



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
Fakulta mechatroniky, informatiky  
a mezioborových studií ■

# Studium kinetiky funkcionalizace povrchu nanovláken po aktivaci plazmatem

## Bakalářská práce

*Studijní program:* B3942 – Nanotechnologie

*Studijní obor:* 3942R002 – Nanomateriály

*Autor práce:* **Vojtěch Růžek**

*Vedoucí práce:* Ing. Hana Tománková, M.Sc.





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC  
Faculty of Mechatronics, Informatics  
and Interdisciplinary Studies ■

# Kinetic study of plasma activated nanofibers functionalization

## Bachelor thesis

*Study programme:* B3942 – Nanotechnology

*Study branch:* 3942R002 – Nanomaterials

*Author:* **Vojtěch Růžek**

*Supervisor:* Ing. Hana Tománková, M.Sc.



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Vojtěch Růžek**  
Osobní číslo: **M14000145**  
Studijní program: **B3942 Nanotechnologie**  
Studijní obor: **Nanomateriály**  
Název tématu: **Studium kinetiky funkcionalizace povrchu nanovláken po aktivaci plazmatem**  
Zadávací katedra: **Ústav nových technologií a aplikované informatiky**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracujte rešerši vztahující se k tématu, zaměřte se zejména na anorganická nanovlákná na bázi SiO<sub>2</sub> a na možnosti jejich povrchové funkcionalizace silylačními činidly a aktivace plazmatem.
2. Po konzultaci s vedoucím práce vyberte jedno ze silylačních činidel a prostudujte metody umožňující případnou kvantifikaci vybraného funkcionalizačního procesu.
3. Vybrané vzorky nanovláken aktivujte plazmatem za různých podmínek, následně, v různých časových odstupech od aktivace, povrch funkcionalizujte zvoleným silylačním činidlem a konečné výnosy povrchových úprav kvantifikujte.
4. Výsledky analyzujte a diskutujte.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **30 - 40 stran**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**  
Seznam odborné literatury:

- [1] **Hermanson, G. T. Bioconjugate Techniques. 2nd Edition. London, UK: Elsevier Inc, 2008. 1233 s. ISBN: 978-0- 12-370501- 3.**
- [2] **Liberman, A. et al. Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. Surface Science Reports, 2014, 69 (2-3): 132-158. DOI:10.1016/j.surfrep.2014.07.001.**
- [3] **Jing Zou, J. and Kauzlarich, S. M. Functionalization of Silicon Nanoparticles via Silanization: Alkyl, Halide and Ester. Journal of Cluster Science, 2008, 19: 341-355. DOI :10.1007/s10876-008-0182-9.**
- [4] **Luštická, I. et al. Funkcionalizace mezoporézních silikátových materiálů. Chemické Listy, 2013, 107: 114-120. ISSN 1213-7103.**

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Hana Tománková, M.Sc.**  
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

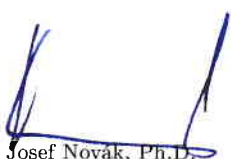
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Miroslava Rysová**

Datum zadání bakalářské práce: **19. října 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **14. května 2018**

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



  
Ing. Josef Novák, Ph.D.  
vedoucí ústavu

V Liberci dne 19. října 2017

## Prohlášení

Byl jsem seznámen s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

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

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

Bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 10. 5. 2018

Podpis: V. Růžek

## **Poděkování**

V první řadě bych rád poděkoval vedoucí práce Ing. Haně Tománkové MSc., za její rady, trpělivost a pomoc při samotných experimentech. Dále bych rád poděkoval Ing. Miroslavě Rysové za pomoc při rastrovací elektronové mikroskopii.

Velký dík také patří celé mé rodině za podporu nejen při psaní této bakalářské práce.

## **Abstrakt**

Bakalářská práce se zabývá plazmatickou úpravou křemičitých nanovláken a jejím vlivem na jejich silylaci.

V teoretické části jsou shrnuté poznatky o nanovlákních, především křemičitých. Je zde popsána jejich výroba, využití, vlastnosti a v neposlední řadě také možnost modifikace jejich povrchu prostřednictvím silylačního činidla. V dalších částech je pak vysvětlena metoda plazmatické úpravy povrchu stejně jako metoda kvantifikace primárních aminoskupin. Dále je diskutována možnost využití plazmatu pro zvýšení efektivity silylace a tedy i možnosti následné funkcionalizace nanovláken z důvodu větší hustoty aminoskupin na povrchu.

Experimentální část se zabývá plazmatickou úpravou křemičitých nanovláken a jejího vlivu na následnou silylaci, kde je jako silylační činidlo použit 3-aminopropyltriethoxysilan (APTES). V první fázi byl sledován vliv použité atmosféry a doby, po kterou úprava probíhá, na výsledný výtěžek primárních aminoskupin navázaných na nanovlákněný substrát. Byla stanovena nejvhodnější kombinace atmosféry a doby úpravy. V druhé fázi byl sledován vliv prodlevy mezi plazmatickou úpravou a silylací na výslednou výtěžnost.

## **Klíčová slova**

Křemičitá nanovlákně, plazmatická úprava, APTES, silylace, modifikace.

## **Abstract**

The bachelor thesis deals with plasma treatment of silicon nanofibers and its influence on their silylation.

The theoretical part summarizes the knowledge about nanofibers, especially silicates. It describes their production, utilization, properties and, last but not least, the possibility of modification of their surface by a silylation agent. The next part explains method of plasma surface treatment as well as method of quantification of primary amino groups. Furthermore, possibility of using plasma to increase efficiency of silylation, and thus possibility of subsequent functionalization of nanofibers due to increased density of amino groups on surface, is discussed.

The experimental part deals with plasma treatment of silica nanofibers and their effect on subsequent silylation, where 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) is used as silylation agent. In the first phase, effect of atmosphere used and time taken for treatment on the yield of primary amino groups bound to the nanofiber substrate was monitored. The most appropriate combination of atmosphere and time of conditioning was determined. In the second phase, the effect of delay between plasma treatment and silylation on resulting yield was monitored.

## **Key words**

Silica nanofibers, plasma surface treatment, APTES, silylation, modification



## Obsah

Seznam použitých termínů a zkratk.....	11
Úvod.....	12
1 Nanovlákna.....	12
1.1 Křemičitá nanovlákna.....	13
1.1.1 Výroba křemičitých nanovláken.....	14
2 Povrchová funkcionalizace křemičitých nanovláken.....	17
2.1 Silylace.....	17
2.2 APTES.....	19
3 Povrchová úprava plazmatem.....	20
3.1 Plazma.....	20
3.2 Využití plazmatu pro povrchovou úpravu látek.....	20
4 Kvantifikace.....	22
4.1 Kvantifikace primárních aminoskupin pomocí FITC.....	23
4.2 Kvantifikace primárních aminoskupin pomocí methyloranže.....	24
4.3 Fluorescence.....	24
5 Experimentální část.....	26
5.1 Použité materiály a chemikálie.....	26
5.2 Použité metody.....	26
5.2.1 Plazmatická úprava nanovláken.....	26
5.2.2 Silylace nanovláken.....	27
5.2.3 Kvantifikace vázaných aminoskupin pomocí FITC.....	27
5.2.4 Kvantifikace vázaných aminoskupin pomocí Methyloranže.....	28
5.2.5 Dodatečné analýzy.....	28
6 Výsledky měření a diskuze.....	29
6.1 Výpočet kalibrační řady pro FITC.....	29
6.2 Fáze 1 – Efektivita různých kombinací atmosféry a doby plazmatické úpravy.....	30
6.3 Fáze 2 – Vliv času mezi úpravou a silylací na její účinnost - FITC.....	33

6.4 Fáze 2 – Vliv času mezi úpravou a silylací na její účinnost – Methyloranž .....	37
6.5 Dodatečné analýzy .....	40
6.5.1 Analýza kapkou .....	40
6.5.2 Analýza SEM .....	40
6.5.3 Analýza ICP .....	42
Závěr.....	43
Seznam použité literatury .....	44
Příloha .....	48

## Seznam použitých termínů a zkratk

TEOS	Tetraethyl orthosilikát
APTES	3-aminopropyltriethoxysilan
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
FITC	Fluorescein isothiokyanát
ICP	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
MO	Methyloranž
A	Absorbance
C	Molární koncentrace
d	Tloušťka vrstvy vzorku
$\epsilon$	Molární absorpční koeficient pro danou vlnovou délku

## Úvod

Křemičitá nanovlákná jsou zajímavým materiálem pro medicínské využití, především jako nosiče účinných látek, například enzymů. Jejich hlavními výhodami jsou univerzálnost pramenící z rozsáhlých možností jejich povrchové funkcionalizace (navázání dalších látek s různými funkčními skupinami), stabilita, biologická nezávadnost a velký specifický povrch.

Plazmatická úprava má širokou škálu použití pro zlepšení či úpravu vlastností povrchů, včetně křemičitých nanovláken. Použití plazmatické úpravy na jejich povrch vede k výraznému zvýšení koncentrace hydroxylových skupin, což zvyšuje smáčivost a umožňuje na povrch nanovláken pomocí vhodných činidel (například APTES) navázat řetězec s koncovou skupinou vhodnou k následné funkcionalizaci nanovláken.

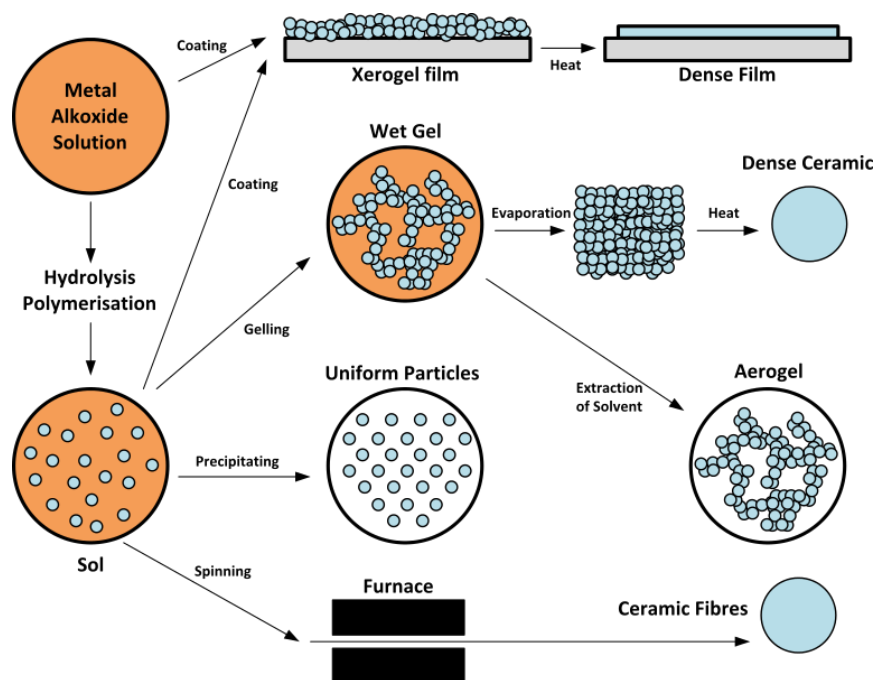
Hlavním cílem této práce je potvrzení předpokladu, že plazmatická úprava povrchu křemičitých nanovláken povede k výraznému zvýšení možnosti jejich funkcionalizace pomocí APTES, a ověření, zda je tato úprava trvalá nebo alespoň dlouhodobá a zda nedochází k mechanickému poškození nanovláken.

## 1 Nanovlákná

Jako nanovlákná jsou obvykle označována vlákna o průměru stovek nanometrů. Konkrétní maximální velikost nanovlákná se liší dle instituce. Například firma Elmarco [1] definuje nanovlákná jakožto vlákna o průměru menším než 500 nm, firma Inovenso pak jako vlákna o průměru menším než 100 nm [42]. Jejich specifickými vlastnostmi, které vyplývají z jejich malého průměru, jsou především velký specifický povrch, velká porozita nanovláknenné vrstvy, malé rozměry pórů, lepší mechanické vlastnosti a rozsáhlé možnosti jejich povrchové modifikace [3] [35] [36] [37] [38].

Organická nanovlákná jsou připravována především metodou elektrostatického zvlákňování (electrospinning), při kterém jsou zvlákňovány polymerní roztoky nebo taveniny v elektrostatickém poli [3]. Původně bylo prováděno pouze z jehly nebo několika jehel, což je, kvůli nízkým výtěžkům, použitelné pouze pro výzkumné účely. Průmyslovou výrobu umožnila až metoda založená na zvlákňování z válce, objevená profesorem Jirsákem a jeho spolupracovníky z Technické Univerzity v Liberci [2], jež byla později zdokonalena objevem zvlákňování ze struny. Tato metoda využívá uzavřenou nádrž s polymerním roztokem, na rozdíl od volné hladiny při zvlákňování z válce. To umožňuje udržovat stabilní viskozitu polymerního roztoku a brání roztokům absorbovat vzdušnou vlhkost, což zajišťuje, že při dlouhém provozu budou mít vzniklá nanovlákná konstantní vlastnosti. [39].

Anorganická nanovlákna lze také připravovat metodami elektrostatického zvláknování (Obr.1), nicméně nejdříve je nutné získat polymerní roztok, ten se obvykle získává metodou sol-gel (anorganické látky na rozdíl od organických obvykle polymery netvoří a výchozí látkou tedy nemůže být polymer) [5]. Zvláknění z taveniny obvykle využíváno není, neboť pro roztavení anorganických látek jsou potřebné vysoké teploty (1600°C pro oxid křemičitý).



*Obr.1 – Obecné Schéma sol-gel metod [18]*

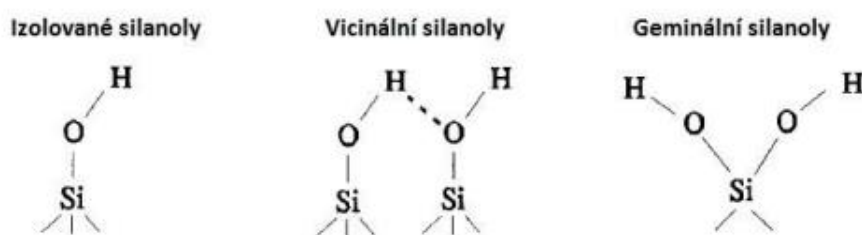
Nanovlákna mají aplikační potenciál v mnoha odvětvích lidské činnosti, především pak v medicíně (cílená aplikace léků, tkáňové inženýrství), mezi další aplikace pak patří filtrace, sensorová technika či mikroelektronika [4]. V těchto aplikacích je využíván především jejich specifický povrch, který umožňuje navázat větší množství dalších látek než u větších vláken, a malé póry, které zachytí i ty nejmenší částice (viry, prach atd.) a propouští jen velmi malé molekuly, což umožňuje použití pro filtraci vzduchu či vody.

## 1.1 Křemičitá nanovlákna

Nejskloňovanějším typem anorganických nanovláken posledních několika let jsou nanovlákna na bázi oxidu křemičitého. Kromě obvyklých vlastností plynoucích z jejich nanovláčkové struktury jsou navíc netoxická [6] a do určitého stupně dokonce biodegradovatelná [10] (v těle z nich vzniká kyselina křemičitá, která je vyloučena močí). Různými metodami lze také funkcionalizovat jejich povrch pro další aplikace. Tyto vlastnosti z nich dělají vhodnou volbu pro výzkum možností jejich využití především v medicíně. Na druhou stranu je jejich výroba mnohem dražší než výroba mikrovláken, která většinu jejich vlastností sdílí, byť mají nižší specifický povrch a větší póry, nicméně pro medicínské využití stále dostačují.

Jejich povrch, stejně jako povrch jiných látek tvořených oxidem křemičitým, není dokonale inertní a v závislosti na chemické odolnosti (dané úpravou či příměsí v oxidu), změnou pH prostředí a vlhkosti se na povrchu objevují silanolové skupiny (defacto OH skupiny vystupující z povrchu vlákna), povrch oxidu křemičitého tedy na povrchu „koroduje“. Tyto silanolové skupiny lze odstranit zahřátím na vysoké teploty [12]. Bez nich vlákna získají silnou adsorbční schopnost pro vodu, tohoto jevu je prakticky využíváno například pro udržování suchého prostředí či pro vysušování v exsikátoru. Pro tyto účely se používá porézní forma čistého oxidu křemičitého, takzvaný silicagel, který má, podobně jako nanovlákná, velký specifický povrch a je tedy schopen adsorbovat velké množství vody, která se dá navíc poměrně snadno odstranit zahřátím na 120°C, a je ho tedy možné využívat opakovaně [15].

