

Antibakteriální vrstvy na bázi deponovaných alifatických uhlovodíků

Bc. Markéta Mullerová

Zvolte typ práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Markéta Müllerová
Osobní číslo: T22638
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Antibakteriální vrstvy na bázi deponovaných alifatických uhlovodíků

Zásady pro vypracování

Cílem práce bude depozice alifatických uhlovodíků v dusíkovém výboji na povrch zvoleného substrátu ze syntetického polymeru.

Takto připravený substrát bude dále charakterizován pomocí dostupných metod na UTB a partnerských institucích.

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma.
2. Připravte vrstvy na bázi prekurzorů pentanu a hexanu.
3. Charakterizujte výsledné substráty pomocí měření mezního úhlu smáčení a povrchové energie, FTIR, XPS, SEM.
4. Analyzujte antibakteriální vlastnosti připravených povrchů.
5. Získané výsledky přehledně zpracujte a kriticky vyhodnoťte s ohledem na aplikační možnosti.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Sťahel P., Mazánková V., Podzemna D., Podzemna E., Pizurova V., Jurmanova J., Prokeš L., Lehocký M., Ozaltin K., Pistekova H., Trunec D.: Antibacterial Thin Films Deposited From Propane-Butane Mixture in Atmospheric Pressure Discharge, *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (2023) 1706 (9pp).
- [2] Mazánková V., Sťahel P., Matoušková P., Brablec A., Čech J., Prokeš L., Buršíková V., Stupavská M., Lehocký M.: Atmospheric Pressure Plasma Polymerized 2-Ethyl-2-oxazoline Based Thin Films for Biomedical Purposes, *Polymers*, 12 (2020) 2679 (15pp).
- [3] Popelka A., Abdulkareem A., Mahmoud A. A., Nassr M. G., Al-Ruweidi M. K. A. A., Mohamoud K. J., Hussein M. K., Lehocký M., Veselá D., Humpolíček P., Kasak P.: Antimicrobial modification of PLA scaffolds with ascorbic and fumaric acids via plasma treatment, *Surface & Coatings Technology*, 400 (2020) 126216.
- [4] Sťahel P., Mazánková V., Tomečková K., Matoušková P., Brablec A., Prokeš L., Jurmanová J., Buršíková V., Příbyl R., Lehocký M., Humpolíček P., Ozaltin K., Trunec D.: Atmospheric Pressure Plasma Polymerized Oxazoline-Based Thin Films -Antibacterial Properties and Cytocompatibility Performance, *Polymers*, 11 (2019) 2069 (14pp).

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Kateřina Štěpánková, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Oponent diplomové práce: **doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání diplomové práce: **9. února 2024**

Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORKY DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky: Markéta Müllerová

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

V této diplomové práci byly antibakteriální polymerní tenké filmy nanесeny na substrát s polyethylentereftalátové fólie pomocí plazmové polymerace za atmosférického tlaku. Jako prekurzory byly použity pentan a hexan. Plazmová polymerace byla provedena pomocí povrchového dielektrického bariérového výboje hořícího v dusíku za atmosférického tlaku. Přítomnost vrstev byla zkoumána elipsometricky a chemické složení povrchu bylo zkoumáno pomocí metody FTIR. Vlastnosti povrchu filmu byly studovány pomocí SEM, měřením kontaktního úhlu a povrchové energie. Elipsometrie jasně potvrdila přítomnost vrstev na povrchu substrátu. FTIR analýza potvrdila zejména přítomnost alkylových skupin. Deponované filmy byly hydrofilní s kontaktním úhlem s vodou nižším než 13°. Antibakteriální aktivita byla testována dle standardizované normy ISO 22196. Deponované filmy byly obecně vysoce aktivní jak proti kmenům *S. aureus*, tak *E. coli*.

Klíčová slova: antibakteriální aktivita, dielektrický bariérový výboj, tenký film, plazmová depozice

ABSTRACT

In this thesis, antibacterial polymer thin films were deposited on a polyethylene terephthalate film substrate by atmospheric pressure plasma polymerization. As a presursors were used pentane and hexane. Plasma polymerization was performed using a surface dielectric barrier discharge burning in nitrogen at atmospheric pressure. The presence of layers was investigated ellipsometrically and the chemical composition of the surface was investigated using the FTIR method. The film surface properties were studied using SEM, contact angle and surface energy measurements. Ellipsometry clearly confirmed the presence of layers on the surface of the substrate. FTIR analysis confirmed the presence of alkyl groups in particular. The deposited films were hydrophilic with a water contact angle of less than 13°. The antibacterial activity was tested according to the standardized standard ISO 22196. The deposited films were generally highly active against both *S. aureus* and *E. coli* strains.

Keywords: antibacterial activity, dielectric barrier discharge, thin film, plasma deposition

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí této diplomové práce Ing. Kateřině Štěpánkové, Ph.D. za odborné vedení práce, ochotu a trpělivost při konzultacích. Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Mariánu Lehockému, Ph.D. za cenné informace a pomoc při textových korekturách. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat Ing. Pavlu Urbánkovi, Ph.D. za pomoc při charakterizaci vzorků a paní Ing. Haně Pištěkové, Ph.D. za pomoc při provedení testu antibakteriální aktivity.

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

OBSAH

OBSAH	7
ÚVOD.....	9
I. TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ZPŮSOBY ÚPRAVY POVRCHU	11
1.1 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ METODY	11
1.1.1 CHEMICKÁ DEPOZICE PAR	12
1.1.2 PLAZMOVÁ DEPOZICE.....	13
1.1.3 OZAŘOVÁNÍ	14
1.1.4 SORPCE POLYMERŮ Z ROZTOKU	15
1.2 MECHANICKÉ METODY.....	17
1.2.1 ZDRSŇOVÁNÍ POVRCHU	17
1.2.2 MIKROMANIPULACE.....	17
1.3 BIOLOGICKÉ METODY.....	18
2 PLAZMOVÁ MODIFIKACE	19
2.1 DĚLENÍ PLAZMATU	19
2.1.1 NETERMÁLNÍ PLAZMA	20
2.2 INTERAKCE PLAZMA-SUBSTRÁT	23
2.2.1 PLAZMOVÁ ÚPRAVA	23
2.2.2 PLAZMOVÉ ROUBOVÁNÍ PO OZÁŘENÍ.....	24
2.2.3 SYNERGICKÉ OZÁŘENÍ.....	24
2.2.4 PLAZMOVÁ POLYMERACE.....	24
3 ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI	25
3.1 ZÁKLADNÍ TYPY ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK.....	26
3.1.1 SLOUČENINY CHLÓRU	27
3.1.2 ALKOHOLY.....	27
3.1.3 FENOLY	28
3.1.4 KVARTÉRNÍ AMONIOVÉ SOLI	28
3.1.5 PEROXID VODÍKU	28
3.1.6 KYSELINA PEROCTOVÁ.....	29
II. PRAKTICKÁ ČÁST	30
4 CÍLE PRÁCE.....	31
5 MATERIÁL A METODY.....	32
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	32

5.2	POUŽITÉ METODY	32
6	PLAZMOVÁ DEPOZICE	33
7	METODY CHARAKTERIZACE POVRCHU.....	36
7.1	MĚŘENÍ MEZNÍHO ÚHLU SMÁČENÍ A POVRCHOVÉ ENERGIE	36
7.2	SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (SEM)	40
7.3	ELIPSOMETRIE	42
7.4	INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE S FOURIEROVOU TRANSFORMACÍ (FTIR).....	44
7.5	MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY NA SUBSTRÁTECH	46
8	VÝSLEDKY A DISKUZE	49
8.1	MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU A POVRCHOVÉ ENERGIE.....	49
8.2	SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (SEM)	52
8.3	ELIPSOMETRIE	57
8.4	INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE S FOURIEROVOU TRANSFORMACÍ (FTIR).....	59
8.5	MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY	61
	ZÁVĚR	64
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	65
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	71
	SEZNAM OBRÁZKŮ	73
	SEZNAM TABULEK.....	75

ÚVOD

Infekce spojené se zdravotní péčí jsou infekce, které získá pacient během procesu přijímání nebo poskytování zdravotní péče. Tyto infekce jsou významnou příčinou zvýšeného výskytu onemocnění, úmrtnosti a ekonomické zátěže pacientů, rodin a zdravotnických systémů po celém světě. Vzhledem k nadměrnému užívání antibiotik, vedoucí k antimikrobiální rezistenci, je zapotřebí hledat alternativní postupy, jak zamezit bakteriální kolonizaci povrchu zdravotnického vybavení a případnému vytvoření biofilmu. V tomto případě mohou antibakteriální povrchy hrát klíčovou roli v biomedicínských aplikacích.

Tenké povlaky mohou mít buď baktericidní povahu nebo mohou mít antifoulingové vlastnosti, tedy mohou inhibovat přilnavost bakterií na povrchu. Tenké filmy s antibakteriálními vlastnostmi mohou mít velký význam v odstranění či snížení kolonizace bakterií na jejich povrchu a tím mohou potlačit například nozokomiální nákazy pacientů ve zdravotnických zařízeních. Konvenční techniky, jako je autoklávování a interakce s oxidativními chemickými látkami, nejsou vhodným řešením pro odstraňování biofilmu v nozokomiálních podmínkách. Tyto techniky způsobují degradaci povrchu ošetřených materiálů a vedou ke znečištění životního prostředí v důsledku použití toxických látek.

Použití plazmy, jako čtvrtého skupenství hmoty, je v medicíně již dlouho využíváno. Dříve byla využívána spíše termální plazma, která soužila k odstranění tkáně, zastavení krvácení či sterilizaci nástrojů. V dnešní době se již používá plazma netermální (chladná), která není destruktivní pro buňky a může mít pozitivní vliv na jejich hojení po různých traumatech. V případě nozokomiálních infekcí, může být opracování netermální plazmou dobrou volbou k dekontaminaci nebo sterilizaci biofilmů z povrchu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZPŮSOBY ÚPRAVY POVRCHU

Materiály, které se používají ve zdravotnických zařízeních jako jednorázové prostředky, jsou obvykle materiály používané i v jiných oblastech, pro které splňují adekvátní jak objemové i povrchové vlastnosti. Tyto materiály však mnohdy nejsou vhodné z hlediska jejich interakce s buňkami. V důsledku toho může dojít k nežádoucím interakcím [1]. Z tohoto důvodu se výzkum biomateriálů ubírá dvěma hlavními směry. Jedním z těchto směrů je výzkum nových doposud neobjevených materiálů, které disponují lepšími povrchovými i mechanickými vlastnostmi než materiály stávající. Druhou možností je upravit vlastnosti stávajících materiálů, a to především těch povrchových, aby byly více biokompatibilní a měly příznivou biologickou reakci s tkáněmi a organismem. Modifikovat povrchy biomateriálů je v posledních letech směr, který si vysloužil náležitou pozornost, je však zapotřebí vzít úvahu několik faktorů. Těmi jsou zejména požadované očekávané vlastnosti cílových biomateriálů, praktickou aplikaci konečného produktu či jednoduchost, opakovatelnost a efektivitu procesu jejich přípravy [2]. Prvním místem, kde dochází ke kontaktu materiálu s biologickou složkou je právě povrch biomateriálů. Z tohoto důvodu je snahou modifikovat právě vrchní vrstvy materiálů, čímž se docílí vyšší biokompatibility a pozitivní biologické interakce [3]. Dalšími vlastnostmi, které lze upravit povrchovou modifikací, může být například adheze, tření nebo smáčivost biomateriálu [4]. V některých případech je vhodnější chemická modifikace povrchu, zatímco jindy jsou vhodnější mechanické změny v morfologii povrchu tzv. fyzikální modifikace. Dále se může jednat také o biologické modifikace, kdy se do materiálu přidá složka spojující polymer s biomolekulou či buňkou [5]. Metod pro modifikaci povrchu je nespočet a k většině z nich dochází na molekulární či atomární úrovni. Tyto metody se mohou vzájemně prolínat [2].

1.1 Fyzikálně-chemické metody

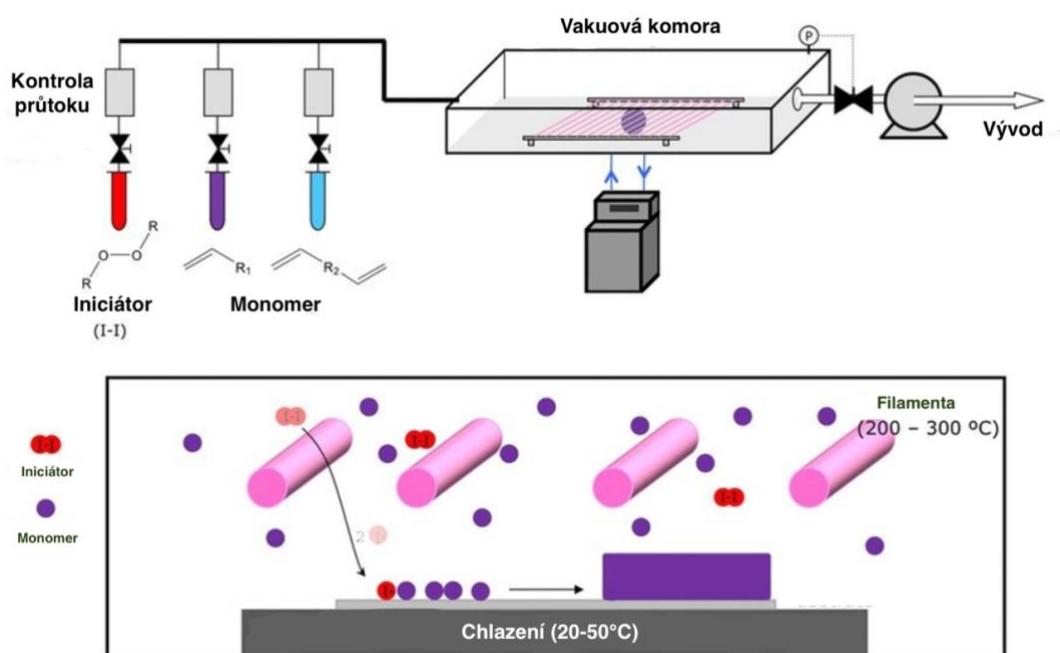
Tyto metody se zabývají především zvýšením hydrofility povrchů pomocí připojení interagujících molekul s hydrofilními funkčními skupinami. Mezi nejčastější případy patří skupina karbonylová, karboxylová, hydroxylová nebo aminová. Jsou to též funkční skupiny, které se vyskytují u látek běžně v přírodě. Podstatné je to, že jsou již schopny vhodně interagovat s případnými činidly, které používáme pro tvorbu filmu. Fyzikálně-chemické metody zahrnují například technologie jako je potahování povrchu filmy, dip-coating, spin-coating, napařování, napařování, lakování nebo leptání. Ve většině těchto metod může být topografie povrchu polymeru přizpůsobena připojením nových molekul/iontů

prostřednictvím fyzikálních interakcí, jako jsou van der Waalsovy síly, vodíkové vazby nebo hydrofobní interakce [5].

1.1.1 Chemická depozice par

Chemická depozice z plynné fáze (CVD) je proces, kdy je prekurzorový plyn nebo směs plynů veden přes vakuovou komoru. V důsledku chemických reakcí probíhajících na zahřátých površích a v jejich blízkosti dochází k depozici tenkého filmu na substrát. Zároveň dochází k tvorbě vedlejších chemických produktů, které jsou spolu s nezreagovanými prekurzorovými plyny odváděny z komory [6].

Chemické reakce, díky kterým dojde k depozicím tenkého filmu na substrát mohou být aktivovány různými způsoby. Nejčastěji se jedná o aktivaci teplem, světlem, plazmou a chemickým činidlem. V některých případech může reakci aktivovat více faktorů, například teplo s chemickým iniciátorem. Na základě výběru prekurzorů reakce lze na substráty nanášet různé materiály jako jsou kovy, keramika, polymery, organické látky či syntetické polymery. Prekurzory musí být schopné přechodu do plynné fáze, proto je zapotřebí v některých případech přeměnit různými metodami těžší prekurzory v kapalném nebo tuhém stavu na plynnou fázi [7]. CVD se provádí v reaktorech s horkou stěnou (200–300 °C) a reaktorech se studenou stěnou (20–50 °C) při hodnotách tlaku nižšího, než je atmosférický tlak až po hodnoty nad atmosférickým tlakem. CVD probíhá nejčastěji radikálovou polymerací [5]. Nachází uplatnění v pevných tenkovrstvých filmech na površích, k získávání vysoce čistých sypkých materiálů a prášků, k výrobě kompozitních materiálů pomocí infiltračních technik nebo k vytváření vodivých propojení. Tenké vrstvy vyrobené CVD jsou poměrně uniformní, a proto je lze aplikovat i na velkoplošné substráty nebo na komplikovaně tvarované povrchy objemových tvarů [6].



Obrázek 1 Schéma a mechanismus chemické depozice par (CVD). Převzato a přeloženo z: [8].

1.1.2 Plazmová depozice

Plazma, čtvrté skupenství hmoty, se skládá z vysoce excitovaných atomových, molekulárních iontů a radikálů získaných z plynů, jako je CO_2 , O_2 , N_2 , NH_3 a H_2 , při excitaci mikrovlnami, radiofrekvenčními vlnami, vysokofrekvenčními vlnami nebo vysokoenergetickými elektrony. Úprava polymerních povrchů takovými plazmovými plyny vytváří případ od případu hydrofilní a hydrofobní povrchy s různými reaktivními skupinami, jako jsou karboxylové skupiny, aminoskupiny, methylové skupiny a hydroxylové skupiny. Modifikace polymerních povrchů zahrnují potahování filmem, tvorbu zesíťovaných struktur a zavádění funkčních skupin, řízení povrchové drsnosti a povrchové energie povrchu. Nejatraktivnější vlastnosti nabízené modifikacemi na bázi plazmatu jsou (i) menší časová náročnost oproti jiným metodám opracování, (ii) povrchové charakteristiky se snadno upravují bez změny objemových vlastností, což znamená, že k modifikaci dojde jen na úrovni několika desítek nanometrů a (iii) sterilní při přípravě, neboť plazma sama o sobě má sterilizační účinky. Pomocí plazmového zdroje lze povrchy modifikovat mnoha metodami, jako je plazmové naprašování a leptání, interakce iontového paprsku, kopolymerace ve smyslu roubování, plazmová polymerizace a plazmové stříkání [9].

1.1.3 Ozařování

Záření představuje formu energie emitující z atomu, při přechodu z vyšší energie na energii nižší. Tato energie pocházející ze zdroje prochází médii nebo prostorem. Podle vyzářené energie můžeme záření dělit na ionizující a neionizující záření [5]. Zářením lze polymery síťovat, roubovat případně sterilizovat jejich povrch, což je možno docílit i jinými chemickými metodami. Avšak velkou výhodou záření je to, že nevyžaduje žádné přídavné látky pro reakci, umožňuje aplikaci v různých teplotních rozmezích, lze dobře kontrolovat roubování a síťování a nevykazuje toxicitu [10]. Rovněž pak, různé typy záření nezvyšují teplotu ozařovaného povrchu, a tudíž je tato metoda použitelná u substrátů, které jsou vysoce citlivé na tepelné změny. Ionizující záření je forma energie přenášené vysokoenergetickými elektromagnetickými vlnami (gama nebo rentgenové fotony) částicemi urychlenými v elektrickém poli nebo elementárními částicemi emitovanými z nestabilních atomových jader. (α nebo β) [11]. Primární modifikace a vývoj produktu využívající modifikace polymerů indukované alfa zářením, elektrony a gama jsou totožné [10]. Při interakci s hmotou dochází k deponování energie během extrémně rychlých fyzikálních procesů (s časovým rozpětím až několik femtosekund), které končí fyzikálně-chemickou fází. Během této fáze se generují krátkodobé excitované stavy prostřednictvím kaskádového procesu, který je zpočátku řízen poměrně složitou kinetikou. Poté ozařovaná látka reaguje homogenněji rozptýlenými elektrony a volnými radikály, které vykazují delší životnost, a proto mají čas vůbec interagovat. Polymerizace v zásadě probíhá řetězovým mechanismem, kde aktivní centra tvoří volné radikály nebo v některých specifických případech iontově aktivní centra, která vznikají na konci kaskádových procesů fyzikálních a chemických stupňů [11]. Vystavením polymerního produktu vysokoenergetickému ionizujícímu záření, jakož i teplotě po stanovenou dobu, by mělo dojít k zachování vlastností ozařovaného produktu [12]. Gama záření (γ -R) je v podstatě elektromagnetické záření, ke kterému dochází, když nestabilní atomové jádro ztrácí energii. Tedy při přirozené snaze dosáhnout co nejmenší možné vnitřní energie dojde k vyzáření kvanta fotonů. Tento typ záření se skládá z nejvyššího množství protonové energie a poskytuje řadu praktických vysoce výkonných aplikací. Záření gama a se používá hlavně pro účely sterilizace a síťování. Díky gama záření dochází k rychlejšímu síťování polymeru a zvyšuje tepelnou stabilitu výsledného produktu [10]. Na rozdíl od ionizujícího záření je neionizující záření (UV, infračervené...) elektromagnetické záření, které nemá dostatečnou energii k excitaci elektronů z atomu nebo molekuly za vzniku iontu při srážce [5]. V praxi používáme

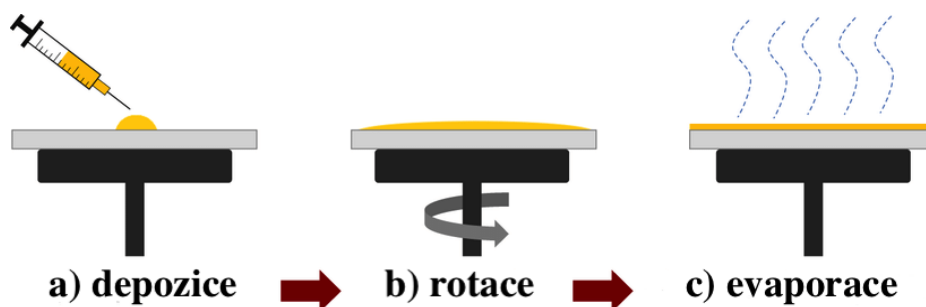
ultrafialové světlo z excimerových lamp k ozáření vzorku dostatečnou energií k narušení molekulárních vazeb na povrchu. Narušení molekulárních vazeb způsobuje řadu fotofyzikálních, tepelných a fotochemických procesů. Tyto procesy vedou ke zlepšení biokompatibility povrchu, dále také lepší adheze a proliferace buněk, případně smáčivosti povrchu [13].

1.1.4 Sorpce polymerů z roztoku

Fyzikální adsorpce je nejjednodušší způsob úpravy povrchu polymeru inkubací polymeru v roztocích obsahujících biomolekuly. Zde se biomolekuly připojují k povrchu polymeru pomocí van der Waalsových sil, elektrostatických sil, hydrofobních interakcí a vodíkových vazeb. Výhodou ošetření povrchu polymeru fyzikální adsorpcí je to, že nejsou potřeba žádná další vazebná činidla ani chemická modifikace biomolekul. Interakce mezi polymerem a biomolekulami je však slabá, a tak vzniká dlouhodobě nestabilní materiál polymer-biomolekula. Mezi metody využívající sorpci polymerů na povrch z roztoků patří například metoda rotačního odlévání tzv. spin coating a druhou velmi často používanou metodou je namáčení nebo-li také metodou Langmuir-Blodgettové [5].

