

Univerzita Karlova v Praze

Matematicko-fyzikální fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Tereza Kretková

Modifikace polymerních materiálů pomocí atmosférického plazmatu pro biolékařské aplikace

Katedra makromolekulární fyziky

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Ondřej Kylián, Ph.D.

Studijní program: Fyzika
Studijní obor: Obecná fyzika

Praha 2016

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů, literatury a dalších odborných zdrojů.

Beru na vědomí, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorského zákona v platném znění, zejména skutečnost, že Univerzita Karlova v Praze má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

V dne.....

podpis

Název práce: Modifikace polymerních materiálů pomocí atmosférického plazmatu pro biolékařské aplikace

Autor: Tereza Kretková

Katedra / Ústav: Katedra makromolekulární fyziky

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Ondřej Kylián, Ph.D., Katedra makromolekulární fyziky

Abstrakt:

Polymerní materiály jsou aplikačně zajímavé díky svým objemovým vlastnostem, mezi které patří teplotní odolnost, dlouhá životnost, vysoká pevnost, nízká měrná hmotnost, průhlednost a chemická odolnost, ale také díky relativně nízké ceně. Jejich nevýhodou je nízká povrchová energie, která má za důsledek špatnou adhezi nanášených vrstev a obtížné ukotvení biomolekul. Jednou z aplikačně zajímavých možností jak zvýšit povrchovou energii je modifikace povrchu polymeru pomocí atmosférického plazmatu.

V našem případě jsme zvolili polymer poly(ether ether keton) a pro generaci plazmatu jsme využívali dielektrický bariérový výboj generovaný za atmosférického tlaku ve vzduchu. Zkoumali jsme složení plazmatu pomocí optické emisní spektroskopie a pro ověření použitelnosti tohoto zdroje plazmatu jsme změřili teplotu, na kterou plazma zahřívá opracováváný polymer. Následně jsme určili změny v morfologii, chemickém složení a povrchové energii povrchu polymeru po opracování plazmatem. Ověřili jsme, že jeho povrchová energie roste s rostoucím zastoupením polárních funkčních skupin na povrchu polymeru a že plazma vyvolává změny v morfologii povrchu studovaného polymeru. Podařilo se určit i rychlost leptání polymeru plazmatem v závislosti na dodaném výkonu. Zjistili jsme, že při opracování nedochází ke změně optických vlastností polymeru, což naznačuje, že opracováním neměníme žádané objemové vlastnosti. Na závěr jsme provedli testy navázání biomolekul na povrch opracovaného a neopracovaného polymeru.

Klíčová slova: PEEK polymer, DBD plazma, modifikace povrchů

Title: Modification of polymeric materials by means of atmospheric plasma for biomedical applications

Author: Tereza Kretková

Department: Department of Macromolecular Physics

Supervisor: doc. RNDr. Ondřej Kylián, Ph.D., Department of Macromolecular Physics

Abstract:

Polymeric materials are thanks to their advantageous volume properties and due to their relatively low price interesting for various applications. However, the possible use of common polymers is hampered by their low surface energy that leads to poor adhesion of subsequent coatings and limited ability to bind biomolecules. One of the strategies to increase the surface energy is modification of polymer surface by atmospheric plasma.

In this study, we have investigated effect of atmospheric pressure dielectric barrier discharge generated in air on poly(ether-ether-ketone). We estimated plasma composition by optical emission spectroscopy as well as monitored temperature of the polymer during the treatment in order to verify applicability of this plasma source. Subsequently changes in morphology, chemical composition and surface energy of polymeric samples after the plasma treatment were determined. We proved that surface energy increases with increasing surface density of polar functional groups and that plasma causes changes in morphology of the studied polymer surface. We determined the etching rate of poly(ether-ether-ketone) in dependence on the supplied power. Optical properties remained unchanged indicating that also volume properties were not affected by plasma. Finally we tested the binding of biomolecules on the surface of untreated and treated polymer.

Keywords: PEEK polymer, DBD plasma, surface modification

Ráda bych na tomto místě poděkovala především svému vedoucímu Ondřeji Kyliánovi za vedení, všechny rady a poznámky při zpracovávání bakalářské práce. Dále celé katedře makromolekulární fyziky za pomoc a vstřícný přístup.

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Současný stav problematiky opracování polymerů nerovnovázným plazmatem.....	3
2.1 Atmosférické plazma	3
2.1.1. Dielektrický bariérový výboj	4
2.2. Modifikace PEEKu pomocí atmosférického plazmatu ve vzduchu.....	6
3. Popis použitých zařízení a diagnostických technik.....	8
3.1. Zdroj DBD plazmatu.....	8
3.2. Charakterizace DBD plazmatu.....	9
3.2.1. Voltampérová charakteristika	9
3.2.2. Optická emisní spektroskopie	9
3.2.3. Měření teploty substrátu.....	11
3.3. Analýza modifikovaných povrchů	11
3.3.1. Mikroskopie atomárních sil	11
3.3.2. UV-Vis spektroskopie.....	12
3.3.3. Měření smáčivosti kapkovou metodou	13
3.3.4. Rentgenová fotoemisní spektroskopie	14
3.3.5. Měření kovalentního navázání proteinů.....	14
4. Výsledky	16
4.1. Charakterizace DBD plazmatu.....	16
4.1.1. Voltampérová charakteristika	16
4.1.2. Optická emisní spektroskopie	18
4.1.3. Teplota substrátu.....	20
4.2. Analýza modifikovaných povrchů	22
4.2.1. Smáčivost a povrchová energie polymeru	22
4.2.2 Morfologie povrchu polymeru	24
4.2.3 Určení leptací rychlosti	26
4.2.4. Chemické složení povrchu PEEK fólie.....	28
4.2.5. Optické vlastnosti vzorků.....	32

4. 2. 6. Měření kovalentního navázání proteinů.....	33
Závěr.....	36
Seznam použité literatury.....	38
Seznam grafů	42
Seznam tabulek	43
Seznam obrázků	44
Seznam použitých zkratek.....	45

1. Úvod

Již v polovině minulého století se polymery dostaly do popředí zájmu výzkumných vědeckých pracovišť. Pro jejich cenovou dostupnost a rozličné vhodné chemické i fyzikální vlastnosti jsou polymery hojně využívány a zkoumány i dnes. Polymery se staly běžnou součástí našeho každodenního života, využíváme je jako obaly, ochranné povlaky, lepidla, průmyslová vlákna, textilie, biomateriály a kompozity elektronických, optických a biomedicínských přístrojů.

I přes mnohé své výhody je použití klasických polymerů limitováno jejich obecně nízkou povrchovou energií, což má za důsledek například špatnou přilnavost nanášených vrstev či nízkou biokompatibilitu. Tuto nevýhodu je možné odstranit několika způsoby. Opracování plamenem, laserem, elektronovými svazky, UV zářením nebo gama-paprsky jsou běžně používané metody. Tyto metody jsou však velmi energeticky náročné a mohou způsobit změnu struktury polymerů a tím pádem ztrátu jejich požadovaných vlastností. Alternativu k výše uvedeným metodám úpravy povrchů polymerů představuje nerovnovážné plazma, jehož výhodou je, že modifikuje jen povrchovou vrstvu polymerů, přičemž jejich objemové vlastnosti nejsou plazmatem ovlivněny. V poslední dekádě výrazně vzrostl zájem zejména o plazma generované za atmosférického tlaku. Na rozdíl od nízkotlakého plazmatu není pro generaci atmosférického plazmatu nutné pořizovat obvykle drahé vakuové čerpací systémy, je snadné s ním zacházet, může být používáno v kontinuálním módu a je jednoduché ho včlenit do existujících výrobních linek. Současně je atmosférickým plazmatem možné upravovat mnoho druhů materiálů od papíru přes gumu, sklo až po polymery.[1]

Plazma za atmosférického tlaku je možné generovat několika způsoby. V této práci budeme využívat dielektrický bariérový výboj (DBD). Pomocí tohoto výboje již byly modifikovány různé polymery a bylo dosaženo požadovaných výsledků, tedy aktivace povrchu upravovaných polymerů (například poly(dimethylsiloxan)[2], polypropylen[3], polyurethan [4], polyethylen [5] a poly(methyl methacrylat)[6]). Některé polymery byly zkoumány i na KMF MFF UK, například nylon 6,6 [7] a poly(ethylen terephthalat)[8].

V této práci byl studován vliv DBD na poly(ether ether keton), přičemž hlavní cíle byly:

- 1) Seznámení se s generací plazmatu za atmosférického tlaku a metodami používanými pro analýzu povrchů polymerních materiálů.
- 2) Modifikace vybraného typu polymerního materiálu za různých podmínek.
- 3) Analýza modifikovaných povrchů.