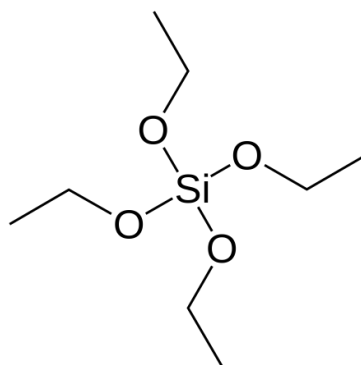
Silanolové skupiny se dělí na tři podskupiny (Obr. 2) U izolovaných (volných) silanolů je k atomu křemíku připojena pouze jedna hydroxylová skupina, zbylé tři vazby jej propojují s objemovou strukturou materiálu. U vicinálních (můstkových) jsou dva izolované silanoly dostatečně blízko a dochází mezi nimi ke vzniku vodíkové vazby. U geminálních silanolů jsou pak dvě hydroxylové skupiny navázány na jeden atom křemíku [14].



**Obr. 2** – Typy silanolových skupin [14]

### 1.1.1 Výroba křemičitých nanovláken

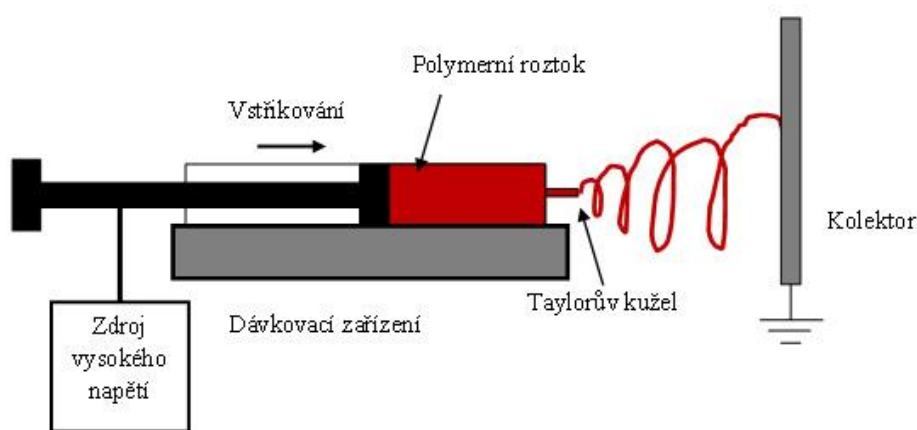
Obvykle používanou výchozí látkou pro přípravu křemičitých nanovláken je tetraethyl orthosilikát (TEOS).



**Obr. 3** – Strukturní vzorec TEOS

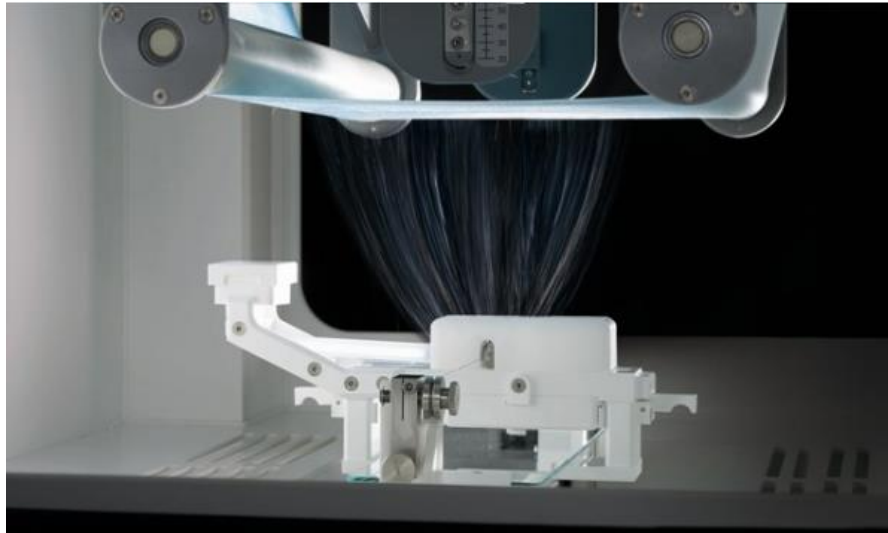
Při přípravě pomocí elektrostatického zvlákňování je nutné získat polymerní roztok. Ten se obecně připravuje polykondenzací TEOS v organickém rozpouštědle za přidání iniciátoru a následným odpařením rozpouštědla [5] [9].

Příkladem postupu pro získání polymerního roztoku je pomalé přidávání vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové do roztoku TEOS v alkoholu (ethanolu) za stálého míchání a následné zahřátí roztoku na 80°C po dobu 30 minut [8]. Nanovlákná získaná těmito procesy jsou z většiny tvořena oxidem křemičitým, zbytek tvoří zbývající alkohol použitý jako rozpouštědlo a voda (ve formě Si-OH skupin a adsorbované vody). Alkohol neovlivňuje vlastnosti nanovláken, nicméně pro medicínské využití je samozřejmě vhodné použít netoxický alkohol, nejlépe ethanol, který také vzniká jako vedlejší produkt reakce [9]. Po získání polymerního roztoku může následovat samotný proces zvlákňování [2] [3].

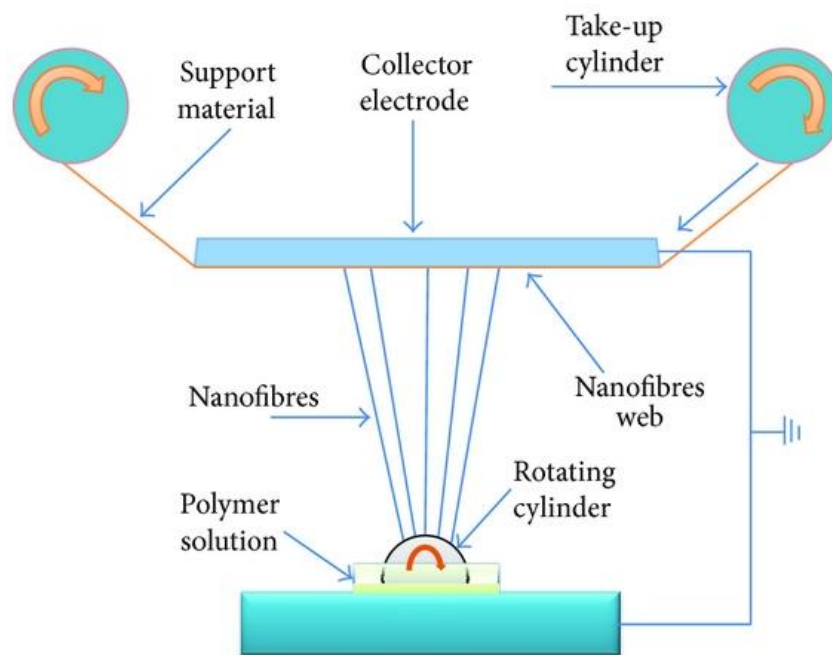


**Obr. 4** – Schéma principu elektrostatického zvlákňování z jehly [11]

Nejstarší, velmi dlouho známou metodou výroby křemičitých nanovláken je zvlákňování z jehly (Obr. 4), nicméně tento proces je pro průmyslové využití nevhodný, neboť nanovlákná jsou tvořena jen v malém množství. Modernější procesy [2] [39] využívají zvlákňování z rotujících elektrod, částečně ponořených v polymerním roztoku, ve tvaru válce o různém poloměru (Obr. 6), či dokonce ze struny procházející uzavřeným zásobníkem roztoku. Při zvlákňování z jehly nebo jehel je počet Taylorových kuželů, a tedy i počet nanovláken tvořených najednou, dán pouze počtem jehel. Při zvlákňování z volného povrchu se tvoří Taylorovy kužely ve větším počtu, daném parametry, při kterých proces probíhá (Elektrické napětí, viskozita polymerního roztoku atd.). Vzniká tedy velké množství nanovláken (Obr. 5).



**Obr. 5** – Elektrické zvlákňování na stroji Nanospider™ [41]



**Obr. 6** – Schéma principu elektrostatického zvlákňování z válce

V medicíně mohou být křemičitá nanovlákná využívána jakožto scaffoldy pro růst buněk v tkáňovém inženýrství [40] či jako nosiče pro účinné látky – antibiotika, analgetika, enzymy atd. Výhodou moderních nosičů aktivních látek je cílená a časově řízená distribuce aktivní látky. Aplikace účinných látek *in situ* (na místě, kde jsou potřebné) pak snižuje jejich ztráty způsobené vyplavováním tělními tekutinami stejně, jako jejich průnik do dalších částí organismu, kde může být jejich působení prostřednictvím škodlivých reakcí nežádoucí [7]. Použití nanovláknenného nosiče pro cílenou aplikaci účinných látek může tyto problémy vyřešit.



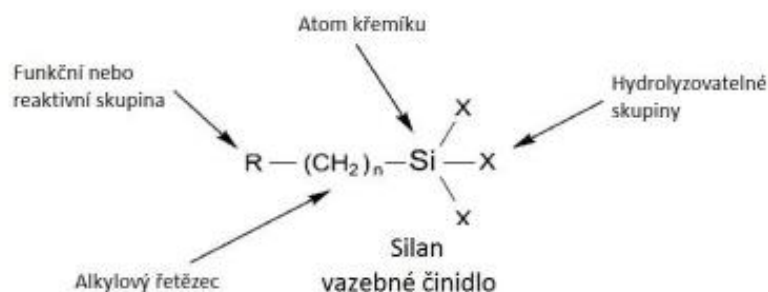
Při použití křemičitých nanovláken jakožto nosičů účinných látek jsou důležitými vlastnostmi především jejich biokompatibilita a velký specifický povrch, který umožňuje navázání velkého množství látek a zároveň zajistí jejich rovnoměrnou distribuci v místě použití. Před samotnou vazbou účinné látky na nanovlákná tak, aby byla možná regulace jejich uvolňování, je nutné povrch nanovláken funkcionalizovat vhodným činidlem.

## 2 Povrchová funkcionalizace křemičitých nanovláken.

### 2.1 Silylace

Chemická modifikace má zdánlivě paradoxní požadavky na křemičitý materiál. Musí být hydrofilní, ale zároveň nerozpustný ve vodě či v polárních rozpouštědlech, dále musí být mechanicky a chemicky stabilní, ale zároveň snadno modifikovatelný. Oxid křemičitý ve formě nanovláken tyto požadavky splňuje, především díky své schopnosti adsorbovat vodu za vzniku povrchových silanolových skupin, které zaručují snadnou modifikovatelnost, přičemž vnitřní struktura zůstává stabilní.

Pro modifikaci povrchu oxidu křemičitého a jiných křemičitých materiálů se nejčastěji používají organofunkční silany (Obr. 7) [16]. Silany jsou organokovové monomerní sloučeniny tvořené centrálním atomem křemíku a čtyřmi substituenty, obvykle třemi hydrolyzovatelnými skupinami, přes které je atom křemíku připojován k povrchu oxidu křemičitého a jednou skupinou tvořenou alkylovým řetězcem a samotnou funkční skupinou, která může být dále využita pro připojení biologicky aktivních látek, například antibiotik, antiseptik, analgetik, enzymů apod. Tato činidla se dokáží vázat na povrch oxidu křemičitého unikátní kombinací kovalentních vazeb, vodíkových můstků a elektrostatických (van der Waalsových) sil. Díky tomu mohou i soutěžit s molekulami vody o hydroxylové skupiny na povrchu oxidu. Přehled nejčastěji používaných silanů k modifikaci křemičitých materiálů uvádí Vansant [14].



**Obr. 7** Struktura funkčního silanu

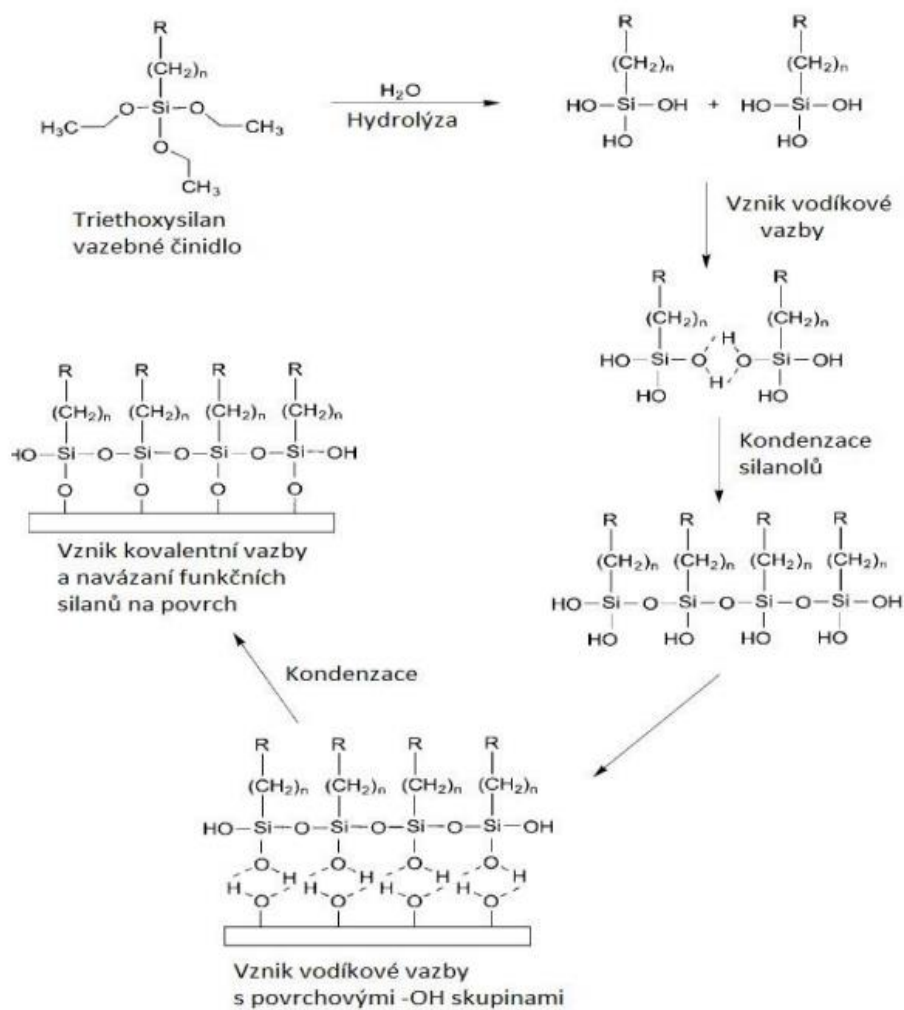
Mechanismus reakce je vyobrazen na Obr. 8. Nejprve hydrolyzou vznikne reaktivní meziproduct (silanol), který reaguje se samotným substrátem kondenzací s povrchovými OH skupinami za vzniku polymerní sítě tvořené vazbami Si-O-Si. Tato síť interaguje se substrátem pomocí vodíkových vazeb s hydroxyly [17].

Za zvýšené teploty dochází ke vzniku pevnějších kovalentních vazeb tvořených siloxanovými můstky. Tloušťka této vrstvy závisí na koncentraci silylačního činidla a množství vody v reagujícím roztoku [17].

Pro zajištění navázání činidla na substrát kovalentními vazbami se nejčastěji využívají alkoxyxilany, které se na něj vážou přes siloxanovou vazbu, navíc tvoří spontánně vodíkové vazby již v roztoku a jsou tedy mnohem stabilnější než běžné organosilany. V dnešní době jsou alkoxyxilany velmi dobře dostupné i komerčně. Dostupné jsou i s funkčními nebo reaktivními skupinami využitelnými ke kovalentnímu navázání jiných látek.