1.1.4.1 Spin coating

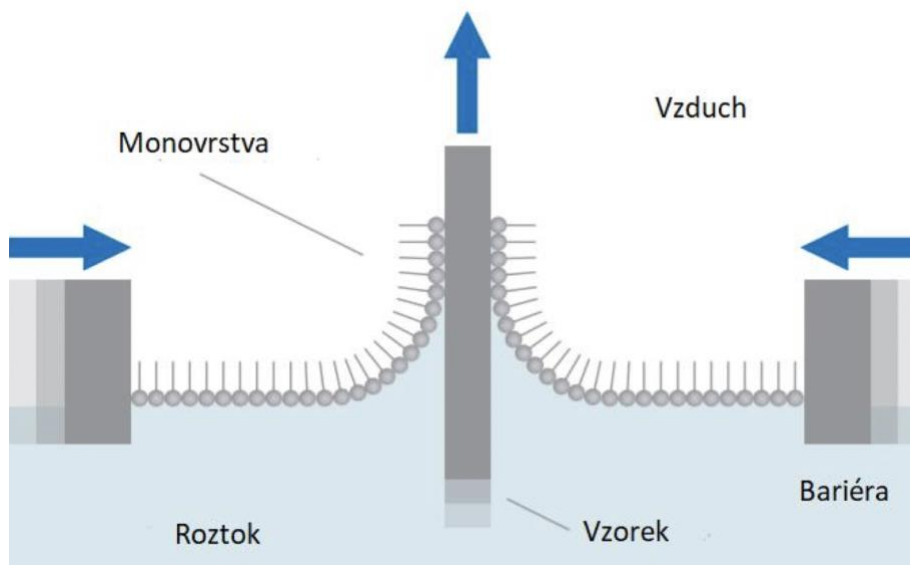
Jedná se o tenkovrstvou metodu používanou pro přilnavé filmy na rovných površích. Tato technika je velmi často využívána v laboratorním měřítku, ale není vhodná pro velké výrobní procesy. Stroj používaný pro rotační potahování je známý jako rotační potahovač (spin coater). Polymer rozpuštěný ve vhodném rozpouštědle se nanese na střed upravovaného povrchu vzorku. Objemy používané v této metodě se pohybují v řádech jednotek až desetin mililitru. Při nanášení roztoku na povrch substrátu je použita odstředivá síla s velmi vysokou frekvencí otáčení. Díky odstředivé síle dojde k dřívějšímu odpaření rozpouštědla a vznikne stejnoměrný tenký polymerní film. Tloušťka takto vytvořených tenkých filmů závisí na rychlosti rotace a viskozitě odpařování látky [14], [15]. Její nevýhodou je velká spotřeba roztoku na potahování při odstředivém procesu. Zároveň je určité omezení velikosti plochy substrátu pro zachování jednoty a kvality nanášeného filmu [16].



Obrázek 2 Schéma metody spin-coating. Převzato a přeloženo z: [14].

1.1.4.2 Metoda Langmuir-Blodgettové

Tato metoda byla pojmenována po Irvingu Langmuirovi a Katharine Blodgett, kteří tuto techniku vyvinuli a popularizovali na počátku 20. století. V technologii tenkých vrstev získaly Langmuir-Blodgett filmy značný význam díky organizované molekulární struktuře a přesné tloušťce [15]. Tato metoda spočívá v procesu přenosu ve vodě nerozpustného amfifilního materiálu z rozhraní vzduch-voda na pevný substrát vertikálním ponořením pevné látky do Langmuirovy monovrstvy. Hydrofobní část by měla učinit molekulu nerozpustnou, zatímco hydrofilní část by měla být dostatečně hydrofilní, aby ukotvila molekuly na vodním povrchu. První amfifilní látky používané jako Langmuirovy monovrstvy měly dlouhé alkylové řetězce, jako jsou mastné kyseliny a fosfolipidy. Většina těchto látek je při pokojové teplotě v pevném stavu a ve vodě tvoří koloidní struktury jako micely a vezikuly [16]. Amfifilní látka je rozpuštěna v těkavém rozpouštědle a je nanášena na rozhraní voda-vzduch. Po nanesení se rozpouštědlo odpaří a materiál vytvoří monovrstvu. Když monovrstva dosáhne termodynamické rovnováhy, je symetricky stlačena. Pro přenos filmu na pevnou látku se plochý substrát ponoří do vodné subfáze a poté se kontrolovaným způsobem extrahuje s filmem adsorbovaným na něm. Proces přenosu lze je možno několikrát opakovat, díky čemuž vzniknou vícevrstvé systémy o různé tloušťce a složení. Během procesu přenosu je povrchový tlak udržován konstantní komprimací bariéry, aby se kompenzovala ztráta molekul přenesených na pevnou látku [17]. Langmuir-Blodgett filmy na bázi polymerů se jako alternativa k hydrofilním a hydrofobním skupinám používá amfifilní polymer. Polymerní řetězce jsou dispergovány na substrátu tak, že hydrofilní skupiny jsou uspořádány na jedné straně, zatímco hydrofobní funkční skupiny na druhé straně [15].



Obrázek 3 Schéma depozice metodou Langmuir-Blodgettové. Převzato a přeloženo z: [18].

1.2 Mechanické metody

Mechanické metody slouží výhradně ke změně povrchové topografie. Zvláštností je to, že jde v podstatě o jedinou techniku, kdy při změně topografie nedochází ke změně chemické struktury. To má za následek lepší smáčivost a adhezní vlastnosti opracovávaných polymerů. Tyto metody, stejně jako fyzikálně-chemické metody, zbavují povrch též nečistot. [5].

1.2.1 Zdrsňování povrchu

Metoda zdrsňování povrchu také zvaná „roughening“ slouží k přeměně topografie povrchu materiálu. Drsnost povrchu také ovlivňuje technologicky významné procesy, jako je nanášení nátěrů, adheze, úprava substrátu, mazání, tření a povrchové smáčení a koroze. [19]. V případě polymeru se jedná o přeměnu z minimálně drsného povrchu, na povrch s výraznou topografií. Důvodem těchto úprav je uzpůsobení povrchu buněčným systémům tzv. rugofilním bakteriím, které jsou více adherentní na drsné povrchy [2]. Mechanické zdrsňování však na rozdíl od plazmování či chemického leptání probíhá pouze změnou geometrie povrchu prostřednictvím mechanického procesu [5].

1.2.2 Mikromanipulace

Jedná se o metodu, kdy dochází k úpravě morfologie povrchu za pomoci fyzikální interakce mikroskopu a povrchu. Povrch je vyřezán na micro nebo nano úrovni s pomocí rastrovacího tunelového mikroskopu, případně za pomoci mikroskopu atomárních sil (AFM). Nevýhodou této metody je, že se dá použít pouze pro vysoce vodivé polymery. Dále je pak zapotřebí

během zobrazování AFM brát v potaz samotnou kvalitu, jelikož může dojít ke zhoršení v důsledku tvrdých nárazů hrotu na vzorek nebo sebrání úlomků ze vzorku. U biodegradabilních povrchů je provedení mikromanipulace omezené z důvodů poměrně vysokých nákladů [5], [20].

1.3 Biologické metody

Povrchy materiálů mohou být modifikovány také za pomoci biologické imobilizace biomolekul, díky čemuž je vyvinuta velká diverzita biomolekul navázaných na polymer. Tyto molekuly pak vykazují dobrou interakci s biologickým prostředím. Imobilizace těchto biomolekul probíhá fyzikální adsorpcí, fyzikálním navázáním molekuly nebo vytvořením chemické/kovalentní vazby. Výhodou těchto metod je vysoká stabilita nanoseného filmu, mohou modifikovat biomateriály i na malých plochách, jsou znovupoužitelné, levné a zpravidla nevyvolávají imunologické reakce. Na druhou stranu je velmi obtížné takto upravené materiály sterilizovat. Materiály upravené za pomoci biologických metod jsou používány především v lékařských aplikacích [5].

2 PLAZMOVÁ MODIFIKACE

Plazma je částečně nebo úplně ionizovaný plyn. Plynné plazma je také popisováno jako čtvrté skupenství hmoty a elektricky vodivé médium obsahující elektrony, radikály, ionty, fotony elektromagnetického záření a neutrálních molekul. Plynné plazma je tedy složeno z reaktivních a energetických látek. Plazma vzniká, když je na plyn aplikována energie ve formě tepelného, elektromagnetického záření nebo elektrického pole. V laboratoři se pomocí elektrické energie vyrábí různé druhy plazmatu. Elektrony získávají energii z elektrického pole, které postupně předává zlomek této energie neutrálním molekulám plynu prostřednictvím srážek. Ionizace produkovaná srážkou elektronů je hlavním iniciátorem nabitých částic v plazmatu [21]. Energetické elektrony vstupují do kolize s tzv. pracovním plynem, což způsobuje zvýšenou úroveň disociace, excitace a ionizace. Protože ionty a neutrální částice zůstávají relativně chladné, plazma nezpůsobuje žádné tepelné poškození předmětů, se kterými přichází do styku. Tato vlastnost otevřela možnost využití těchto plazmat pro úpravu materiálů citlivých na teplo včetně biologické hmoty, jako jsou buňky a tkáně [22].

2.1 Dělení plazmatu

Při modifikaci plazmatem se používají různé typy a zdroje plazmatu, z nichž každý má jedinečné vlastnosti, které ovlivňují výslednou povrchovou úpravu. Volba typu a zdroje plazmatu závisí na konkrétní aplikaci a upravovaném materiálu. Rozdíl v typech a zdrojích plazmatu je způsoben především rozdíly ve fyzikálních a chemických vlastnostech generovaného plazmatu a modifikovaných materiálů [23].

Plazma lze obecně rozdělit do dvou kategorií: termální (teplá) plazma a netermální (studená) plazma. Termální plazma charakterizují extrémně vysoké teploty elektronů a těžkých částic (nabitých i neutrálních). Teploty dosahují až 4000 K, což je činí nevhodnými pro povrchovou úpravu teplotně citlivých materiálů, například syntetických polymerů. Dříve se termální plazma používalo k odstranění tkáně, sterilizaci a kauterizaci. Naopak netermální plazma se skládá z nízkoteplotních částic (nabitých a neutrálních molekulárních a atomových druhů) a relativně vysokoteplotních elektronů, proto jsou v tepelné nerovnováze. Teplota netermálního plazmatu se pohybuje na úrovni teploty okolí, takže jej lze použít pro povrchovou úpravu polymerních materiálů [24], [21].

2.1.1 Netermální plazma

Netermální plazmový výboj je účinný proti gramnegativním bakteriím, grampozitivním bakteriím, sporám, bakteriím tvořícím biofilm, virům a houbám. Výboj může způsobit vážné poškození membrán, což vede k buněčné smrti. [25] Netermální plazma lze dále dělit na základě tlaku v plazmatickém reaktoru, a sice na nízkotlaké plazma nebo na plazma za atmosférického tlaku [23].

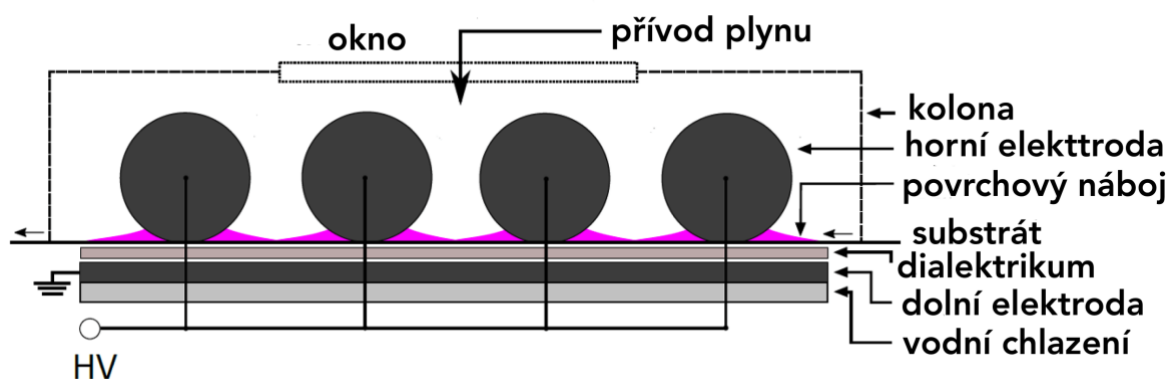
Nízkotlaká plazma se používají pro povrchové úpravy materiálů, protože pracují při nižším tlaku než atmosférický, typicky v rozmezí 0,1–10 Pa. Při těchto tlacích může plazma proniknout hlouběji do materiálu, aniž by došlo k významnému poškození povrchu. Částice plazmatu mají navíc delší střední volnou dráhu, což jim umožňuje cestovat dále, než se srazí s molekulou plynu nebo povrchem. To znamená, že plazma může interagovat s povrchem na hlubší úrovni, což vede k efektivnější modifikaci povrchu [23].

Plazma atmosférického tlaku vzniká za normálního tlaku 1 atm. Pro úpravu povrchů v biomedicínských aplikacích se používá netermální plazma za atmosférického tlaku. Tento typ plazma se vytváří při teplotách od 30°C do 40°C a i přesto dokáže velmi dobře inaktivovat růst mikroorganismů a odstraňovat biofilmy z povrchu [26]. Ve srovnání s nízkotlakým plazmatem má významné výhody v tom, že zařízení vytvářející plazma nepotřebují složitý a objemný vakuový systém, jako je komora a vakuová pumpa, a mohou pracovat s velmi nízkým příkonem (několik wattů), který může být dodáván zmenšeným nebo přenosným napájecím modulem. Zároveň je atmosférické plazma vhodné i pro rozsáhlé úpravy povrchů i pro průmyslové použití [25]. Atmosférické plazma lze dále kategorizovat na základě různých typů vybíjení do šesti hlavních kategorií 1) dielektrický bariérový výboj, 2) korónový výboj, 3) plazmové trysky 4) výboj klouzavého oblouku, 5) radiofrekvenční výboj, 6) mikrovlnný výboj. Pro medicínské aplikace jsou přednostně využívány první tři výše jmenované zdroje [27].

2.1.1.1 Dielektrický bariérový výboj (DBD)

Dielektrický bariérový výboj (DBD) je nejběžnějším zdrojem přímého výboje. Princip tohoto výboje byl vyvinut Werner von Siemensem v roce 1857 k produkci ozonu [28], [29]. Bariérové výboje jsou elektricky blokováné výboje a vznikají při dostatečně vysokém napětí v plynovém prostoru odděleném izolačním materiálem (keramika, křemen atd.). Zařízení jako takové se skládá ze dvou paralelních kovových elektrod, kdy je alespoň jedna z těchto elektrod je pokryta dielektrickou vrstvou. V důsledku přítomnosti dielektrické bariéry

vyžadují tyto výboje ke své činnosti střídavé napětí. Aby byl zajištěn stabilní průchod plazmatu, je mezeza mezi elektrodami zmenšena na šířku několika milimetrů. V mezeře proudí plazmový plyn. Pro přenos proudu ve výbojové mezeře musí být elektrické pole dostatečně vysoké, aby způsobilo rozpad plynu. Výboj se zapaluje pomocí sinusového nebo pulzního zdroje energie [30], [31]. Zapalovací napětí jsou relativně vysoká a průtok aplikovaného plynu je relativně nízký [27]. V závislosti na složení pracovního plynu, napětí a frekvenčním buzení může být výboj buď vláknitý nebo doutnavý. Vlákňitý výboj je tvořen mikrovýboji nebo streamery, které se statisticky vyvíjejí na povrch dielektrické vrstvy. Při použití helia jako plazmového plynu nastává ve většině případů doutnavý výboj [30]. Kvůli omezujícímu proudu je DBD považováno za jedno z nejbezpečnějších zařízení, a to z důvodu použití bez jiskrových a obloukových výbojů. Existují dvě typická DBD zařízení, a sice rovinné a válcové. Díky tomu, že tato zařízení generují velké množství plazmatu, lze jimi upravovat rovněž i vzorky s velkou plochou [27].



Obrázek 4 Schéma plazmové depozice pomocí dielektrického bariérového výboje. Převzato a přeloženo z: [32].

2.1.1.2 Korónový výboj

Korónový výboj je nízkoproudový výboj iniciovaný částečným nebo lokálním rozpadem plynu ve vysoce nehomogenním elektrickém poli. Korónový výboj může být považován za Townsendův výboj nebo záporný doutnavý výboj v závislosti na poli a rozložení potenciálu. Zařízení se skládá ze dvou elektrod, a sice ostré elektrody s velmi malým poloměrem zakřivení (tzv. korónová elektroda nebo elektroda emitoru) a tupé elektrody s mnohem větším poloměrem zakřivení, která je uzemněná [33]. Napětí přivedené na ostrou elektrodu přesahuje několik kV a velikost výbojového proudu se pohybuje od 10^{-10} do 10^{-4} A. Elektrické pole v blízkosti ostré elektrody je velmi silné, protože má elektroda velmi malou velikost ve srovnání s mezielektrodovou vzdáleností. Elektrické pole se v blízkosti korónové

elektrody během ionizace zvyšuje a elektron je urychlován. Ostatní neutrální molekuly a atomy se excitují nebo ionizují srážkami, při kterých dochází k výměně kinetických energií. Nově generované elektrony jsou urychlovány a vytvářejí více elektron-iontových párů. Počet elektronů ve vzduchové mezeře proto roste exponenciálně, v literatuře se můžeme setkat s termínem „elektronová lavina“, jak je tento proces řetězové reakce taktéž nazýván. Rekombinační ionty a vysoce aktivované molekuly emitují fotony. Barva vyzařovaná korónovým výbojem se mění v závislosti na typu použitého plynu. Normální barva korónového výboje ve vzduchu je jasně modrá, protože nejčastěji excitované záření pochází z vysoce excitovaného dusíku [34], [35]. Aktivní ionizační oblast je omezena pouze na malý objem kolem aktivní korónové elektrody a malou hloubku průniku, tudíž můžeme modifikovat pouze malou část substrátu. Tento problém lze považovat jako hlavní nevýhodu korónového výboje.

Když se počet elektronů v ionizované lavině zvýší až na množství, kdy jejich prostorové pole může odstínit elektrické pole a korónový proud se zvýší, může dojít k přechodu z unipolárního na bipolární korónový výboj. Tento systém generuje mikrooblouky (streamery), které jsou kolmé na mezeru mezi elektrodami. Při bipolárním korónovém výboji vzniká vodivé plazma tak rychle, že náboje s opačnou polaritou nemohou být ve výbojové elektrodě zcela absorbovány. V důsledku toho jsou plazmová vlákna (streamery) sekundárně ionizována. [30]. Pokud použité napětí překročí určitou úroveň, může se korónový výboj stát nestabilním, což způsobí rozpad mezi elektrodami a vytvoří silný plazmový kanál, nazývaný také jako jiskra. Vznik jisker způsobuje lokální přehřívání plynu a také nerovnoměrnost úpravy, což je pro mnoho aplikací nežádoucí [34].

2.1.1.3 Plazmové trysky za atmosférického tlaku (APPJ)

Plazmové trysky za atmosférického tlaku (APPJ) jsou velmi zajímavé pro aplikace v plazmové medicíně a povrchových úpravách materiálů. APPJ používá samoudržovací výboj v pracovních plynech, jako je argon (Ar) či helium (He) s příměsí kyslíku nebo bez ní, v poli s nízkou elektrickou intenzitou. Vytvořený výboj je trvale uvolňován do vzorku kontinuálním prouděním pracovního plynu [27]. Průměry plazmových trysek obvykle pokrývají pouze několik milimetrů, tudíž je oblast zpracování omezená a nejsou použitelné pro velké plochy. Tuto nevýhodu lze úspěšně řešit skenováním substrátu nebo sestavením polí APPJ. Skenování je jednodušší technikou, ale mohlo by výrazně prodloužit čas potřebný ke zpracování. Pole APPJ vyžaduje složitější design, ale zároveň umožňuje ošetření větší plochy [36]. Nejnovějším typem, které bylo vyvinuto poměrně nedávno, je zařízení APPJ

s tryskovým reaktorem s tryskovým polem sestávajícím z pěti paralelních jednoproudových jednotek, což umožňuje větší plošné pokrytí. Vzdálenost mezi každou jednotkou je 5 mm. Každá jednotka se skládá z trubice z křemenného skla, která je obalena elektrodou z měděného plechu [37], [36]. V posledních letech došlo k velkému průlomu v aplikacích APPJ k léčbě rakoviny prostřednictvím selektivního zabíjení rakovinných buněk. Přestože je plazmaterapie stále mladou disciplínou, panuje všeobecná shoda, že UV záření a radikály vznikající ve směsi volného paprsku se vzduchem (řeč je zejména o reaktivní formách kyslíku a dusíku) mají pozitivní vliv při hojení ran a degradaci nádorů [38].

2.2 Interakce plazma-substrát

Plazmová úprava povrchu je velmi vhodná a všestranná technika, která nemění objemové vlastnosti, lze s ní rovnoměrně ošetřit tvarově složité povrchy a jde o technologii bez rozpouštědel. Protože plazma obsahuje různé aktivní látky, může docházet k různým interakcím plazmatu s povrchem. V důsledku toho lze rozlišit různé techniky interakce plazmatu a substrátu [39].

2.2.1 Plazmová úprava

Během expozice mohou být na povrch implantovány různé chemické funkční skupiny. To se často nazývá plazmová úprava. V této interakci je plazma generováno v plynech obsahujících kyslík nebo dusík nebo v inertních plynech. Povrchová aktivace zahrnuje vložení nových polárních funkčních skupin na povrch upravený plazmatem nepolymerizujících plynů, aby se dosáhlo zlepšení povrchové energie, která je zodpovědná za zlepšení smáčivosti povrchu. Útok energetických látek v plazmě na povrch rozbíjí kovalentní vazby a vytváří na povrchu volné radikály. Tyto volné radikály mohou být následně použity pro zesíťování nebo roubování skupin obsahujících kyslík jejich vystavením kyslíku nebo vzduchu. Aktivní látky v plazmě reagují s těmito volnými radikály za vzniku různých aktivních polárních funkčních skupin, jako jsou karboxylové, hydroxylové, karboxylové a aminové skupiny na povrchu substrátu [40], [21], [24]. Plazmou ošetřené povrchy mohou být použity k imobilizaci biologicky aktivních ligandů. Jednou z hlavních nevýhod plazmového ošetření je doba trvání účinku po samotném ošetření. Povrch po ošetření prochází hydrofobní regenerací a část generovaného efektu se ztrácí [39].

2.2.2 Plazmové roubování po ozáření

Jedná se o dvoustupňový proces, který vede na rozdíl od plazmového ošetření k trvalému efektu. V prvním kroku samotného procesu dojde k začlenění specifických funkčních skupin na povrch aplikací plazmového ošetření. Indukované funkční skupiny lze poté využít pro iniciaci polymerační reakce [39]. Plazmou aktivovaný povrch lze uvést do přímého kontaktu s monomery v plynné fázi nebo lze substrát přenést do roztoku monomeru. V obou případech, monomer není vystaven plazmě a roubované polymery tak budou mít stejné složení jako polymery získané konvenčními polymeračními procesy [24], .