Předkládaná práce má následující strukturu. V **kapitole 2** obsahuje úvod do problematiky modifikace polymerních materiálů. V **kapitole 3** jsou představeny přístroje, materiály a metody využívané jak pro charakterizaci použitého plazmatu, tak pro analýzu vlastností polymerní fólie vystavené DBD výboji. Vlastní výsledky dosažené během této bakalářské práce jsou diskutovány v **kapitole 4** a shrnuty v **závěru**.

2. Současný stav problematiky opracování polymerů nerovnovážným plazmatem

2.1 Atmosférické plazma

Plazma je často nazýváno čtvrtým skupenstvím a skládá se z něj zhruba 99% viditelného vesmíru. Plazmatem jsou například hvězdy a celé mezihvězdné prostory. Jedná se o ionizovaný plyn, který se skládá z elektronů, iontů a neutrálních částic, které se nacházejí buď v excitovaných, nebo základních stavech. Z makroskopického hlediska je plazma neutrální, obsahuje ovšem volné nabitě částice, je elektricky vodivé a reaguje na elektrické a magnetické pole. Plazma se vyskytuje v přírodě, ale stejně tak je možné ho vytvořit v laboratoři i průmyslově. To dává možnost využít plazma pro různé aplikace, mezi které patří termionukleární syntéza, elektronika, lasery, zářivky ale také čištění vzduchu, ničení pevných odpadů, sterilizace a v neposlední řadě i úprava povrchů.

V laboratoři je plazma obvykle generováno působením elektromagnetického pole na plyn. Volné elektrony v plynu jsou elektromagnetickým polem urychlovány, což vede k růstu jejich kinetické energie. Při srážce vysoce energetického elektronu s neutrální částicí může dojít k ionizaci částice a uvolnění dalšího elektronu. Vzniklý elektron je opět urychlen elektromagnetickým polem a získává energii potřebnou pro další ionizaci neutrálních částic. Jedná se o takzvaný lavinový efekt, který má za důsledek vytvoření a udržení kvazi-neutrálního oblaku elektronů, iontů a neutrálních částic v neustálém rozruchu, dokud je elektromagnetické pole zapnuté.

Plazma se obecně může dělit na dva typy: termální a netermální. Termální plazma je jinak nazýváno také lokálně teplotně rovnovážným (LTE) plazmatem, neboť teplota elektronů a těžších částic je srovnatelná. Další podmínkou LTE je chemická rovnováha. Netermální plazma je charakteristické odlišnými teplotami různých částic - jedná se tedy o plazma termodynamicky nerovnovážné, kde lehké elektrony mají výrazně vyšší energii než těžké ionty a neutrální částice, které si uchovávají teplotu blízkou pokojové teplotě. Mezi zdroje termálního plazmatu se řadí plazmové hořáky a oblouky. Naopak mezi zdroje netermálního řadíme například doutnavý, koronový, kapacitně a induktivně vázaný výboj.

Nerovnovážné plazma je většinou generováno při sníženém tlaku (1-100 Pa). Nízkotlaké plazma bylo poprvé průmyslově využito okolo roku 1900 při výrobě elektrických žárovek. Od té doby se našlo mnoho způsobů jeho použití v různých průmyslových odvětvích a spousta aplikací má i dnes. Nicméně generace nízkotlakého plazmatu probíhá ve vzduchotěsných a poměrně velkých vakuových reaktorech, což je finančně a časově náročné, nemluvě o nesnadnosti manipulace s opracovávanými materiály. Proto je ekonomicky atraktivní generace plazmatu za atmosférického tlaku. Tato atraktivita vedla k vývoji široké škály průmyslových, vědeckých a akademických zdrojů atmosférického plazmatu, mezi které patří dielektrický bariérový výboj. [9, 10, 11]

2.1.1. Dielektrický bariérový výboj

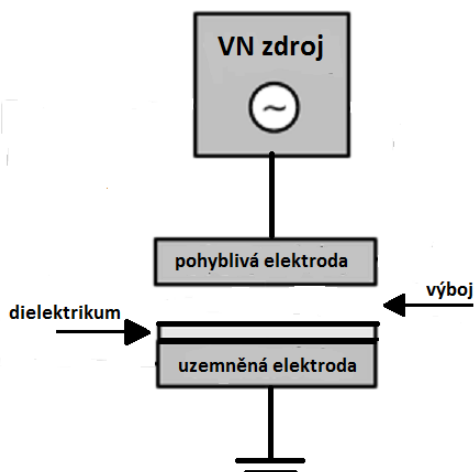
DBD výboj (původně nazýván "tichý výboj"), kdy jedna, či obě elektrody jsou pokryty dielektrickým materiálem, byl zažehnut poprvé v roce 1857 a mohl za to Ernst Werner Von Siemens, který tento zdroj plazmatu využíval pro výrobu ozónu.[12] Dnes se DBD zařízení vyskytuje v různých konfiguracích, například koaxiální, kde jedna elektroda je umístěna uvnitř druhé a dielektrická bariéra je mezi nimi. Námi používané DBD zařízení se skládá ze dvou planparalelních elektrod. Spodní elektroda je uzemněna a pokryta dielektrikem, které zabraňuje přechodu do obloukového výboje, viz schéma na **obr. 1a**. Mezera mezi elektrodami musí být při atmosférickém tlaku široká řádově milimetry a právě v ní je generován výboj pomocí sinusoidálního zdroje vysokého napětí, viz **obr. 1b**. V závislosti na složení pracovního plynu, budícího napětí a frekvence může být výboj buď filamentární nebo difuzní.

My pracujeme s výbojem v jeho častějším filamentárním módu. Když lokální elektrické pole v mezeře vyplněné vzduchem dosáhne zápalné úrovně, na mnoha místech se vytvoří filameny, takzvané mikrovýboje. Vznik mikrovýboje můžeme rozdělit do několika fází. V prvním, tzv. předprůrazovém stádiu, jsou primární elektrony, které se nacházejí v plynu mezi elektrodami díky kosmickému nebo radioaktivnímu záření, poté co je pole dostatečně silné, schopné ionizovat neutrální plyn, přičemž vznikne další volný elektron. Tento proces se opakuje, znásobuje se počet elektronů a my proto hovoříme o elektronové lavině. Lavina má tvar rotačního

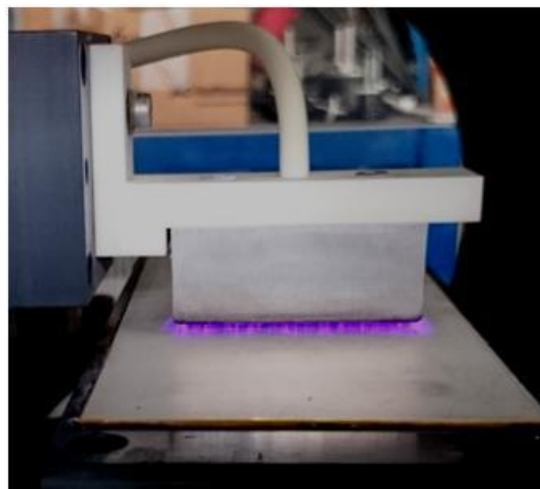
kuželu s osou kolmou na katodu. Elektrony, jejichž pohyblivost je větší než pohyblivost kladných iontů, jsou soustředěny v čele laviny, zatímco pomalé kladné ionty zůstávají rovnoměrně rozdělené v místech svého vzniku. Lavina se směrem k anodě rozšiřuje, což je způsobeno příčnou difuzí elektronů, které mají řádově větší koeficient difuze než kladné ionty. Průměr nejširší části je při atmosférickém tlaku 0,1 - 1 mm. Dochází k akumulaci elektronů před anodou a je zde vytvořeno silné lokální elektrické pole. Toto pole se připočítá k původnímu poli elektrod.