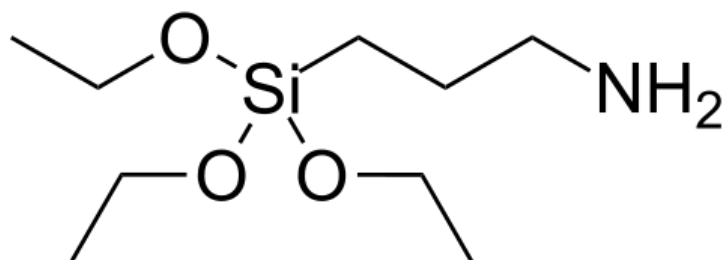
Jedním z možných alkoxyxiloxanů, které můžeme použít, je (3 – aminopropyl) triethoxysilan (APTES) který obsahuje  $\text{NH}_2$  skupinu (aminoskupinu). Díky širokým možnostem tvorby pevných vazeb aminoskupiny s jinými skupinami se APTES využívá velmi často.

Nanovlákna (konkrétně křemičitá) funkcionalizovaná pomocí této látky je pak možno použít například jako obvazový materiál pro těžko se hojící rány. Poté co na ně navážeme antibiotikum (například tetracyklin) takto upravená nanovlákna jsou schopna antibiotikum v místě reakce opět uvolňovat [9].



*Obr. 8 – Schéma reakce triethoxysilanu s OH skupinami na povrchu křemičitého substrátu [17]*

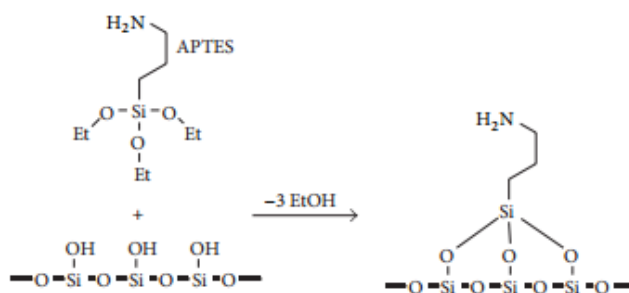
## 2.2 APTES



*Obr. 9 – Strukturní vzorec APTES*

Činidlo velmi často využívané pro dodání  $\text{NH}_2$  skupin, přes které se velmi dobře dají připojit další látky, na povrch nanovláken, je (3-Aminopropyl)triethoxysilan, neboli APTES. Jako rozpouštědlo se při reakcích používá ethanol, ve kterém je rozpustný.

Reaguje s OH skupinami vystupujícími z jejich povrchu a váže se na něj za uvolnění molekuly ethanolu. Aby však reakce proběhla, je nutné roztok okyselit [17].



**Obr. 10** – Funkcionalizace povrchu SiO<sub>2</sub> pomocí APTES [9]

Jak plyne z mechanismu reakce vyobrazeného na Obr. 10, schopnost povrchu nanovláken reagovat s APTES závisí na míře nasycení povrchu hydroxylovými skupinami nebo volnými radikály. Ty jsou také zodpovědné za zvýšenou hydrofilitu povrchu, a dále tak napomáhají silylaci, díky vyšší smáčivosti.

### 3 Povrchová úprava plazmatem

#### 3.1 Plazma

Plazma, také známé jako čtvrté skupenství hmoty, je směs delokalizovaných elektronů a kladných iontů (jeho celkový náboj je nulový, tzv. kvazineutralita), které tvoří většinu hmoty ve známém vesmíru. Lze jej generovat elektrickou, chemickou, termální i nukleární energií nebo elektromagnetickým zářením. Energie plazmatu se rychle ztrácí z důvodu vyzařování do okolí a kolizemi mezi jednotlivými částicemi, je tedy nutná kontinuální dodávka energie pro jeho udržení [28].

Dělí se na vysokoteplotní a nízkoteplotní, dále se dělí podle stupně ionizace a elektromagnetických vlastností. Vysokoteplotní vykazuje velmi vysokou hustotu energie a většinu látek (především organických) zničí, modifikovat s ním tedy lze jen tepelně stabilní anorganické materiály. Nízkoteplotní plazma se vykazuje, kromě nižší teploty, také nižším pohybem iontů, které dokonce můžeme považovat za statické. Kolize a jevy v nízkoteplotním plazmatu způsobuje tedy pouze pohyb elektronů. Zároveň v nízkoteplotním plazmatu existují velké gradienty veličin (tlak, teplota, koncentrace částic), zatímco ve vysokoteplotním jsou tyto hodnoty všude stejné [30].

#### 3.2 Využití plazmatu pro povrchovou úpravu látek

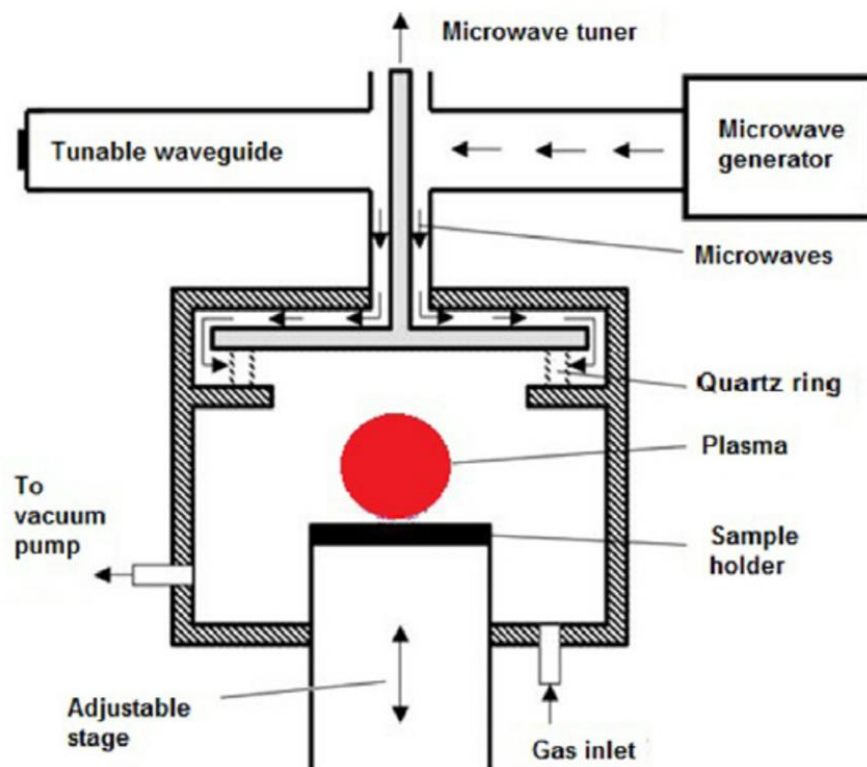
Plazma se pro úpravu povrchů používá jakožto šetrnější alternativa k chemické aktivaci. Jeho použití je rychlé, účinné a především nezpůsobuje degradaci povrchu. Také jde o čistý a suchý proces, který nevyžaduje použití katalyzátorů a rozpouštědel, které by mohly nanovláknům poškodit či znemožnit jejich využití z důvodu vlastní toxicity, především při biomedicíně využití, například jako scaffoldů pro růst buněk či krycích materiálů [23] [24].

Plazma samotné rozkládá stabilní molekuly na reaktivní částice, které jsou následně transportovány na povrch, kde dojde ke změně jeho vlastností, což je další z výhod plazmatické úpravy, neboť vlastnosti vnitřní struktury se nezmění, tudíž není nutné počítat například se změnou pevnosti, pružnosti či jiných vlastností upravovaného materiálu [32]. Jednou z možných metod plazmatické úpravy povrchu je úprava za využití mikrovlnného plazmatu (Obr. 11).

Některé procesy, které proběhnou na plazmatem upravovaných vzorcích, jsou vratné. Po čase může dojít k obnově původního stavu, nicméně takový proces obvykle trvá delší dobu. Například u experimentu s PVA, pektiny a jejich směsí [29] byla pozorována obnova hydrofobity, nicméně původních hodnot nebylo dosaženo ani po 44 dnech skladování. I přes to je samozřejmě nejvhodnější provést povrchovou úpravu bezprostředně po aktivaci plazmatem.

Zároveň, pokud bychom chtěli navázat na povrch nanovláken hydroxylové skupiny pomocí chemické aktivace, vyžadovalo by to velmi vysoké teploty, což je jednak energeticky náročné a zároveň by mohlo nanovláknům výrazně poškodit a znemožnit tak další využití [25]. Při úpravě těchto nanovláken pomocí plazmatu v kyslíkové atmosféře dochází k uchycení radikálů na povrch nanovláken a následné reakci se vzdušnou vlhkostí, která na povrchu vystaví hydroxylové skupiny. U dusíkové atmosféry dochází k podobnému jevu, kdy je dusík zabudován do struktury povrchu nanovláken (nitridace). U dusíkové atmosféry navíc záleží i na délce plazmatické úpravy, kdy delší doba úpravy znamená vyšší „nasyčení“ dusíkem [33].

Kromě aktivace povrchu se plazma využívá ještě například k leptání, polymeraci, potažení povrchu či k prosté sterilizaci [32]. Proces plazmatické aktivace probíhá podobně jako polymerace. Při aktivaci jsou vkládány na povrch funkční skupiny, zatímco u polymerace delší řetězce [24].



*Obr. 11 – Schéma úpravy povrchu mikrovlnným plazmatem[27]*

Hlavním a nejzřetelnějším důsledkem plazmatické aktivace křemičitých nanovláken je výrazné zvýšení jejich smáčivosti, z důvodu zvýšení počtu hydroxylových skupin vystavených na jejich povrchu [43].

## 4 Kvantifikace

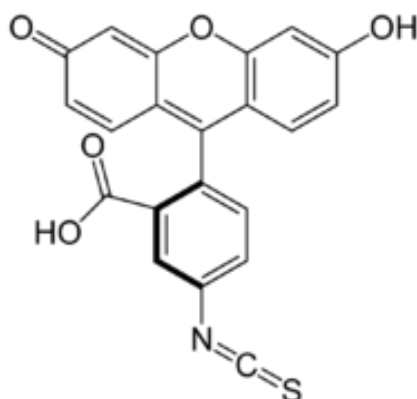
Pro kvantifikaci primárních aminoskupin je možné využít fluorescein isothiokyanát (FITC), na základě fluorescence, nebo methylovaný, na základě absorpce (či transmitance).

Metody založené na těchto dvou jevech využívají přímé úměry mezi koncentrací značkovací látky a veličinou, a tedy linearitu křivky, která jejich vztah popisuje. Z tohoto důvodu je možné sestavit na základě dvojic koncentrace – fluorescence (absorbance) s pomocí lineární regrese přímku, jež popisuje (s přesností danou veličinou  $R^2$ , přičemž hodnoty bližší k 1 znamenají vyšší spolehlivost) jejich vztah. Získaný vzorec je poté možné použít pro výpočty koncentrace s použitím změřené fluorescence (absorbance). U absorpce je možné využít Lambert-Beerův zákon [26], u kterého není nutná kalibrační řada a výpočet probíhá dosazením do vzorce (rovnice 1).

$$A = \varepsilon \cdot d \cdot C \quad (\text{Rovnice 1})$$

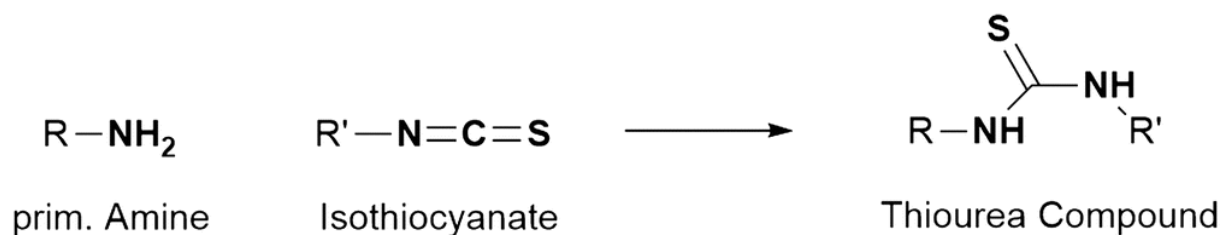
Kde  $A$  je bezrozměrná Absorbance,  $C$  ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) molární koncentrace,  $d$  (cm) tloušťka vrstvy a  $\varepsilon$  ( $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) molární absorpční koeficient dané látky.

## 4.1 Kvantifikace primárních aminoskupin pomocí FITC



*Obr. 12 – Molekula FITC*

Skupina  $N=C=S$  reaguje s  $NH_2$  skupinou za vzniku thiouretanu (Obr. 13).

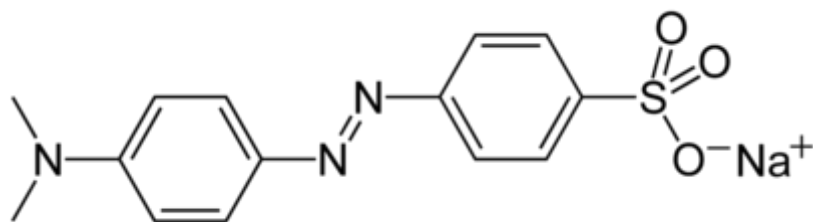


*Obr. 13 – Reakce primárního aminu s isothiokyanátem*

Thiouretanová vazba, která vzniká při reakci aminoskupiny a FITC, je velmi pevná, a nelze proto tuto látku od vláken „odtrhnout“. Jelikož fluorescenci v této metodě měříme nejlépe v pravém roztoku, je nezbytné vlákna rozpustit. Je vhodné k rozpuštění použít zásaditý roztok, neboť intenzita signálu FITC v neutrálním a kyselém prostředí rapidně klesá. Z tohoto důvodu není vhodné tuto metodu používat pro nanovlákná, která se nerozpouštějí v zásaditých látkách [22].

Samotná kvantifikace se provádí značením silylovaných nanovláken molekulami FITC z roztoku, odmytím jeho volné formy, rozpuštěním v zásaditém roztoku a následnou spektrofotometrickou analýzou, kde se měří fluorescence při frekvencích  $F_{ex}/F_{em} = 485/528$  Hz. Koncentraci lze spočítat z rovnice lineární regrese získané měřením fluorescence kalibrační řady roztoků FITC, u kterých je koncentrace známá.

## 4.2 Kvantifikace primárních aminoskupin pomocí methyloranže.



*Obr.14 – Molekula methyloranže*

Methyloranž je azobarvivo obvykle používané jako indikátor pH. Je možné ho použít i při kvantifikaci, především u kyselých roztoků, neboť nedochází k oslabení signálu jako u FITC.

Samotná kvantifikace se provádí značením silylovaných nanovláken roztokem methyloranže, odmytím její volné formy, přidáním zásaditého činidla (uhličitanu sodného) pro uvolnění methyloranže z vláken a následným měřením absorbance při  $\lambda = 465$  nm. Výpočet probíhá pomocí výše zmíněného Lambert-Beerova zákona.

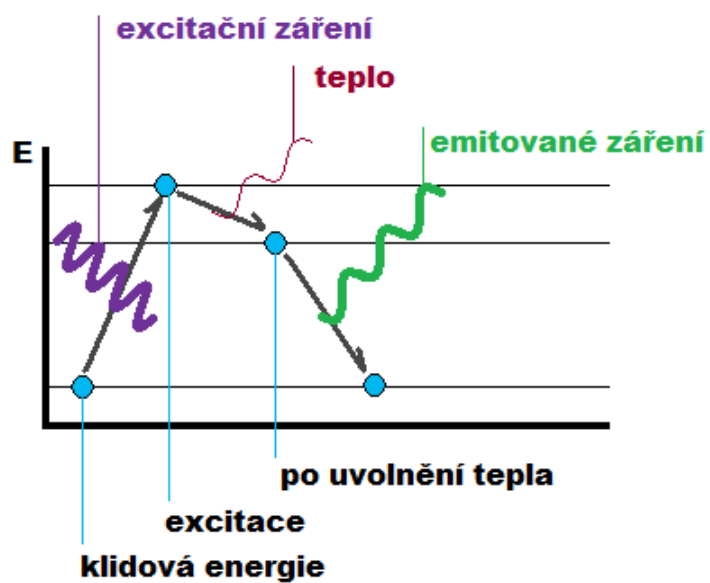
## 4.3 Fluorescence

Fluorescence je typ fotoluminiscence, který je vyvolaný účinkem dopadajícího záření nebo částic. Dochází k němu díky excitaci elektronů do energeticky bohatšího stavu v důsledku dopadajícího záření nebo částic a následného návratu do základní energetické hladiny za vyzáření fotonu o specifické vlnové délce, tzv. charakteristické emisní záření (Obr. 16). O fluorescenci jde, pokud k vyzáření dojde bezprostředně po excitaci [21]. Při využití pro kvantifikaci je nejdůležitějším jevem právě rozdíl mezi absorbovanou a vyzářenou vlnovou délkou, samozřejmě v určitém rozmezí daném použitým filtrem. Tohoto jevu se dále používá například v zářivkách k převedení UV záření výboje do viditelného spektra. Pro měření intenzity fluorescence a pro konstrukci kalibrační křivky byl použit přístroj Multiplate Reader Synergy HTX (Obr. 15).