2.2.3 Synergické ozáření

Tento typ interakce zahrnuje adsorpci monomeru na substrát, který je následně vystaven netermálnímu plazmatu. Plazma vytvoří radikály ve vrstvě adsorbovaného monomeru a na povrchu substrátu, což povede k zesíťovanému polymeru. Na rozdíl od procesu roubování po ozáření je tak monomer přímo vystaven plazmatu [39], [41].

2.2.4 Plazmová polymerace

Plazmová polymerace je metoda přímého nanášení filmu na substráty. Plazma vzniká ionizací organického monomerního plynu elektrickým výbojem o vysokých frekvencích. Plazmová polymerace probíhá ve třech stupních: (i) iniciační stupeň, kde jsou generovány atomy a volné radikály v důsledku srážky elektronů a iontů s plynovými monomery; (ii) fáze propagace, což je tvorba polymerního řetězce; a (iii) terminační proces, který je nezbytný pro uzavření polymerního řetězce. Polymerní filmy vyrobené plazmovou polymerací jsou vysoce rozvětvené a vysoce zesíťované [42]. Velkou výhodou plazmové depozice polymerů ve srovnání s konvenčními technikami pro depozici tenkých vrstev je schopnost deponovat stejné vrstvy po stránce chemické za stejných podmínek na prakticky jakýkoli typ substrátového materiálu. Vytvořené filmy se běžně označují jako plazmové polymery, i když se formálně neklasifikují jako polymery, protože se neskládají z opakujících se monomerních jednotek. Místo toho jsou tvořeny řadou prekurzorových fragmentů a rekombinačních produktů a jsou obecně vysoce zesíťované [43]. Zároveň jsou tyto filmy nerozpustné, tepelně stabilní, chemicky inertní a mechanicky odolné. Kromě toho jsou takové filmy často vysoce přilnavé [24].

3 ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI

U zdravotnických materiálů hrají kromě biokompatibility a vhodné biointerakce velkou roli také antimikrobiální vlastnosti. V případě implementace materiálu do živé tkáně dochází ke kompetici bakteriální nebo buněčné adheze. Pro úspěšný implantát platí, že integrace tkáně nastává před znatelnou bakteriální adhezí, čímž se zabrání kolonizaci implantátu a následnému vzniku zánětů. Obrana hostitele však často není schopna zabránit další kolonizaci, pokud dojde k adhezi bakterií před integrací tkáně, neboť sám imunitní systém nestačí k potlačení nežádoucích důsledků, kterými bakterie ve svém důsledku organismu hrozí. V praxi bylo identifikováno „rozhodující období“ 6 hodin po implantaci, během něhož je prevence adheze bakterií zásadní pro dlouhodobý úspěch implantátu [44]. Během tohoto období je implantát zvláště náchylný k povrchové kolonizaci bakteriemi. V případě bakteriální adheze dochází k růstu bakteriálních kolonií na povrchu implantovaného materiálu a jejich následné produkci extracelulární polysacharidové matrix [39]. Tato matrix poté vytváří na povrchu biofilm, který bakterie chrání před imunitním systémem těla i před antibiotiky. V důsledku nízké účinnosti a vysoké tolerance bakteriím vůči systémově podávaným antibiotikům, vede biofilm ve většině případů k dalším infekcím a zánětům, které mohou vést až k odstranění infikovaného implantátu [45], [44].

Infekční bakterie mohou pocházet z několika zdrojů, zejména okolní nedokonale sterilní atmosféry operačního sálu, chirurgického vybavení, oděvů zdravotníků, rezidentních bakterií na kůži pacienta a bakterií již v těle. Ačkoli sterilizace a použití aseptických technik značně snižuje hladiny bakterií nacházejících se v nemocničním prostředí, patogenní mikroorganismy se stále nacházejí v místě přibližně 90 % všech implantátů [46]. Mezi nejčastější patogeny, které způsobují infekce implantátů, patří grampozitivní *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis*, které jsou zodpovědné za 60 % všech infekcí protetických kyčelních implantátů od roku 1980. U rodu bakterií *Staphylococcus aureus* infekce probíhají rychle a jsou obecně závažnější než infekce bakterií *Staphylococcus epidermidis*. *S. epidermidis* je však jako oportunní patogen přístupnější, protože se vyskytuje hojně na kůži [44].

Pro správnou funkci implantátu je tedy zásadní, aby se zabránilo uchycení bakterií. Toho lze dosáhnout tím, že povrch implantátu upravíme tak, aby byl antibakteriální. Jedním ze způsobů je nanesení povlaku na povrch implantátu, který nabízí odolnost vůči bakteriální kolonizaci. Existují některé antibakteriální polymery, které zabíjejí bakterie nebo zabraňují jejich uchycení, které lze pro takový povlak použít. Dalším možným přístupem je

naroubování vrstvy molekul antibiotika, nebo jiné látky které zamezuje adhezi bakterií na povrch. Mezi tyto látky můžeme řadit například kvartérní amoniové soli nebo třeba stříbro ve formě malých částic. Je však třeba mít na paměti, že antibakteriální vlastnosti povrchu by neměly ohrozit uchycení buněk okolní tkáně [47]. Antibakteriálních vlastností lze také dosáhnout uvolněním nízkomolekulárních antibiotik z povrchu, inkorporací těchto antibiotik do objemu polymerů nebo tvorbou polymerních kompozitních filmů [39].

Kromě antibakteriálních vlastností jsou někdy potřebné vlastnosti proti samotné bakteriální adhezi, nežádoucího vázání proteinů, krevních destiček nebo jakýchkoli jiných biologických entit. Například u materiálů přicházejících do styku s krví je klíčovým požadavkem prevence tvorby krevních sraženin. U kontaktních čoček, materiálů pro hojení ran, katétrů a biosenzorů je důležité vyhnout se nespecifické adsorpci proteinů. Navíc tvorba adsorbované proteinové vrstvy může poskytnout kondičionální vrstvu pro nežádoucí mikrobiální kolonizaci a tvorbu biofilmu [48].

3.1 Základní typy antimikrobiálních látek

Objev antimikrobiálních léčiv je považován za jeden z nejvýznamnějších úspěchů 20. století, který spolu se zlepšenými hygienickými a vakcinačními programy způsobil revoluci v humánní i veterinární medicíně [49]. Antimikrobiální látky jsou terapeutické látky používané k prevenci nebo léčbě infekcí. Patří mezi ně antiseptika, antibiotika, antivirotika, antimykotika a antiparazitika. Dezinfekční prostředky jsou antimikrobiální látky aplikované na neživé povrchy. Antimikrobiální látky mohou zabíjet mikroorganismy nebo bránit jejich růstu zacílením na klíčové kroky v buněčném metabolismu, jako je syntéza biologických makromolekul, aktivita buněčných enzymů nebo buněčných struktur, jako je buněčná stěna, buněčné membrány [50]. Nesprávné zacházení s antimikrobiálními látkami pomohlo vést k obrovskému problému rezistence. Mezi faktory, které přispěly k rostoucímu problému rezistence, patří zvýšená spotřeba antimikrobiálních léků a nesprávné předepisování antimikrobiální terapie [51].

Aktivita antimikrobiálních látek závisí na několika faktorech, z nichž některé jsou vnitřní vlastnosti organismu, jiné jsou odvozeny od chemických látek a vnějšího fyzikálního prostředí. Žádný dezinfekční prostředek nemůže účinně působit na všechny třídy mikroorganismů. Některé mikroorganismy navíc vytváří velmi odolné endospory a většina dezinfekčních prostředků je pro tyto druhy neúčinná. Jedním z klíčových faktorů v dezinfekci povrchů hraje koncentrace aktivní látky, která v případě nedostatečně vysoké

koncentrace může vést ke zkrácení expozice. Dalšími důležitými faktory, které ovlivňují dezinfekční aktivitu jsou dále pH samotného přípravku, délka expozice či teplota. Zároveň je při vytváření dezinfekčního přípravku kladen důraz, kromě samotné aktivity, na vlastnosti jako je (1) široké spektrum působení proti mikroorganismům; (2) rychlost účinnosti; (3) vysoká kompatibilita s materiály; (4) bezpečně použitelný pro lidi a životní prostředí. Nejpoužívanějšími a zároveň nejúčinnějšími dezinfekčními činidly jsou halogeny, alkoholy, kvartérní amoniové soli, peroxid vodíku, kyselina peroctová a fenolické látky [52].

3.1.1 Sloučeniny chlóru

Historicky nejrozšířenějšími antimikrobiálními činidly patřícími mezi halogeny jsou chlór a sloučeniny uvolňující chlór. Vzhledem k tomu, že elementární plynný chlór (Cl_2) je nebezpečný, je na pracovištích nebo v domácím prostředí zakázán a je nahrazen látkami uvolňujícími chlór. Nejběžněji používaným činidlem uvolňujícím chlór je chlornan sodný (NaOCl), který se vyznačuje vysokou mikrobicidní účinností v širokém spektru mikroorganismů, nízkou toxicitou pro člověka, rychlou účinností a nízkou cenou. Avšak mezi jeho velké nevýhody patří jeho vysoká žíravost a dráždivost. Zároveň způsobuje korozi oceli a má bělicí účinky, což může být při použití u některých povrchů nežádoucí. Koncentrace používaná ve zdravotnických zařízeních se pohybuje v rozmezí 5,25%-6,15% [53]. Mechanismus účinku spočívá v disociaci chlornanu sodného v roztoku vody na dvě sloučeniny, chlornanový iont (OCl^-) a kyselinu chlorná (HOCl), jejíž procento je určeno pH vody. Díky tomu, že kyselina chlorná nemá náboj, proniká lépe buněčnou stěnou a díky oxidaci postranních řetězců aminokyselin proteinů, dochází k usmrcení buňky [52].

3.1.2 Alkoholy

Mezi nejčastěji používané alkoholy s mikrobicidními vlastnosti řadíme ethanol a isopropanol. Tyto látky jsou relativně bezpečné a díky jejich těkavé povaze se z povrchu odpaří a nezanechávají rezidua. Alkoholy se snadno používají a jejich působení na površích je velmi rychlé. Jejich velkou nevýhodou je hořlavost, což hraje svou roli převážně při skladování. Mají bakteriocidní a bakteriostatický účinek proti vegetativním bakteriím, avšak nejsou účinné na bakterie vytvářející spory. Alkoholy zároveň vykazují omezenou fungicidní a virucidní aktivitu, zejména na lipofilní viry, jako je herpes virus, chřipkový virus a viry hepatitidy B a C [52]. Tyto alkoholy uplatňují svou antimikrobiální aktivitu tím, že způsobují denaturaci proteinů. Voda hraje důležitou roli ve formulaci alkoholových dezinfekčních prostředků, protože v její nepřítomnosti nejsou bílkoviny snadno

denaturovány alkoholem. Největší účinnost vykazují při koncentracích 60-90 %, při použití koncentrací 50 % a méně, účinnost rapidně klesá [54].

3.1.3 Fenoly

Fenol uplatňuje svou antimikrobiální aktivitu proti vegetativním bakteriím, grampozitivním i negativním, plísním a virům, ale není tak účinný vůči sporicidním a proti acidorezistentním bakteriím. Biologická aktivita souvisí s nedisociovanou molekulou, která vyvolává progresivní únik esenciálních metabolitů. Nejhlavnějším metabolitem, který je uvolňován z buňky ven, jsou draselné (K^+) ionty, což vede k poškození membrány a následně buněčné lýze. Fenoly působí jako protoplazmatický jed a způsobující koagulaci cytoplazmy. Fenoly reagují s určitými typy plastových povrchů a jsou adsorbovány porézním materiálem. Pokud není důkladně opláchnut vodou, zbytky alkoholu mohou způsobit podráždění kůže nebo depigmentaci. Z tohoto důvodu byl toxický fenol nahrazen jeho deriváty o-fenylfenol a 2-benzyl-4-chlorfenol. Často se používají v kombinaci s aniontovými povrchově aktivními látkami [52].

3.1.4 Kvartérní amoniové soli

Kvartérní amoniové sloučeniny (QAC) lze považovat za amfifilní substituované sloučeniny, které nesou permanentně kladně nabitý dusík, vyvážený halogenidovou nebo sulfátovou skupinou. QAC jsou klasifikovány podle dusíkových substituentů, které mohou zahrnovat buď typ uhlíkových řetězců nebo přítomnost aromatických skupin [55]. QAC jsou uznávány jako antimikrobiální látky se širokým spektrem aktivity. Jejich mikrobicidní aktivita je způsobena jejich adsorpcí na proteiny nebo kyselé fosfolipidy v membráně, která vede k tvorbě hydrofilních dutin. Denaturace esenciálního buněčného proteinu způsobuje permeabilitu cytoplazmatické membrány, a nakonec vede k narušení buňky [55]. Zdá se, že QAC se také podílejí na inaktivaci enzymů produkujících energii, navíc se mohou vázat na DNA. Jejich hydrofobní aktivita je činí účinnějšími proti lipofilním mikroorganismům. Obecně jsou QAC baktericidní vůči vegetativním buňkám grampozitivních i gramnegativních organismů, fungicidní a působí vůči široké škále virů. I přestože inhibují růst bakteriálních spor nejsou sporicidní [52].

3.1.5 Peroxid vodíku

V průběhu let bylo prokázáno, že peroxid vodíku (H_2O_2), má antimikrobiální vlastnosti proti široké škále mikroorganismů, jako jsou bakterie, viry, spory a houby. Tato látka je bezbarvá,

bez zápachu a vykazuje nízkou ekotoxicitou. Je to všestranný dezinfekční prostředek, protože jej lze použít v několika prostředích včetně vzduchu, vody a povrchů. Peroxid vodíku představuje jeden z nejpoužívanějších biocidů pro různé antimikrobiální aplikace, jako je dezinfekce a sterilizace. Obvykle se pro čištění laboratorních povrchů používá 6% vodný roztok peroxidu vodíku [56], [57]. Mechanismus zapojený do antibakteriálního účinku se připisuje uvolňování volných hydroxylových radikálů. Tyto radikály jsou silná oxidační činidla, která mohou rychle reagovat s bakteriálními biomolekulami (zejména thiolovými skupinami proteinů), což způsobuje nevratné strukturální modifikace a následnou buněčnou smrt. Roztoky peroxidu vodíku jsou nestabilní, proto se obvykle přidávají vhodná stabilizační činidla, jako je kyselina benzoová. Na druhé straně se produkce netoxických a biologicky odbouratelných produktů rozkladu (kyslík a voda) jeví jako důležitá výhoda ve srovnání s jinými dezinfekčními prostředky [52].

3.1.6 Kyselina peroctová

Kyselina peroctová (CH_3COOOH) je dezinfekční prostředek s aktivitou proti mykobakteriím, virům, sporám a plísním v nízkých koncentracích. Kyselina peroctová je silné oxidační činidlo, které poskytuje neškodné vedlejší produkty rozkladu jako je kyselinu octovou a peroxid vodíku. Obecně se používá jako povrchová dezinfekce a pro sterilizaci zdravotnických prostředků. Pro aplikaci jako dezinfekční prostředek je běžně komerčně dostupný 15% vodný roztok směsi kyseliny peroctové, kyseliny octové, peroxidu vodíku a vody [52, 55].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Cílem praktické části diplomové práce bylo deponovat alifatické uhlovodíky v dusíkovém výboji na povrch zvoleného substrátu ze syntetického polymeru. Pro testování byly zvoleny monomery z řad alifatických uhlovodíků, a sice pentan a hexan. Dále byl zvolen syntetický polymerní substrát, fólie z polyethylentereftalátu. Dalším cílem bylo takto modifikované polymerní substráty charakterizovat pomocí zvolených fyzikálně-chemických metod. Dále vyhodnocení jejich mikrobiální aktivity a případné toxicity vůči organismu, a následná diskuse dosažených výsledků.

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Použité chemikálie

Pentan (98%, Sigma-Aldrich)

Hexan (95%, Ing. Petr Lukeš (IPL))

Dijodomethan (Sigma-Aldrich)

Formamid (Sigma-Aldrich)

Polyethylentereftalát (PET) (Triplast s.r.o., Olomouc)

Mikroorganismy (Escherichia coli (CCM 4517), Staphylococcus aureus (CCM 4516))

5.2 Použité metody

Infračervená spektroskopie s fourierovou transformací (FTIR)

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Měření kontaktního úhlu a povrchové energie

Elipsometrie

Měření antibakteriální aktivity na plastech

6 PLAZMOVÁ DEPOZICE

Byly nastříhány vzorky PET folie o rozměrech 12×100 cm. Takto připravené vzorky byly použity jako výchozí substráty pro plazmovou depozici dielektrickým bariérovým výbojem. Monomery (prekurzory) použité pro depozici na povrch substrátu byly zvoleny pentan a hexan a jako nosný plyn tvořící prostředí výboje byl zvolen dusík (N_2) ze zásobní plynové lahve. Depozice tenkých polymerních vrstev byla provedena v na zakázku postaveném reaktoru s povrchovým dielektrickým bariérovým výbojem (SDBD). Tento reaktor se skládal ze 3 hlavních částí (elektrodový systém, systém chlazení a generátor vysokého napětí). Celé depoziční zařízení bylo po dobu depozice tenkých vrstev umístěno v digestoři a vznikající plynné produkty byly neustále odsávány. Elektrodový systém pro SDBD se skládal z 11 horních otočných válcových elektrod vyrobených z mosazi o délce 10,4 cm a průměru 1 cm, mezi kterými byly mezery o šířce 2 mm. Spodní plochá elektroda o rozměrech $13,6 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ byla umístěna pod válcovými elektrodami a pokryta slídovým dielektrikem o tloušťce 1 mm. Substrát pro depozici se periodicky pohyboval mezi horními elektrodami a spodní elektrodou rychlostí 14,5 cm/min. Rotované horní elektrody byly v kontaktu s pohybujícím se substrátem. Spodní elektroda byla uzemněna. Horní elektrody byly připojeny k vysokonapětovému střídavému zdroji (Lifetech, Brno, Česká republika) pomocí sinusového napětí o amplitudě 11 kV a frekvenci 12 kHz. Dusík jako pracovní plyn byl do zařízení přiváděn mezi horní elektrody. Pro delší dobu udržení plynu u elektrod je celý prostor kryt skleněným oknem. Monomery (pentan, hexan) byly přiváděny do proudu dusíku se zvolenými průtoky od 30 sccm do 120 sccm. Sccm je tak zvaný standardní kubický centimetr za minutu, což znamená průtok plynu o určitém objemu za atmosférického tlaku. Každý substrát prošel výbojem v depozičním zařízení celkem $3 \times$. Po celou dobu depozice, bylo zařízení chlazeno vodou, aby byla zaručena stejná teplota elektrod během celé doby depozice.

Vstupní podmínky depozice

Přístroj – sestavený plazmatický reaktor:

generátor vysokého napětí (Lifetech, Brno, Česká republika)

voltmetr

chladicí zařízení

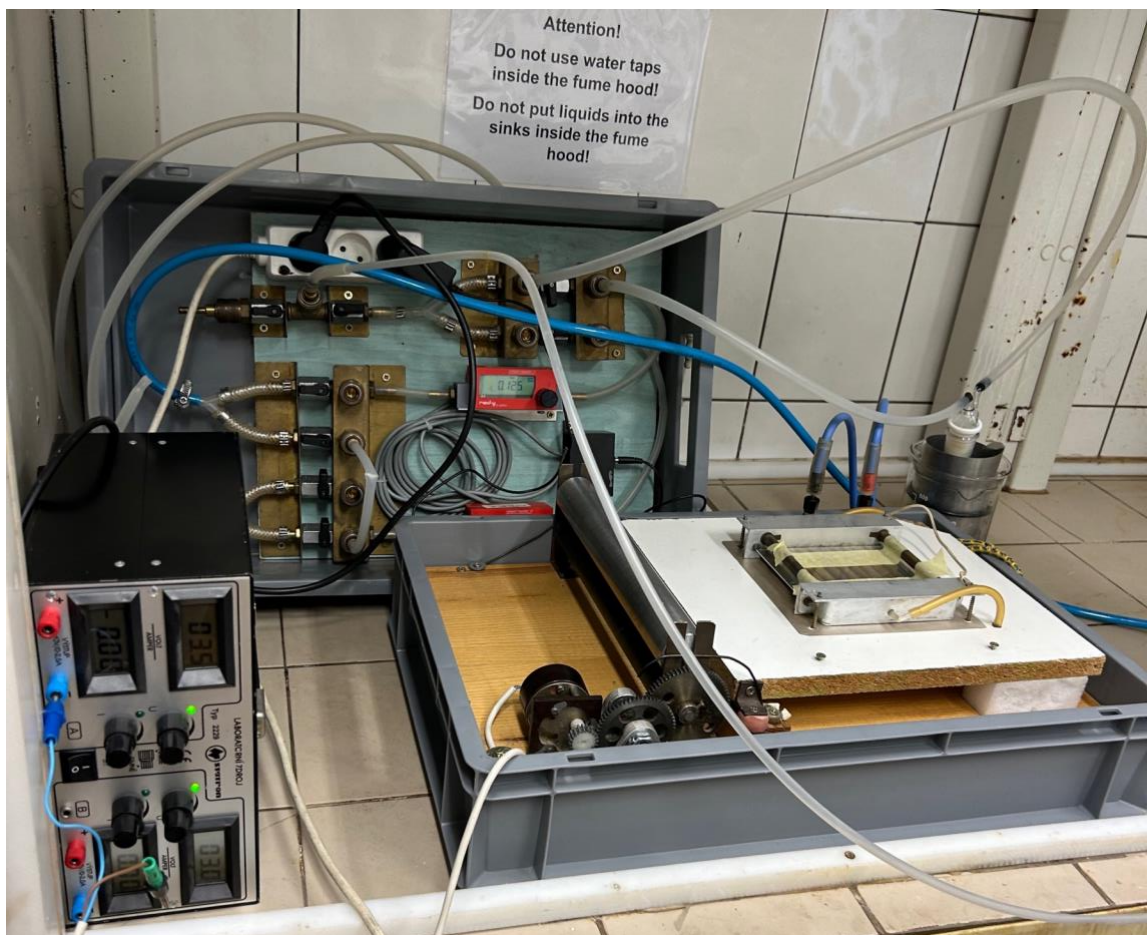
elektrody + dielektrikum

regulátor průtoku

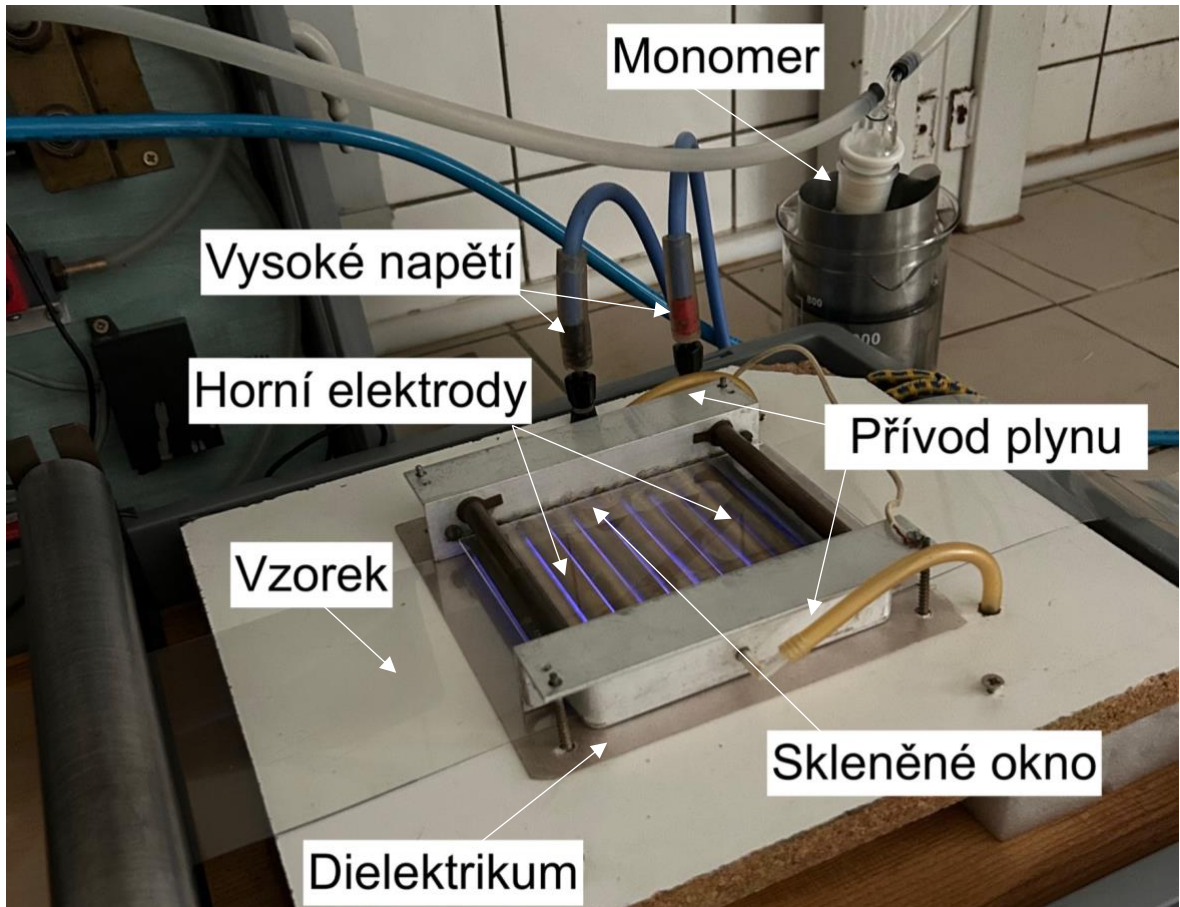
Výkon reaktoru: 150 W

Průtok nosného plynu: 6 slm (standardní litry za minutu)