Další fází je takzvaná ionizační vlna postupující směrem ke katodě. V čele původní laviny se nacházejí kromě elektronů také excitované atomy a ionty. Ty při deexcitaci emitují fotony s vysokou energií, které fotoionizací, tedy ionizováním atomu či molekuly srážkou s fotonem, vytvářejí v okolí sekundární laviny. Tyto sekundární laviny se šíří směrem ke kladnému prostorovému náboji, který po sobě zanechala primární lavina. Elektrony sekundárních lavin tak kompenzují kladný náboj od primární laviny, tím se vytváří plazma. Ke katodě se šíří nový útvar obsahující plazma, který nazýváme streamer. Pokud se streamer šíří ke katodě, nazýváme ho kladným. Průměr streamru je porovnatelný s průměrem primární laviny, tedy 0,1 - 1 mm. Streamer se sám postupně ukončí, neboť dojde k nabití dielektrické vrstvy přítomné na elektrodě. K dalšímu zformování streamru následně dojde při změně znaménka budícího napětí. [13, 14]

Průmyslově se dielektrický bariérový výboj používá k výrobě ozónu, produkci vysoce intenzivního koherentního záření v CO₂ laserech, ale také na poli ochrany životního prostředí pro kontrolu znečištění či při destrukci nebezpečných sloučenin, dále pro nanášení vrstev a opracování povrchů, jejich leptání, sterilizaci i modifikaci.



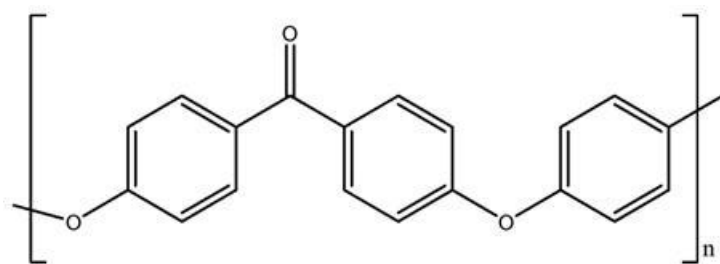
Obr. 1a - Schéma používané DBD aparatury



Obr. 1b - Fotografie používané DBD aparatury

2.2. Modifikace PEEKu pomocí atmosférického plazmatu ve vzduchu

Polymer, kterým se tato práce zabývá je poly(ether ether keton) se zkratkou PEEK. Jedná se o bezbarvý, semikrystalický polymer a mezi jeho výhody patří teplotní odolnost, dlouhá životnost, vysoká pevnost, nízká měrná hmotnost, chemická odolnost včetně odolnosti vůči radioaktivnímu záření a nízká hořlavost. Využívá se například v leteckém, automobilovém a lékařském průmyslu. V minulých letech se tento polymer začal využívat i v oblasti biomedicíny, a to zejména pro ortopedické a dentální aplikace. [15, 16] Jeho možné uplatnění je jako náhrada titanu a jeho slitin při výrobě kostních implantátů, neboť je možné ho opakovaně sterilizovat a snadno tvarovat.[17] Další výhodou je jeho nižší Youngův modul pružnosti, blízký modulu pružnosti kosti. Právě při těchto aplikacích se objevuje také jeho nevýhoda - nízká povrchová energie, která způsobuje špatnou imobilizaci, tedy ukotvení, biomolekul a také špatnou adhezi dalších případných nanášených vrstev. Odstranění této nevýhody je aktuálním tématem.[6,18] Strukturní vzorec tohoto aromatického polymeru je na **obr. 2**.



Obr. 2 - Struktura poly(ether ether ketonu)

První studie zabývající se vlivem atmosférického plazmatu na PEEK byla publikována Upadhyayem a dalšími [6]. Tito autoři použili DBD plazma generované ve vzduchu za atmosférického tlaku. Byl pozorován výrazný pokles kontaktního úhlu vody měřeného na PEEKu po aplikaci plazmatu. Tento jev byl vysvětlen změnou chemického složení povrchu opracovaného polymeru. Na základě analýzy XPS spekter vysokého rozlišení C(1s) a O(1s) píků bylo zjištěno, že plazmové opracování vede ke snížení koncentrace aromatických uhlovodíků a k nárůstu zastoupení polárních funkčních skupin (například O-C=O). Vyvolané změny však nebyly časově stálé: po měsíci na vzduchu bylo pozorováno částečné obnovení aromatických uhlovodíků a postupný nárůst hodnoty kontaktního úhlu. Nicméně, kontaktní úhel nevzrostl na svou původní hodnotu a zůstal výrazně nižší ve srovnání s neopracovaným polymerem.

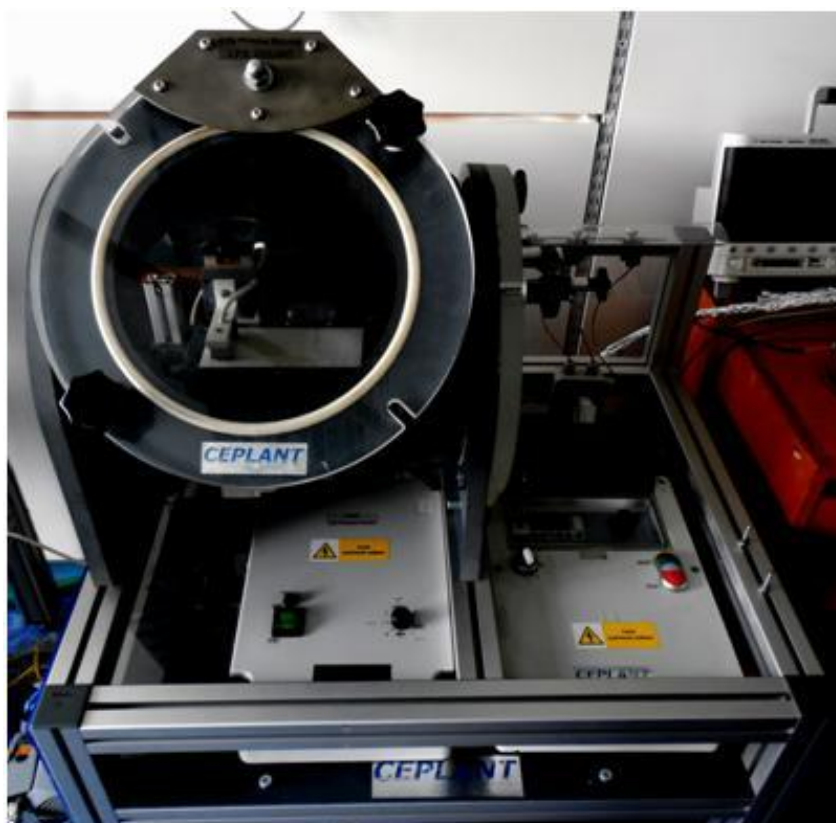
Další zajímavé výsledky přinesly experimenty publikované Fricke a dalšími [19]. Tito autoři provedli experimenty s jiným typem zdroje atmosférického plazmatu a to s vysokofrekvenční tryskou používající jako pracovní plyn argon, popřípadě argon s malou příměsí kyslíku. I zde bylo prokázáno, že po vystavení PEEKu tomuto typu výboje dojde na povrchu PEEKu ke vzniku mnoha nových polárních funkčních skupin s vazbou mezi kyslíkem a uhlíkem a k výraznému zvýšení poměru O/C. Pomocí mikroskopie atomárních sil bylo zjištěno, že na původně relativně hladkém polymeru vznikla zrna o výšce řádově stovek nanometrů. Dále bylo pozorováno, že v průběhu opracování dochází i k leptání polymeru, přičemž účinnost leptání se zvyšuje s rostoucí příměsí molekulárního kyslíku v pracovním plynu.

3. Popis použitých zařízení a diagnostických technik

3.1. Zdroj DBD plazmatu

V našem uspořádání aparatury má horní obdélníková elektroda rozměry $2\text{ cm} \times 2\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ a je vyrobena z nerezové oceli. Umožňuje skenování po celé délce spodní elektrody rychlostí 40 mm/s . Spodní elektrodou je uzemněný ocelový plát s rozměry $72\text{ mm} \times 160\text{ mm}$ pokrytý milimetrovou vrstvou oxidu hlinitého. Na elektrodu bylo přiváděno vysoké sinusoidální napětí o nízké frekvenci cca 20 kHz .

Vzorky PEEK fólie (tloušťka $50\text{ }\mu\text{m}$, použito bez jakýchkoli modifikací, Goodfellow) byly umístěny na spodní uzemněnou elektrodu. Vezmeme-li v úvahu rozměry elektrody a rychlost jejího posunu, může říci, že během jednoho skenu je PEEK fólie vystavena plazmatu 1 sekundu. Jako pracovní plyn byl použit laboratorní vzduch. Fotografie celého zařízení je na **obr. 3**.



