázek 32*. Obecně jsme sledovali snižování koncentrace N a zvyšování koncentrace O na povrchu. Koncentrace monomeru má nicméně malý vliv na složení povrchu, protože pozorované koncentrace se nepatrně zvyšovaly, s výjimkou 200 scm. V tomto případě dochází k prudkému zvýšení koncentrace N a ke snížení koncentrace C a O, což mělo za následek téměř dvojnásobné zvýšení poměru (N/C).



Obrázek 32: Atomové složení (at%) vrstev pro různé průtoky monomeru.



Obrázek 33: Koncentrace (%) chemických vazeb pro různé průtoky monomeru.

Podrobná analýza vrcholů C1 s vysokým rozlišením poskytla další informace o změnách chemie na povrchu, během procesu usazování filmu. Vrchol C1 z referenčního filmu na bázi POx byl rozpuštěn do šesti složek odpovídajících vazbám C-C/C-H (284,7 eV), C≡N (285,4 eV), C=O (286,3 eV), N-C=O (287,7 eV), C=O (289,0 eV) a COO (291,0 eV). Ani teplota substrátu, ani koncentrace monomeru neprokázala žádný trend koncentrace chemických vazeb. Hodnocení chemických vazeb odhalilo pouze zanedbatelnou závislost nanesených filmů na zvyšující se teplotě substrátu, která je v dobré shodě s atomovým složením. Jak je znázorněno na Obrázek 31 a Obrázek 33.

6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo připravit vrstvy z monomeru 2-ethyl-2-oxazolinu pomocí plazmové polymerace. Ta probíhala v dielektrickém bariérovém výboji za atmosférického tlaku v dusíkové atmosféře. Vrstvy byly připraveny při různých experimentálních podmínkách, kterými byly různé průtoky monomeru (60, 100, 140, 200, 400 sccm) a různé teploty (20, 60, 90, 120, 150 °C).

V teoretické části byly popsány aplikace oxazolinů a jejich výroba, princip plazmové polymerace. Také byl charakterizován dielektrický bariérový výboj a plazma. V další části byly popsány diagnostické metody, využívané v této diplomové práci.

V experimentální části byla stanovena cytokompatibilita spolu s antibakteriálními testy. Byly provedeny měření na mechanické vlastnosti vrstev, kterými byly tvrdost a efektivní elastický modul pružnosti. Pomocí kontaktního úhlu byla stanovena volná povrchová energie. Pomocí techniky FTIR byly získány spektra a složení vrstev. Metodou XPS bylo stanoveno atomové složení a chemické vazby připravených vrstev.