Průtoky monomeru: 30; 60; 90; 120 sccm (standardní kubické centimetry za minutu)



Obrázek 5 Reaktor plazmové depozice



Obrázek 6 Proces depozice dielektrickým bariérovým výbojem

7 METODY CHARAKTERIZACE POVRCHU

Modifikované povrchy vzniklé depozicí alifatických uhlovodíků (pentan, hexan) na povrch zvolených polymerních materiálů, byly dále charakterizovány pomocí dostupných fyzikálně – chemických metod. Byla charakterizována topografie povrchu pomocí metody skenovací elektronové mikroskopie (SEM), dále přítomnost deponovaných vrstev metodou elipsometrie a složení tenkých filmů infračervenou spektroskopií (FTIR), a další vlastností jako měření mezního úhlu smáčení a následné vyhodnocení povrchové energie. V neposlední řadě byla testována antimikrobní aktivita získaných vrstev vůči bakteriím rodu *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

7.1 Měření mezního úhlu smáčení a povrchové energie

Smáčivost povrchu je považována za jeden z nejdůležitějších parametrů, který ovlivňuje biologickou odezvu s biomateriály. Bylo zjištěno, že adsorpce proteinů je první věc, která se odehrává na povrchu biomateriálů po jeho kontaktu s biologickými tekutinami. Biologická odpověď je řízena povahou a potvrzením proteinů adsorbovaných na povrchu. První molekuly, které se dostanou na povrch v nanosekundovém měřítku, jsou molekuly vody. Je známo, že voda interaguje a váže se různě v závislosti na vlastnostech povrchu. Povrchová voda tedy ovlivňuje navázání proteinů a dalších molekul, které se váží o něco později. V případech, kdy jsou v biologické tekutině přítomny různé proteiny, např. v krevní plazmě, dochází ke konkurenci mezi těmito proteiny o navázání k povrchu. Síla proteinových interakcí, které se nejprve dostanou na povrch, dále ovlivňují výměnné reakce mezi různými proteiny a k některým výměnám ani nemusí dojít. Předpokládá se tedy, že smáčivost hraje důležitou roli v množství a konformačních změnách adsorbovaných proteinů adhezi/aktivaci krevních destiček, koagulaci krve a adhezi buněk [58]. Smáčivost povrchu lze vyhodnotit měřením kontaktního úhlu (θ) na pevném povrchu a kapky kapaliny na něm. Kontaktní úhel závisí na mezifázovém napětí těchto různých fází (kapalina-pevná látka). K tomuto účelu lze použít vodu a další organické kapičky kapaliny, které jsou snímány pomocí speciální kamery. Pro měření mezního úhlu smáčení byla použita kamera See system E (Advex instrument). Přístroj je vyobrazen níže na obrázku 7.



Obrázek 7 Příklad přístroje See system E s použitými kapalinami (voda, formamid, diiodomethan)

Hodnota θ je výsledkem velikosti mezimolekulárních interakcí mezi kontaktující kapalinou a pevnou látkou a poskytuje inverzní míru smáčivosti. Úhel mezi tečnou k pevnému povrchu (S) a tečnou k rozhraní kapalina-kapalina (L) na kontaktní čáře mezi třemi fázemi je považován za θ . Pokud napíšeme rovnováhu sil, dostaneme Youngovu rovnici [59]:

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \cos \theta \quad (1)$$

Kde γ je povrchové napětí/energie. V případě částečného smáčení lze rovnici zjednodušit na Young-Duprého rovnici:

$$W_{SL} = \gamma_{LG} (1 + \cos \theta) \quad (2)$$

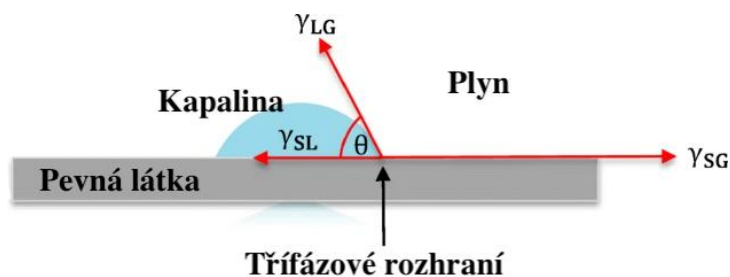
Kde W_{SL} odpovídá adhezní energii. Adhezní energie se dělí na disperzní a nedisperzní složku. Disperzní složku způsobují Londonovy disperzní síly mezi dvěma nepolárními molekulami. Nedisperzní složka je poté složena z dipolárních, vodíkových a dalších interakcí. Bohužel, přístup výpočtu povrchové energie z rovnice 2 je příliš jednoduchý, protože v nedisperzní složce směšuje různé interakce, které spolu nesouvisí.

Z tohoto důvodu je zapotřebí oddělit Lifshitz-van der Wallsovy interakce (LW) od acidobazických interakcí (AB). Adhezní práci (nebo povrchovou energii) získáme pomocí následujícího vzorce:

$$W_{SL} = \gamma_{LG}(1 + \cos \theta) = 2|(\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW})^{1/2} + (\gamma_S^+ \gamma_L^-)^{1/2} + (\gamma_S^- \gamma_L^+)^{1/2}| \quad (3)$$

Kde γ^+ a γ^- jsou části k povrchové energii, které mají buď charakter „Lewisovy kyseliny“ (akceptor elektronů) nebo „Lewisovy báze“ (donor elektronů) [59].

Podobně i meniskus vody ve zkumavce nebo pohárku také vykazuje kontaktní úhel, který se řídí stejnými zákony vzlínivosti. Smáčivost je důležitou vlastností v mnoha průmyslových aplikacích, jako je chemický, ropný, potravinářský, kosmetický, nanotechnologický průmysl, biologické vědy a v přírodních systémech. Objem přisedlé kapky na pevném substrátu je omezen třífázovou kontaktní linií a identifikován s geometrickými parametry profilu kapky, jako je kontaktní úhel, kontaktní poloměr a výška kapky. Parametry jsou proměnné podél různých úhlů pohledu na anizotropních površích. Směrovou závislost kontaktních úhlů lze určit otáčením kapky kolem její osy, přičemž poloha videokamery je pevná, nebo se pohybuje, zatímco poloha kapky je pevná [60]. Na základě mezního úhlu smáčení vody lze stanovit hydrofilitu povrchu. V případě že je mezní úhel menší než 90° , jedná se o hydrofilní povrch. Naopak v případě, že je mezní úhel větší než 90° jedná se o povrch hydrofobní [61]. V ideálním případě 0° , se jedná o dokonalé smáčení. Dokonalé smáčení, tedy vytvoření souvislé vrstvy na povrchu bez jakékoli kapky, je vzácné. Kapky, více či méně velké, více či méně rozprostřené na povrchu, mají tvar, který minimalizuje celkovou energii systému [59].



Obrázek 8 Mezní úhel přisedlé kapky na pevném povrchu. Převzato a přeloženo z: [62]

K vyhodnocení povrchové energie a její komponent pomocí metody acid-base je zapotřebí získat hodnoty kontaktního úhlu alespoň pro 3 kapaliny. Zpravidla jde o deionizovanou vodu, formamid a diiodomethan. Na vzorky je naneseno alespoň 5 kapek dané kapaliny a

tyto kapky jsou pak zaznamenány kamerou. Výsledné obrázky jsou poté vyhodnoceny za pomoci kamery software See system E. Z naměřených hodnot kontaktních úhlů software vypočítá aritmetický průměr a odchylku měření. Povrchová energie se poté vypočte pomocí metodiky „acid – base“. V případě že hodnoty dosahují menší velikosti než 13° , lze konstatovat téměř dokonalé smáčení.

7.2 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

SEM je široce používanou mikroskopickou metodou. Tento typ mikroskopu dokáže vizualizovat tvar krystalu, povrchovou morfologii, dispergované částice a některé povrchové funkcionalizace. SEM může pracovat na organických i anorganických vzorcích s širokým rozsahem velikostí od nanočástic až po objemové materiály v kilogramech [63]. Použitý přístroj SEM Nova NanoSEM 450 (FEI, Hillsboro, OR, USA) je uveden na obrázku. 9.



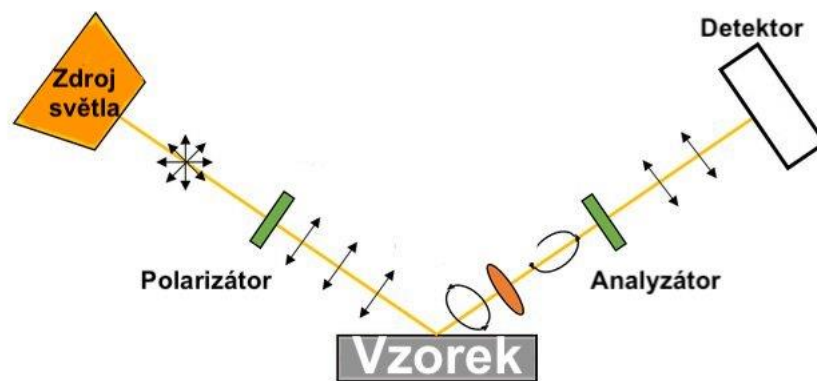
Obrázek 9 Skenovací elektronový mikroskop Nova NanoSEM 450 (FEI, Hillsboro, OR, USA)

Metoda je široce používána ke zkoumání mikrostruktury a chemie řady materiálů. Pro vyhodnocení metodou SEM nejsou vyžadovány žádné komplikované techniky přípravy vzorků, je však zapotřebí, aby byl vzorek povrchově vodivý. Vodivosti se obvykle dosahuje napařením vrstvy kovu (např. zlato o tloušťce 5–10 nm) nebo grafitu na vzorek ve vakuu[64]. SEM funguje na principu, že elektronový paprsek je zaměřen na povrch vzorku, což vyvolává interakce mezi elektrony a atomy vzorku. Tyto interakce generují různé signály, jako jsou zpětně rozptýlené elektrony (backscattered electrons), sekundární elektrony (secondary electrons) nebo třeba rentgenové záření. Signály jsou detekovány a zpracovány pomocí speciálních detektorů a obrazových systémů, což umožňuje získat detailní obrazy povrchové topografie. Mezi hlavní součásti SEM patří zdroj elektronů, elektromagnetické

čočky pro zaostřování elektronů, detektory elektronů, komory na vzorky, počítač a displeje pro prohlížení snímků. Elektrony, produkované v horní části sloupce, jsou urychlovány směrem dolů, kde procházejí kombinací čoček a otvorů, aby vytvořily jemný paprsek elektronů. Elektronový paprsek dopadá pod vakuem na povrch vzorku namontovaného na pohyblivém stolku. Povrch vzorku je snímán pohybem cívek elektronového paprsku. Toto skenování paprskem umožňuje informace o definované oblasti vzorku [65].

7.3 Elipsometrie

Spektroskopická elipsometrie je nedestruktivní optická metoda. Jedná se o metodu pro charakterizaci povrchů, rozhraní a tenkých vrstev. U tenkých vrstev lze měřit tloušťku od několika nanometrů (nebo dokonce Ångstromů) až po desítky mikrometrů. Tato technika odvozuje informace z každé vrstvy, která interaguje s dopadajícím světelným paprskem. Elipsometrie funguje v principu na změně polarizace světla při odrazu od vzorku, kdy se světlo stává eliptickým. V spektroskopické elipsometrii se měří kompletní polarizační stav světla, tedy jeho amplituda a fáze, po odrazu nebo průchodu materiálem. Spektroskopická elipsometrie určuje elipsometrické úhly ψ a Δ v závislosti na úhlu dopadu θd a energii dopadajícího záření.



Obrázek 10 Schéma spektroskopického elipsometru s rotačním analyzátozem. Převzato a přeloženo z [66]

Všechny spektroskopické elipsometry začínají zdrojem bílého světla použitým k osvětlení vzorku (viz schéma na obr. 10). Světlo prochází prvním polarizátorem. Když se polarizované světlo odráží od vzorku, může se změnit fáze i amplituda složek popisujících světlo. Přesná kvantifikace změny fáze, nazývané Δ , a změny amplitudy, nazývané ψ , je určena vlastnostmi vzorku (tloušťka, komplexní index lomu). Tato změna polarizace je analyzována druhým polarizátorem nazývaným analyzátozem. Do dráhy dopadajícího nebo odraženého světelného paprsku lze umístit volitelný kompenzátozem (retardér, fotoelastický modulátor). Přidání takové optické součásti je důležité pro zvýšení přesnosti elipsometru měřením přesných (ψ , Δ) v celém jeho rozsahu definice. Je důležité si povšimnout, že jeden z těchto optických prvků je modulován buď mechanicky (rotací) nebo piezoelektricky. Polarizační modulace poskytuje výhodu měření poměru intenzity namísto čisté intenzity. Proto je elipsometrie méně ovlivněna nestabilitami intenzity. Nakonec světlo dopadá na detektor, který je běžně

jedním ze tří typů: fotonásobič, polovodičová fotodioda nebo pole CCD. Spektroskopické elipsometry měří změny intenzity přijaté na detektoru synchronizované s polarizační modulací [67]. To umožňuje získat informace o optických vlastnostech tenkých vrstev, jako jsou index lomu a tloušťka, přičemž mohou být zahrnuty i vlastnosti jako je anizotropie, depolarizace apod. V praxi se spektroskopická elipsometrie často provádí pomocí komplexního matematického modelu, který popisuje interakci světla s vrstvami materiálu. Optické parametry a tloušťka vrstev jsou poté vypočteny numerickým výpočtem z disperzních závislostí. Správný výpočet těchto optických konstant vyžaduje vhodný model, který odpovídá zkoumanému vzorku. Tento model je pak porovnáván s naměřenými daty, díky čemuž můžeme přesněji stanovit tloušťku vrstvy. Tímto způsobem může být spektroskopická elipsometrie využita například při výzkumu materiálů pro elektroniku, optiku, nebo povrchovou úpravu. Při studiu materiálů pomocí měření ultrafialové/viditelné oblasti hraje elipsometrie zásadní roli při charakterizaci mezipásmových přechodů (pásmových struktur). Konkrétně nám umožňuje odvodit bandgap (např.) pozorováním variace α (absorpční koeficient) s energií fotonu ($h\nu$). V infračervené oblasti poskytuje elipsometrie cenné poznatky o absorpci volných nosičů indukované volnými elektrony nebo otvory v pevných látkách. To nám umožňuje studovat elektrické vlastnosti, jako je mobilita nosiče, koncentrace nosiče a vodivost. Kromě toho nám elipsometrie v infračervené oblasti umožňuje zkoumat režimy vibrací mřížky a místní atomové struktury [68]. Pro zkoumání přítomnosti deponovaných monomerů na PET byl použit přístroj Horiba uvisel 2, který můžeme vidět na obrázku 11.



Obrázek 11 Přístroj pro spektroskopickou elipsometrii Horiba uvisel 2

7.4 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

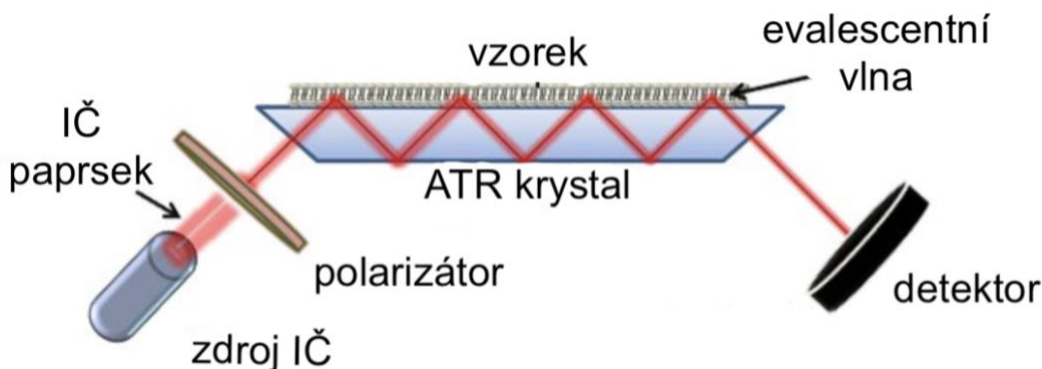
Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) je nedestruktivní metoda, kterou lze použít mimo jiné i k analýze biologických materiálů. FTIR spektrometr spojený s detektorem infračerveného pole lze použít k současnému sběru IR spekter a prostorových umístění ve vzorku, generování dvourozměrných (2D) chemických obrazů. Tyto 2D chemické snímky označují oblasti s vysokou absorpcí při vlnovém čísle pro různé materiály v oblasti vzorku. FTIR spektroskopické zobrazování používá detektor ohniskové roviny (FPA) namísto tradičního jednorvkového detektoru. Složení filmů vzniklých plazmovou depozicí, bylo měřeno přístrojem pro infračervenou spektroskopii Nicolet iS5 (Thermo-fisher Scientific). Použitý přístroj je vyobrazen níže na obrázku 12.



Obrázek 12 Přístroj pro měření ATR-FTIR Nicolet iS5 (Thermo-fisher Scientific)

Tato metoda je rychlá a není zapotřebí náročné přípravy vzorků. Navzdory skutečnosti, že FTIR spektroskopie v transmisi měří celou tloušťku vzorku, měřená tloušťka u vodných roztoků je obecně omezena na 6 μm kvůli silné absorpci vody. Nejčastěji se používá ATR-FTIR spektroskopie, která slouží pro měření silně absorbujících vzorků, a dále vzorků u nichž chceme charakterizovat pouze jejich povrchové parametry do hloubky několika málo desítek mikrometrů. Mezi silně absorbující vzorky řadíme vodné roztoky a emulze. Touto

metodou dokážeme získat ze vzorku chemické i strukturní informace tak, že identifikujeme jeho funkční skupiny. Každá funkční skupina má specifickou vibrační nebo rotační frekvenci, která se zobrazí právě v infračerveném spektru. ATR-FTIR je založen na principu násobného úplného odrazu záření na fázovém rozhraní měřeného vzorku a měřícího krystalu z materiálu o vysokém indexu lomu [69]. Schéma funkce ATR krystalu je uvedeno na obrázku 13.



Obrázek 13 Schéma ATR krystalu. Převzato a přeloženo z [70].

Když je paprsek IR nasměrován pod určitým úhlem, nazývaným kritický úhel, dochází k úplnému vnitřnímu odrazu. IR světlo je zcela odráženo a uvnitř IRE je generována stojatá vlna záření nazývaná evanescentní vlna. Tato evanescentní vlna pak interaguje se vzorkem a zeslabuje IR paprsek. Zeslabený IR paprsek vystupuje z IRE a dostává se k detektoru, kde je výsledný signál převeden na IR spektrum. Elektrické pole evanescentní vlny exponenciálně klesá na vzdálenost od povrchu IRE k e^{-1} maxima, což je u neabsorbujících materiálů známé jako hloubka průniku. Hloubka průniku je také závislá na úhlu dopadu IR světla a indexech lomu jak vzorku, tak IRE. Pro prostup infračerveného záření se používá krystalu diamantu, křemíku či germánia a vyhodnocují se informace z vrchní vrstvy vzorku, která přiléhá IRE [69],[71]. Při měření ATR se může vyskytnout typ spektrálních zkreslení, jako je anomální disperze. Tato disperze nastane, když je úhel dopadu blízký kritickému úhlu. To se jedná zejména u vzorků s vysokým indexem lomu, nebo když se rozptyl indexu lomu u vzorků blíží vlnové délce absorpčního pásu. V důsledku toho může dojít k významnému posunu polohy spektrálního pásma ve srovnání s polohou spektrálního pásma měřeného v přenosových spektrech. Tento problém pak může vést ke zkreslené interpretaci spekter [71].

7.5 Měření antibakteriální aktivity na substrátech

K hodnocení in vitro antimikrobiální aktivity lze použít různé laboratorní metody. Nejznámějšími a základními metodami jsou disková difuzní metoda a metody difuzní, mezi které spadá ředění bujónu nebo agarů [72]. K dispozici je též standardizovaná metoda dle ISO 22196:2011 Měření antibakteriální aktivity na plastech a neporézních površích, která byla původně převzata z japonských standardů, normy JIS-2801. Tato metoda kvantitativně testuje schopnost plastů inhibovat (bakteriostatický) nebo ničit (baktericidní) růst mikroorganismů v průběhu 24hodinového kontaktního období. V této práci bylo postupováno v souladu s výše zmíněnou normou a byla dále použita při vyhodnocení k vyhodnocení povrchové aktivity modifikovaných polymerních substrátů. V souladu s normou byly použity dva druhy bakteriálních kmenů, *Staphylococcus aureus* (CCM 4516) a *Escherichia Coli* (CCM 4517). Tato metoda spočívá v tom, že je testováno celkem 9 vzorků. Polovina nemodifikovaných zkušebních vzorků je použita k měření tzv. viability bakteriálních buněk bezprostředně po inokulaci a druhá polovina je použita k měření viability bakteriálních buněk po 24hodinové inkubaci [73]. Použitý inkubátor je uveden na obrázku 14.