Obr. 3 - Fotografie používaného DBD zařízení

3.2. Charakterizace DBD plazmatu

3.2.1. Voltampérová charakteristika

Pro charakterizaci dielektrického bariérového výboje se využívá zapojení elektrického obvodu a měření se provádí osciloskopem. Dokud je napětí v mezeře mezi elektrodami menší než zápalné napětí, nevznikají žádné mikrovýboje a zařízení se chová jen jako série dvou kondenzátorů, jeden má kapacitu danou mezerou mezi elektrodami a druhý kapacitou dielektrika. Po překročení zápalného napětí se začnou generovat mikrovýboje, což se projeví přítomností píků výbojového proudu. Důležité elektrické parametry výboje jsou výbojové napětí U , výbojový proud $I(t)$, přenesený náboj Q , elektrický vložený výkon P , spotřebovaná elektrická energie E .

Typická oscilografická reprezentace je znázornění průběhu I a U v závislosti na čase. Další způsob jak zobrazit data naměřená osciloskopem je Q - U diagram, na kterém jsou vidět takzvané Lissajousovy obrazce, jejichž plocha odpovídá E . Ze znalosti vztahu mezi přiváděným výkonem a spotřebovanou energií, kde vystupuje f , jakožto frekvence zdrojového napětí [20]:

$$P = f \cdot E \quad (1)$$

můžeme určit výkon, který je jediným parametrem, jež můžeme v našem uspořádání aparatury měnit.

Průběh napětí se monitoroval pomocí vysokonapěťové sondy Tektronix P6015A připojené k digitálnímu osciloskopu Agilent BSO-X 3034A (1000:1). Průběh proudu byl monitorován sondou Pearson 6585. Pro měření přeneseného náboje bylo provedeno měření poklesu napětí na kondenzátoru sériově zapojeném mezi spodní elektrodou a zemí pomocí sondy Agilent N2890A (10:1).

3.2.2. Optická emisní spektroskopie

Spektroskopické metody patří k základním metodám zkoumajícím procesy probíhající v plazmatu. Jejich výhodou je, že zkoumané plazma neovlivňují a zároveň můžeme zjistit chemické složení plazmatu i teplotní poměry v něm.

Základem této metody je interakce záření s hmotou. Může dojít k absorpci, atomy nebo molekuly záření pohltní. Atomy či molekuly můžou však i záření uvolnit, v tom případě se jedná o emisi. K emisi záření dochází při přechodu elektronu z

vyššího energetického stavu atomu či molekuly na stav nižší. Dojde k vyzáření fotonu s energií, která odpovídá rozdílu energií přechodu. Tyto fotony detekujeme a podle jejich vlnové délky (energie) určujeme složení plazmatu, tedy v jakém atomu či molekule došlo k přeskoku elektronu. Z principu metody je zřejmé, že touto metodou se dozvíme jen o molekulách či atomech, které se v plazmatu nacházely v excitovaném stavu. [21]

V našem případě budeme měřit optická emisní spektra, teda vlnové délky záření, které bylo molekulami či atomy emitováno. Měření provádíme pomocí spektrometru AvaSpec (Avantes) na jehož vstup byl přiveden signál pomocí optického vlákna.

Molekuly mohou zaujímat různé elektronické, rotační a vibrační stavy. [22] Distribuce molekulových rotačních stavů koresponduje s rotační teplotou. Tato teplota je téměř rovna teplotě neutrálního plynu. Pozorované spektrální přechody jsou elektron-rotační-vibrační a tedy i pozorovaná intenzita je dána překrytím elektronových rotačních a vibračních stavových funkcí. Pro odhad teploty elektronů, která je přibližně rovna teplotě vibrační je nutné znát vztah pro intenzitu vibračního pásu:

$$I_{v',v''} = \text{const} \cdot \lambda^4 A(v'v'') e^{-\frac{E_v}{kT}} \quad (2)$$

V tomto vztahu v' , resp. v'' označuje vibrační kvantové číslo pro vyšší, resp. nižší stav, $A(v' v'')$ je pravděpodobnost přechodu, kterou je možné najít v tabulkách. λ značíme vlnovou délku a E_v je vibrační energie, T je teplota a k Boltzmannova konstanta. V případě rovnovážné distribuce vibračních stavů vyplývá ze vztahu (2), že závislost $\ln(I_{v',v''}/(\lambda^4 A(v'v'')))$ na E_v , tzv. Boltzmannův graf, by měla být lineární. Vibrační teplota může být vypočtena jako směrnice takto vzniklé přímky.[23, 24]

3.2.3. Měření teploty substrátu

Měření teploty provedeme pomocí termokamery FLIR i3 a infračerveného pyrometru Raytek MI.

Termokamera i pyrometr patří mezi bezdotykové teploměry, ty měří teplotu tělesa zachycením elektromagnetického záření, které vzniká díky vnitřnímu mechanickému pohybu částic. Všechny formy hmoty při teplotách vyšších než je absolutní nula vyzařují toto takzvané tepelné záření. Intenzitu záření popisuje Stefan-Boltzmannův zákon. Tento zákon říká, že intenzita záření roste se čtvrtou mocninou teploty tělesa. Pokud měříme jiné než absolutně černé těleso je nutné znát také jeho emisivitu, tedy poměr mezi intenzitou záření měřeného povrchu a absolutně černého tělesa, jinými slovy schopnost vzorku odrážet tepelný paprsek. Pyrometry změří jen teplotu daného místa, na rozdíl od termokamer, jejichž výstupem je infračervený snímek měřené oblasti. Termokamery umožňují zobrazit infračervené záření tak, aby ho bylo možné vidět.

Výhodou těchto měření je jejich rychlost a bezproblémové měření těžko dostupných míst.

3.3. Analýza modifikovaných povrchů

3.3.1. Mikroskopie atomárních sil

Morfologii povrchu studujeme pomocí mikroskopu atomárních sil Quesant Q-Scope, jehož fotografie je na **obrázku 4**. Nad povrchem vzorku se pomocí piezoelektrického polohovacího zařízení posouvá nosič, na kterém je umístěn velmi ostrý hrot, jehož přesná poloha a také ohnutí jsou snímány laserem, viz schéma na **obr. 5**. Na hrot působí meziatomární síly a z informací získaných o jeho pohybu se následně sestavuje třírozměrný obraz povrchu. Mikroskop může pracovat ve dvou módech. Jedná se o mód kontaktní a semikontaktní, v prvním případě je hrot v přímém kontaktu se vzorkem, v druhém osciluje v konstantní vzdálenosti nad vzorkem. My jsme pracovali ve druhém zmíněném módu. Jeho výhodou je, že získáme maximum informací a oproti kontaktnímu módu je nižší pravděpodobnost, že dojde k poškození hrotu. Hrot je rozvibrován s frekvencí blízké jeho vlastní a my

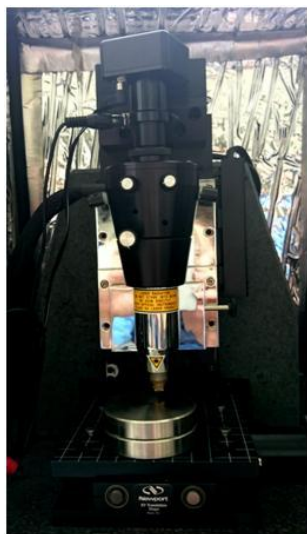
měříme změnu amplitudy a fáze kmitů v důsledku interakce s povrchem vzorku. Pomocí zpětnovazebné smyčky je následně upravena pozice nosiče, potažmo hrotu, takto po řádkách skenujeme vybranou část vzorku.

Pro vyhodnocení naměřených dat používáme program Gwyddion. Při popisu morfologie vzorku nás zajímá jeho drsnost, o které vypovídá parametr RMS (root mean square) drsnost. RMS drsnost je dána vztahem:

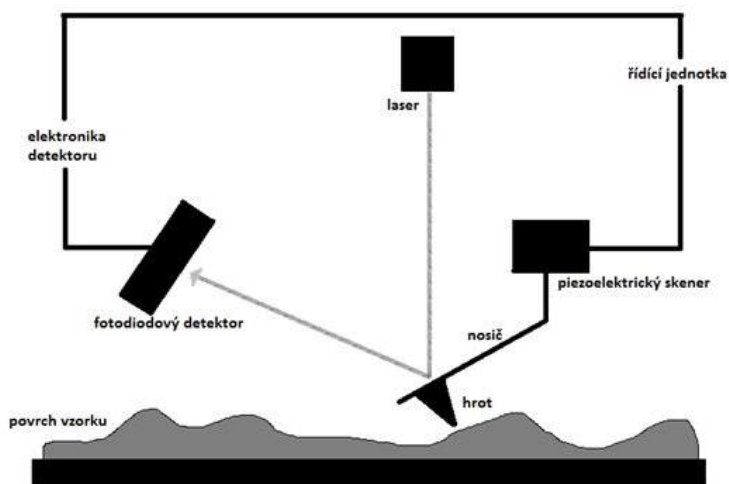
$$x_{RMS} = \sqrt{\frac{1}{n}(x_1^2 + x_2^2 \dots + x_n^2)} \quad (3)$$

zde n je počet bodů měření a x_1 až x_n jsou odchylky jednotlivých bodů od průměrné výšky povrchu.