U testu cytokompatibility in vitro, který byl proveden s krysími vaskulárními buňkami hladkého svalstva byl očekáván růst buněk na POx vrstvách. Vrstvy připravené z 2-ethyl-2-monomeru ovšem životaschopnost nepodporuje, na rozdíl od vrstev, které byly připraveny z 2-methyl-2-oxazolinu. Se zvyšující se teplotou substrátu u těchto vrstev životaschopnost buněk rostla. Z toho lze vyvodit, že teplota depozice výrazně ovlivňuje buněčnou adhezi k povrchu. Antibakteriální test byl proveden za použití *Staphylococcus epidermidis*. Experiment byl opakován dvakrát pomocí dvou identických řad. POx filmy na substrátech zvýšily odolnost vůči tvorbě biofilmu bakteriemi. Vzorky byly několikrát promyty sterilní vodou, byla tak otestována stabilita vrstev. Po promytí ztrácely připravené vrstvy svoji antibakteriální schopnost. Nejvíce odolná vrstva proti bakteriím *S. epidermidis*, byla vyrobena při teplotě 150 °C a průtoku 100 sccm. Vrstvy byly také testovány za použití *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Všechny vrstvy vykazovaly silný antibakteriální účinek vůči těmto bakteriím. Po vyhodnocení FTIR techniky byla pozorována částečná fragmentace a rekombinace oxazolinového monomeru. Byly také prokázány skupiny OH, NH a NH₂ a charakteristické CH₂ a CH₃CH₂ skupiny pro oxazolinové polymery. Vazby alkynu C≡C nebo isokyanátu O=C=N nebo nitrilu C≡N by mohly být přiřazeny absorpčnímu pásu při 2170 cm⁻¹. Tyto vazby se však při klasické polymeraci oxazolinů nevyskytují, a tak lze říci, že mohou vznikat při rekombinaci a fragmentaci oxazolinového monomeru během plazmové polymerizace. Pás 1720 cm⁻¹ naznačuje skupinu C=O karboxylové kyseliny/esteru, mohl být ale také zaměněn s amidovým píkem, ze spekter to není jasně viditelné. Intenzity spekter nebyly příliš velké a nejspíše z důvodu nehomogenity vrstvy a její nestejnětloušťky. Počet měření závisel na velikosti vzorku a opakované měření bylo provedeno na různých místech téhož vzorku. Spektra byla společná pro obě řady, jak teplotní, tak i průtokovou. Lišily se pouze v absorbanci. Mezi třemi kapalinami a vrstvou oxazolinu na substrátech byl měřen kontaktní úhel, za účelem stanovení volné povrchové energie, pomocí teorie kyselina-báze. Testovanými kapalinami byly voda, ethylenglykol a diiodmethan. Povrchová energie vzorků se pohybovala v rozmezí 38,97 až 44,86 mJ/m² a všechny připravené vrstvy byly hydrofilní. Tloušťka vrstev připravených při teplotách 20, 60 a 120 °C a průtoku monomeru

100 sccm klesala, zatímco tvrdost rostla. U vrstev připravených s různým průtokem monomerů 60, 200 a 500 sccm a teplotě 120 °C tloušťka rostla a tvrdost byla více méně konstantní. Modul pružnosti u teplotní řady rostl, u průtokové řady byl pro průtok monomeru 60 a 200 sccm stejný. XPS analýza stanovila chemii oxazolinových vrstev. Celkové poměry (O/C) a (N/C) měřené pro filmy na bázi POx se významně neměnily se zvyšující se teplotou. Mírné zvýšení poměru (O/C) lze nalézt pro 120 °C, kde se koncentrace kyslíku snížila na rozdíl od koncentrace uhlíku, která měla rostoucí tendenci. V případě poměru (N/C), vyšší teplota podporovala mírný růst. Obecně má teplota substrátu pouze mírný vliv na atomové složení. Bylo sledováno snižování koncentrace N a zvyšování koncentrace O na povrchu. Koncentrace monomeru měla nicméně malý vliv na složení povrchu, protože pozorované koncentrace se nepatrně zvyšovaly, s výjimkou 200 sccm. V tomto případě docházelo k prudkému zvýšení koncentrace N a ke snížení koncentrace C a O, což mělo za následek téměř dvojnásobné zvýšení poměru (N/C). Podrobná analýza vrcholů C1 s vysokým rozlišením poskytla další informace o změnách chemie na povrchu, během procesu usazování filmu. Ani teplota substrátu, ani koncentrace monomeru neprokázala žádný trend koncentrace chemických vazeb. Hodnocení chemických vazeb odhalilo pouze zanedbatelnou závislost nanesených filmů na zvyšující se teplotě substrátu, která je v dobré shodě s atomovým složením. Z uvedených výsledků lze konstatovat, že připravené vrstvy by mohly být využity v biomedicínských aplikacích.

Ve srovnání, vrstvy připravené z 2-methyl-2-oxazolinu vykazovaly vynikající antibakteriální testy. FTIR spektra byla obdobná. Se zvyšující se teplotou se snižovala tloušťka filmů. Mechanické vlastnosti zde prokázaly viskoelastický charakter polymeru a vykazovaly vyšší tvrdost modul pružnosti. Volná povrchová energie se pohybovala v rozmezí 42,4 až 56,6 mJ/m². I zde byly všechny vrstvy hydrofilní.