Obrázek 14 Inkubátor INB 400 (Mettler) použitý při testech antibakteriální aktivity

Nejprve bylo připraveno 6 nemodifikovaných vzorků, které slouží jako referenční vzorky a 3 vzorky, které byly modifikovány k antibakteriálním účelům. Vzorky byly nastříženy v rozměrech 50×50 mm a o tloušťce 0,5 mm. Ke každému vzorku byla také nastříhána krycí fólie z polypropylenu v rozměrech 35×35 mm. Takto nastřížené vzorky i krycí folie byly vydezinfikovány ethanolem, vysušeny a zvláště vloženy do sterilních Petriho misek. V dalším kroku byla do zkumavky s 10 ml bujónu nanесena sterilní očkovací kličkou testovaná bakteriální kultura, díky čemuž vzniklo inokulum. Inokulum bylo připraveno v rozmezí koncentrací od $2,5 \times 10^5$ až 10×10^5 CFU/ml. Přesná hodnota koncentrace buněk v inokulu byla poté zjištěna pomocí mikroskopického sčítání v Bürkerově komůrce. Inokulum bylo pipetou přeneseno v množství 0,4 ml na každý z devíti vzorků a přikryto krycí fólií. Do inkubátoru (Obr. 14) o teplotě 35° a 90% vlhkosti byly vloženy víčkem překryté Petriho misky tří nemodifikovaných vzorků a tří modifikovaných vzorků po dobu 24 hodin [73].

Poslední tři referenční vzorky byly po nanесení inokula ihned opláchnuty 10 ml SCDLP (Soya Casein Digest Lecithin Polysorbate broth), což je živná půda na bázi kaseinu, která funguje jako neutralizační činidlo. Celý roztok s neutralizačním činidlem a spláchnutým inokulem byl přenesen do zkumavky. Ze zkumavky bylo odebráno množství 1 ml, které bylo smícháno se směsí fyziologického roztoku a fosforečnanového pufru o objemu 9 ml. Takto bylo provedeno ředění celkem $10 \times$, přičemž probíhalo v tzv. flow-boxu. Flow-box je vyobrazen na následujícím obrázku 15.



Obrázek 15 Flow box Safemate 1.2 (Bioair)

Totéž ředění bylo provedeno i pro samotné inokulum. Stejný postup byl proveden i pro inkubované vzorky (referenční i modifikované) po 24 hodinách v inkubátoru. Po získání zředění u všech vzorků (modifikovaných, nemodifikovaných i inokula), byl z každého zředění odebrán 1 ml roztoku a nanesen na Petriho misku, kde k němu bylo přimícháno 15 ml PCA (plate count agar) o teplotě 45 °C. Stejně byly připraveny i duplikátní misky pro každý vzorek. Roztok byl důkladně promíchán v Petriho misce a následně se ponechal zatuhnout při pokojové teplotě. Přikrytý zatuhnutý agar byl dnem vzhůru vložen do inkubátoru po dobu 40-48 hodin při teplotě 35 °C. Odečty kolonií proběhly po 24 hodinách a po 48 hodinách od vložení agaru do inkubátoru. Do odečtů jsou počítány pouze hodnoty větší než 30 a menší 300 kolonií.

Výpočet životaschopných bakterií na jeden testovaný vzorek:

$$N = \frac{(100 \times C \times D \times V)}{A} \quad (4)$$

Kde N je počet životaschopných bakterií/cm² na jeden testovaný vzorek; C je průměrný počet kolonií na duplikátní misce; D je zředovací faktor; V je objem neutralizačního činidla v ml; A je plocha krycího filmu v mm²

Výpočet samotné antimikrobní aktivity vzorku:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t \quad (5)$$

Kde R je mikrobiální aktivita vzorku; U₀ je průměr dekadického logaritmu životaschopných bakterií/cm² nemodifikovaných vzorků ihned po inokulaci; U_t je průměr dekadického logaritmu životaschopných bakterií/cm² nemodifikovaných vzorků po 24 hodinách; A_t je průměr dekadického logaritmu životaschopných bakterií/cm² modifikovaných vzorků po 24 hodinách

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Měření kontaktního úhlu a povrchové energie

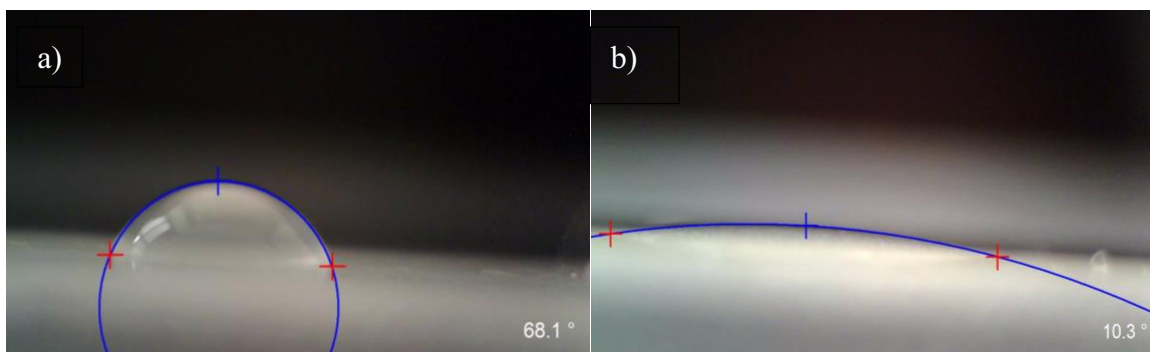
V tabulkách 1 a 2 můžeme vidět výsledky z měření kontaktního úhlu a povrchové energie.

Tabulka 1 Naměřené hodnoty mezních úhlů smáčení

Meřené povrchy		voda [°]	dijodomethan [°]	formamid [°]
1.	PET čistý	68,2 ± 1,0	26,5 ± 2,0	54,5 ± 1,0
2.	*pentan 30	9,0 ± 0,7	33,6 ± 1,9	37,2 ± 1,4
3.	*pentan 60	10,7 ± 0,1	37,2 ± 0,9	4,31 ± 1,8
4.	*pentan 90	10,0 ± 1,1	36,5 ± 1,4	7,07 ± 0,0
5.	*pentan 120	10,6 ± 0,4	37,5 ± 0,9	2,9 ± 0,4
6.	*hexan 30	53,7 ± 1,7	26,2 ± 1,2	24,2 ± 1,7
7.	*hexan 60	10,7 ± 2,1	30,1 ± 1,5	9,2 ± 1,9
8.	*hexan 90	8,9 ± 0,4	42,5 ± 2,1	8,5 ± 0,4
9.	*hexan 120	9,6 ± 1,4	36,69 ± 0,9	9,9 ± 0,1

* modifikovaný povrch plazmovou depozicí

Z tabulky 1 lze vyčíst, že PET má sama o sobě poměrně hydrofilní povahu, v případě vody byla naměřena hodnota $68,2 \pm 1,0^\circ$. Po aplikaci plazmatu s monomerem pentanu o všech průtocích, značně klesly hodnoty mezních úhlů pod 13° . Tento povrch lze tedy považovat jako povrch s tzv. dokonalým smáčením. Z praktického hlediska lze též podotknout, že takto nízké úhly smáčení se též poměrně špatně měří. Je to dáno tím, že odečet pomocí software je velmi závislý na precizním umístění měřených bodů uživatelem. V našem případě jsme však dosáhli poměrně přesných hodnot, což bylo způsobeno jednak tím, že množství měřených kapek bylo dostačující a dále tím, že ostrost sejmutých obrázků byla stále ještě vysoká. Uvedený popis je patrný i z následujícího obrázku 16, kde je znázorněná vyhodnocená kapka vody na povrchu a) čistého PET a dále b) vybraného opracovaného vzorku, v tomto případě jde o pentan připravený za průtoku 120 scem.



Obrázek 16 a) PET čistý, b) PET s deponovaným pentanem při průtoku 120 sccm

Co se týče hexanu, tam se u průtoku 30 sccm hydrofilita zvýšila pouze o 15° , a sice na hodnotu $53,7 \pm 1,7^\circ$. Oproti tomu, ostatní průtoky hexanu (60 sccm, 90 sccm a 120 sccm) vykazovaly daleko výraznější změnu čili zvýšení hydrofility. Oproti čistému nemodifikovanému PET se hodnoty dostaly opět pod 13° , stejně jako u pentanu. Povrchy modifikované hexanem o vyšších průtocích než 30 sccm považujeme za povrchy s dokonalým smáčením. Bylo by vhodné uvážit, zda-li má délka řetězce monomeru vliv na účinnost modifikace při plazmovém výboji. V případě porovnání hexanu o průtoku 30 sccm a pentanem o stejném průtoku, pozorujeme jasně nižší účinnost a nižší hydrofilitu pro monomer s delším řetězcem, tedy pro hexan. Jeví se, že pentan hydrofilizuje povrchy lépe při nižších průtocích, zatímco hexan při vyšších průtocích.

Z naměřených hodnot pro diiodometan je zřejmé, že kontaktní úhel u všech deponovaných vzorků oproti čistému PET vzrůstá, až na vrstvu připravenou v hexanu při nejnižším průtoku. Tento výsledek též osvědčuje fakt, že na povrchu filmy skutečně připraveny jsou. V případě formamidu lze vyčíst, že dochází oproti čistému PET k značnému poklesu hodnot kontaktních úhlů, kdy se vzrůstajícími průtoky obou prekurzorů (pentan i hexan) se hodnoty významně snižují.

Výše zmíněné průměrné hodnoty kontaktních úhlů byly použity pro vyhodnocení povrchové energie a jednotlivých součástí povrchové energie. Tyto hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce (Tabulka 2).

Tabulka 2 Naměřené hodnoty povrchové energie z kontaktního úhlu

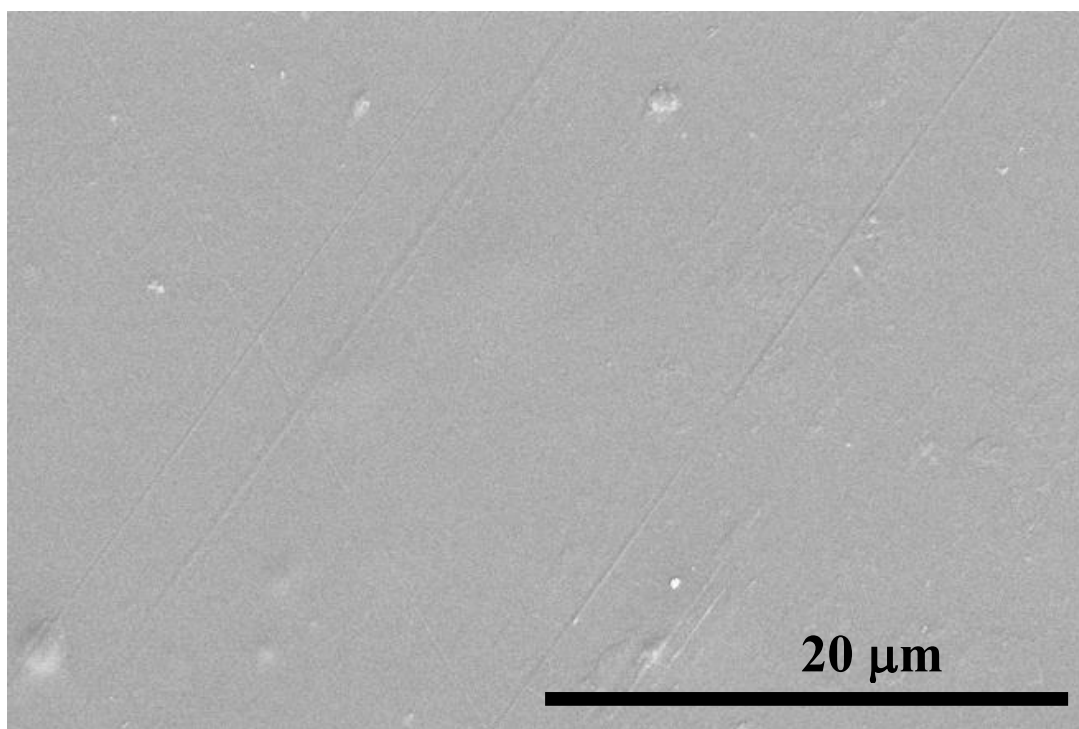
Meřené povrchy	γ_{total} [mJ·m]	γ_{LW} [mJ·m]	γ_{AB} [mJ·m]	γ_{+} [mJ·m]	γ_{-} [mJ·m]
1. PET čistý	46,9	44,6	2,4	0,1	15,8
2. *pentan 30	49,3	42,7	6,7	0,2	75,6
3. *pentan 60	57,2	41,0	16,2	1,2	52,6
4. *pentan 90	56,6	41,3	15,3	1,1	53,5
5. *pentan 120	57,1	41,3	15,8	1,2	52,8
6. *hexan 30	54,5	45,5	9,0	1,2	16,6
7. *hexan 60	56,1	44,2	11,9	0,7	52,4
8. *hexan 90	56,8	38,8	18,0	1,5	54,0
9. *hexan 120	56,8	41,2	15,6	1,1	53,5

* modifikovaný povrch plazmovou depozicí

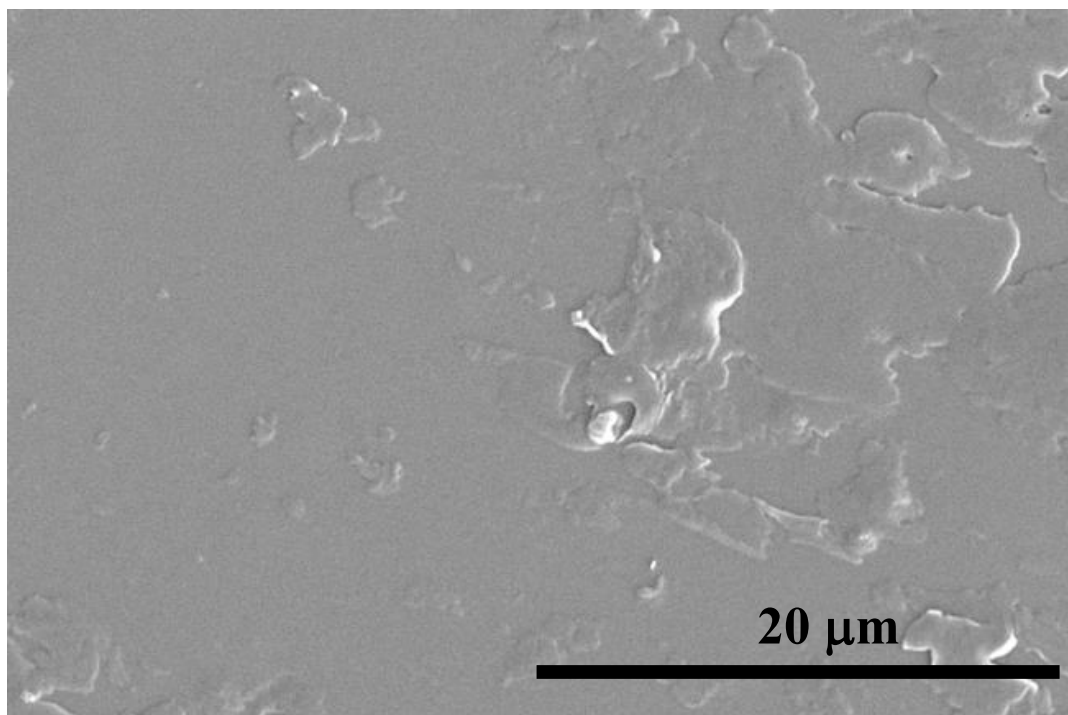
Z vypočtených hodnot je evidentní, že celková povrchová energie vzorků po depozici vzrůstá, zejména pak pokud jde o hodnoty γ_{AB} . V případě jednotlivých komponent γ_{AB} pak výrazně dominuje γ_{-} .

8.2 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

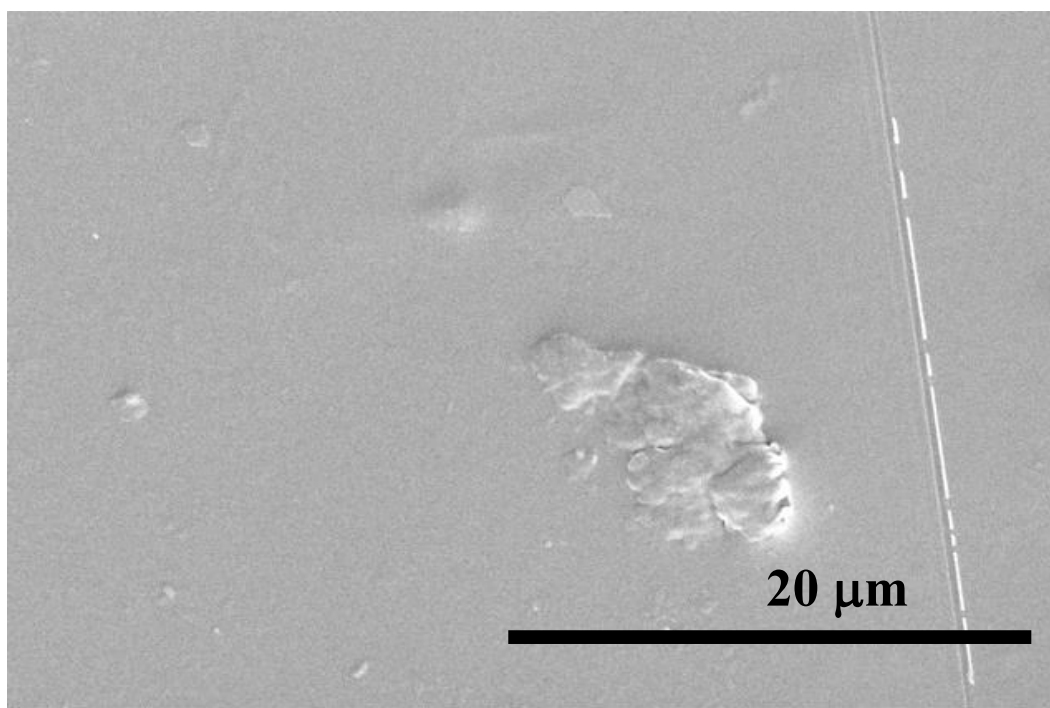
Na obrázcích níže můžeme vidět snímky získané za pomoci skenovací elektronové mikroskopie, a to při zvětšení 5000 \times . Deponované tenké filmy byly zkoumány přístrojem NanoSEM 450 (FEI, Hillsboro, OR, USA). Tento přístroj pracuje při urychlovacím napětí 5,0 kV. Před samotným měřením byly vzorky pokoveny směsí zlata a paladia o tloušťce pracujícím při ~20 nm pomocí naprašovacího zařízení SC 7620 (Quorum Technologies, Newhaven, East Sussex, UK). Morfologie vzorků získaných za pomoci SEM, jsou vyobrazeny na obrázku 17. Referenční vzorek (Obrázek 17) vykazuje relativně homogenní morfologii povrchu s artefakty vzniklými při zpracování. Tyto artefakty jsou například stopy pásů vzniklé v průběhu výrobního procesu. Dále zde můžeme vidět drobné nečistoty, které mohou být jemné prachové částice z okolí výroby. Po plazmovém opraštění (Obrázek 18 – 25) si lze povšimnout nově vzniklých, statisticky rozložených klastrů. Hovoříme tedy o zdrsnění povrchu vzniklých v rámci reorganizace povrchu po expozici plazmou. Při porovnání vzorků s deponovanými monomery oproti referenční PET, jsou modifikované vzorky heterogenní právě v důsledku průtoku jednotlivých monoměrů.



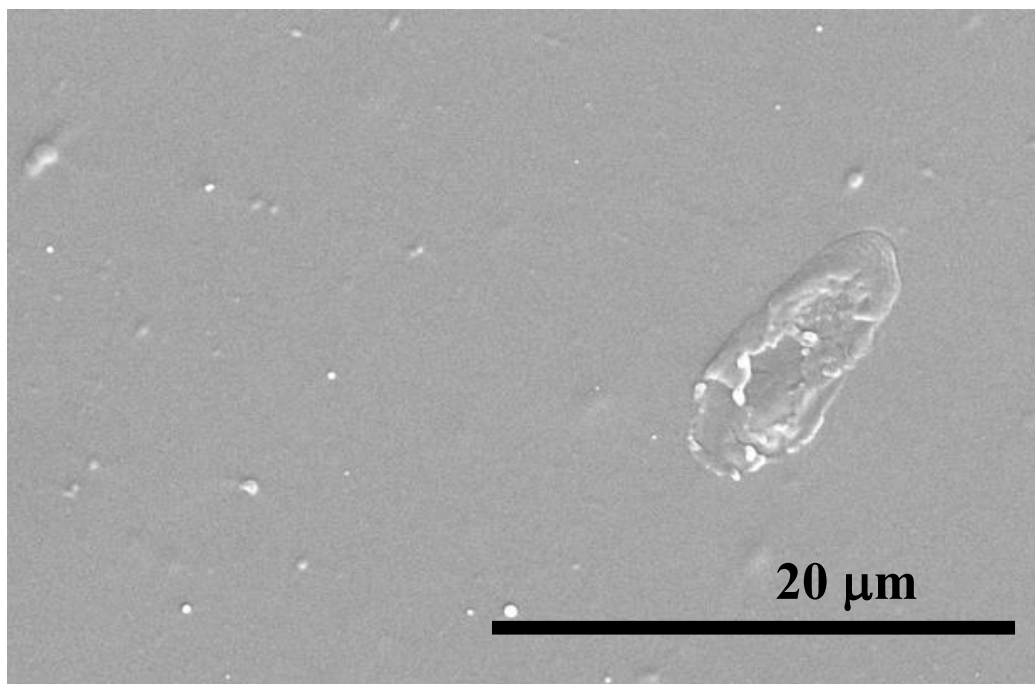
Obrázek 17 SEM snímek PET folie bez modifikace