Výhodou mikroskopie atomárních sil (AFM) je možnost zkoumání široké škály povrchů. Vzorek může být vodivý, ale také izolant a nezáleží ani na jeho tvrdosti.



Obr. 4 - Fotografie používaného AFM



Obr. 5 - Schéma mikroskopu atomárních sil

3.3.2. UV-Vis spektroskopie

Pomocí UV-Vis spektroskopie je možné měřit optickou propustnost nebo absorpci vzorků v rozsahu vlnových délek viditelného a ultrafialového světla. Měření využívá změn energetického stavu molekul ve vzorku. Měnit se může elektronový stav molekul, tedy obsazení orbitalů, dále se může měnit rotační či vibrační stav

molekul. Pro vyvolání těchto změn je potřeba dodat přesné množství energie. Spektroskopie tedy spočívá v měření spektra po průchodu vzorkem a jeho porovnáním se spektrem referenčního paprsku, který nemá v cestě vzorek.

Pro kvantitativní analýzu založenou na měření absorbance vzorků je základem Lambert-Beerův zákon, který říká, že absorbance je úměrná počtu absorbujících molekul a také, že procento absorbovaného záření nezávisí na intenzitě záření.

Tato metoda vedoucí k analýze vzorku je velmi rychlá a nenáročná na přípravu vzorku. V našem případě provádíme měření spektrometrem Hitachi U-2910 ve spektrálním rozsahu 326 - 900 nm a měříme transmitanci, tedy poměr intenzity prošlého světla určité vlnové délky ku intenzitě původního paprsku.

3.3.3. Měření smáčivosti kapkovou metodou

Smáčivost povrchu je dána kombinací chemického složení a morfologie. Pro určení změny povrchové energie je možné využít takzvanou kapkovou metodu. Vzorek nejprve umístíme na vodorovnou podložku, poté na něj kápne kapku zvolené kapaliny pomocí stříkačky. Následně pomocí kamery, která je součástí aparatury, vytvoříme snímek kapky. Nakonec pomocí softwaru Solarius Wettability 1.1.59.23 určíme kontaktní úhel z fotografie kapky. Měření opakujeme pro různá náhodně vybraná místa na vzorku. Měřicí aparatura byla sestavena a software vytvořen na KMF MFF UK.

Pokud použijeme dvě kapaliny, z nichž jedna je polární, například voda a druhá je nepolární, například diiodomethan, můžeme určit i povrchovou energii vzorku díky následujícím vztahům, které platí pro napětí mezi substrátem a okolním vzduchem [25]:

$$\gamma = \gamma^d + \gamma^p \quad (4)$$

$$\gamma^d = 12,70(1 + \cos \theta_D)^2 \quad (5)$$

$$\gamma^p = [5,09(1 + \cos \theta_V) - 2,32(1 + \cos \theta_D)]^2 \quad (6)$$

Zde γ^p a γ^d značí složky mezivrchového napětí pro polární a rozptylovou složku, θ_V , resp. θ_D je kontaktní úhel substrátu a kapky vody, resp. diiodometanu.

3.3.4. Rentgenová fotoemisní spektroskopie

K analýze chemického složení povrchu vzorků používáme rentgenovou fotoemisní spektroskopii (XPS). Pomocí rentgenového zdroje je vzorek ozařován monoenergetickými rentgenovými paprsky. Díky fotoelektrickému jevu vyřazejí tyto paprsky ze vzorku elektrony a ty jsou následně analyzovány a detekovány. Měříme jejich počet a kinetickou energii E_k . Ze znalosti energie rentgenového fotonu E_{fotonu} , kterým je vzorek ozařován a výstupní práce φ potřebné k vyrazení elektronu z materiálu můžeme určit vazebnou energii elektronu $E_{vazebná}$, protože za předpokladu, že vyražený elektron neutrpí cestou žádné další energetické ztráty, platí:

$$E_{vazebná} = E_{fotonu} - (E_k + \varphi) \quad (7)$$

Tato energie vypovídá o chemickém složení vzorku, neboť různé chemické prvky a molekuly mají různé vazebné energie elektronů. Na základě malých energetických posunů je navíc možné určit i vazebný stav v jakém se daný prvek nachází.

Používali jsme zařízení sestavené z rentgenky XR50 s duální anodou a hemisférického analyzátoru Specs Phoibos 100 s pětikanálovým detektorem. Na zpracování byl použit software CasaXPS. Nevýhodou této metody je nutnost pracovat ve vakuu a tedy časově náročnější měření.

3.3.5. Měření kovalentního navázání proteinů

Dále jsme zkoumali, zda se zlepšila schopnost polymerního povrchu navázat-imobilizovat biomolekuly. Toto navázání může proběhnout adsorpcí, při které se uplatňují iontové síly, vodíkové můstky a další nekovalentní interakce. Navázání, které má tento charakter, ovšem není příliš stabilní. Proto se snažíme biomolekuly immobilizovat kovalentní vazbou, která je dlouhodobější a stabilnější.

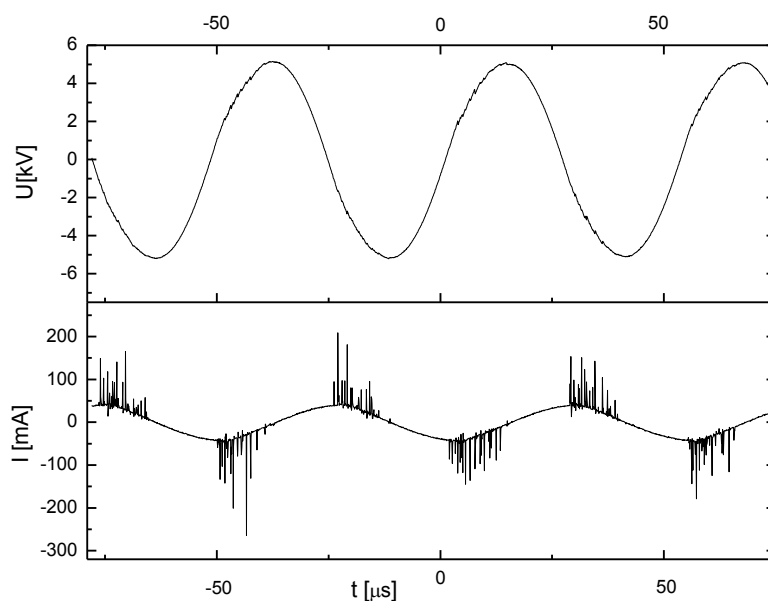
Testování jsme prováděli pro neopracovaný a opracovaný polymer. Ponoříme tyto dva vzorky do roztoku proteinu BSA (bovine serum albumin) v PBS (phosphate-buffered saline) o koncentraci 50 µg/ml. PBS je vodný roztok, který se skládá ze směsi slabé kyseliny a její konjugované báze. Po několika dnech vzorky vyndáme, odstraníme z nich proteiny, které nejsou navázány kovalentně pomocí SDS (sodiumdodecylsulfát), což je velmi silný detergent schopný odstranit z povrchu všechny nekovalentně vázané biomolekuly, a provedeme měření pomocí XPS.