*Obr.15 – Microplate Reader použitý k měření fluorescence/absorbance*



*Obr.16 – Schéma fluorescence*

## 5 Experimentální část

Experimentální fáze této práce byla rozdělena do dvou hlavních fází. V první fázi byla vždy stejným postupem silylována nanovlákná bezprostředně po plazmatické úpravě a byla hledána nejvhodnější kombinace atmosféra/čas plazmatické úpravy ve vztahu k efektivitě následné silylace nanovláken. Zároveň byl pro porovnání silylován i vzorek, který neprošel plazmatickou úpravou (označován jako BL, tedy Blank). Silylace probíhala pomocí APTES a navázané aminoskupiny byly kvantifikovány pomocí FITC.

V druhé fázi bylo několik vzorků nanovláken upraveno plazmatem a následně silylováno v různých časových rozestupech mezi samotnou úpravou a silylací. Cílem bylo zjistit, zda nedochází k výraznému poklesu množství aminoskupin dostupných na povrchu při delších časových odstupech (až do délky několika týdnů). Silylace a kvantifikace byla prováděna stejným postupem jako v první fázi, nicméně dodatečně byly vybrané vzorky kvantifikovány i pomocí methyloranže.

Dodatečně bylo několik vzorků nanovláken podrobena analýze úhlu smáčení (metodou přiléhající kapky), jak před plazmatickou úpravou, tak po ní. Dále byla prozkoumána morfologie povrchu některých vzorků na SEM (skenovací elektronový mikroskop), pro zjištění, zda po plazmatické aktivaci nedochází k poškození povrchu. Roztoky použité k promytí nanovláken po silylaci byly analyzovány metodou ICP, pro zjištění hodnot zbytkového křemíku.

### 5.1 Použité materiály a chemikálie

- Křemičitá nanovlákná šarže MO2/R6-857 2h/180°C a MO2/R6-856, TUL.
- 3 – aminopropyltriethoxysilan (APTES) 98%, Sigma Aldrich
- Fluoresceinizothiokyanát (FITC) >90%, Sigma Aldrich
- Methyloranz, sodná sůl, Lachema.
- Ethanol bezvodý, PENTA
- Kyselina octová 99%, PENTA
- Hydroxid sodný, PENTA
- Voda ultračistá, TUL

### 5.2 Použité metody

#### 5.2.1 Plazmatická úprava nanovláken

Nanovláknenné vrstvy na bázi oxidu křemičitého (o rozměrech 5x5 cm), stabilizovány při teplotě 180°C po dobu 2 hodin, byly upraveny mikrovlnným plazmatem při pokojové teplotě, tlaku 100 Pa, výkonu 800W a průtoku 500 sccm (0,5 l/m). Použité atmosféry a doby úprav jednotlivých vzorků jsou popsány níže. Mikrovlnné plazma bylo zvoleno z důvodu nejvyšší efektivity ve zvyšování silylačního potenciálu nanovláken.

### 5.2.2 Silylace nanovláken

Silylace jednotlivých vzorků probíhala v Petriho miskách, za pokojové teploty, po dobu jedné hodiny a za stálého promíchávání na třepačce v 10 ml silylačního roztoku. Silylační roztok byl připraven z 96% ethanolu (směs ethanolu a demineralizované vody). Samotný APTES tvořil 3% roztoku. Po jeho přidání bylo pH roztoku upravováno pomocí kyseliny octové na hodnotu 5-5,5. APTES je totiž silně zásaditý a reakce probíhá mechanismem kyselá hydrolyzy. Navíc by se vlákna v zásaditém roztoku rozpouštěla.

Silylační roztok byl poté odlit do odpadní nádoby a vlákna byla promyta 4x 10ml ethanolu, přičemž 2 poslední promývání trvaly 5 minut, opět na třepačce. Poté byla vlákna sušena při teplotě 110°C po dobu 30 minut na antiadhezní podložce. Takto připravené vzorky byly uchovávány v uzavřených Petriho miskách až do jejich kvantifikace.

### 5.2.3 Kvantifikace vázaných aminoskupin pomocí FITC

Stanovení aminoskupin na povrchu nanovláken pomocí fluorescein-isothiokyanátu (FITC) bylo prováděno následujícím postupem.

Z každého vzorku nanovláken bylo vyraženo pomocí kruhové raznice s průměrem 1 cm celkem 6 koleček, které byly rozděleny do 3 vzorků pro měření (Obvykle značených A, B, C). Vzorky byly následně zváženy a vloženy do tmavých zkumavek, do kterých byly poté přidány 2 ml značkovacího roztoku a vzorky byly ponechány na kývačce přes noc při pokojové teplotě.

Značkovací roztok byl vytvořen 25 násobným zředěním zásobního roztoku připraveného rozpuštěním FITC (o přibližné hmotnosti 0,0134 g, vždy byl použit čerstvý roztok, neboť FITC má sklony v rozpuštěném stavu degradovat) v 10 ml čistého Ethanolu.

Po obarvení byly vzorky promyty 4x 3ml ethanolu, přičemž poslední 2 promytí probíhala na kývačce po dobu 5 minut. Následně byl k vzorkům přidán 0,2 M roztok hydroxidu sodného a vzorky byly ponechány k rozpuštění přes noc, při pokojové teplotě na kývačce.

Kvantifikace samotná byla provedena měřením intenzity fluorescence při vlnových délkách 485 nm pro excitační záření a 528 nm pro emitované záření. Z roztoku vzniklého rozpuštěním nanovláken v hydroxidu sodném bylo vždy použito 200  $\mu$ l. Z každého roztoku byly na mikrotitrační destičku odebrány dva vzorky. Pro měření fluorescence vzorků i pro konstrukci kalibrační křivky byl použit přístroj Multiplate Reader Synergy HTX. Samotné koncentrace FITC byly získány pomocí výpočtu z rovnice lineární regrese kalibrační závislosti intenzity fluorescence na koncentraci FITC.

Pro výpočty byl použit následující postup. Fluorescence obou odebraných množství vzorku byla zprůměrována a přepočtena na koncentraci (cFITC) pomocí vzorce získaného z lineární regrese kalibrační řady, následně byla koncentrace přepočtena na látkové množství (nFITC) za předpokladu,

že toto látkové množství je rovno látkovému množství aminoskupin, neboť na jednu aminoskupinu se může připojit právě jedna molekula FITC. Látkové množství  $\text{NH}_2$  bylo nakonec vztahováno na hmotnosti jednotlivých vzorků (m).

#### 5.2.4 Kvantifikace vázaných aminoskupin pomocí Methylozanže

Pro tento kvantifikační postup byly připraveny vzorky stejným postupem jako pro FITC. Tyto vzorky byly umístěny do jamek 12-ti jamkových destiček a byly k nim přidány 2 ml roztoku methylozanže (0,05% methylozanž v 0,01M roztoku  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ). Barvení probíhalo po dobu 1h při pokojové teplotě na třepačce. Poté byly vzorky propláchnuty 5x 3ml vody, přičemž 3 poslední propláchnutí probíhala po dobu 5 minut na třepačce.

Uvolnění vázané methylozanže bylo dosaženo působením 2ml 0,1M uhličitanu sodného po dobu 30 minut. Následně bylo z každého vzorku odebráno 200  $\mu\text{l}$  do mikrotitrační destičky a byla proměřena absorbance při 465 nm.

Pro určení koncentrace uvolněné methylozanže byl použit Lambert-Beerův zákon. Kde  $A$  je bezrozměrná absorbance daného roztoku.  $\epsilon$  ( $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) je molární absorpční koeficient při dané vlnové délce (pro methylozanž v roztoku 0,1M uhličitanu sodného při 465 nm je jeho hodnota  $2,715\cdot 10^4$ ) a  $d$  (cm) je tloušťka proměřované vrstvy roztoku (zde 0,6 cm).

#### 5.2.5 Dodatečné analýzy

*Měření úhlu smáčení na přisedlé kapce* – Na vybrané vzorky byla nanесena kapka vody a byly zkoumány kontaktní úhly či jejich absence z důvodu rychlého vsáknutí kapky. Cílem bylo ověřit, že plazmatická úprava dodá nanovláknům hydrofilitu a zda bude tato hydrofilita zachována i v delších časových odstupech mezi úpravou a měřením.

*SEM (Skenovací elektronový mikroskop)* – Vybrané vzorky byly pokoveny slitinou zlata a platiny, aby byla zajištěna jejich elektrická vodivost, a následně analyzovány na mikroskopu TESCAN Vega 3 při různých zvětšeních. Především byly hledány známky poškození vláken při různé době plazmatické úpravy. Analýza probíhala při tlaku  $1,9\cdot 10^{-2}$  Pa, za 30 kV urychlovacího napětí a módu SE (sekundární elektrony). Maximální použité zvětšení bylo 50 000.

*ICP-MS (analýza stopových množství prvků pomocí spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem)* – Vzorky zbytku silylačního roztoku a ethanolu použitého k promytí nanovláken po silylaci byly odeslány na analýzu metodou ICP-MS a bylo zjišťováno množství zbytkového křemíku v těchto roztocích. Cílem bylo zjistit, zda byly přebytky roztoku APTES z nanovláken odstraněny, tedy v kterém kroku je proces promývání dostatečný.

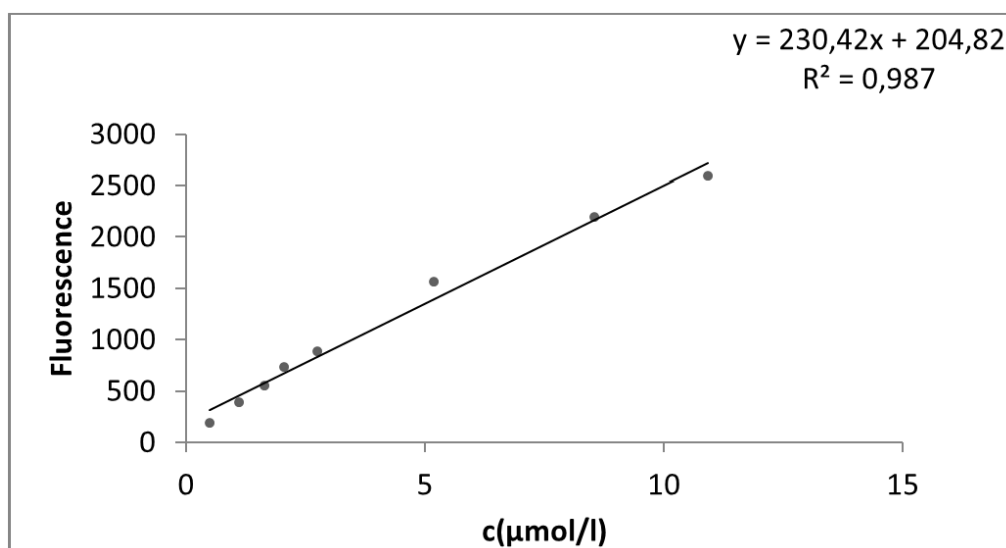
## 6 Výsledky měření a diskuze

### 6.1 Výpočet kalibrační řady pro FITC

Pro účely určení závislosti fluorescence na koncentraci FITC bylo namícháno 8 roztoků o známé koncentraci a byla změřena jejich Fluorescence, samotný vztah byl získán regresní analýzou této lineární závislosti.

*Tabulka 1 – Závislost fluorescence na koncentraci FITC*

c(μmol/l)	Fluorescence
10,912	2600
8,525	2203
5,18	1572
2,728	891
2,046	736
1,634	557
1,091	394
0,491	199



*Graf 1 - Závislost fluorescence na koncentraci FITC*

Lineární regresí byla získána rovnice kalibrační křivky:  $y = 230,42x + 204,82$  s  $R^2 = 0,987$ . Z této rovnice lze odvodit rovnici pro výpočet koncentrace FITC (Rovnice 2).

$$c = \frac{\text{Fluorescence} - 204,82}{230,42} \mu\text{mol/l} \quad (\text{Rovnice 2})$$

## 6.2 Fáze 1 – Efektivita různých kombinací atmosféry a doby plazmatické úpravy

Celkem bylo použito 10 vzorků (9+1 Blank). Blank, neboli slepý vzorek, před silylací neprošel plazmatickou úpravou. Byla zkoumána účinnost plazmatické úpravy při použití kyslíkové, dusíkové a vzduchové atmosféry při dobách úpravy 1 min, 2 min a 5 min. Přičemž byly testovány všechny možné kombinace. Pro následnou kvantifikaci byl použit FITC. Výsledky kvantifikace jsou uvedeny v tabulkách 2-5 a shrnuty v grafu 2.

U všech vzorků došlo k výraznému zvýšení silylačního potenciálu ve srovnání s Blank vzorkem. Procentuální hodnoty, o které se tento potenciál zvýšil, byly v rozmezí 226-418%. Nejlepšího výsledku (418% zvýšení) bylo dosaženo u kyslíkové atmosféry a  $t = 1$  min. Nejhoršího (226%) u vzduchové atmosféry a  $t = 5$  min.

Hlavním účelem této fáze bylo zjistit, zda je úprava ve vzduchové atmosféře srovnatelně efektivní jako úprava v čistě kyslíkové atmosféře, z důvodu „ekonomizace“ procesu. Bylo potvrzeno, že toto neplatí a úprava v kyslíkové atmosféře je výrazně účinnější i za minimální doby úpravy. Předpoklad, že s dobou plazmatické úpravy se bude zvyšovat i účinnost následné silylace, se nepotvrdil. Pouze u dusíku byla v tomto ohledu vzestupná tendence, z důvodu závislosti času úpravy na nasycení povrchu dusíkem [33]. Vzduchová atmosféra vykazala podobné výsledky jako dusíková. Předpokládaným důvodem nižší efektivity při delší úpravě u kyslíkové a vzduchové atmosféry je poškození vláken při prodlouženém vystavení plazmatu.