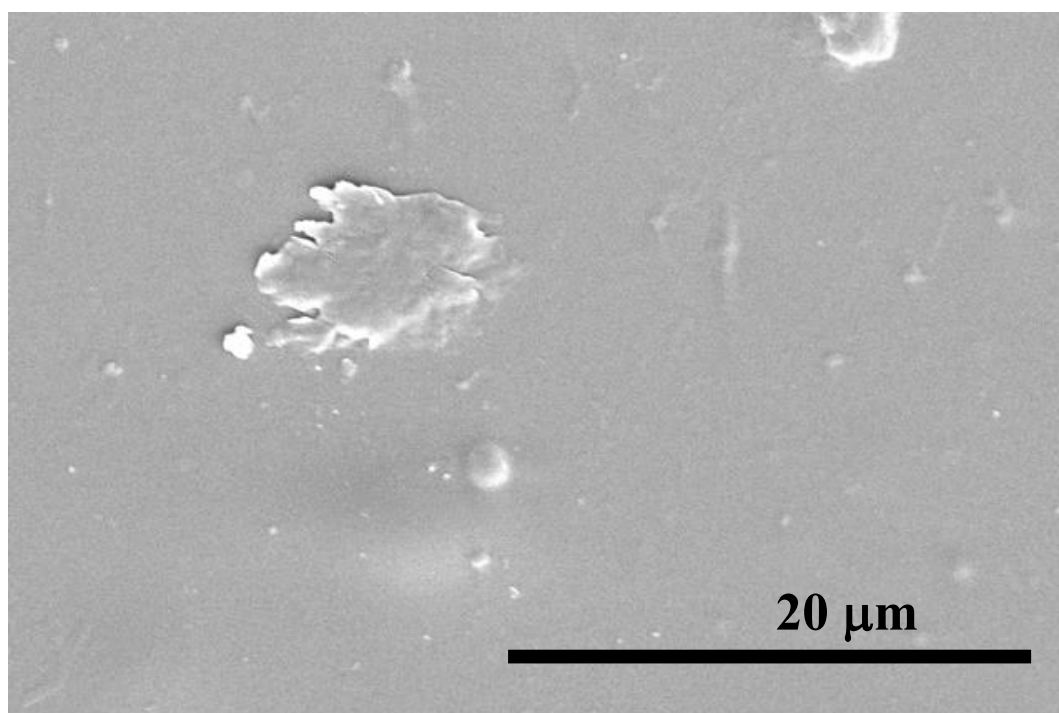
Obrázek 18 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 30 sccm



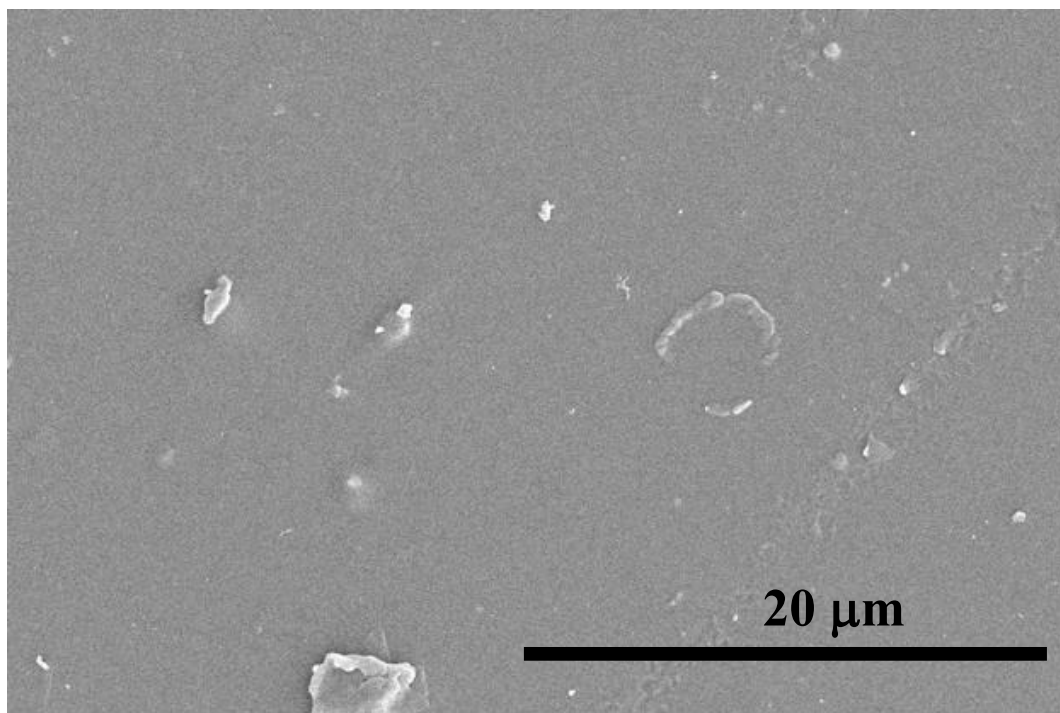
Obrázek 19 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 60 sccm



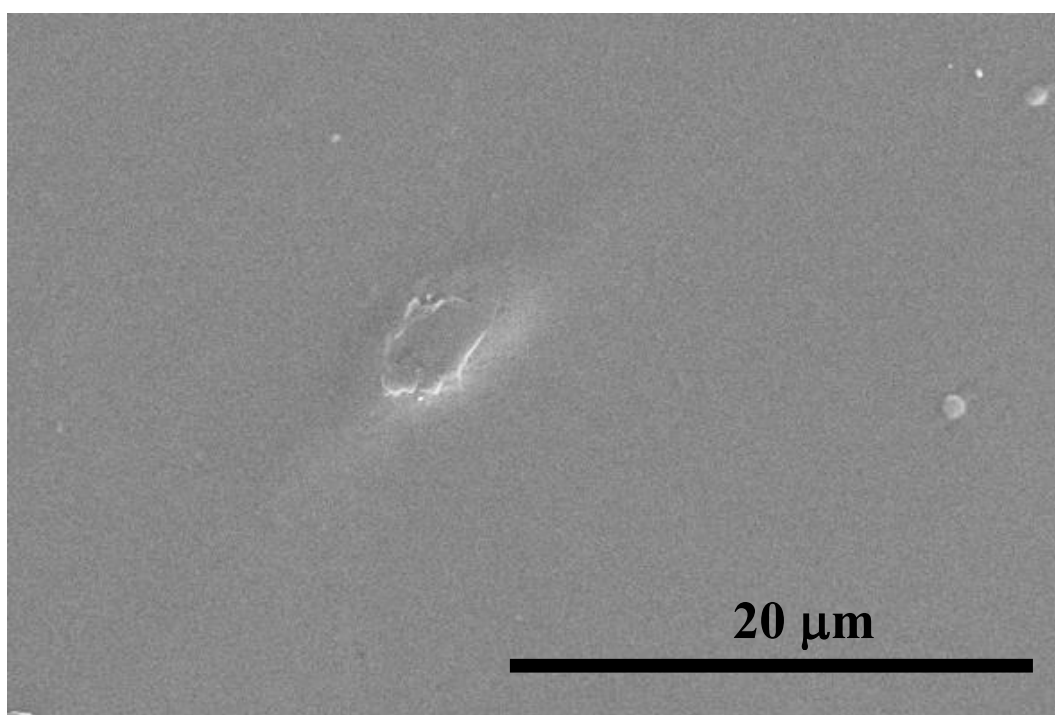
Obrázek 20 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 90 sccm



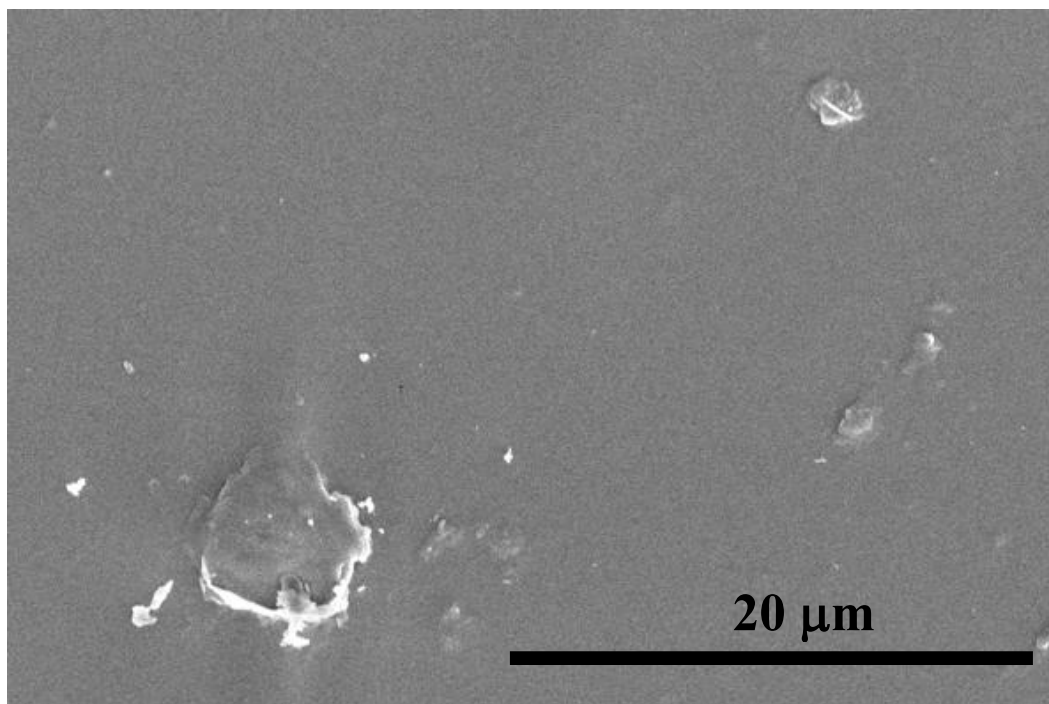
Obrázek 21 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 120 sccm



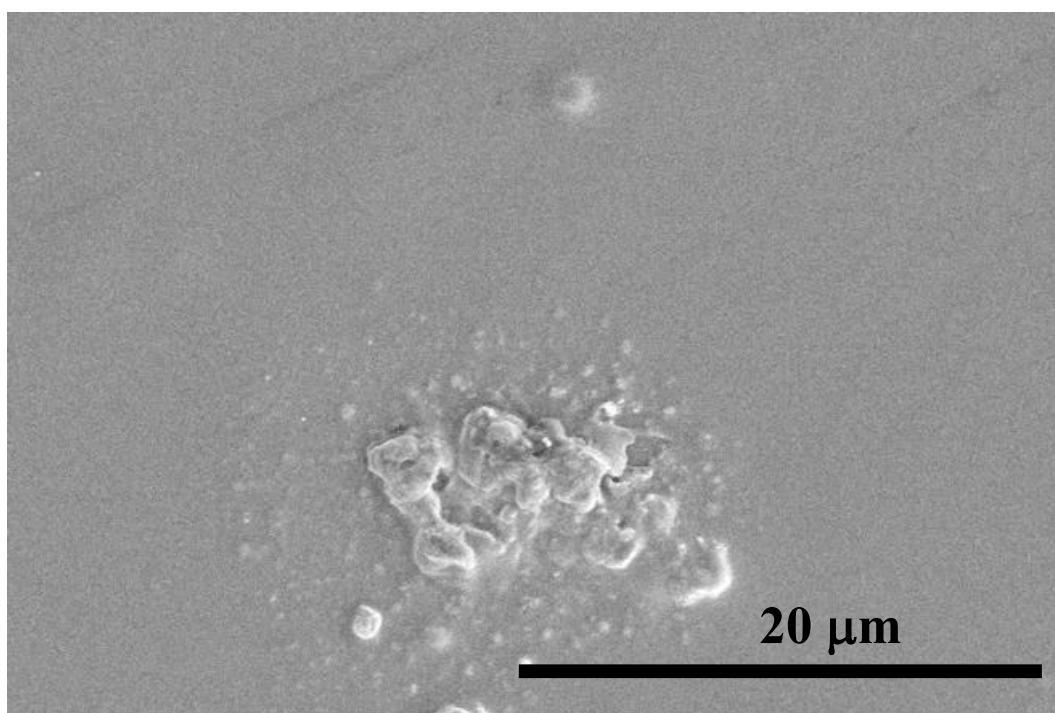
Obrázek 22 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 30 sccm



Obrázek 23 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 60 sccm



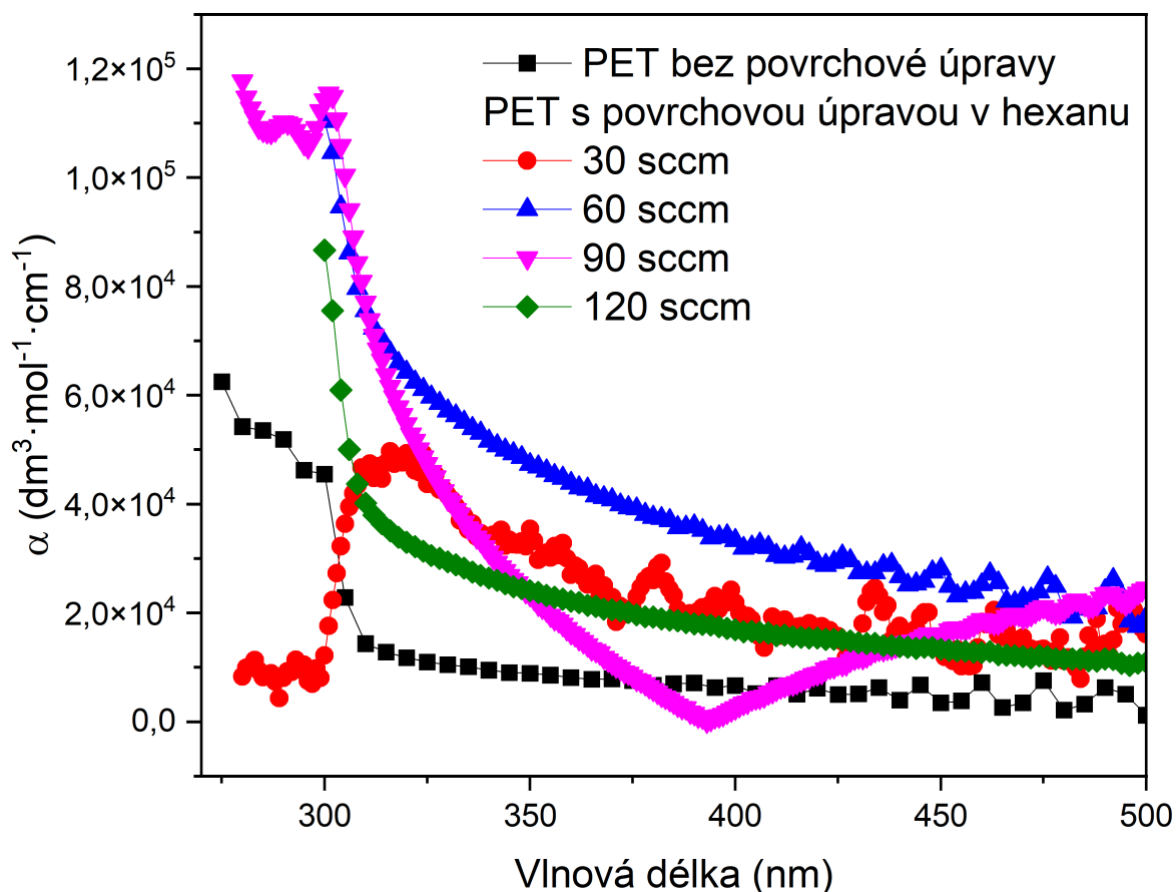
Obrázek 24 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 90 sccm



Obrázek 25 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 120 sccm

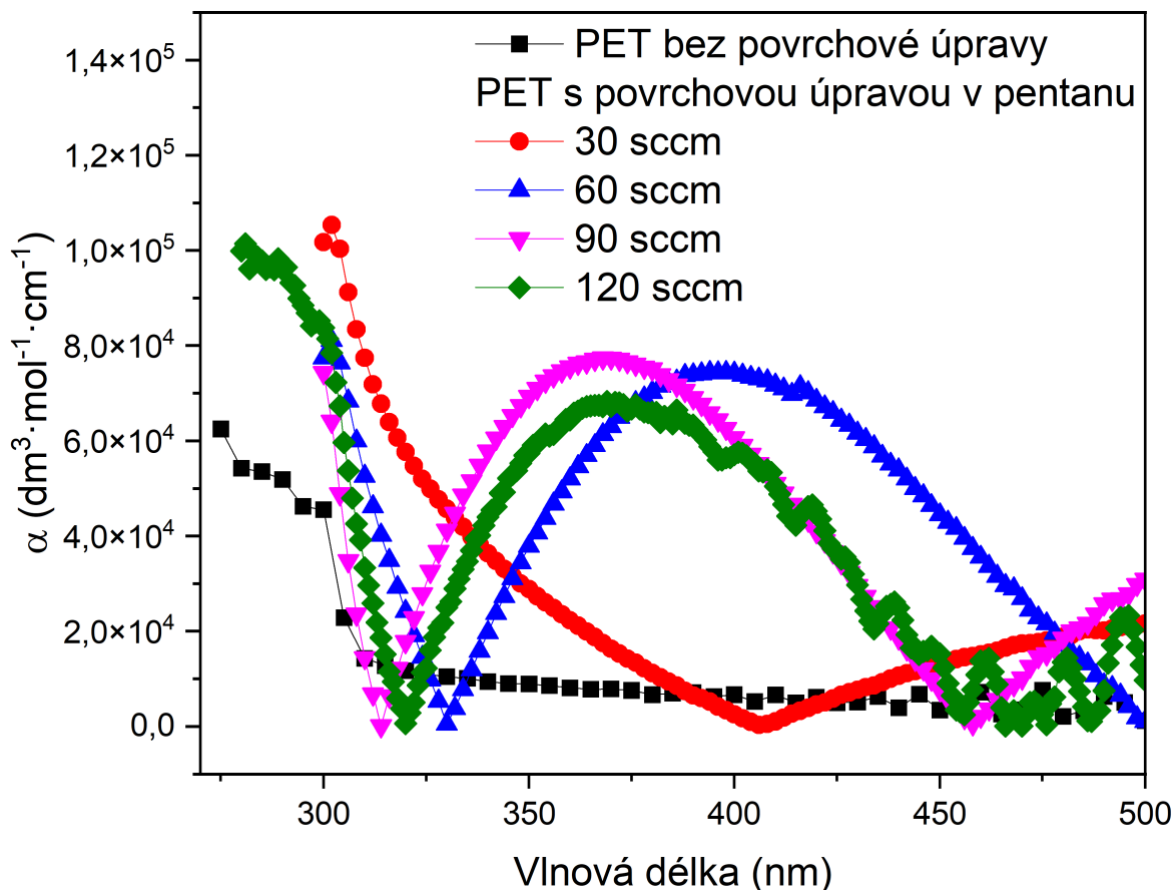
8.3 Elipsometrie

Toto metodou lze získat podstatné informace o přítomnosti tenkých vrstev, absorpenci, indexu lomu a případné tloušťce tenkých filmů. Bylo provedeno prvotní měření, díky kterému jsme získali hodnoty absorpance vzorků. Cílem tohoto měření bylo potvrdit přítomnost deponovaných vrstev na povrchu PET folie. Ke získání informací o tloušťce přítomných filmů by bylo zapotřebí dalších měření. Hledání vhodných matematických modelů není jednoduché a vyžaduje hlubší a obsáhlejší znalosti softwaru této metody. Na obrázcích můžeme vidět znázorněné křivky čisté nemoifikované PET v porovnání s PET s deponovaným hexanem a pentanem pomocí spektroskopické elipsometrie. V obou případech je vidět evidentní rozdíl oproti nepracované PET, tudíž můžeme potvrdit přítomnost tenké vrstvy. V následujícím grafu (obrázek 26) vidíme závislost absorpance na vlnové délce pro vzorky deponované monomerem hexanu. Vzorky byly zkoumány v rozmezí vlnových délek 350 nm až 500 nm, tedy v oblasti UV-VIS.



Obrázek 26 Výsledky elipsometrie PET s deponovaným hexanem při všech průtocích v závislosti absorpance na vlnové délce

Na obrázku 26 můžeme vidět, že u povrchu PET folie s deponovaným monomerem hexanu ve všech čtyř průtocích (30-120 sccm) viditelně roste absorbance. Absorbance roste převážně v oblasti vlnových délek 300-400 nm. Při vyšších vlnových délkách již docházelo k šumu vzhledem k transparentnosti vzorku. Na následujícím grafu (obrázek 27) jsou vyobrazeny hodnoty s deponovanou vrstvou pentanu.

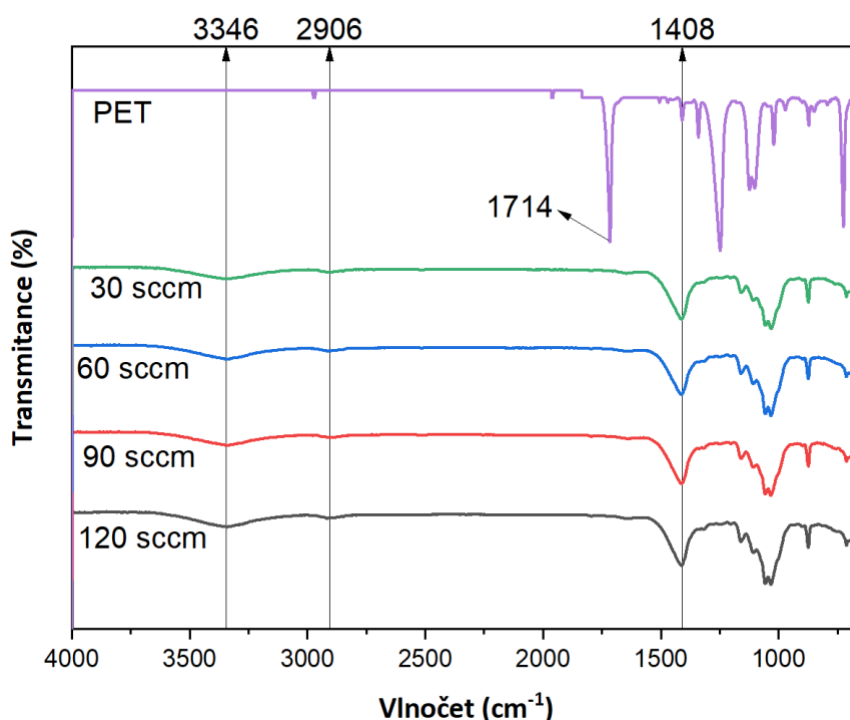


Obrázek 27 Výsledky elipsometrie PET s deponovaným pentanem při všech průtocích v závislosti absorbance na vlnové délce

Vrstvy nanesené depozicí s monomerem pentanu (obrázek 27) na PET měly jemně nažloutlý nádech, a to ve všech průtocích. Žlutá barva absorbuje právě ve zkoumané oblasti, což samo o sobě potvrzuje přítomnost deponovaných filmů. Stejně tak jako v případě hexanu, i u pentanu byl nárůst absorbance oproti referentní PET a vzhled křivek byl naprosto odlišný. V porovnání vzorků s deponovaným hexanem je viditelný rozdíl v povaze křivek. Křivky pentanu mají výrazný pokles k nulové hodnotě vlnové délky odpovídající 325 nm a následný nárůst absorbance. Vzorky s hexanem měly pouze sestupný charakter.