4. Výsledky

4.1. Charakterizace DBD plazmatu

4.1.1. Voltampérová charakteristika

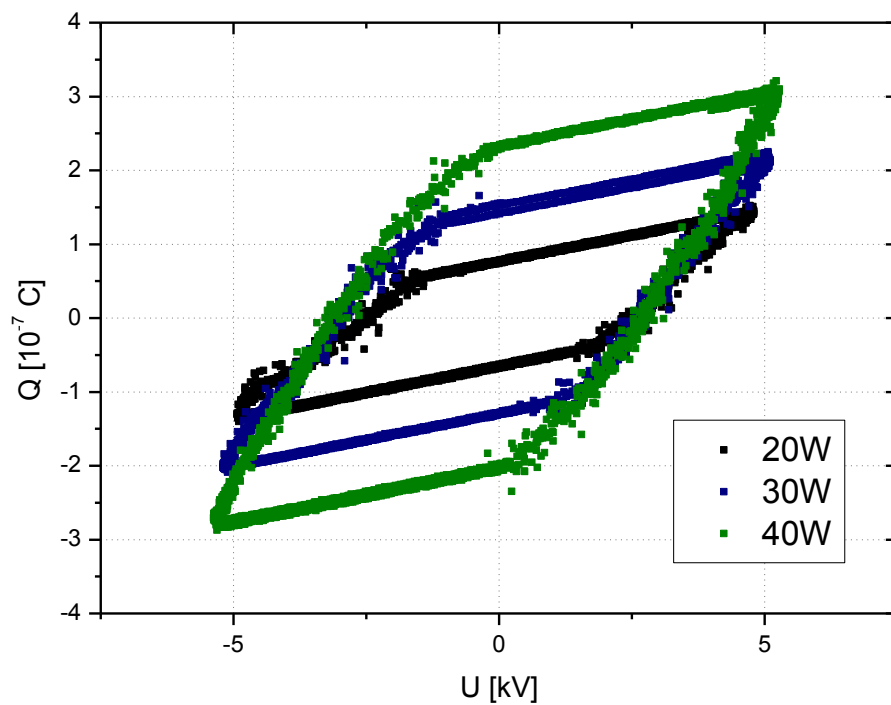
První krokem této práce bylo určení průběhu napětí a proudu na elektrodách DBD reaktoru. Závislost těchto dvou veličin na čase byla měřena digitálním osciloskopem, přičemž typický příklad naměřeného průběhu proudu a napětí na čase je uveden v grafu 1. Z tohoto grafu je patrné, že zatímco napětí má přibližně harmonický průběh, u naměřeného proudu jsou patrné jasné píky, které odpovídají jednotlivým mikrovýbojům. Počet detekovaných mikrovýbojů narůstal s rostoucí amplitudou napětí: zatímco pro amplitudu 9,6 kV bylo detekováno přibližně 7×10^5 mikrovýbojů za sekundu, pro amplitudu 10,8 kV bylo pozorováno $1,5 \times 10^6$ výbojů za sekundu.



Graf 1 - Závislost napětí a proudu na čase, amplituda napětí 10,2 kV

Vzhledem k tomu, že jediným přímo regulovatelným parametrem použitého DBD reaktoru je amplituda napětí, dalším krokem bylo určení výkonu dodávaného do výboje. Na základě předběžných měření byla aparatura kalibrována a potenciometr používaný pro regulaci amplitudy napětí byl opatřen stupnicí udávající

přímo dodávaný výkon. Pro ověření přesnosti kalibrační stupnice byl výkon dodávaný do výboje určen pomocí Lissajousových obrazců, viz kapitola 3.2.1. Z naměřených hodnot uvedených v grafu 2 byly odečteny polohy vektorů ohraničujících kosodélníky a vektorovým součinem byla vypočtena jejich plocha. Ta odpovídá spotřebované elektrické energii a ze znalosti frekvence byl dle vztahu (1) vypočten dodávaný výkon. V tabulce 1 jsou srovnány takto získané hodnoty výkonu s hodnotami kalibrační stupnice. Z těchto měření je zřejmá dostatečná shoda mezi kalibračními hodnotami a skutečným výkonem, přičemž maximální odchylka byla 8,9%, což je srovnatelné s přesností určení výkonu z Lissajousových obrazců. Z tohoto důvodu byl pro další experimenty výkon nastavován pouze pomocí kalibrační stupnice.



Graf 2 - Q - U oscilografická reprezentace - Lissajousovy obrazce, závislost přeneseného náboje na napětí pro různé nastavené hodnoty příkonu podle předchozí kalibrace

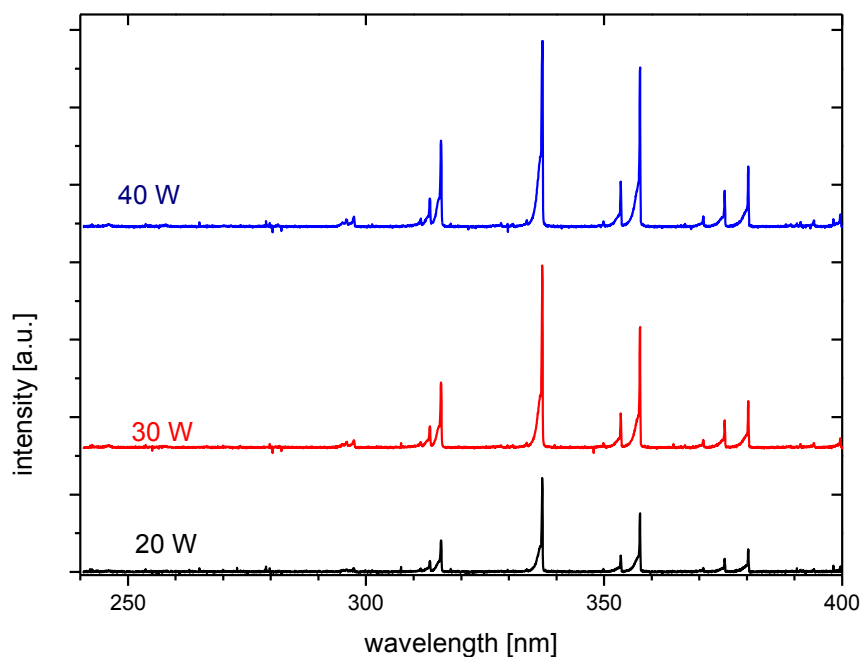
P_k [W]	P_e [W]	odchylka [%]
20	19,3	3,8
30	32,8	8,9
40	41,6	4,0

Tabulka 1 – Srovnání hodnot výkonu podle kalibrační stupnice P_k , experimentálně zjištěný výkon P_e a jejich relativní odchylka

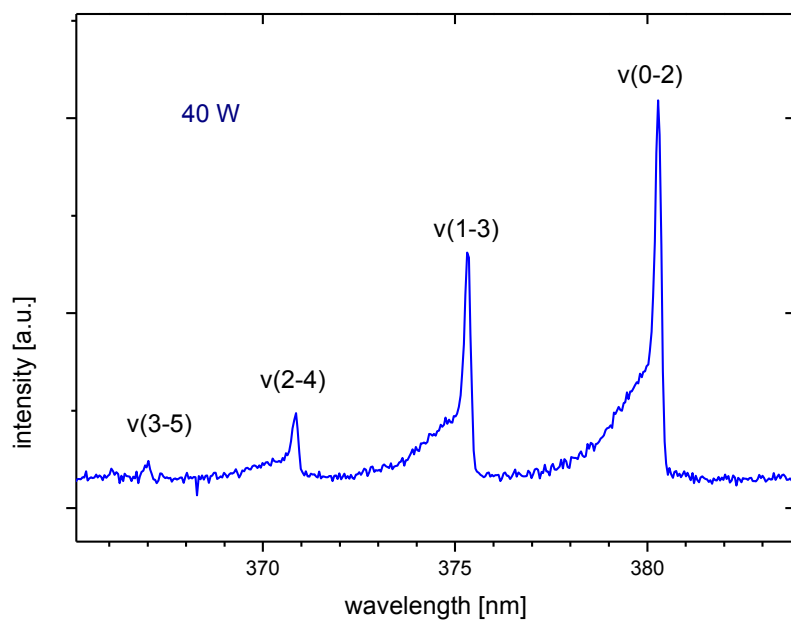
4.1.2. Optická emisní spektroskopie

Druhým krokem charakterizace použitého DBD reaktoru bylo měření optických emisních spekter. Při měření spekter výboje ve vzduchu bylo zjištěno, že nejintenzivnější a v zásadě jediné detekovatelné jsou spektrální pásy takzvaného druhého pozitivního systému N_2 , tedy pásy odpovídající emisi záření při přechodu ze stavu $C^3\Pi$ do stavu $B^3\Pi$. Žádné další spektrální pásy a čáry běžně pozorované v plazmatu generovaném ve vzduchu, jako jsou například pásy N_2 ($B^3\Pi \rightarrow A^3 \Sigma^+$), N_2^+ ($B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2 \Sigma^+$), OH ($A^2 \Sigma \rightarrow X^2 \Pi$) a NO ($A^2 \Sigma^+ \rightarrow X^2 \Pi$) [26,27], nebyly detekovány, jak je patrné z grafu 3, kde je vyneseno naměřené spektrum ve spektrálním rozsahu 240 - 400 nm pro různé výkony plazmatu. Z tohoto grafu je dále zřejmé, že intenzita detekovaných spektrálních pásů roste s rostoucím výkonem dodávaným do plazmatu. Tento efekt je možné vysvětlit rostoucí koncentrací elektronů, které mohou excitovat molekuly dusíku do stavu $N_2(C^3\Pi)$.