**Tabulka 2 – Výsledky kvantifikace aminoskupin na povrchu Si-nanovláken ošetřených plazmatem v kyslíkové atmosféře, po dobu 1, 2 a 5 min.**

	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>O2 1 min</b>	3420	3456	3438	3,6	14,031681	0,00421	1,169444		
	3422	3123	3422	3,7	13,962243	0,00419	1,132432	1,156181	0,016831
	3417	3451	3434	3,6	14,014322	0,0042	1,166667		
<b>O2 2 min</b>	2977	3002	2990	3,3	12,087406	0,00363	1,1		
	3062	3093	3078	3,3	12,469317	0,00374	1,133333	1,113072	0,014527
	3161	3018	3090	3,4	12,521396	0,00376	1,105882		
<b>O2 5 min</b>	2640	2558	2599	3,3	10,390504	0,00312	0,945455		
	2837	2858	2848	3,4	11,471114	0,00344	1,011765	0,975936	0,027334
	2746	2736	2741	3,4	11,00677	0,0033	0,970588		

**Tabulka 3 – Výsledky kvantifikace aminoskupin na povrchu Si-nanovláken ošetřených plazmatem v atmosféře dusíku, po dobu 1, 2 a 5 min.**

	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>N2 1 min</b>	2358	2374	2366	3,8	9,3793074	0,00281	0,739474		
	2333	2386	2359,5	3,7	9,351098	0,00281	0,759459	0,726995	0,032811
	2244	2259	2251,5	3,9	8,8823887	0,00266	0,682051		
<b>N2 2 min</b>	2631	2608	2619,5	3,6	10,479472	0,00314	0,872222		
	2521	2571	2546	3,6	10,16049	0,00305	0,847222	0,896958	0,053639
	2790	2842	2816	3,5	11,332263	0,0034	0,971429		
<b>N2 5 min</b>	2827	2824	2825,5	3,7	11,373492	0,00341	0,921622		
	2770	2811	2790,5	3,1	11,221595	0,00337	1,087097	0,999781	0,067864
	2638	2643	2640,5	3,2	10,57061	0,00317	0,990625		

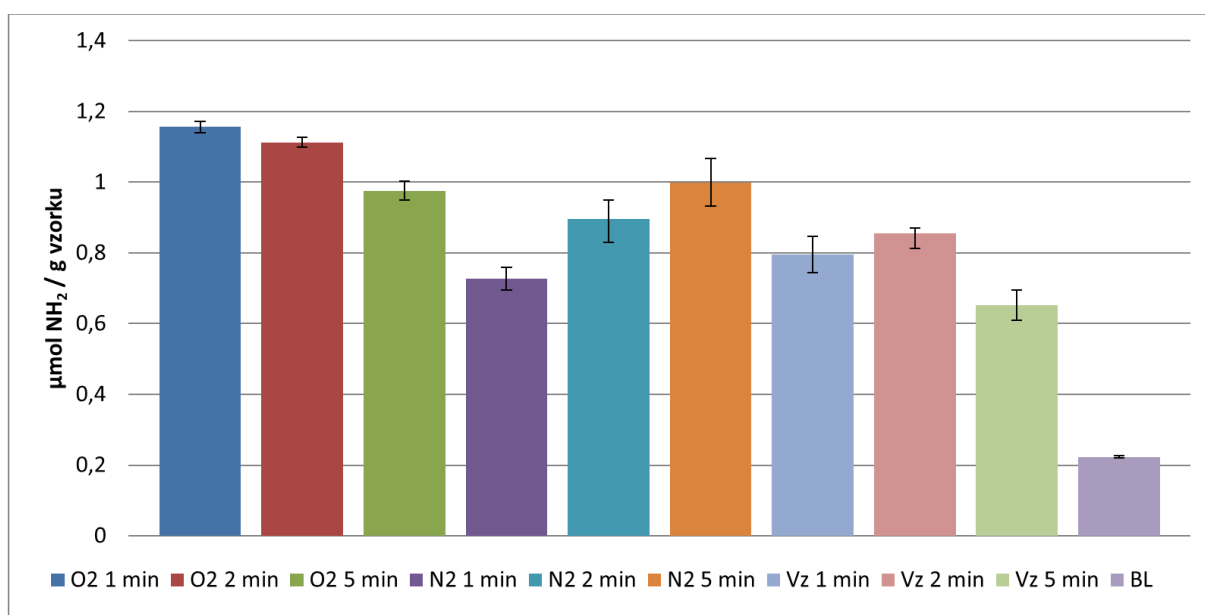
**Tabulka 4 – Výsledky kvantifikace aminoskupin na povrchu Si-nanovláken ošetřených plazmatem v atmosféře vzduchu, po dobu 1, 2 a 5 min.**

	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>Vz 1 min</b>	2648	2018	2333	3,3	9,2360906	0,00277	0,839394		
	2484	2486	2485	3,6	9,8957556	0,00297	0,825	0,796239	0,05119
	2232	2296	2264	3,7	8,9366374	0,00268	0,724324		
<b>Vz 2 min</b>	1894	2750	2322	3,3	9,1883517	0,00276	0,836364		
	2204	2239	2221,5	3	8,7521917	0,00263	0,876667	0,854881	0,016615
	2193	2265	2229	3,1	8,7847409	0,00264	0,851613		
<b>Vz 5 min</b>	2326	2331	2328,5	4	9,2165611	0,00276	0,69		
	2015	2042	2028,5	4	7,9145907	0,00237	0,5925	0,652262	0,042742
	2025	2013	2019	3,5	7,8733617	0,00236	0,674286		

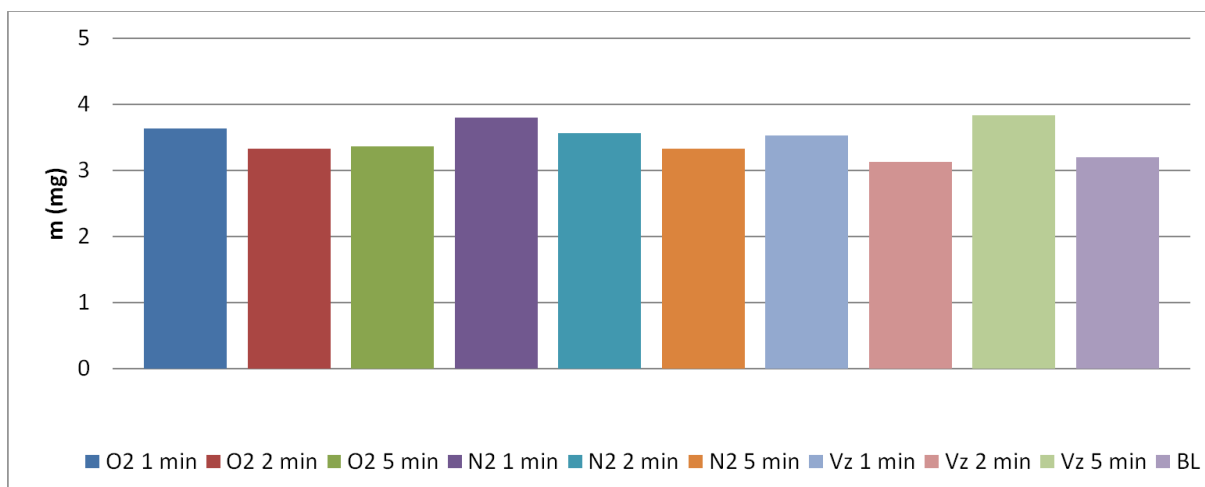
*Tabulka 5 – Kvantifikace aminoskupin u vzorku Si-nanovláken upravených silylací bez předchozího ošetření plazmatem*

	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
BL	746	745	745,5	3,1	2,3464977	0,0007	0,225806		
	762	761	761,5	3,2	2,4159361	0,00072	0,225	0,222996	0,00342
	760	1004	760	3,3	2,4094263	0,00072	0,218182		

Červená čísla byla z výpočtů vyřazena, neboť se patrně jednalo o hrubé chyby v měření.



*Graf 2 - Vliv plazmatické aktivace povrchu na efektivitu funkcionalizace křemičitých nanovláken pomocí APTES*



*Graf 3 - Hmotnosti jednotlivých vzorků použitých při měření*



Graf hmotností jednotlivých vzorků je zde uveden pro srovnání, zda nebyly výsledky experimentu výrazně ovlivněny odlišnostmi v plošné hmotnosti vzorků. Z grafů není patrná žádná spojitost, dá se tedy předpokládat, že výsledky ovlivněny nebyly. Také je zřejmé, že vzorky jsou si hmotnostně blízké a rozdíl v jejich hmotnosti nevnáší do výsledků chybu

### **6.3 Fáze 2 – Vliv času mezi úpravou a silylací na její účinnost - FITC**

Celkem bylo použito 14 vzorků: 13 vzorků + Blank. Blank, neboli slepý vzorek, neprošel plazmatickou úpravou. Bylo zkoumáno, zda bude účinnost silylace zachována při různých časových odstupech mezi samotnou plazmatickou úpravou a silylací, od 5 minut do 7 dnů. Podmínky byly shodné jako v první fázi, použita byla kyslíková atmosféra a doba aktivace byla 1 minuta. Tyto podmínky byly zvoleny na základě výsledků optimalizace procesu popsaných výše. Výsledky kvantifikace jsou uvedeny v tabulkách 6-9 a shrnuty v grafu 4.

U vzorků se neobjevil žádný znatelný pokles účinnosti silylace, některé vzorky sice vykazovaly velkou odchylku od průměru, ale především poslední dva (14 a 21 dní) měly prakticky stejný výsledek. Zároveň bylo pomocí slepého vzorku potvrzeno, že možnost silylace se při daném postupu výrazně zvýšila.

Předpokládalo se, že pokles bude nezřetelný, případně žádný, především z důvodu, že vysoká smáčivost nanovláken, tedy jev, který je důsledkem stejné vlastnosti upravených nanovláken, tedy vysokého počtu hydroxylových skupin na jejich povrchu, přetrvává velmi dlouho od úpravy, až několik let. Tento předpoklad se potvrdil, i když pouze částečně, neboť maximální zkoumaná prodleva bylo 21 dní.

Nicméně, je nutno podotknout, že celkové množství aminoskupin může být větší, neboť molekula FITC je relativně velká a může svou přítomností zablokovat několik aminoskupin najednou. Proto je nutné mít v patrnosti, že tato kvantifikační metoda slouží pouze jako relativní, případně může poskytnout informaci o množství aminoskupin, které by mohly být na povrchu materiálu využitelné pro navázání molekul podobné velikosti jako FITC.

**Tabulka 6 – Výsledky kvantifikace aminoskupin u vzorků s časovým odstupem mezi plazmatickou úpravou a silylací o délce 5 minut, 23 minut a 40 minut**

	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>5 min</b>	2683	2777	2730	3,4	10,959031	0,00329	0,967647		
	2747	2716	2731,5	3,3	10,965541	0,00329	0,99697	0,966301	0,025608
	2688	2744	2716	3,5	10,898273	0,00327	0,934286		
<b>23 min</b>	1995	2095	2045	3,3	7,9861991	0,0024	0,727273		
	2032	2076	2054	3,3	8,0252582	0,00241	0,730303	0,721212	0,010785
	1957	2032	1995	3,3	7,7692041	0,00233	0,706061		
<b>40 min</b>	2739	2681	2710	3,3	10,872233	0,00326	0,987879		
	2625	2656	2641	3,3	10,57278	0,00317	0,960606	0,959596	0,023516
	2497	2621	2559	3,3	10,216908	0,00307	0,930303		

**Tabulka 7 – Výsledky kvantifikace aminoskupin u vzorků s časovým odstupem mezi plazmatickou úpravou a silylací o délce 60 minut, 2 hodiny a 3 hodiny**

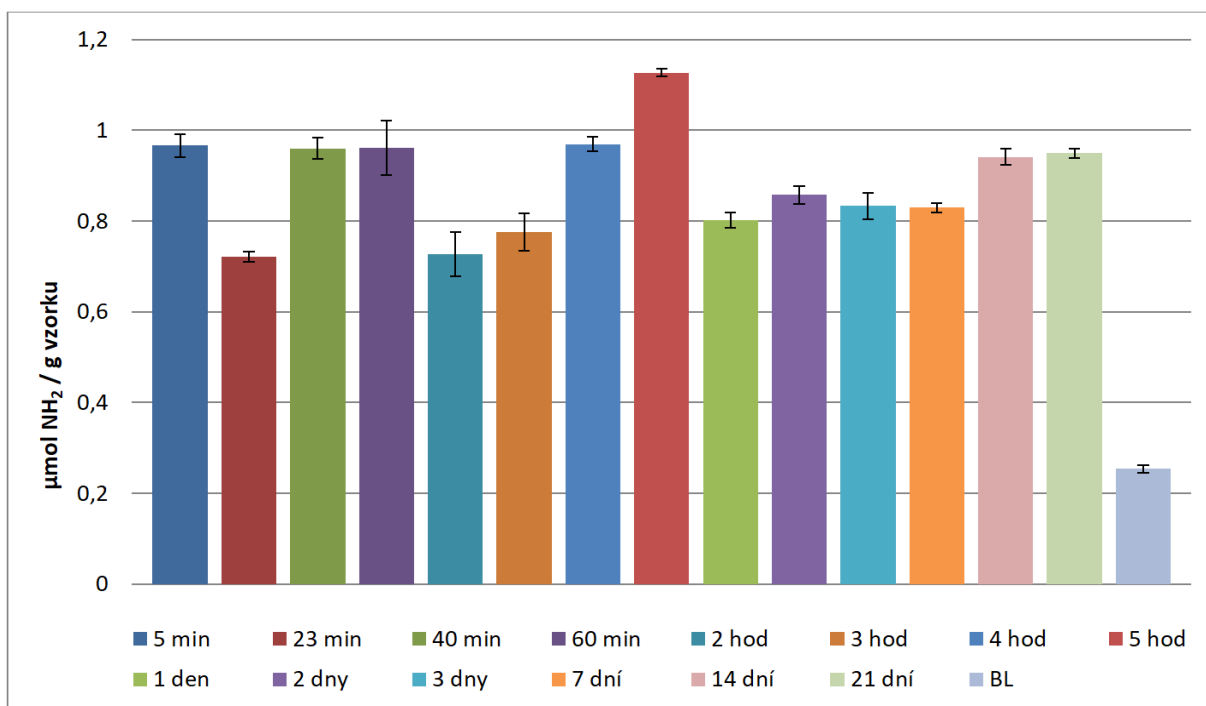
	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>60 min</b>	2627	2726	2676,5	3,3	10,726847	0,00322	0,975758		
	2442	2441	2441,5	3,3	9,7069699	0,00291	0,881818	0,961616	0,060218
	2824	2788	2806	3,3	11,288864	0,00339	1,027273		
<b>2 hod</b>	2051	2087	2069	3,2	8,0903567	0,00243	0,759375		
	1777	1770	1773,5	3,1	6,807916	0,00204	0,658065	0,726924	0,048718
	1969	1959	1964	3	7,6346671	0,00229	0,763333		
<b>3 hod</b>	2090	2184	2137	3,5	8,38547	0,00252	0,72		
	2116	2173	2144,5	3,2	8,4180193	0,00253	0,790625	0,775585	0,04066
	2155	2141	2148	3,1	8,4332089	0,00253	0,816129		

**Tabulka 8 – Výsledky kvantifikace aminokupin u vzorků s odstupem mezi plazmatickou úpravou a silylací o délce 4 hodiny, 5 hodin a 1 den**

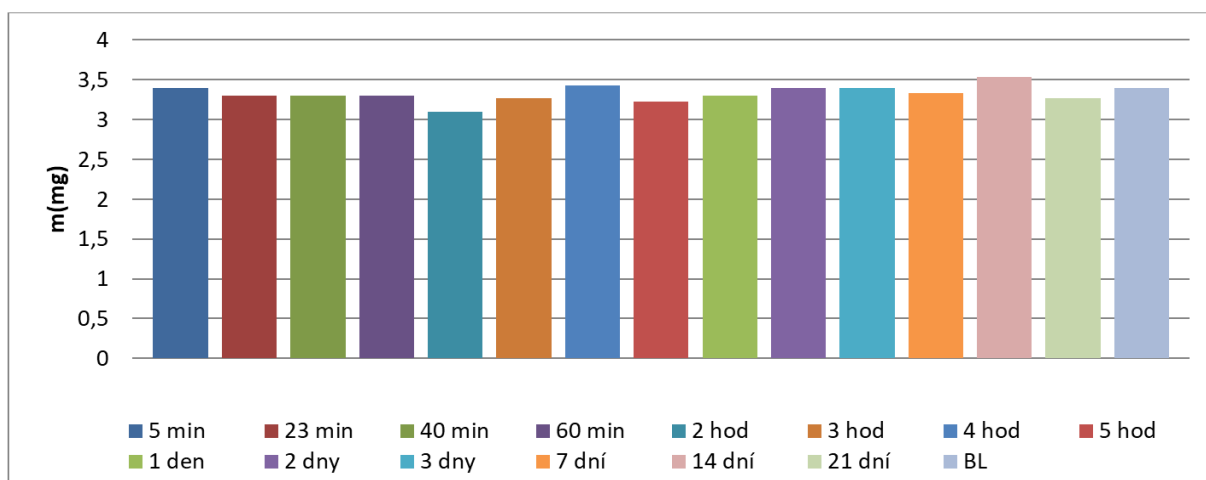
	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>4 hod</b>	2729	2854	2791,5	3,4	11,225935	0,00337	0,991176		
	2503	2892	2697,5	3,4	10,817985	0,00325	0,955882	0,96902	0,015757
	2865	2711	2788	3,5	11,210746	0,00336	0,96		
<b>5 hod</b>	3047	3143	3095	3,3	12,543095	0,00376	1,139394		
	2945	2967	2956	3,2	11,939849	0,00358	1,11875	1,126673	0,009085
	2969	2950	2959,5	3,2	11,955039	0,00359	1,121875		
<b>1 den</b>	2277	2255	2266	3,3	8,9453172	0,00268	0,812121		
	2284	2252	2268	3,3	8,953997	0,00269	0,815152	0,80202	0,016474
	2178	2182	2180	3,3	8,5720858	0,00257	0,778788		

**Tabulka 9 - Vzorky s časovým odstupem mezi plazmatickou úpravou a silylací o délce 14 dní a 21 dní, plus Blank vzorek**