Nicméně je nutné zdůraznit, že díky modifikaci s 2-ethyl-2-oxazolinem byl vyroben nepřilnavý povrch, který je možné potencionálně využít v řadě aplikací. Z těch medicínských to mohou být katetry, cévky, systémy pro dialýzu, stehy, stenty do arterií, spinální a chirurgické instrumentace, ale i náhrady chlopní, cév nebo jamky pro výměnu kloubů. Pro úspěšné využití by však bylo nutné otestovat adhezivitu jiných typů buněk, bakterií a proteinů. Cíle práce byly splněny.

7 LITERATURA

- [1] JANA, Somdeb a Mariusz UCHMAN. Poly(2-oxazoline)-based Stimulus-Responsive (Co)polymers: An Overview of their Design, Solution Properties, Surface-chemistries and Applications. *Progress in Polymer Science*. 2020. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2020.101252. ISSN 00796700. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670020300459>
- [2] VIEGAS, Tacey X., Michael D. BENTLEY, J. Milton HARRIS, et al. Polyoxazoline: Chemistry, Properties, and Applications in Drug Delivery. *Bioconjugate Chemistry*. 2011, **22**(5), 976-986. DOI: 10.1021/bc200049d. ISSN 1043-1802. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bc200049d>
- [3] RAMIASA, M. N., A. A. CAVALLARO, A. MIERCZYNSKA, S. N. CHRISTO, J. M. GLEADLE, J. D. HAYBALL a K. VASILEV. Plasma polymerised polyoxazoline thin films for biomedical applications. *Chemical Communications* [online]. 2015, **51**(20), 4279-4282 [cit. 2020-01-17]. DOI: 10.1039/C5CC00260E. ISSN 1359-7345. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5CC00260E>
- [4] 2-ethyl-2-oxazoline. In: *Sigma Aldrich* [online]. Germany, 2020 [cit. 2020-05-19]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/137456?lang=en&ion=CZ>
- [5] Poly(2-ethyl-2-oxazoline). In: *Sigma Aldrich* [online]. Germany, 2020 [cit. 2020-05-19]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/372846?lang=en&ion=CZ>
- [6] ADAMS, Nico a Ulrich S. SCHUBERT. Poly(2-oxazolines) in biological and biomedical application contexts. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007, **59**(15), 1504-1520. DOI: 10.1016/j.addr.2007.08.018. ISSN 0169409X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X07001901>
- [7] ŠTAHEL, Pavel, Věra MAZÁNKOVÁ, Klára TOMEČKOVÁ, et al. Atmospheric Pressure Plasma Polymerized Oxazoline-Based Thin Films—Antibacterial Properties and Cytocompatibility Performance. *Polymers*. 2019, **11**(12). DOI: 10.3390/polym11122069. ISSN 2073-4360. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2073-4360/11/12/2069>
- [8] GLASSNER, Mathias, Maarten VERGAELLEN a Richard HOOGENBOOM. Poly(2-oxazoline)s: A comprehensive overview of polymer structures and their physical properties. *Polymer International*. 2018, **67**(1), 32-45. DOI: 10.1002/pi.5457. ISSN 09598103. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pi.5457>
- [9] J. Friedrich. The plasma chemistry of polymer surfaces: advanced techniques for surface design. Weinheim: Wiley-VCH. 2012. ISBN 978-3-527-31853-7.