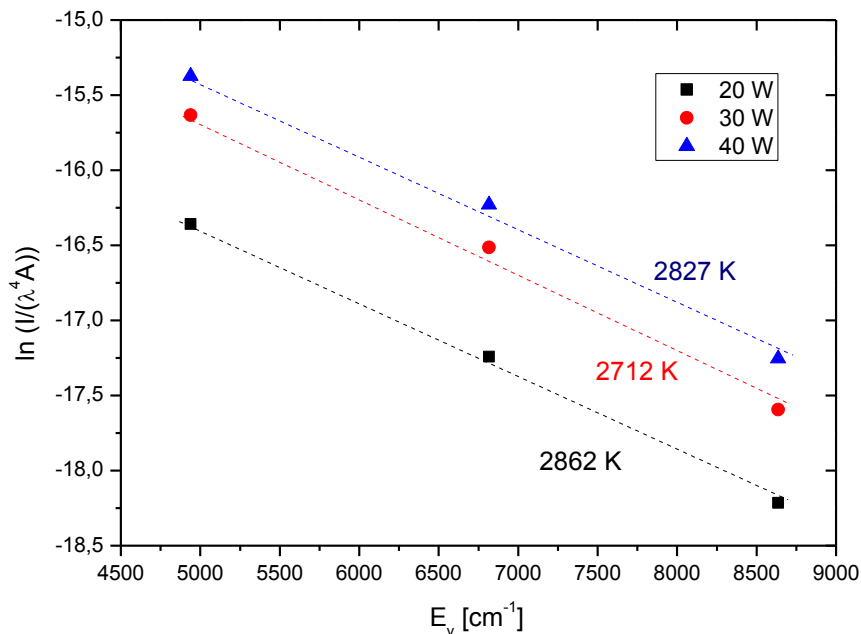
Dalším parametrem plazmatu, který je možné získat z emisních spekter, je vibrační teplota. Pro její určení byla použita sekvence spektrálních pásů odpovídající rozdílu vibračních hladin -2. Příklad této sekvence je uveden pro výkon 40W v grafu 4 spolu s přiřazením přechodů k jednotlivým píkům. Naměřené hodnoty intenzit studovaných píků byly následně vyneseny do Boltzmannova grafu (graf 5) z jehož směrnice byla určena vibrační teplota. Tato teplota je pro jednotlivé výkony uvedena v grafu a je patrné, že výrazněji nezávisí na výkonu. Vzhledem k tomu, že vibrační teplota bývá používána jako hrubý odhad teploty elektronů, můžeme na základě dosažených výsledků předpokládat, že elektronová teplota se v rozmezí námi používaných výkonů nemění.



Graf 3 - Naměřené ro-vibrační emisní spektrum - N_2 pásy, pro různé výkony



Graf 4 - Naměřené emisní spektrum DBD plazmatu ve vzduchu za atmosférického tlaku při výkonu 40W. U každého píku je vyznačen i příslušný přechod – první číslo udává vibrační hladinu vyššího elektronického stavu molekuly, druhé pak vibrační hladinu nižšího elektronického stavu.

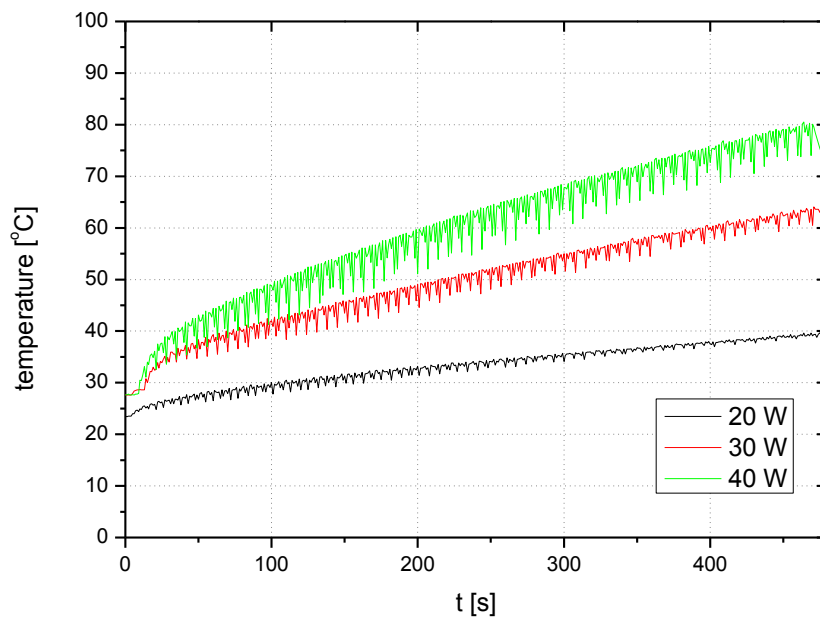


Graf 5 - Závislost $\ln(I_{\nu',\nu''}/(\lambda^4 A(\nu'\nu'')))$ na vibrační energii, pro jednotlivé výkony lineární regrese a směrnice odpovídající vibrační teplotě

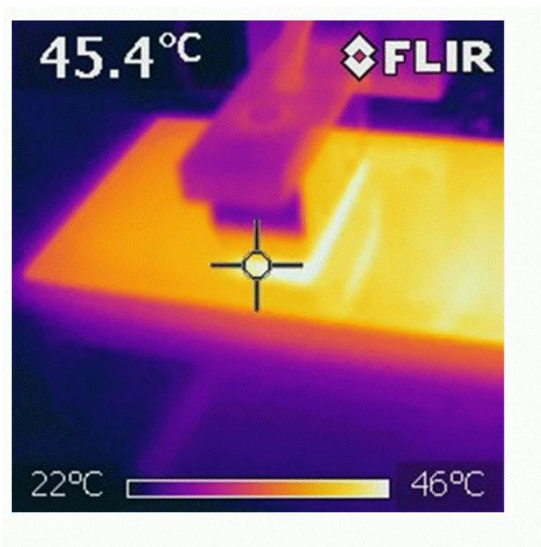
4.1.3. Teplota substrátu

Jedna z důležitých vlastností polymerů je teplota jejich skelného přechodu. Jedná se o teplotu přechodu mezi amorfním (sklovitým) stavem a takzvaným kaučukovitým stavem. Během tohoto přechodu dochází k poklesu mezimolekulárních sil uvnitř polymeru a zvyšuje se elasticita polymeru a skokově se mění i další vlastnosti. Z hlediska možného využití DBD plazmatu je důležité zaručit, že teplota opracovávaného polymeru nepřekročí teplotu jeho skelného přechodu – v případě PEEKu teplotu 143°C. [28]

Teplotu jsme proměřovali pomocí termokamery a pyrometru. V grafu 6, kde jsou uvedeny závislosti teploty PEEK fólie na čase opracování pro různé výkony, je vidět, že teplota při všech měřených výkonech roste s časem. Ovšem pro námi používané kratší doby opracování, do 100 sekund, teplota při nejvyšším výkonu dosahuje maximálně 50°C, což bylo ověřeno nezávisle i s pomocí termokamery (viz obr. 6). Tato teplota je podstatně nižší než teplota skelného přechodu PEEKu a tudíž by nemělo docházet k žádnému termálnímu poškození PEEK fólie.



Graf 6 - Teplota vzorku v závislosti na čase pro různé příkony, viz legenda v grafu