	A	B	Průměr	m(mg)	cFITC(μM)	nFITC(μmol)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>14 dní</b>	2698	2878	2788	3,5	11,210746	0,00336	0,96		
	2706	2795	2750,5	3,5	11,047999	0,00331	0,945714	0,940794	0,01803
	2686	2791	2738,5	3,6	10,99592	0,0033	0,916667		
<b>21 dní</b>	2539	2602	2570,5	3,2	10,266817	0,00308	0,9625		
	2633	2681	2657	3,4	10,642219	0,00319	0,938235	0,949203	0,010042
	2519	2549	2534	3,2	10,108411	0,00303	0,946875		
<b>BL</b>	891	947	919	3,5	3,0994705	0,00093	0,265714		
	858	842	850	3,4	2,8000174	0,00084	0,247059	0,253753	0,008478
	831	836	833,5	3,3	2,728409	0,00082	0,248485		



**Graf 4** - Vliv délky časového odstupu mezi plazmatickou úpravou a silylací na efektivitu úpravy (FITC)



**Graf 5** - Hmotnosti jednotlivých vzorků použitých při měření

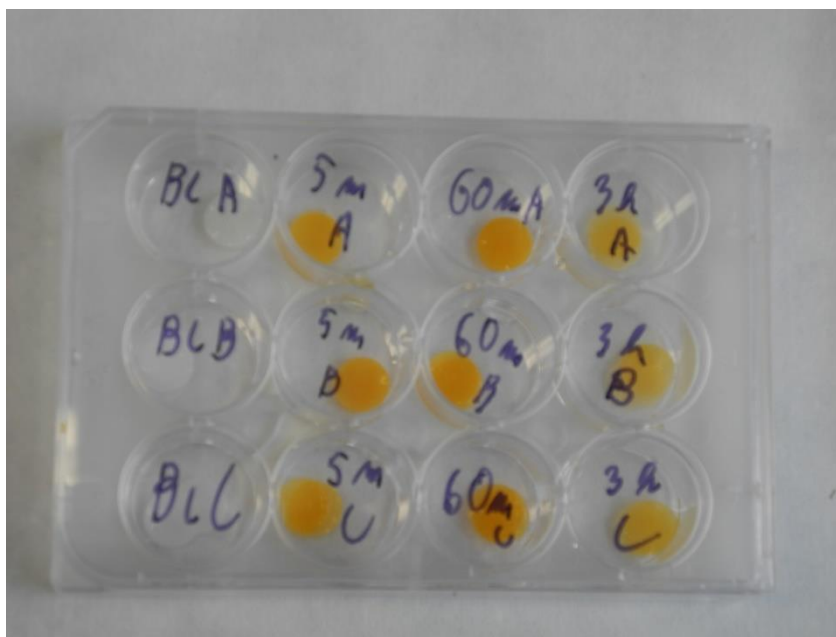
Graf hmotností jednotlivých vzorků je zde opět uveden pro srovnání, zda nebyly výsledky experimentu výrazně ovlivněny odlišnostmi v plošné hmotnosti vzorků. Z grafů není patrná žádná spojitost, dá se tedy předpokládat, že výsledky ovlivněny nebyly. Také je zřejmé, že vzorky jsou si hmotnostně blízké a rozdíly v jejich hmotnosti nevnášejí do výsledků chybu.

## 6.4 Fáze 2– Vliv času mezi úpravou a silylací na její účinnost – Methyloranž

U části vzorků byla znovu změřena účinnost silylace, tentokrát s použitím methyloranže. Bylo použito 8 vzorků + 1 blank vzorek. Blank, neboli slepý vzorek, neprošel plazmatickou úpravou. U ostatních plazmatická úprava opět probíhala v kyslíkové atmosféře po dobu 1 minuty. Výsledky kvantifikace jsou uvedeny v tabulkách 10-11 a shrnuty v grafu 6. Graf 8 je poté srovnáním výsledků získaných oběma metodami.

Stejně jako u měření pomocí FITC zde není patrný žádný pokles, nicméně rozptyl hodnot je mnohem vyšší než u měření pomocí FITC, navíc změřené hodnoty jsou nižší, nicméně tento rozdíl se dá očekávat, obě metody jsou pouze relativní. Blank vzorek v tabulkách a grafu chybí, neboť při měření absorbance vykazoval pouze hodnotu rozpouštědlového pozadí, což znamená, že se na něj žádná methyloranž nezachytila nebo se zachytilo jen minimální množství.

Účelem tohoto měření bylo především ověřit výsledky předchozího měření, a to především co se týče trendu naměřených hodnot. Bylo ověřeno, že naměřené hodnoty, přestože byly nižší než u měření pomocí FITC, si zachovaly stejný trend.



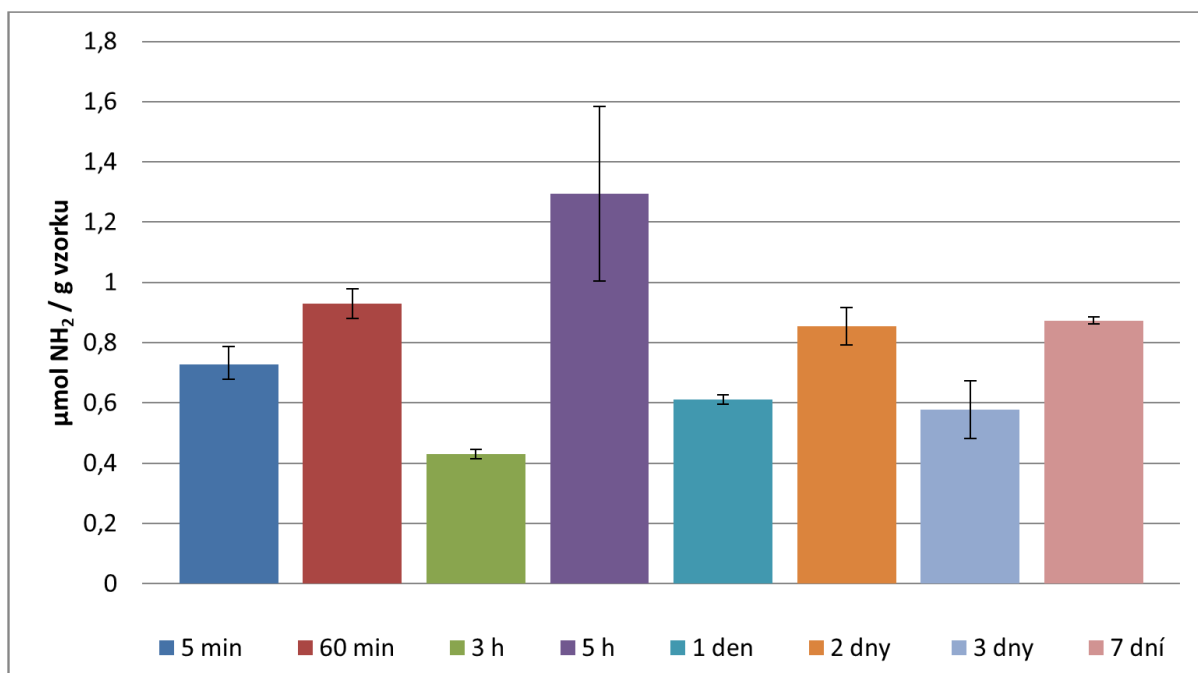
*Obr. 17 – Vzorky obarvené pomocí methyloranže*

**Tabulka 10 - Výsledky kvantifikace aminoskupin u vzorků s časovým odstupem mezi plazmatickou úpravou a silylací o délce 5 minut, 60 minut, 3 hodiny a 5 hodin**

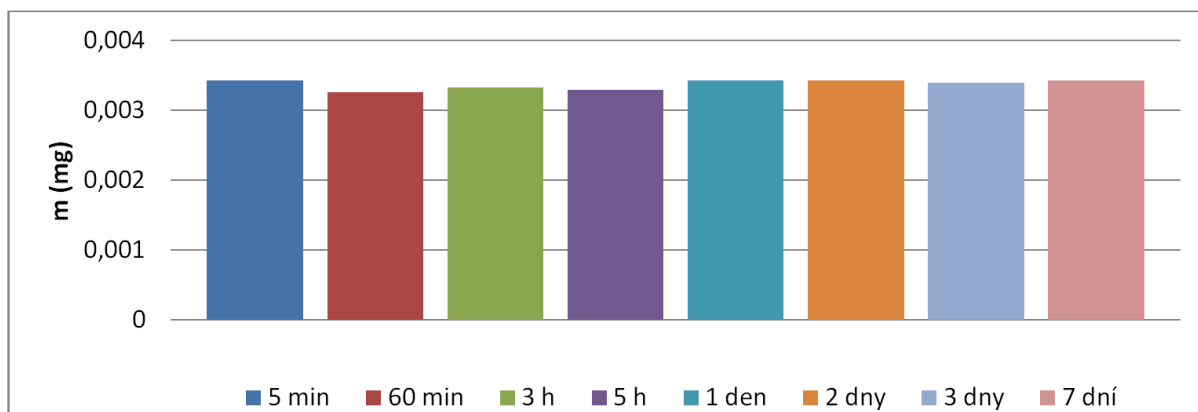
	A	B	Průměr	c (mol/l)	n (mol)	m (g)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>5 min</b>	0,232	0,225	0,2285	1,20232E-05	2,40463E-09	0,0034	0,707244		
	0,268	0,27	0,269	1,41542E-05	2,83083E-09	0,0035	0,80881	0,726655	0,060726
	0,216	0,213	0,2145	1,12865E-05	2,2573E-09	0,0034	0,663912		
<b>60 min</b>	0,3	0,305	0,3025	1,59169E-05	3,18337E-09	0,0033	0,964658		
	0,269	0,271	0,27	1,42068E-05	2,84136E-09	0,0033	0,861017	0,929746	0,048601
	0,29	0,296	0,293	1,5417E-05	3,0834E-09	0,0032	0,963562		
<b>3 h</b>	0,133	0,131	0,132	6,94554E-06	1,38911E-09	0,0034	0,408561		
	0,137	0,139	0,138	7,26125E-06	1,45225E-09	0,0033	0,440076	0,431165	0,016102
	0,141	0,138	0,1395	7,34017E-06	1,46803E-09	0,0033	0,444859		
<b>5 h</b>	0,31	0,313	0,3115	1,63904E-05	3,27808E-09	0,0033	0,993359		
	0,527	0,529	0,528	2,77822E-05	5,55643E-09	0,0033	1,683767	1,294184	0,288761
	0,376	0,38	0,378	1,98895E-05	3,9779E-09	0,0033	1,205424		

**Tabulka 11 - Výsledky kvantifikace aminoskupin u vzorků s časovým odstupem mezi plazmatickou úpravou a silylací o délce 1 dne, 2 dnů, 3 dnů a 7 dní**

	A	B	Průměr	c (mol/l)	n (mol)	m (g)	μmol NH <sub>2</sub> / g vzorku	Průměr (μmol / g)	Odchylka (μmol / g)
<b>1 den</b>	0,189	0,193	0,191	1,005E-05	2,01E-09	0,0034	0,591176		
	0,206	0,207	0,2065	1,08656E-05	2,17311E-09	0,0035	0,620889	0,611913	0,014708
	0,204	0,199	0,2015	1,06025E-05	2,12049E-09	0,0034	0,623675		
<b>2 dny</b>	0,301	0,324	0,3125	1,6443E-05	3,28861E-09	0,0035	0,939602		
	0,255	0,257	0,256	1,34701E-05	2,69403E-09	0,0034	0,792361	0,853822	0,062522
	0,273	0,263	0,268	1,41016E-05	2,82031E-09	0,0034	0,829503		
<b>3 dny</b>	0,172	0,175	0,1735	9,12918E-06	1,82584E-09	0,0034	0,53701		
	0,218	0,228	0,223	1,17338E-05	2,34675E-09	0,0033	0,711137	0,577911	0,096516
	0,162	0,161	0,1615	8,49776E-06	1,69955E-09	0,0035	0,485586		
<b>7 dní</b>	0,286	0,288	0,287	1,51013E-05	3,02026E-09	0,0034	0,888311		
	0,275	0,28	0,2775	1,46014E-05	2,92028E-09	0,0034	0,858907	0,873558	0,012004
	0,286	0,295	0,2905	1,52855E-05	3,05709E-09	0,0035	0,873454		

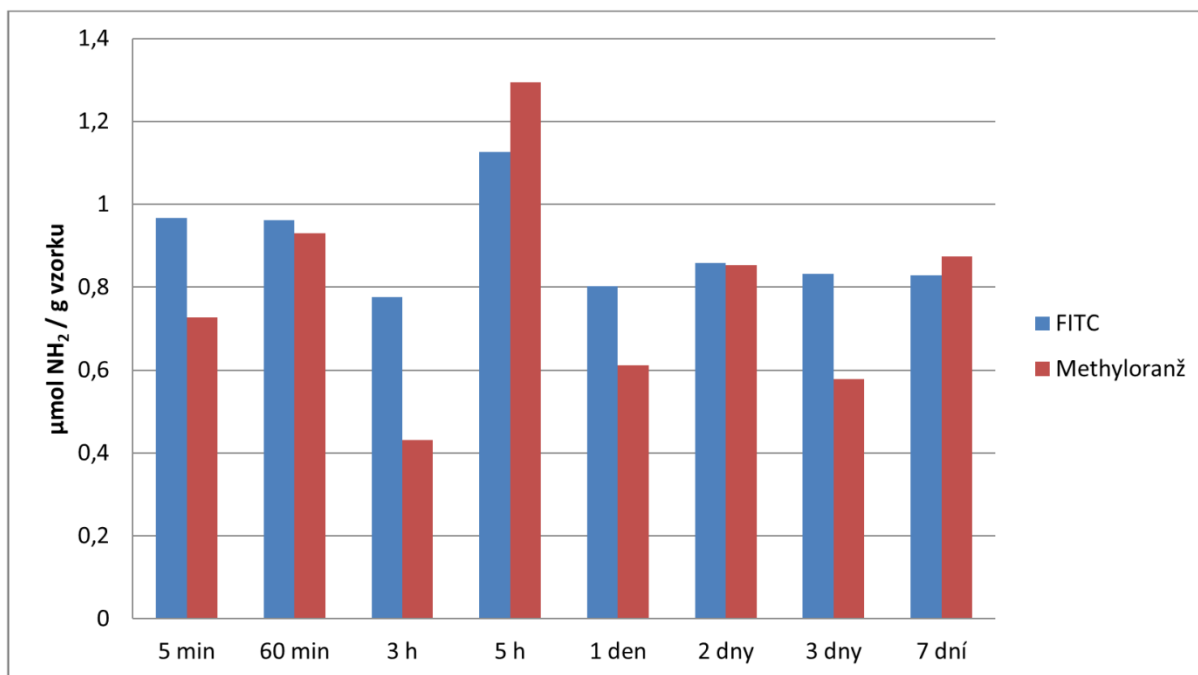


**Graf 6** - Vliv délky časového odstupu mezi plazmatickou úpravou a sílylací na efektivitu úpravy (methyloranž)



**Graf 7** - Hmotnosti jednotlivých vzorků použitých při měření

Graf hmotností jednotlivých vzorků je zde opět uveden pro srovnání, zda nebyly výsledky experimentu výrazně ovlivněny odlišnostmi v plošné hmotnosti vzorků. Z grafů není patrná žádná spojitost, dá se tedy předpokládat, že výsledky ovlivněny nebyly. Také je zřejmé, že vzorky jsou si hmotnostně blízké a rozdíly v jejich hmotnosti nevnáší do výsledků chybu.



*Graf 8 – Srovnání obou kvantifikačních metod*

## 6.5 Dodatečné analýzy

### 6.5.1 Analýza kapkou

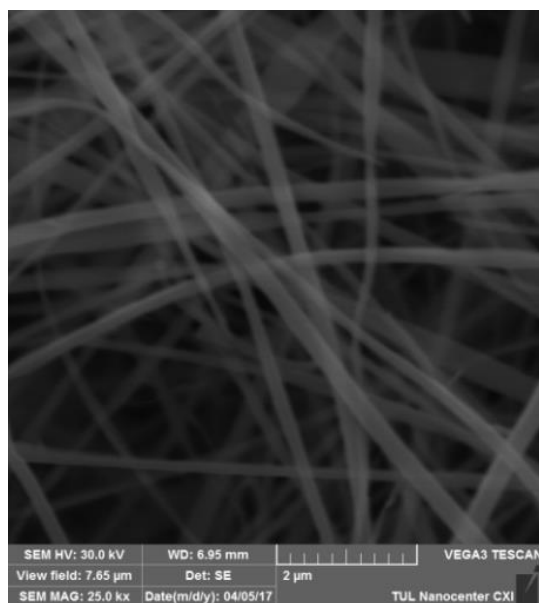
Měřitelná kapka se vytvořila pouze na neopracovaném vzorku. U všech ostatních, nezávisle na atmosféře či na době úpravy, došlo k jejímu okamžitému vsáknutí, což ukazuje, že všechny vzorky se staly velmi hydrofilními. Tato vlastnost byla zachována i při delších prodlevách mezi úpravou a experimentem.