8.4 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

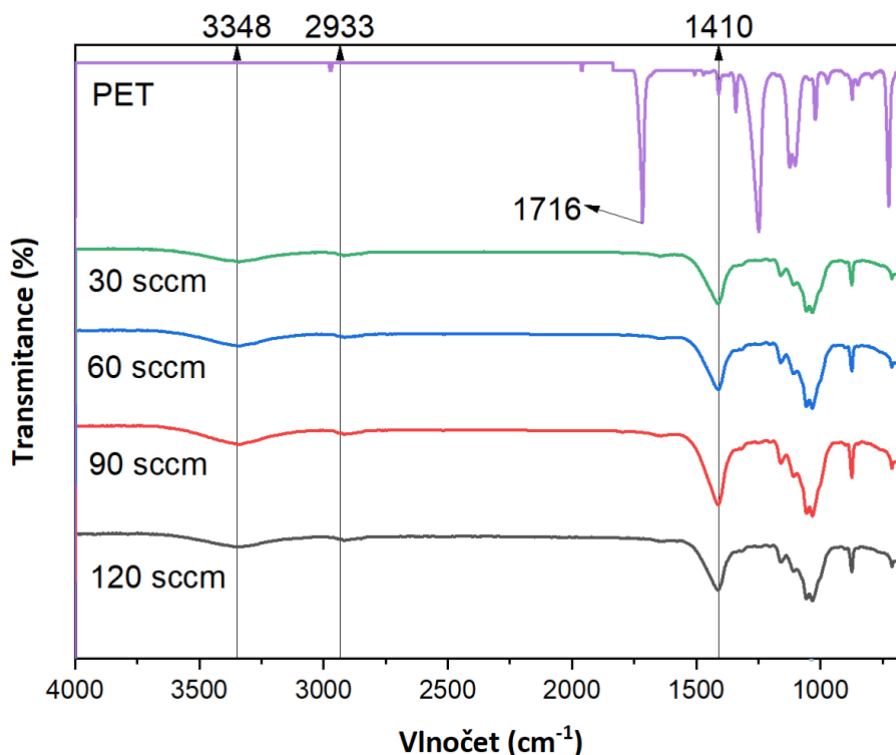
Pro stanovení molekulárních interakcí PET po plazmatické modifikaci byla provedena ATR-FTIR spektroskopie. Na obrázku 28 a 29 lze vidět charakteristické píky pro nemodifikovaný PET. Byly pozorovány hodnoty vlnočtu při 2906 a 2933 cm^{-1} odpovídající C-H protažení skupin CH_2 . Dále 1714 a 1716 cm^{-1} , které značí natažení C=O skupiny esterů karboxylových kyselin, 1408 a 1410 značící protahování aromatické kostry. Na následujícím obrázku 28 je grafické zpracování spekter PET a tenkých vrstev v pentanu.



Obrázek 28 Infračervená spektra čistého PET v porovnání plazmovaným PET s průtoky monomeru pentanu o 30 sccm, 60 sccm, 90 sccm a 120 sccm

Vzorky modifikovány monomerem pentanu pro všechny čtyři průtoky jsou vyobrazeny na obrázku 28. Ze spekter je zřejmé, že pentan má charakteristickou část infračerveného spektra s vlnovou oblastí ~ 1500 až 400 cm^{-1} . Tato oblast je i pro pentan považována za oblast otisků prstů pro identifikaci pentanu. Pentan má nejvýraznější infračervené absorpční píky způsobeny vibracemi C-H vazeb. Nejvíce charakteristická je deformace natažením a ohybem odpovídajících dle tabulek vlnočtu $\sim 2900 \text{ cm}^{-1}$ a $\sim 1500 \text{ cm}^{-1}$. Za zmíněnou oblast by bylo možno považovat píky 2933 cm^{-1} a 1410 cm^{-1} . Pro funkční skupinu neexistuje žádný charakteristický pás, jelikož alkany ji nemají.

Na následujícím obrázku 29 je zobrazena soustava ATR FTIR spekter pro vzorky, které byly deponovány na povrch PET z monomeru hexanu.



Obrázek 29 Infračervená spektra čistého PET v porovnání plazmovaným PET s průtoky monomeru hexanu o 30 sccm, 60 sccm, 90 sccm a 120 sccm

U vzorků modifikovaných monomerem hexanu byly naměřeny spektra pro všechny čtyři průtoky a jsou vyobrazeny na obrázku 29. Pro hexan je charakteristická část infračerveného spektra s vlnovou oblastí ~ 1500 až 400 cm^{-1} . Tato oblast je považována za oblast otisků prstů pro identifikaci hexanu a většiny organických sloučenin. Je to díky unikátnímu souboru komplexních překrývajících se vibrací atomů molekuly hexanu. Dle tabulek, spektra hexanu mají silné C-H natahovací píky absorpance vibrací na vlnových číslech 2940 až 2880 cm^{-1} pro skupiny CH_2 a CH_3 v hexanu. Dále také vykazují silné absorpance deformačních vibrací CH-H při vlnočtech 1480 až 1365 cm^{-1} pro skupiny CH_2 a CH_3 v hexanu. Na obrázku 29 máme tento pík 1408 cm^{-1} jasně vyobrazen, tudíž lze potvrdit přítomnost hexanu na povrchu PET. Při porovnání spekter modifikovaném alifatickými uhlovodíky (pentanem a hexanem) oproti čisté nemodifikované PET z obrázku 28 a 29, pozorujeme jasné rozdíly a můžeme tedy konstatovat navázání obou těchto monomerů při plazmovém výboji na PET. Co se týče rozdílů mezi monomery, nelze tvrdit že dochází k výraznější odchylce. Je to dáno tím, že chemická podstata nanosených tenkých vrstev je vzájemně velmi blízká.

8.5 Měření antibakteriální aktivity

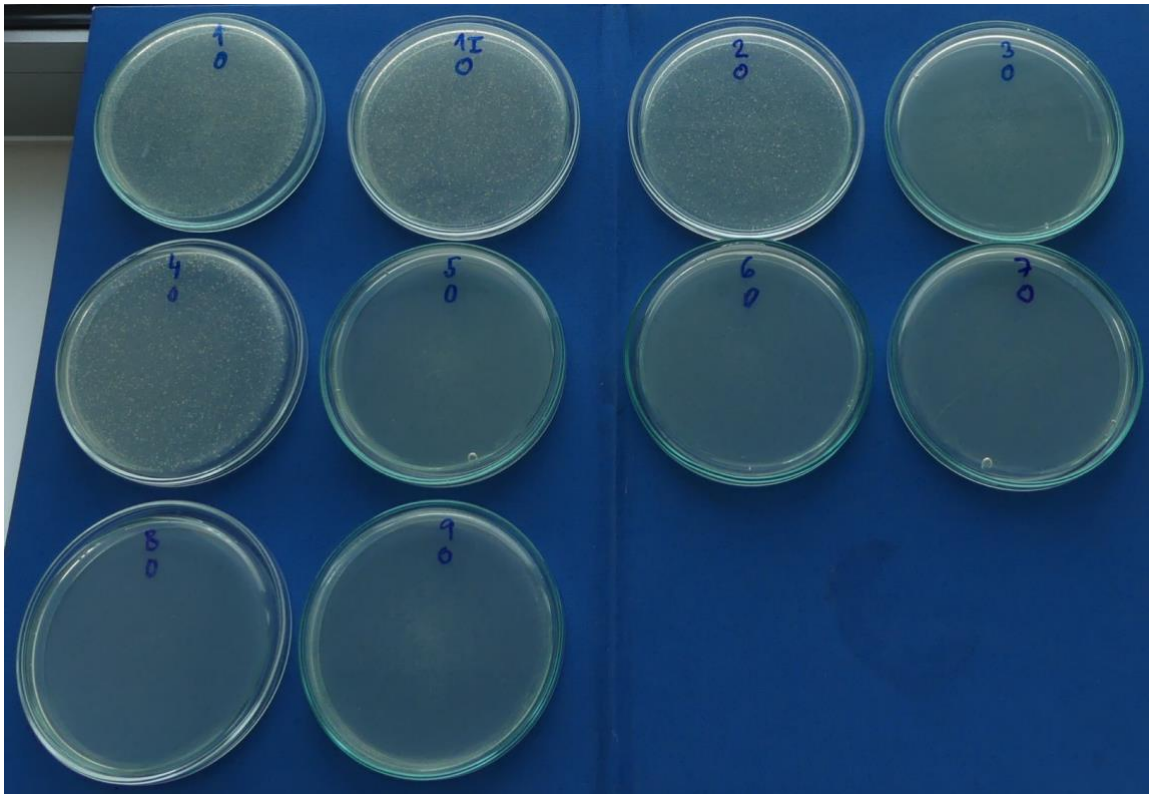
V tabulce 2 můžeme vidět výsledné hodnoty z měření antibakteriální aktivity. Antibakteriální aktivita byla měřena dle standardizované normy ISO 22196:2011. Dle této normy hodnotíme efektivitu antibakteriálního účinku (R), který můžeme dělit do 3 hlavních kategorií. Pokud se hodnoty R pohybují mezi hodnotami 1 a 2, mluvíme o velmi slabé antimikrobiální aktivitě. V případě že je R mezi hodnotami 2 a 3 hovoříme o znatelné antimikrobiální aktivitě. Silná antimikrobiální je potom hodnocena při výsledných hodnotách, které jsou vyšší než číslo 3. V tabulce 3, která je uvedena níže, jsou zaznamenány výsledné hodnoty antibakteriálního účinku pro oba monomery ve všech čtyřech průtocích. Antibakteriální účinek byl měřen pro bakterie rodu *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*.

Tabulka 3 Výsledky antibakteriální aktivity na plazmovaných površích

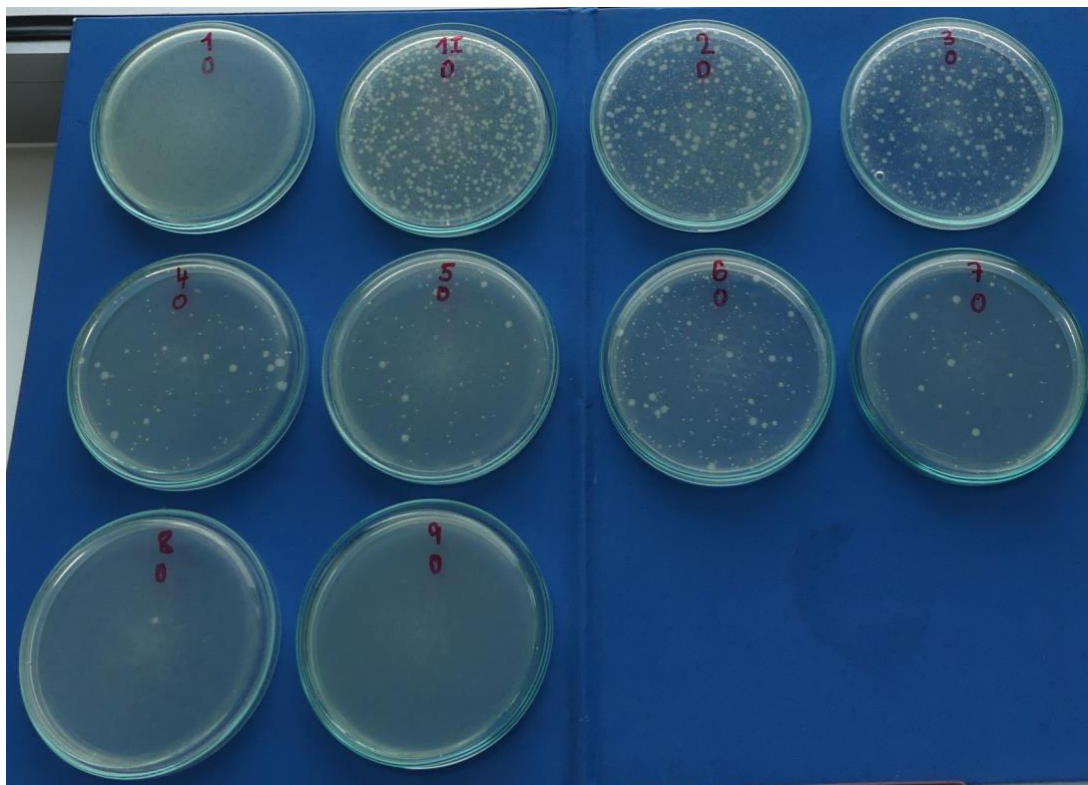
Vzorky	<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516	<i>Escherichia coli</i> CCM 4517
	$R = U_t - A_t$	$R = U_t - A_t$
PET (reference)	$U_t = 5,1$	$U_t = 5,8$
PET Hexan 30 SCCM	0,7	2,6
PET Hexan 60 SCCM	$\geq 5,1$	2,9
PET Hexan 90 SCCM	0,5	4,0
PET Hexan 120 SCCM	$\geq 5,1$	4,1
PET Pentan 30 SCCM	$\geq 5,1$	3,5
PET Pentan 60 SCCM	$\geq 5,1$	4,2
PET Pentan 90 SCCM	$\geq 5,1$	5,7
PET Pentan 120 SCCM	$\geq 5,1$	$\geq 5,8$

Dle výsledků z tabulky 3 lze konstatovat, že pro rod bakterie *Staphylococcus aureus* vyšel silný antibakteriální účinek pro všechny průtoky s deponovaným monomerem pentanu a pro průtoky 60 sccm a 120 sccm s deponovaným hexanem. U hexanu s průtoky 30 sccm a 90 sccm vyšly hodnoty menší než 1, tudíž nevykazují téměř žádnou antibakteriální aktivitu. Co se týče druhého rodu bakterie *E. coli*, tam v případech obou monomerů s narůstajícím průtokem rostla i antibakteriální aktivita.

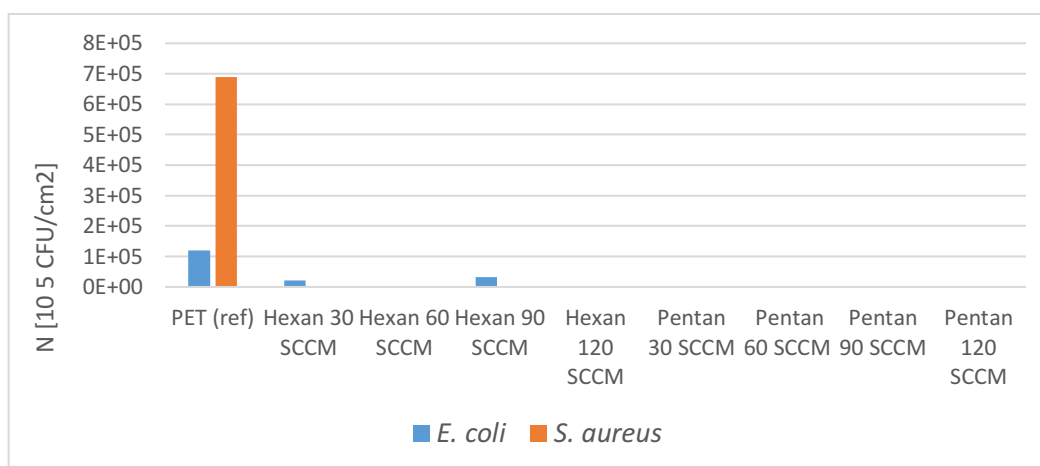
Na následujících obrázcích (obrázek 30 a 31) jsou vyobrazeny vzorky s narostlými bakteriemi před odečty po 24hodinové inkubaci v inkubátoru Memmert INB 400. Se vzorky bylo pro celou dobu pracováno ve flow boxu s laminárním prouděním.



Obrázek 30 Petriho misky se vzorky PET folie po inkubaci *S. Aureus*. 1. PET ref. inokulum smyto ihned po nanesení, 1(I). PET ref. inkubace 24 hodin, 2. hexan 30 sccm, 3. hexan 60 sccm, 4. hexan 90 sccm, 5. hexan 120 sccm, 6. pentan 30 sccm, 7. pentan 60 sccm, 8. pentan 90 sccm, 9. hexan 120 sccm



Obrázek 31 Petriho misky se vzorky PET folie po inkubaci *E. coli*. PET ref. inokulum smyto ihned po nanesení, 1(I). PET ref. inkubace 24 hodin, 2. hexan 30 sccm, 3. hexan 60 sccm, 4. hexan 90 sccm, 5. hexan 120 sccm, 6. pentan 30 sccm, 7. pentan 60 sccm, 8. pentan 90 sccm, 9. hexan 120 sccm



Obrázek 32 Výsledky počtu životaschopných bakterií při měření antibakteriální aktivity kmene *S. aureus* a *E. coli*

Z grafu (obrázek 32) můžeme jasně vidět, že nárůst životaschopných bakterií je nulový oproti referenční PET folii pro bakterii rodu *S. aureus*. Oproti referenční PET se minimalizoval též nárůst bakterie *E. coli*.

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo připravit tenké antibakteriální vrstvy pomocí plazmového výboje za průtoku dvou monomerů pentanu a hexanu. Pro tuto metodu jsme zvolili použití studené plazmy za atmosférického tlaku. Depozice tenkých polymerních vrstev byla provedena v na zakázku postaveném reaktoru s povrchovým dielektrickým bariérovým výbojem. Deponované tenké filmy byly dále charakterizovány pomocí fyzikálně-chemických metod.

Měření kontaktního úhlu bylo zjištěno, že hydrofilita upravených povrchů se značně zvýšila. U většiny vzorků byla kapalina jasně rozestřená po povrchu vzorku a vykazovala nižší hodnoty kontaktního úhlu než 13° , tudíž je považujeme za dokonale smáčivé a z teoretického hlediska nevhodné povrchy pro kolonizaci bakterií.

Morfologie povrchu byla měřena metodou SEM, kdy se modifikované povrchy odlišovaly od nemodifikované PET nově vzniklými klastry v důsledku plazmového opracování.

Dále byla provedena charakterizace povrchu a jeho chemického složení metodou FTIR, kdy vzniklé vrstvy s deponovanými monomery byly jasně odlišné od čisté neopracované PET. Ze spekter byly prokázány navázané alkylové skupiny. Mezi jednotlivými průtoky nebyly žádné markantní rozdíly.

Elipsometrickým měřením byla jasně prokázána přítomnost vrstev, kde byla zjištěna hodnota absorbance. Absorbance byla měřena na přechodu UV-VIS a bylo zjištěno, že vzorky absorbují právě mezi vlnovými délkami 300-500 nm. Dále bylo zjištěno, že se vzrůstajícím průtokem obou monomerů rostou i hodnoty absorbance.

Pro rod bakterie *Staphylococcus aureus* vyšel silný antibakteriální účinek pro všechny průtoky s deponovaným monomerem pentanu a pro průtoky 60 sccm a 120 sccm s deponovaným hexanem. U hexanu s průtoky 30 sccm a 90 sccm vyšly hodnoty menší než 1, tudíž nevykazují téměř žádnou antibakteriální aktivitu. Co se týče druhého rodu bakterie *E. coli*, tam v případech obou monomerů s narůstajícím průtokem rostla i antibakteriální aktivita.

Tato metoda depozice filmů na povrch polymeru je velmi rychlá a její efektivita v antibakteriálních vlastnostech velmi vysoká. Použití zdravotnických prostředků opracovaných tímto způsobem by mohlo potenciálně vést ke snížení kolonizace bakteriemi, případnému vzniku a dalšímu šíření nozokomiálních nákaz ve zdravotnických zařízeních.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] WILLIAMS, R. L., ed. *Surface modification of biomaterials: methods, analysis and applications*. Cambridge ; Philadelphia, PA: Woodhead Pub, 2011. Woodhead Publishing in materials. ISBN 978-1-84569-640-5.
- [2] LEHOCKÝ, Marián. *Biofunkcionalizace povrchů polymerů = Polymer surface biofunctionalization: teze přednášky k profesorskému jmenovacímu řízení v oboru fyzikální chemie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství VUTIUM, 2023. ISBN 978-80-214-6157-4.
- [3] RATNER, Buddy D. Surface modification of polymers: chemical, biological and surface analytical challenges. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 1995, **10**(9–10), 797–804. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/0956-5663(95)99218-A
- [4] SUN, Wei, Wenying LIU, Zhaoqiang WU a Hong CHEN. Chemical Surface Modification of Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications. *Macromolecular Rapid Communications* [online]. 2020, **41**(8), 1900430. ISSN 1022-1336, 1521-3927. Dostupné z: doi:10.1002/marc.201900430
- [5] MICHAEL, Feven M., Mohammad KHALID, Rashmi WALVEKAR, Humaira SIDDIQUI a Anand B. BALAJI. Surface modification techniques of biodegradable and biocompatible polymers. In: *Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites* [online]. B.m.: Elsevier, 2018 [vid. 2023-11-15], s. 33–54. ISBN 978-0-08-100970-3. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100970-3.00002-X
- [6] MUNDRA, S.S., S.S. PARDESHI, S.S. BHAVIKATTI a Atul NAGRAS. Development of an integrated physical vapour deposition and chemical vapour deposition system. *Materials Today: Proceedings* [online]. 2021, **46**, 1229–1234. ISSN 22147853. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2021.02.069
- [7] GLOCKER, David A. a Shrirang V. RANADE. *Medical coatings and deposition technologies*. Hoboken: Scrivener publishing John Wiley and sons, 2016. ISBN 978-1-119-30871-3.
- [8] CHANDLER DAVID. Explained: chemical vapor deposition Technique enables production of pure, uniform coatings of metals or polymers, even on contoured surfaces. *MIT News*. 2015.
- [9] HASAN, Abshar a Lalit M. PANDEY. Review: Polymers, Surface-Modified Polymers, and Self Assembled Monolayers as Surface-Modifying Agents for Biomaterials. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* [online]. 2015, **54**(13), 1358–1378. ISSN 0360-2559, 1525-6111. Dostupné z: doi:10.1080/03602559.2015.1021488
- [10] NAIKWADI, Amol Tarachand, Bhuwanesh Kumar SHARMA, Keyur D. BHATT a Prakash A. MAHANWAR. Gamma Radiation Processed Polymeric Materials for High Performance Applications: A Review. *Frontiers in Chemistry* [online]. 2022, **10**, 837111. ISSN 2296-2646. Dostupné z: doi:10.3389/fchem.2022.837111
- [11] ASHFAQ, Aiysha, Marie-Claude CLOCHARD, Xavier COQUERET, Clelia DISPENZA, Mark S. DRISCOLL, Piotr ULAŃSKI a Mohamad AL-SHEIKHLY. Polymerization Reactions and Modifications of Polymers by Ionizing Radiation. *Polymers* [online]. 2020, **12**(12), 2877. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122877
- [12] MORE, Chaitali V., Zainab ALSAYED, Mohamed. S. BADAWI, Abouzeid. A. THABET a Pravina P. PAWAR. Polymeric composite materials for radiation shielding: a review. *Environmental Chemistry Letters* [online]. 2021, **19**(3), 2057–2090. ISSN 1610-3653, 1610-3661. Dostupné z: doi:10.1007/s10311-021-01189-9
- [13] UL AHAD, Inam, Andrzej BARTNIK, Henryk FIEDOROWICZ, Jerzy KOSTECKI, Barbara KORCZYC, Tomasz CIACH a Dermot BRABAZON. Surface modification of polymers for biocompatibility via exposure to extreme ultraviolet radiation. *Journal of*

- Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2014, **102**(9), 3298–3310. ISSN 1549-3296, 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.34958
- [14] OBREGÓN, Sergio a Vicente RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ. Photocatalytic TiO₂ thin films and coatings prepared by sol–gel processing: a brief review. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* [online]. 2022, **102**(1), 125–141. ISSN 0928-0707, 1573-4846. Dostupné z: doi:10.1007/s10971-021-05628-5
- [15] KAUSAR, Ayesha. Survey on Langmuir–Blodgett Films of Polymer and Polymeric Composite. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* [online]. 2017, **56**(9), 932–945. ISSN 0360-2559, 1525-6111. Dostupné z: doi:10.1080/03602559.2016.1247282
- [16] OLIVEIRA, Osvaldo N., Luciano CASELI a Katsuhiko ARIGA. The Past and the Future of Langmuir and Langmuir–Blodgett Films. *Chemical Reviews* [online]. 2022, **122**(6), 6459–6513. ISSN 0009-2665, 1520-6890. Dostupné z: doi:10.1021/acs.chemrev.1c00754
- [17] VELÁZQUEZ, María Mercedes, Teresa ALEJO, David LÓPEZ-DÍAZ, Beatriz MARTÍN-GARCÍA a María Dolores MERCHÁN. Langmuir-Blodgett Methodology: A Versatile Technique to Build 2D Material Films. In: Pramoda Kumar NAYAK, ed. *Two-dimensional Materials - Synthesis, Characterization and Potential Applications* [online]. B.m.: InTech, 2016 [vid. 2024-01-29]. ISBN 978-953-51-2554-9. Dostupné z: doi:10.5772/63495
- [18] SILVA-MOLINA, Ramon Antonio. Boron Nitride and Carbon Nanostructures: Synthesis, Characterization and Ab Initio Calculations [online]. 2015 [vid. 2024-02-12]. Dostupné z: doi:10.13140/RG.2.1.4269.5443
- [19] VENKATAKRISHNAN, Abishek a Vikram Krishna KUPPA. Polymer adsorption on rough surfaces. *Current Opinion in Chemical Engineering* [online]. 2018, **19**, 170–177. ISSN 22113398. Dostupné z: doi:10.1016/j.coche.2018.03.001
- [20] STARK, Robert W., Francisco J. RUBIO-SIERRA, Stefan THALHAMMER a Wolfgang M. HECKL. Combined nanomanipulation by atomic force microscopy and UV-laser ablation for chromosomal dissection. *European Biophysics Journal* [online]. 2003, **32**(1), 33–39. ISSN 0175-7571, 1432-1017. Dostupné z: doi:10.1007/s00249-002-0270-y
- [21] NIMBEKAR, Ashish A. a Rajendra R. DESHMUKH. Plasma Surface Modification of Flexible Substrates to Improve Grafting for Various Gas Sensing Applications: A Review. *IEEE Transactions on Plasma Science* [online]. 2022, **50**(6), 1382–1394. ISSN 0093-3813, 1939-9375. Dostupné z: doi:10.1109/TPS.2022.3148575
- [22] LAROUCSI, M. Low-Temperature Plasmas for Medicine? *IEEE Transactions on Plasma Science* [online]. 2009, **37**(6), 714–725. ISSN 0093-3813, 1939-9375. Dostupné z: doi:10.1109/TPS.2009.2017267
- [23] BHATT, Pankaj, Vipin KUMAR, Vetriselvan SUBRAMANIYAN, Kandasamy NAGARAJAN, Mahendran SEKAR, Suresh V. CHINNI a Gobinath RAMACHAWOLRAN. Plasma Modification Techniques for Natural Polymer-Based Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics* [online]. 2023, **15**(8), 2066. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics15082066
- [24] MORENT, Rino, Nathalie DE GEYTER, Tim DESMET, Peter DUBRUEL a Christophe LEYS. Plasma Surface Modification of Biodegradable Polymers: A Review. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2011, **8**(3), 171–190. ISSN 1612-8850, 1612-8869. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.201000153
- [25] PARK, G Y, S J PARK, M Y CHOI, I G KOO, J H BYUN, J W HONG, J Y SIM, G J COLLINS a J K LEE. Atmospheric-pressure plasma sources for biomedical applications. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2012, **21**(4), 043001. ISSN 0963-0252, 1361-6595. Dostupné z: doi:10.1088/0963-0252/21/4/043001
- [26] GUPTA, Tripti Thapa a Halim AYAN. Application of Non-Thermal Plasma on

Biofilm: A Review. *Applied Sciences* [online]. 2019, **9**(17), 3548. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app9173548

[27] XU, Yong, Yu BAI, Chenwei DAI, Han LV, Xiuhong ZHOU a Qinghua XU. Effects of non-thermal atmospheric plasma on protein. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* [online]. 2022, **71**(3), 173–184. ISSN 0912-0009, 1880-5086. Dostupné z: doi:10.3164/jcfn.22-17

[28] ZHOU, Wen, Xiuqing WANG a Xiaojing HUANG. Cold atmospheric pressure plasmas applications in dentistry. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2022, **19**(8), 2200024. ISSN 1612-8850, 1612-8869. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.202200024

[29] FÖRSTER, Frank. Atmospheric Pressure Plasma in Industrial Applications: Surface treatment of thermally sensitive polymers. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2022, **19**(10), 2100240. ISSN 1612-8850, 1612-8869. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.202100240

[30] TENDERO, Claire, Christelle TIXIER, Pascal TRISTANT, Jean DESMAISON a Philippe LEPRINCE. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2006, **61**(1), 2–30. ISSN 05848547. Dostupné z: doi:10.1016/j.sab.2005.10.003

[31] KOGELSCHATZ, Ulrich. Dielectric-Barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications. Plasma Chemistry and Plasma Processing. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* [online]. 2003, **23**(1), 1–46. ISSN 02724324. Dostupné z: doi:10.1023/A:1022470901385

[32] ŠTAHEL, Pavel, Věra MAZÁNKOVÁ, Daniela PODZEMNÁ, Erika PODZEMNÁ, Veronika PIZÚROVÁ, Jana JURMANOVÁ, Lubomír PROKEŠ, Marián LEHOCKÝ, Kadir OZALTIN, Hana PIŠTĚKOVÁ a David TRUNEC. Antibacterial Thin Films Deposited from Propane–Butane Mixture in Atmospheric Pressure Discharge. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2023, **24**(2), 1706. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms24021706

[33] JOHNSON, Michael J a David B GO. Recent advances in electrohydrodynamic pumps operated by ionic winds: a review. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2017, **26**(10), 103002. ISSN 1361-6595. Dostupné z: doi:10.1088/1361-6595/aa88e7

[34] DALVI-ISFAHAN, Mohsen, Michel HAVET, Nasser HAMDAMI a Alain LE-BAIL. Recent advances of high voltage electric field technology and its application in food processing: A review with a focus on corona discharge and static electric field. *Journal of Food Engineering* [online]. 2023, **353**, 111551. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2023.111551

[35] CHU, P. Plasma-surface modification of biomaterials. *Materials Science and Engineering: R: Reports* [online]. 2002, **36**(5–6), 143–206. ISSN 0927796X. Dostupné z: doi:10.1016/S0927-796X(02)00004-9

[36] PENKOV, Oleksiy V., Mahdi KHADEM, Won-Suk LIM a Dae-Eun KIM. A review of recent applications of atmospheric pressure plasma jets for materials processing. *Journal of Coatings Technology and Research* [online]. 2015, **12**(2), 225–235. ISSN 1547-0091, 1935-3804. Dostupné z: doi:10.1007/s11998-014-9638-z

[37] QIAN, Chen, Zhi FANG, Jingru YANG a Mingrui KANG. Investigation on Atmospheric Pressure Plasma Jet Array in Ar. *IEEE Transactions on Plasma Science* [online]. 2014, **42**(10), 2438–2439. ISSN 0093-3813, 1939-9375. Dostupné z: doi:10.1109/TPS.2014.2324577

[38] CORBELLA, Carles, Sabine PORTAL a Michael KEIDAR. Flexible Cold Atmospheric Plasma Jet Sources. *Plasma* [online]. 2023, **6**(1), 72–88. ISSN 2571-6182. Dostupné z: doi:10.3390/plasma6010007

[39] JACOBS, Tinneke, Rino MORENT, Nathalie DE GEYTER, Peter DUBRUEL a Christophe LEYS. Plasma Surface Modification of Biomedical Polymers: Influence on Cell-

- Material Interaction. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* [online]. 2012, **32**(5), 1039–1073. ISSN 0272-4324, 1572-8986. Dostupné z: doi:10.1007/s11090-012-9394-8
- [40] CUI, Nai-Yi a Norman M.D. BROWN. Modification of the surface properties of a polypropylene (PP) film using an air dielectric barrier discharge plasma. *Applied Surface Science* [online]. 2002, **189**(1–2), 31–38. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/S0169-4332(01)01035-2
- [41] DESMET, Tim, Rino MORENT, Nathalie DE GEYTER, Christophe LEYS, Etienne SCHACHT a Peter DUBRUEL. Nonthermal Plasma Technology as a Versatile Strategy for Polymeric Biomaterials Surface Modification: A Review. *Biomacromolecules* [online]. 2009, **10**(9), 2351–2378. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm900186s
- [42] ASAD, Asad, Dan SAMEOTO a Mohtada SADRZADEH. Overview of membrane technology. In: *Nanocomposite Membranes for Water and Gas Separation* [online]. B.m.: Elsevier, 2020 [vid. 2024-01-29], s. 1–28. ISBN 978-0-12-816710-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816710-6.00001-8
- [43] MACGREGOR, Melanie a Krasimir VASILEV. Perspective on Plasma Polymers for Applied Biomaterials Nanoengineering and the Recent Rise of Oxazolines. *Materials* [online]. 2019, **12**(1), 191. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12010191
- [44] HETRICK, Evan M. a Mark H. SCHOENFISCH. Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chemical Society Reviews* [online]. 2006, **35**(9), 780. ISSN 0306-0012, 1460-4744. Dostupné z: doi:10.1039/b515219b
- [45] COSTERTON, J. W., Philip S. STEWART a E. P. GREENBERG. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science* [online]. 1999, **284**(5418), 1318–1322. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.284.5418.1318
- [46] NABLO, Brian J., Aaron R. ROTHROCK a Mark H. SCHOENFISCH. Nitric oxide-releasing sol–gels as antibacterial coatings for orthopedic implants. *Biomaterials* [online]. 2005, **26**(8), 917–924. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2004.03.031
- [47] MARTIN, T.P., S.E. KOOI, S.H. CHANG, K.L. SEDRANSK a K.K. GLEASON. Initiated chemical vapor deposition of antimicrobial polymer coatings. *Biomaterials* [online]. 2007, **28**(6), 909–915. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.10.009
- [48] BANERJEE, Indrani, Ravindra C. PANGULE a Ravi S. KANE. Antifouling Coatings: Recent Developments in the Design of Surfaces That Prevent Fouling by Proteins, Bacteria, and Marine Organisms. *Advanced Materials* [online]. 2011, **23**(6), 690–718. ISSN 0935-9648, 1521-4095. Dostupné z: doi:10.1002/adma.201001215
- [49] FELIS, Ewa, Joanna KALKA, Adam SOCHACKI, Katarzyna KOWALSKA, Sylwia BAJKACZ, Monika HARNISZ a Ewa KORZENIEWSKA. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2020, **866**, 172813. ISSN 00142999. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejphar.2019.172813
- [50] DI MARTINO, Patrick a GROUPE BIOFILM ET COMPORTEMENT MICROBIEN AUX INTERFACES, LABORATOIRE ERRMECE CERGY PARIS UNIVERSITÉ, 1 RUE DESCARTES 95000 NEUVILLE-SUR-OISE, CEDEX, FRANCE. Antimicrobial agents and microbial ecology. *AIMS Microbiology* [online]. 2022, **8**(1), 1–4. ISSN 2471-1888. Dostupné z: doi:10.3934/microbiol.2022001
- [51] C REYGAERT, Wanda a DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES, OAKLAND UNIVERSITY WILLIAM BEAUMONT SCHOOL OF MEDICINE, ROCHESTER, MI, USA. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology* [online]. 2018, **4**(3), 482–501. ISSN 2471-1888. Dostupné

z: doi:10.3934/microbiol.2018.3.482

[52] ARTASENSI, Angelica, Sarah MAZZOTTA a Laura FUMAGALLI. Back to Basics: Choosing the Appropriate Surface Disinfectant. *Antibiotics* [online]. 2021, **10**(6), 613. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics10060613

[53] WELTGESUNDHEITSORGANISATION, ed. *Laboratory biosafety manual*. 3. ed. Geneva: World Health Organization, 2004. ISBN 978-92-4-154650-8.

[54] RUTALA, William A. a David J. WEBER. Monitoring and improving the effectiveness of surface cleaning and disinfection. *American Journal of Infection Control* [online]. 2016, **44**(5), e69–e76. ISSN 01966553. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajic.2015.10.039

[55] WESSELS, Stephen a Hanne INGMER. Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. 2013, **67**(3), 456–467. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1016/j.yrtph.2013.09.006

[56] MARTIN, Nancy L., Paul BASS a Steven N. LISS. Antibacterial Properties and Mechanism of Activity of a Novel Silver-Stabilized Hydrogen Peroxide. *PLOS ONE* [online]. 2015, **10**(7), e0131345. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0131345

[57] MCDONNELL, Gerald. The Use of Hydrogen Peroxide for Disinfection and Sterilization Applications. In: Zvi RAPPOPORT *Patai's Chemistry of Functional Groups* [online]. 1. vyd. B.m.: Wiley, 2014 [vid. 2024-02-12], s. 1–34. ISBN 978-0-470-68253-1. Dostupné z: doi:10.1002/9780470682531.pat0885

[58] JUNKAR, I. Interaction of Cells and Platelets with Biomaterial Surfaces Treated with Gaseous Plasma. In: *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly* [online]. B.m.: Elsevier, 2016 [vid. 2024-05-05], s. 25–59. ISBN 978-0-12-804715-6. Dostupné z: doi:10.1016/bs.abl.2016.01.002

[59] DEVILLE, Jean-Paul a Costel Sorin COJOCARU. Spectroscopic Analyses of Surfaces and Thin Films. In: *Materials Surface Processing by Directed Energy Techniques* [online]. B.m.: Elsevier, 2006 [vid. 2024-05-05], s. 411–441. ISBN 978-0-08-044496-3. Dostupné z: doi:10.1016/B978-008044496-3/50013-7

[60] ERBIL, H. Yildirim. Dependency of Contact Angles on Three-Phase Contact Line: A Review. *Colloids and Interfaces* [online]. 2021, **5**(1), 8. ISSN 2504-5377. Dostupné z: doi:10.3390/colloids5010008

[61] MARMUR, Abraham, Claudio DELLA VOLPE, Stefano SIBONI, Alidad AMIRFAZLI a Jaroslav W. DRELICH. Contact angles and wettability: towards common and accurate terminology. *Surface Innovations* [online]. 2017, **5**(1), 3–8. ISSN 2050-6252, 2050-6260. Dostupné z: doi:10.1680/jsuin.17.00002

[62] DEENDARLIANTO, Muhammad Reza PRADECTA, Tirto PRAKOSO, INDARTO, Windy H. MITRAKUSUMA a Adhika WIDYAPARAGA. Contact angle dynamics during the impact of single water droplet onto a hot flat practical stainless steel surface under medium Weber numbers. *Heat and Mass Transfer* [online]. 2021, **57**(7), 1097–1106. ISSN 0947-7411, 1432-1181. Dostupné z: doi:10.1007/s00231-020-03010-9

[63] XING, Q. Information or resolution: Which is required from an SEM to study bulk inorganic materials? *Scanning* [online]. 2016, **38**(6), 864–879. ISSN 0161-0457, 1932-8745. Dostupné z: doi:10.1002/sca.21336

[64] BRADBURY, David C. Joy Savile. Scanning electron microscopy. *Encyclopedia Britannica* [online]. 2023. Dostupné z: <https://www.britannica.com/technology/scanning-electron-microscope>

[65] SINGH, Ashok K. Experimental Methodologies for the Characterization of Nanoparticles. In: *Engineered Nanoparticles* [online]. B.m.: Elsevier, 2016 [vid. 2024-02-12], s. 125–170. ISBN 978-0-12-801406-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-801406-

6.00004-2

[66] ROSENBERG, Aaron, Dawei HU, Houssam CHOUAIB, Zhengquan TAN a Natalia MALKOVA. Tracking the defects of ultra-thin HfO₂ using a Cody-Lorentz multiple oscillator model. In: Ofer ADAN a Vladimir A. UKRAINTSEV, ed. *Metrology, Inspection, and Process Control for Microlithography XXXII: Metrology, Inspection, and Process Control for Microlithography XXXII* [online]. San Jose, United States: SPIE, 2018, s. 102 [vid. 2024-05-01]. ISBN 978-1-5106-1662-2. Dostupné z: doi:10.1117/12.2296980

[67] LOSURDO, Maria, Michael BERGMAIR, Giovanni BRUNO, Denis CATTELAN, Christoph COBET, Antonello DE MARTINO, Karsten FLEISCHER, Zorana DOHCEVIC-MITROVIC, Norbert ESSER, Melanie GALLIET, Rados GAJIC, Dušan HEMZAL, Kurt HINGERL, Josef HUMLICEK, Razvigor OSSIKOVSKI, Zoran V. POPOVIC a Ottilia SAXL. Spectroscopic ellipsometry and polarimetry for materials and systems analysis at the nanometer scale: state-of-the-art, potential, and perspectives. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. 2009, **11**(7), 1521–1554. ISSN 1388-0764, 1572-896X. Dostupné z: doi:10.1007/s11051-009-9662-6

[68] POLITANO, Grazia Giuseppina a Carlo VERSACE. Spectroscopic Ellipsometry: Advancements, Applications and Future Prospects in Optical Characterization. *Spectroscopy Journal* [online]. 2023, **1**(3), 163–181. ISSN 2813-446X. Dostupné z: doi:10.3390/spectroscj1030014

[69] TIERNAN, Hannah, Bernadette BYRNE a Sergei G. KAZARIAN. ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2020, **241**, 118636. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2020.118636

[70] AUSILI, Alessio, Marina SÁNCHEZ a Juan C. GÓMEZ-FERNÁNDEZ. Attenuated total reflectance infrared spectroscopy: A powerful method for the simultaneous study of structure and spatial orientation of lipids and membrane proteins. *Biomedical Spectroscopy and Imaging* [online]. 2015, **4**(2), 159–170. ISSN 22128794. Dostupné z: doi:10.3233/BSI-150104

[71] LIU, Guan-Lin a Sergei G. KAZARIAN. Recent advances and applications to cultural heritage using ATR-FTIR spectroscopy and ATR-FTIR spectroscopic imaging. *The Analyst* [online]. 2022, **147**(9), 1777–1797. ISSN 0003-2654, 1364-5528. Dostupné z: doi:10.1039/D2AN00005A

[72] BALOUIRI, Mounyr, Moulay SADIKI a Saad Koraichi IBNSOUDA. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [online]. 2016, **6**(2), 71–79. ISSN 20951779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005

[73] ČSN ISO22196: Měření antibakteriální aktivity na plástech a jiných nepórezních površích. Praha: Česká agentura pro standardizaci. 2021

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

UV	ultrazvukové záření
VIS	viditelné světlo
IR	infrared light
IČ	infračervené záření
AFM	mikroskopie atomárních sil
DBD	dielektrický bariérový výboj
SDBD	povrchový výboj
CVD	chemická depozice z plynné fáze
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
APPJ	plazmové trysky za atmosférického tlaku
QAC	kvartérní amoniové soli
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
DNA	deoxyribonukleová kyselina
PET	polyethylen thereftalát
SCCM	standardní kubický centimetr za minutu
SLM	standardní litr za minutu
CCD	charged-coupled device
2D	dvoudimenzionální
ATR	attenuated total reflection
FPA	detektor ohniskové roviny
ISO	International Organization for Standardization
CFU	Colony-forming unit
SCDLP	Soya Casein Digest Lecithin Polysorbate broth

CCM česká sbírka mikroorganismů

S pevná látka

L kapalná látka

Atm atmosféra

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma a mechanismus chemické depozice par (CVD). Převzato a přeloženo z: [8].	13
Obrázek 2 Schéma metody spin-coating. Převzato a přeloženo z: [14].	16
Obrázek 3 Schéma depozice metodou Langmuir-Blodgettové. Převzato a přeloženo z: [18].	17
Obrázek 4 Schéma plazmové depozice pomocí dielektrického bariérového výboje. Převzato a přeloženo z: [32].	21
Obrázek 5 Reaktor plazmové depozice	34
Obrázek 6 Proces depozice dielektrickým bariérovým výbojem	35
Obrázek 7 Přístroj See system E s použitými kapalinami (voda, formamid, dijodomethan)	37
Obrázek 8 Mezní úhel přisedlé kapky na pevném povrchu. Převzato a přeloženo z: [62]	38
Obrázek 9 Skenovací elektronový mikroskop Nova NanoSEM 450 (FEI, Hillsboro, OR, USA)	40
Obrázek 10 Schéma spektroskopického elipsometru s rotačním analyzátozem. Převzato a přeloženo z [66]	42
Obrázek 11 Přístroj pro spektroskopickou elipsometrii Horiba uvisel 2	43
Obrázek 12 Přístroj pro měření ATR-FTIR Nicolet iS5 (Thermo-fisher Scientific)	44
Obrázek 13 Schéma ATR krystalu. Převzato a přeloženo z [70].	45
Obrázek 14 Inkubátor INB 400 (Mettler) použitý při testech antibakteriální aktivity	46
Obrázek 15 Flow box Safemate 1.2 (Bioair)	47
Obrázek 16 a) PET čistý, b) PET s deponovaným pentanem při průtoku 120 sccm	50
Obrázek 17 SEM snímek PET folie bez modifikace	52
Obrázek 18 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 30 sccm	53
Obrázek 19 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 60 sccm	53
Obrázek 20 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 90 sccm	54
Obrázek 21 SEM snímek PET s modifikací deponovaným pentanem při průtoku 120 sccm	54
Obrázek 22 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 30 sccm	55
Obrázek 23 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 60 sccm	55
Obrázek 24 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 90 sccm	56
Obrázek 25 SEM snímek PET s modifikací deponovaným hexanem při průtoku 120 sccm	56

Obrázek 26 Výsledky elipsometrie PET s deponovaným hexanem při všech průtocích v závislosti absorbance na vlnové délce	57
Obrázek 27 Výsledky elipsometrie PET s deponovaným pentanem při všech průtocích v závislosti absorbance na vlnové délce	58
Obrázek 28 Infračervená spektra čistého PET v porovnání plazmovaným PET s průtoky monomeru pentanu o 30 sccm, 60 sccm, 90 sccm a 120 sccm	59
Obrázek 29 Infračervená spektra čistého PET v porovnání plazmovaným PET s průtoky monomeru hexanu o 30 sccm, 60 sccm, 90 sccm a 120 sccm	60
Obrázek 30 Petriho misky se vzorky PET folie po inkubaci <i>S. Aureus</i> . 1. PET ref. inokulum smyto ihned po nanesení, 1(I). PET ref. inkubace 24 hodin, 2. hexan 30 sccm, 3. hexan 60 sccm, 4. hexan 90 sccm, 5. hexan 120 sccm, 6. pentan 30 sccm, 7. pentan 60 sccm, 8. pentan 90 sccm, 9. hexan 120 sccm	62
Obrázek 31 Petriho misky se vzorky PET folie po inkubaci <i>E. coli</i> 1. PET ref. inokulum smyto ihned po nanesení, 1(I). PET ref. inkubace 24 hodin, 2. hexan 30 sccm, 3. hexan 60 sccm, 4. hexan 90 sccm, 5. hexan 120 sccm, 6. pentan 30 sccm, 7. pentan 60 sccm, 8. pentan 90 sccm, 9. hexan 120 sccm	63
Obrázek 32 Výsledky počtu životaschopných bakterií při měření antibakteriální aktivity kmene <i>S. aureus</i> a <i>E. coli</i>	63

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Naměřené hodnoty mezních úhlů smáčení	49
Tabulka 2 Naměřené hodnoty povrchové energie z kontakního úhlu	51
Tabulka 3 Výsledky antibakteriální aktivity na plazmovaných površích	61