- [10] Inagaki, N.: Plasma surface modification and plasma polymerization, Technomic Publishing Copany, Inc., 1996. ISBN: 1-56676-337-1.
- [11] Vandencastele, N., Reniers, F.: Plasma-modified polymer surfaces: Characterization using XPS. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 2010, vol. 178-179, pp. 394-408.
- [12] KRACÍK, Jiří, Josef Bartoloměj SLAVÍK a Jaromír TOBIÁŠ. *Elektrické výboje*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1964
- [13] MARTIŠOVITŠ, Viktor, 2006. *Základy fyziky plazmy: učebný text pre magisterské štúdium*. Bratislava: Vydavateľstvo UK. ISBN 80-223-1983-X.
- [14] MAROUŠEK, Rostislav. *Plazma pro biomedicínské a environmentální aplikace*. České Budějovice, 2014. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce Petr Bartoš.
- [15] GREGOR, Jan. *Optická diagnostika klouzavého výboje*. Brno, 2016. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav fyzikální elektroniky. Vedoucí práce Doc. Mgr. Vít Kudrle, Ph.D.
- [16] SCHOLTZ, V., Nízкотеплотná plazma I: Čo je to. *Aldebaran bulletin* [online]. 2012(12) [cit. 2020-04-24]. Dostupné z: http://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_22_pla.php
- [17] ZATLOUKALOVÁ, Zuzana. *Změny povrchu vláken působením plazmy*. Liberec, 2007. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní. Vedoucí práce Doc. Ing. Jakub Wiener, PhD.
- [18] BUDÍK, M. *Charakterizace dielektrických bariérových výbojů za atmosférického tlaku*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2011. 60 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Milada Bartlová, Ph.D..
- [19] XU, Xueji. Dielectric barrier discharge — properties and applications. *Thin Solid Films*. 2001, **390**(1-2), 237-242. DOI: 10.1016/S0040-6090(01)00956-7. ISSN 00406090. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040609001009567>
- [20] HORVÁTH, M.; BILITZKY, L.; HÜTTNER, J. *Ozone*. Budapest : Akadémiai Kiadó, 1985. 350 p. s. ISBN 9630533588.
- [21] *Infračervená spektroskopie* [online]. In: . [cit. 2020-05-2]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/analchem/pprakt/ftir.pdf>
- [22] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.

- [23] ELLIS, David I. a Royston GOODACRE. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman spectroscopy. *The Analyst*. 2006, **131**(8). DOI: 10.1039/b602376m. ISSN 0003-2654. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b602376m>
- [24] *Infračervená spektrometrie* [online]. In: . [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: <https://www.vscht.cz/files/uzel/0005766/Infra%C4%8Derven%C3%A1+spektrometrie.pdf?redirected>
- [25] ZAHÁLKA, M., *Metody analýzy radikálově roubovaného polypropylenu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 41 s. Vedoucí bakalářské práce Mgr. František Kučera, Ph.D.
- [26] KLEPÁČKOVÁ, B. B. *Volná povrchová energie plazmových polymerů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 37 s. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Vladimír Čech, Ph.D
- [27] PERUTKOVÁ, Kristýna. *Povrchové vlastnosti polymerních materiálů - způsoby stanovení povrchové energie pevných látek*. Zlín, 2018. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Petr Smolka.
- [28] *Nanoindentace a měření vlastností v malém objemu* [online]. In: . [cit. 2020-05-22]. Dostupné z: http://ksm.fsv.cvut.cz/~nemecek/teaching/dmpo/lectures/D32MPO_03.pdf
- [29] DVOŘÁK, Petr. *Způsoby stanovení modulu pružnosti v tahu*. Praha, 2018. Bakalářská práce. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Vedoucí práce František Tatiček.
- [30] KAN, Qianhua, Wenyi YAN, Guozheng KANG a Qingping SUN. Oliver–Pharr indentation method in determining elastic moduli of shape memory alloys—A phase transformable material. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*. 2013, **61**(10), 2015-2033. DOI: 10.1016/j.jmps.2013.05.007. ISSN 00225096. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022509613001038>
- [31] YAN, Wenyi, Chung Lun PUN, George P. SIMON a Qingping SUN. Conditions of applying Oliver–Pharr method to the nanoindentation of particles in composites. *Composites Science and Technology*. 2012, **72**(10), 1147-1152. DOI: 10.1016/j.compscitech.2012.03.019. ISSN 02663538. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026635381200125X>
- [32] MACHÁČ, M. *Měření tvrdosti materiálů a zpracování zjištěných hodnot*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2010. 57 s., 4 přílohy. Vedoucí práce Ing. Milan Kalivoda
- [33] *Nanoindentace* [online]. In: . [cit. 2020-05-22]. Dostupné z: https://www.physics.muni.cz/~dorian/Jezek_Nanoindentace.pdf