### 6.5.2 Analýza SEM

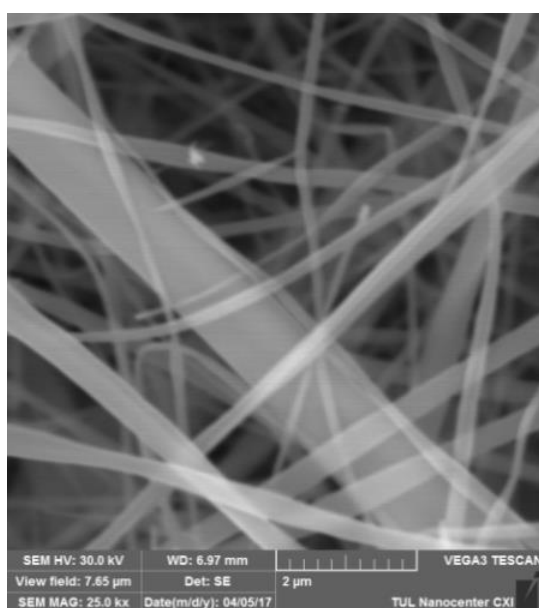
Celkem bylo analyzováno 5 vzorků. Blank vzorek, který neprošel plazmatickou úpravou, 2 nesilylované vzorky upravené plazmatem ve vzduchové atmosféře po dobu 1 a 10 minut, nesilylovaný vzorek upravený v kyslíkové atmosféře po dobu 5 minut a silylovaný vzorek upravený v kyslíkové atmosféře po dobu 1 minuty.

Žádný ze vzorků se nejevil poškozený (například popraskaný). Délka úpravy neměla vliv na vzhled vláken. Jediný rozdíl je ve světlosti jednotlivých vzorků. Vzorky, které byly upraveny v kyslíkové atmosféře, se zdají být světlejší než ty, jež byly upravené ve vzduchové, přičemž rozdíl je jasně patrný především u vzorku, který byl upravován po dobu pěti minut, nicméně to je s největší pravděpodobností způsobeno výraznějším pokovením daných vzorků, případně nastavením parametrů snímání mikroskopu. Dva snímky, kde se objevuje tento rozdíl, jsou uvedeny níže, zbytek snímků je v příloze.





*Obr. 18 – Vz 10 min, nesilylovaný, 25 000x zvětšení*



*Obr. 19 – O<sub>2</sub> 5 min, silylovaný, 25 000x zvětšení*

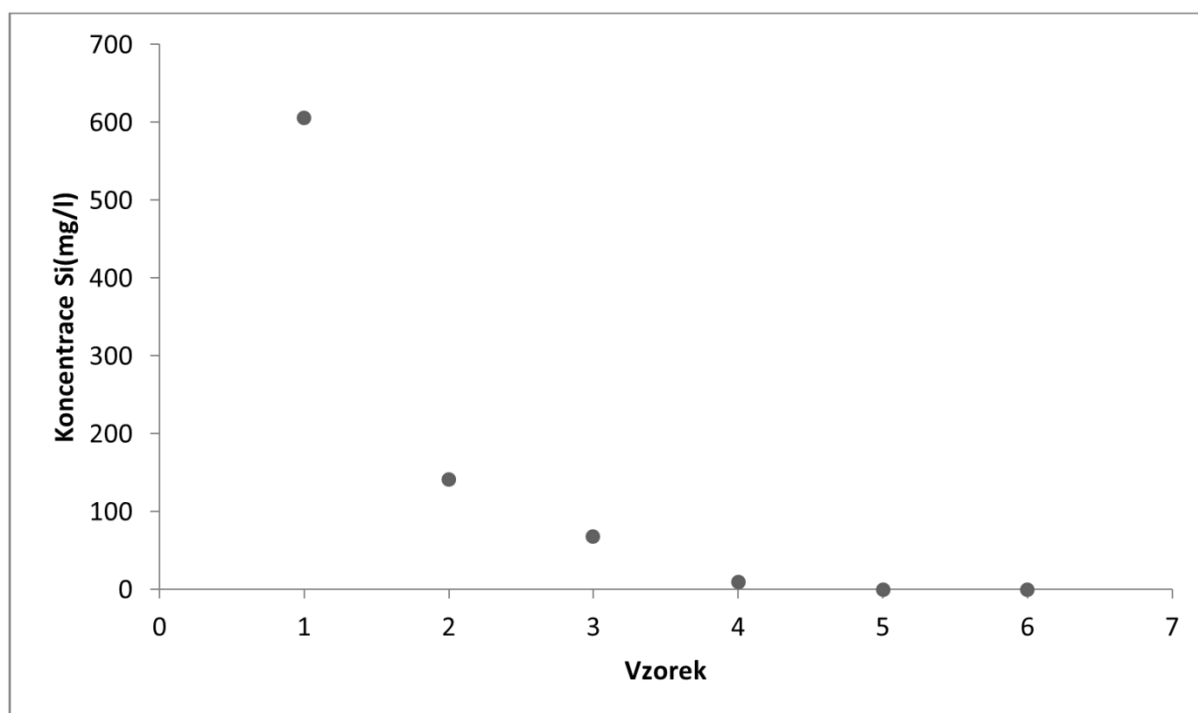
### 6.5.3 Analýza ICP

Pro tuto analýzu byl použit vzorek nanovláken, který před silylací nepodstoupil plazmatickou úpravu povrchu. Po silylací následovalo celkem 6 promytí, každé vždy 10 ml ethanolu, přičemž poslední 4 promytí probíhala na třepačce po dobu 5 minut. Celkem tedy bylo realizováno o 2 více promývacích kroků než při samotných experimentech.

V roztocích, které byly použity k oněm dvěma dodatečným promytím, bylo zjištěno zanedbatelné množství křemíku. Postup promývání k odstranění přebytečného APTES, použitý při experimentech, byl tedy dostačující.

*Tabulka 12 – Výsledky analýzy zbytkového křemíku v promývacích roztocích metodou ICP*

Vzorek	csi(mg/l)
1	606
2	142
3	68,6
4	9,4
5	< 1
6	< 1



*Graf 9 - Koncentrace zbytkového křemíku v promývacích roztocích*

## Závěr

V experimentální části byla provedena úprava křemičitých nanovláken působením mikrovlnného plazmatu a jejich následná úprava silylací pomocí 3-aminopropyltriethoxysilanu (APTES). Snahou byla optimalizace postupu kombinujícího obě úpravy s cílem zajištění zvýšené efektivity povrchové funkcionalizace pomocí aminoskupin. Proměnnými parametry byly v první fázi doba plazmatické úpravy a použitá atmosféra, v druhé pak doba mezi samotnou aktivací a silylací. Koncentrace aminoskupin byla kvantifikována navázáním fluorescein iso-thiokyanátu (FITC), resp. methylovaného a následnou spektrofotometrickou analýzou.

Při zkoumání vlivu atmosféry a doby úpravy bylo zjištěno, že nejoptimálnějšího výsledku bylo dosaženo při použití kyslíkové atmosféry po dobu jedné minuty. Nejhorší výsledek byl při použití vzduchové atmosféry po dobu pěti minut, kde byl nárůst ve srovnání s použitím kyslíkové atmosféry výrazně nižší, stejně tak při úpravě ve vzduchové atmosféře probíhající po krátkou dobu.

Při zkoumání doby, po kterou si plazmatem upravené vzorky uchovají svůj zvýšený potenciál pro následnou silylací, bylo zjištěno, že účinek plazmatu přetrvává po dlouhou dobu bez poklesu.

Předmětem dalšího studia vedoucího k aplikaci nanovláken upravených plazmatem v biomedicíně by mělo být testování jejich biokompatibility, případně reálné aplikační aktivity, tedy například testování účinku tohoto typu nanovláken s antibiotiky. Dále by bylo vhodné otestovat vliv dalších faktorů na účinnost procesu, například kontaktu nanovláken s jinými předměty v době mezi plazmatickou úpravou a silylací, ke které může dojít. Vhodné by taky bylo provést stejné experimenty za použití mikrovláken, jejichž výroba je podstatně levnější a diskutovat, zda předpokládaná vyšší schopnost takto upravených nanovláken imobilizovat na svém povrchu účinné látky převáží jejich vyšší cenu.

## Seznam použité literatury

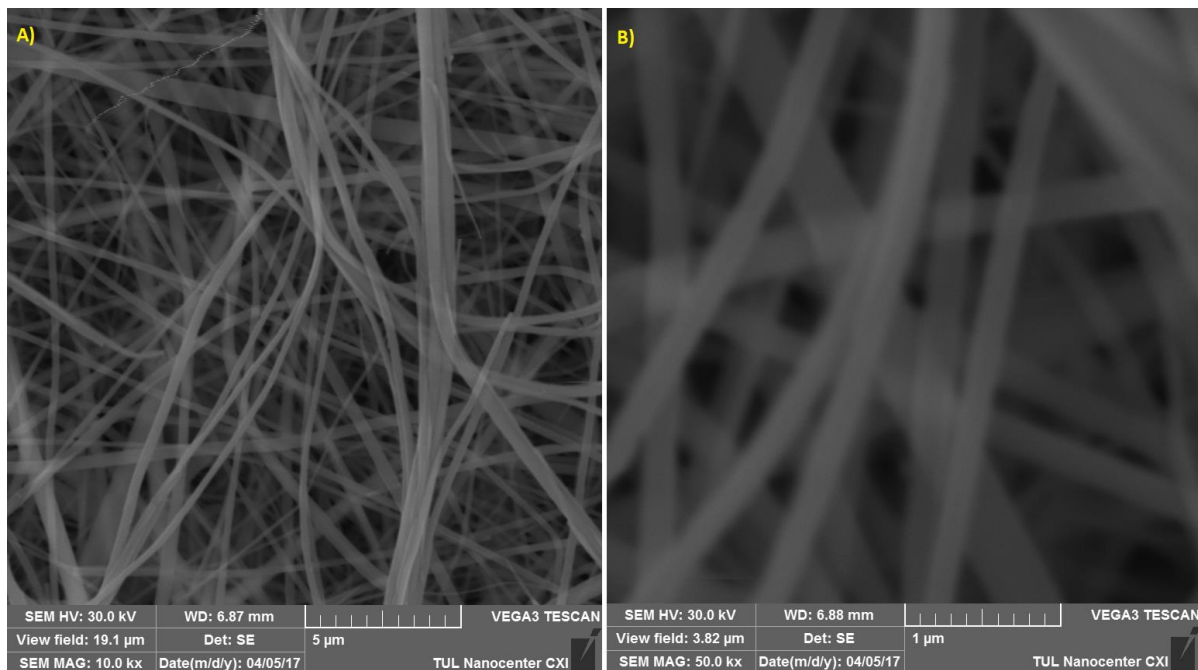
- [1] Charakteristika nanovláken. 2004. Elmarco[online]. Liberec: Versoft.cz [cit. 2016-11-26]. Dostupné z: <http://www.elmarco.cz/technologie/nanovlakna/>
- [2] JIRSÁK, O., F. SANETRNÍK, D. LUKÁŠ, V. KOTEK a L. MARTINOVÁ. Způsob výroby nanovláken z polymerního roztoku elektrostatickým zvlákňováním a zařízení k provádění způsobu [patent]. CZ. CZ, 294274. 8.9.2003, 14.9.2004.
- [3] BHARDWAJ, Nandana a Subhas KUNDU. 2010. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. Elsevier, **28**(3), 325-347.
- [4] WEI, Qi, ed. 2012. *Functional Nanofibers and their Applications*. 1. Cambridge (Massachusetts): Woodhead Publishing. ISBN 978-0-85709-069-0.
- [5] STUDNIČKOVÁ, J., EXNAR, P. a CHALOUPEK, J. Silicon oxide nanofibers. In: 13th International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics), Liberec, November 2006. Liberec: Technical University of Liberec, 2006, s. 173-178. ISBN 80-7372-135-X
- [6] STUDNIČKOVÁ, J., BRÁZDA, L., HELEBRANT, A. A EXNAR, P. HEALTH ASPECTS OF SILICON OXIDE NANOFIBERS. In: 14th International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics), Liberec, November 2007. Liberec: Technical University of Liberec, 2007, s. 263-268. ISBN 978-80-7372-271-5
- [7] LIBERMAN LIBERMAN, Alexander, Natalie MENDEZ, William C. TROGLER a Andrew C KUMMEL. 2014. Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. *Surface Science Reports*. **2014**(69), 132-158.
- [8] SUNG-SEEN, Choi, Lee SEUNG GOO, Im SEUNG SOON, Kim SEONG HUN a Joo YONG L. 2003. Silica nanofibers from electrospinning/sol-gel process. *Journal of Materials Science Letters*. **22**(1), 891-893.
- [9] LOVĚTINSKÁ-ŠLAMBOŘOVÁ, Irena, Petr HOLÝ, Petr EXNAR a Ivana VEVEŘKOVÁ. 2016. Silica Nanofibers with Immobilized Tetracycline for Wound Dressing. *Journal of Nanomaterials* [online]. **2016** [cit. 2016-11-26]. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2016/2485173/>
- [10] SVĚCHOTA, Vojtěch. 2016. *Imobilizace kyseliny hyaluronové na nanovláčenné substráty*. Studentská 1402/2 Liberec. Bakalářská práce. TU Liberec. Vedoucí práce Miroslava Rysová.
- [11] *Technologie: Elektrostatické zvlákňování* [online]. 2015. Pardubice: Art4web.cz [cit. 2016-11-27]. Dostupné z: <http://www.nanopharma.cz/cs/produkty-a-technologie/technologie>

- [12] EXNAR, P., ŠLAMBOROVÁ, I. a ZAJÍCOVÁ, V. Silanizace skleněných povrchů a její využití pro imobilizaci organických agens. *Sklář a keramik*. 2011, 62(Zborník příspěvků), 72-77. ISSN 0037-637X.
- [13] STUDNIČKOVÁ, J., EXNAR, P., CHALOUPEK, J., GRÁBMÜLLEROVÁ, J., MÜLLEROVÁ, J. a MARŠÁLKOVÁ, M. Preparation and Characterization of Silicon Oxide Nanofibers. In: PLEŠINGEROVÁ, B. a KUFFA, T., eds. Proceedings of VIIIth Int. Conference "Preparation of Ceramic Materials", Herlany, 18.-20.6.2007. Košice: Hutnická fakulta TU v Košiciach, 2007, s. 108-112. ISBN 978-80-8073-806-8
- [14] VANSANT E. F., Characterization and Chemical Modification of Silica Surface, Elsevier, Amsterdam, 1995, ISBN: 978-0-444-81928-4
- [15] Silica gel. 2016. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2016-12-04]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Silica\\_gel](https://en.wikipedia.org/wiki/Silica_gel)
- [16] ŠEPS, Michal. 2015. *Funkcionalizace křemičitých nanovláken přírodními látkami s biologickou aktivitou*. Studentská 1402/2, 461 17 Liberec. Bakalářská práce. Technická univerzita Liberec. Vedoucí práce Lenka Martinová.
- [17] HERMANSON T. G. et. al., Bioconjugate Techniques, 2nd Edition, Academic Press, 2008, ISBN: 978-0-12-370501-3
- [18] Sol-gel. 2016. In: *Wikipedia: the free encyclopedia*[online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2016-12-10]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Sol-gel>
- [19] Nanofiber. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2016-12-18]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Nanofiber>
- [20] Plasma (physics). 2017. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2017-02-01]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Plasma\\_\(physics\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Plasma_(physics))
- [21] FIŠAR, Zdeněk. FLUORESCENČNÍ SPEKTROSKOPIE V NEUROVĚDÁCH : Principy fluorescenční spektroskopie [online]. [cit. 2012-01-26]. Dostupné z: <http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/Default.htm>
- [22] Sjöback, Nygren: Absorbtion and fluorescence properties of fluorescein; *Spectrochimica Acta Part A*. 21, 7-21 (1995)
- [23] Yaghoubi, H. and N. Taghavinia, Surface chemistry of atmospheric plasma modified polycarbonate substrates. *Applied Surface Science*, 2011. 257(23): p. 9836-9839