- [34] BÁBOR, P. a K. MAŠEK. *Metody povrchové a tenkovrstvové analýzy prvkového složení (XPS, AES, SIMS), difrakce fotoelektronů*. *Materials Structure*. 2011, **18**(4).
- [35] XPS [online]. In: . [cit. 2020-05-20]. Dostupné z: <https://physics.mff.cuni.cz/kfpp/s4r/povrch/xps.html>
- [36] MISÁRKOVÁ, Eliška. Spřažení excitace-kontrakce a excitace-transkripce v buňkách hladkého svalu cév: změny u experimentální hypertenze a při přestavbě cév. Praha, 2013. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyziologie. Vedoucí práce Zicha, Josef.
- [37] ZHOU, Ning, Shaunrick STOLL, Christiana LEIMENA a Hongyu QIU. Vascular Smooth Muscle Cell. *Muscle Cell and Tissue - Current Status of Research Field*. InTech, 2018, 2018-10-10. DOI: 10.5772/intechopen.77249. ISBN 978-1-78984-005-6. Dostupné také z: <http://www.intechopen.com/books/muscle-cell-and-tissue-current-status-of-research-field/vascular-smooth-muscle-cell>
- [38] LOWY, FRANKLIN D. Staphylococcus epidermidis Infections. *Annals of Internal Medicine*. 1983, **99**(6). DOI: 10.7326/0003-4819-99-6-834. ISSN 0003-4819. Dostupné také z: <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-99-6-834>
- [39] VUONG, Cuong a Michael OTTO. Staphylococcus epidermidis infections. *Microbes and Infection*. 2002, **4**(4), 481-489. DOI: 10.1016/S1286-4579(02)01563-0. ISSN 12864579. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457902015630>
- [40] *Staphylococcus aureus* [online]. In: . [cit. 2020-05-18]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/sa/index.html>
- [41] *Staphylococcus aureus* [online]. In: . [cit. 2020-05-18]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76727.aspx>
- [42] HORINO, Tetsuya a Seiji HORI. Metastatic infection during Staphylococcus aureus bacteremia. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2020, **26**(2), 162-169. DOI: 10.1016/j.jiac.2019.10.003. ISSN 1341321X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1341321X19303010>
- [43] KREMPASKÝ, Kamil. *Příprava vhodných aplikačních forem pro antimikrobiální látky*. Brno, 2015. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce Prof. RNDr. IVANA MÁROVÁ, CSc.
- [44] *Escherichia coli* [online]. In: . [cit. 2020-05-18]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76555.aspx>
- [45] OBRUSNÍK, A., P. JELÍNEK a L. ZAJÍČKOVÁ. Modelling of the gas flow and plasma co-polymerization of two monomers in an atmospheric-pressure dielectric barrier discharge. *Surface and Coatings Technology*. 2017, **314**, 139-147. DOI:

10.1016/j.surfcoat.2016.10.068. ISSN 02578972. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897216310659>

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

γ_{SV}	povrchové napětí pevné látky a páry
γ_{SL}	povrchové napětí pevné látky a kapaliny
γ_{LV}	povrchové napětí kapaliny a páry
θ	kontaktní úhel
sccm	standardní kubický centimetr za minutu
Hz	Hertz
POx	polyoxazolin
MFC	regulátor hmotnostního toku
DBD	dielektrický bariérový výboj
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
WCA	kontaktní úhel vody
VSMC	vaskulární buňky hladkého svalstva
IČ	infračervený
CROP	kationtová polymerace otevírající kruh
DNA	deoxyribonukleová kyselina
PEG	polyethylenglykol
PTFE	polytetrafluorethylen