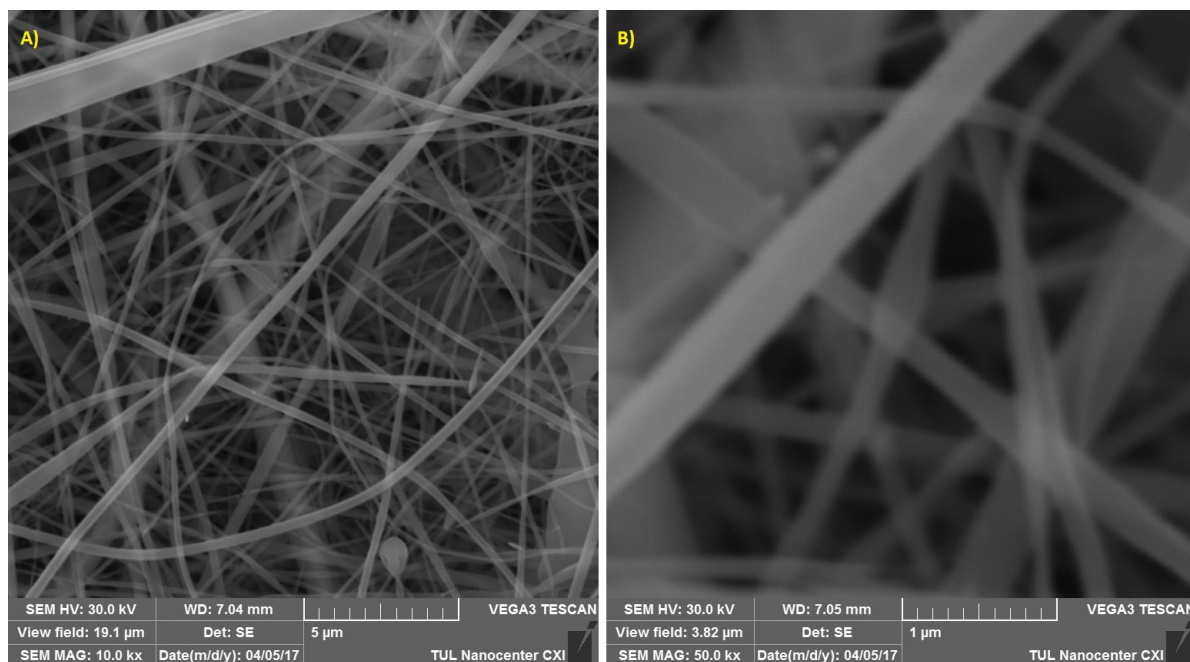
- [24] LUKÁŠOVÁ, Věra, 2012. *Modifikace nanovlákněných nosičů plazmou a její vliv na adhezi, viabilitu a proliferaci mezenchymálních kmenových buněk*. Praha. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Evžen Amler.
- [25] SUNI, T., K. HENTTINEN, I. SUNI a J. MAKINEN, 2002. Effects of Plasma Activation on Hydrophilic Bonding of Si and SiO<sub>2</sub>. *Journal of The Electrochemical Society*. **149**(6), 348-351. DOI: 10.1149/1.1477209.
- [26] NAVRÁTIL, Leoš a Jozef ROSINA, et al. *Medicínská biofyzika*. 2010. vydání. 2005. 524 s. ISBN 978-80-247-1152-2.
- [27] Lebedev, Yu. (2015). Microwave discharges at low pressures and peculiarities of the processes in strongly nonuniform plasma. *Plasma Sources Science and Technology*. 24. 053001. 10.1088/0963-0252/24/5/053001.
- [28] Denes, F.S. and S. Manolache, Macromolecular plasma-chemistry: an emerging field of polymer science. *Progress in Polymer Science*, 2004. 29(8): p. 815-885.
- [29] Kowalonek, J., H. Kaczmarek, and A. Dąbrowska, Air plasma or UV irradiation applied to surface modification of pectin/poly(vinyl alcohol) blends. *Applied Surface Science*, 2010. 257(1): p. 325-331
- [30] Tendero, C., et al., Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2006. 61(1): p. 2- 30.
- [31] Itatani, R., Physics of reactive plasmas for material tailoring. *Plasmas & Ions*, 1998. 1(1): p. 37-44.
- [32] Tendero, C., et al., Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2006. 61(1): p. 2- 30.
- [33] Seino, T., Matsuura, T. and Murota, J. (2002), Atomic-order nitridation of SiO<sub>2</sub> by nitrogen plasma. *Surf. Interface Anal.*, 34: 451–455. doi:10.1002/sia.1336
- [34] Malašauskienė, Jolanta. (2013). Nanofibre Electrospinning Poly(vinyl alcohol) and Cellulose Composite Mats Obtained by Use of a Cylindrical Electrode. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2013. . 10.1155/2013/932636.
- [35] Seeram Ramakrishna, Kazutoshi Fujihara, Wee-Eong Teo, Thomas Yong, Zuwei Ma, Ramakrishna Ramaseshan, Electrospun nanofibers: solving global issues, In *Materials Today*, Volume 9, Issue 3, 2006, Pages 40-50, ISSN 1369-7021, [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(06\)71389-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(06)71389-X).

- [36] Jordan, A. M., Viswanath, V., Kim, S. E., Pokorski, J. K., & Korley, L. T. J. (2016). Processing and surface modification of polymer nanofibers for biological scaffolds: A review. *Journal of Materials Chemistry B*, 4(36), 5958-5974. DOI: 10.1039/c6tb01303a
- [37] Jyh-Ping Chen, Chien-Hao Su, Surface modification of electrospun PLLA nanofibers by plasma treatment and cationized gelatin immobilization for cartilage tissue engineering, In *Acta Biomaterialia*, Volume 7, Issue 1, 2011, Pages 234-243, ISSN 1742-7061,
- [38] Hyuk Sang Yoo, Taek Gyoung Kim, Tae Gwan Park, Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery, In *Advanced Drug Delivery Reviews*, Volume 61, Issue 12, 2009, Pages 1033-1042, ISSN 0169-409X, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.007>.
- [39] Fatma Yalcinkaya, Preparation of various nanofiber layers using wire electrospinning system, In *Arabian Journal of Chemistry*, 2016, , ISSN 1878-5352, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.12.012>.
- [40] Leung, V. and Ko, F. (2011), Biomedical applications of nanofibers. *Polym. Adv. Technol.*, 22: 350–365. doi:10.1002/pat.1813
- [41] Nanospider™ equipment, 2004. In: *Elmarco* [online]. Liberec: Versoft.cz [cit. 2017-12-03]. Dostupné z: <http://www.elmarco.com/gallery/nanospider-equipment/>
- [42] About us, 2018. *Inovenso* [online]. [cit. 2018-02-14]. Dostupné z: <http://inovenso.com/about/>
- [43] JIANG, Lei, Songyan LI, Jiqian WANG, Limin YANG, Qian SUN a Zhaomin LI, Surface wettability of oxygen plasma treated porous silicon. *Journal of Nanomaterials*. **2014**, 1-6. DOI: 10.1155/2014/526149.

## Příloha

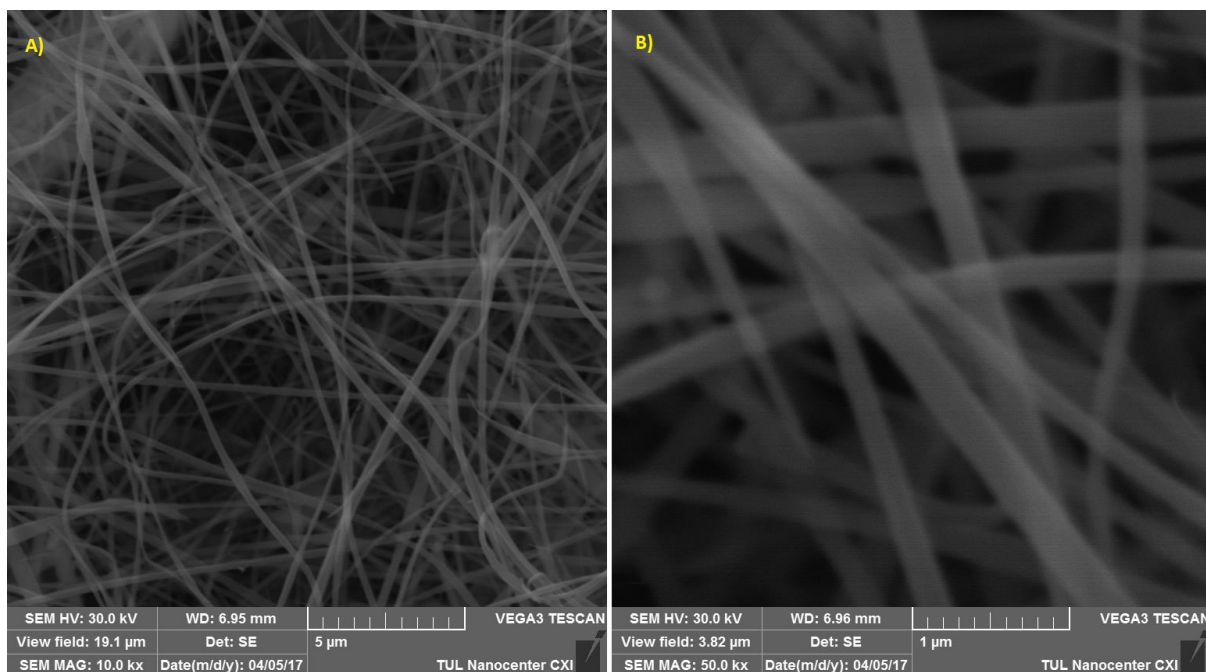


*Obr. 20 – Struktura křemičitých nanovláken bez jakékoliv povrchové úpravy nebo silylace. Zvětšení 10kx (A) a 50kx (B)*

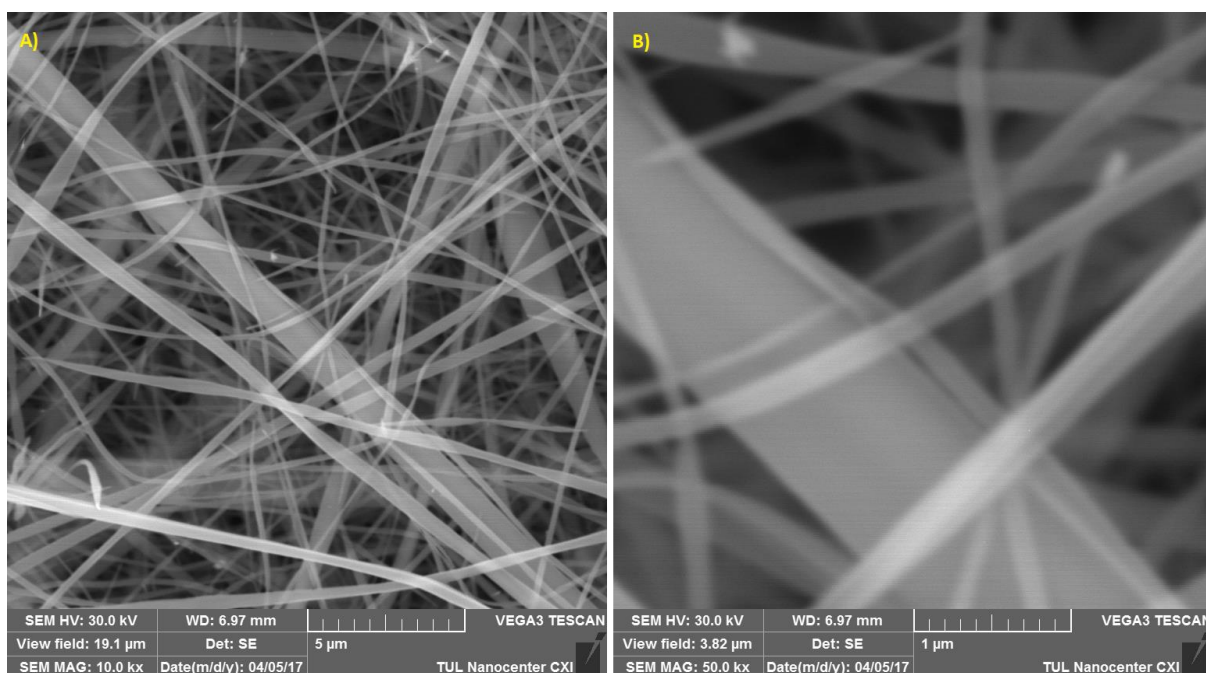


*Obr. 21 – Struktura křemičitých nanovláken po plazmatické úpravě ve vzduchové atmosféře po dobu 1 minuty. Zvětšení 10kx (A) a 50kx (B)*

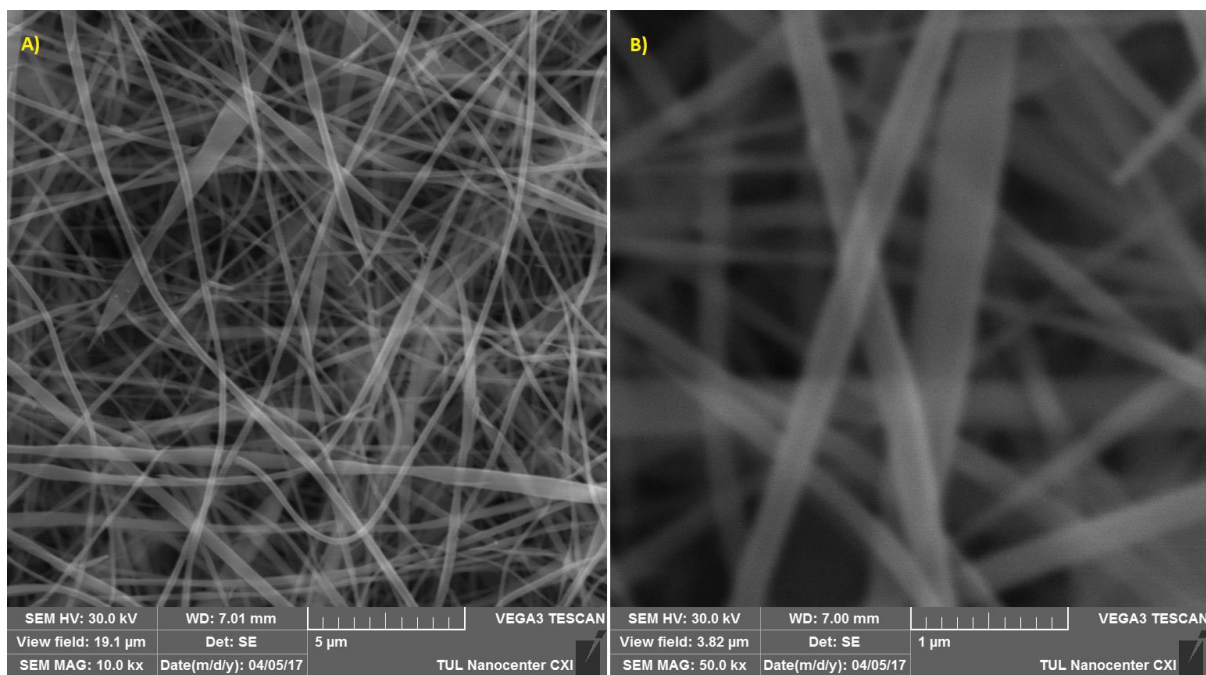




**Obr. 22** – Struktura křemičitých nanovláken po plazmatické úpravě ve vzduchové atmosféře po dobu 10 minut. Zvětšení 10kx (A) a 50kx (B)



**Obr. 23** - Struktura křemičitých nanovláken po plazmatické úpravě v kyslíkové atmosféře po dobu 5 minut. Zvětšení 10kx (A) a 50kx (B)



**Obr. 24** - Struktura křemičitých nanovláken po plazmatické úpravě v kyslíkové atmosféře po dobu 1 minuty a následné silylaci. Zvětšení 10kx (A) a 50kx (B)