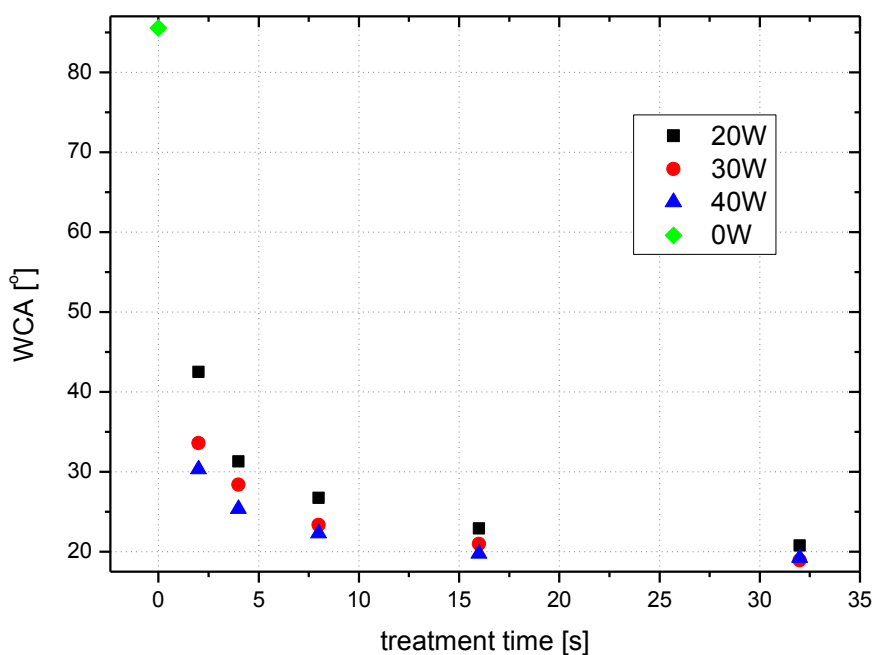


Obr. 6 - Snímek z termokamery zobrazující DBD zdroj v chodu po 60 sekundách

4.2. Analýza modifikovaných povrchů

4.2.1. Smáčivost a povrchová energie polymeru

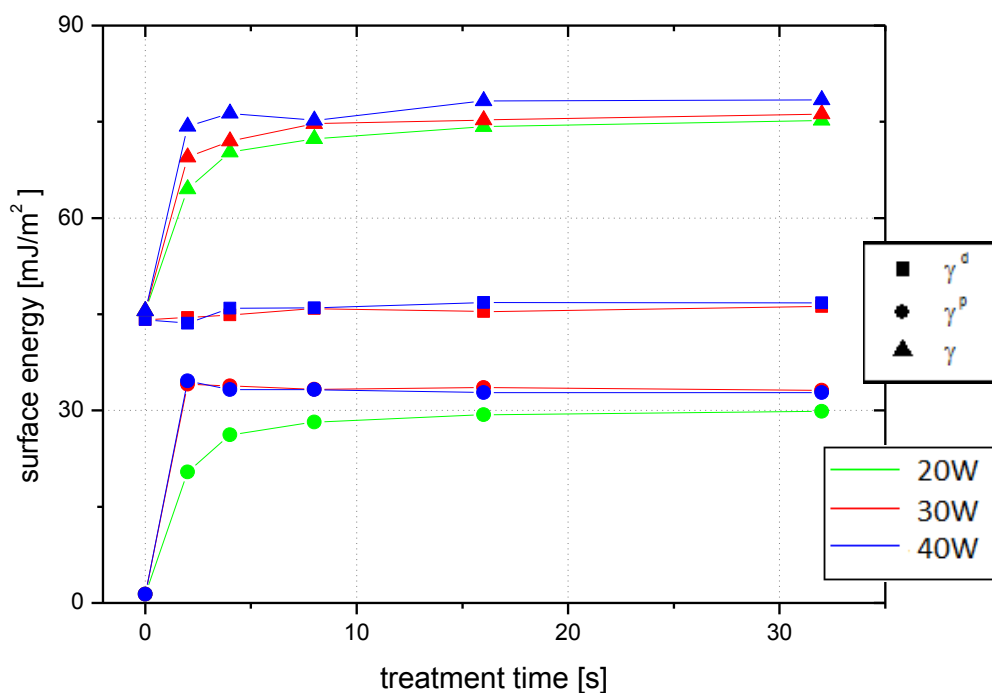
První studovanou vlastností PEEK fólie byla její smáčivost. Měření smáčivosti bylo provedeno kapkovou metodou. Měřicí kapalinou byla voda. Bylo zjištěno, že PEEK fólie má sama o sobě velmi malou smáčivost charakterizovanou hodnotou statického kontaktního úhlu vody 85° . Pro určení vlivu DBD plazmatu na smáčivost jsme proměřili závislost kontaktního úhlu na počtu skenů (tj. na čase vystavení DBD plazmatu) pro různé výkony. Polymerní fólie byla nastříhána na proužky a následně vystavena plazmatu po dobu až 32 sekund. Jednotlivá měření jsme vždy opakovali na třech náhodně vybraných místech na vzorku. Naměřené hodnoty jsou vyneseny v grafu 7.



Graf 7 - Závislost kontaktního úhlu vody na PEEK folii na době opracování pro různé výkony, viz legenda v grafu

Z tohoto grafu je patrné, že ihned po dvou skenech, které odpovídají 2 sekundám působení plazmatu, dochází k prudkému poklesu kontaktního úhlu vody takřka na jednu polovinu původní hodnoty, přičemž pokles je tím výraznější, čím vyšší výkon byl použit. Pozorovaný nárůst smáčivosti je v dobré shodě s dříve publikovanými výsledky [6]. Delší vystavení plazmatu pak následně vede jen k dalšímu mírnému poklesu kontaktního úhlu až na hodnotu 20° a ke zmenšení rozdílů mezi velikostmi kontaktních úhlu zjištěných pro různé výkony.

Dále jsme určili povrchovou energii a to ze vztahů (4), (5) a (6) po naměření kontaktních úhlů vody a diiodomethanu na neopracované fólii a fólii opracované DBD plazmatem. Z grafu 8 je patrné, že opracování plazmatem mění polární složku povrchového napětí, zatímco disperzní složka zůstává konstantní. K nárůstu povrchové energie dochází rychleji při větších výkonech, ale pro více skenů, tj. delší doby opracování, se rozdíly povrchové energie pro různé příkony zmenšují.

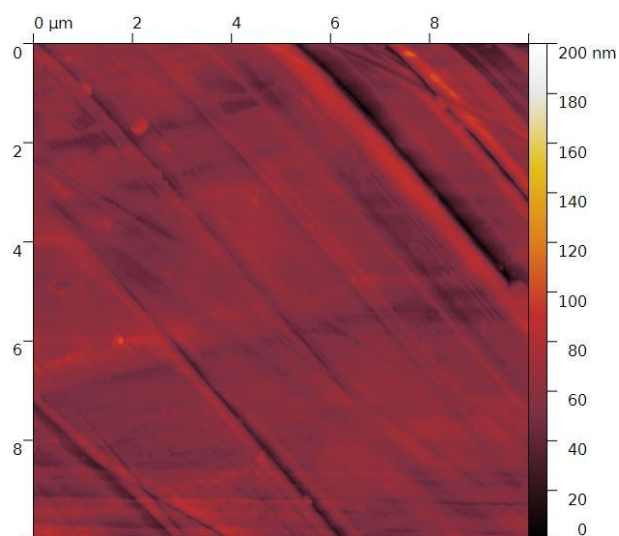


Graf 8 - Závislost celkové povrchové energie a její polární a nepolární složky na době opracování pro různé výkony, viz legenda v grafu

4.2.2 Morfologie povrchu polymeru

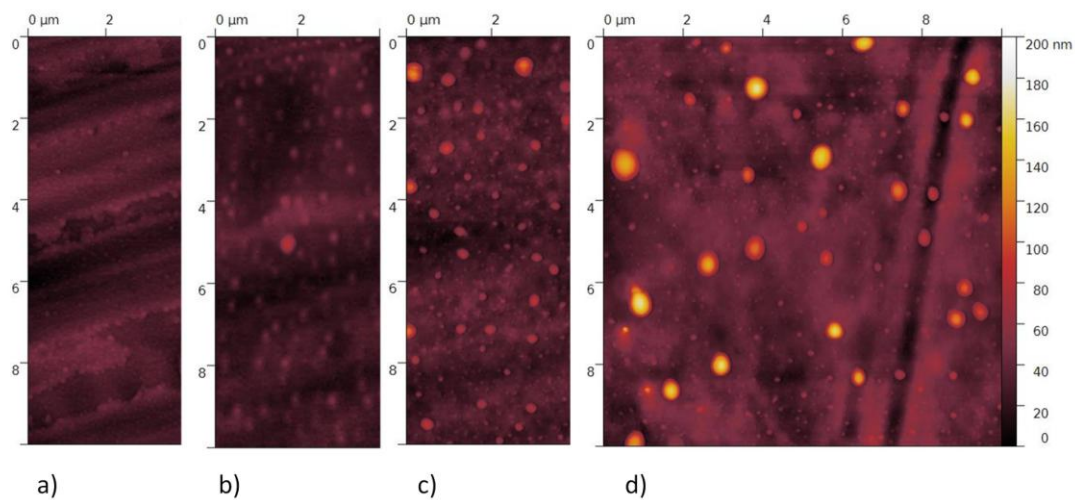
Další zkoumanou vlastností PEEK fólií byla morfologie jejich povrchu. Při těchto experimentech jsme využívali mikroskopu atomárních sil v semikontaktním módu. Skenovali jsme plochu vzorku $10 \times 10 \mu\text{m}^2$. Naměřená data jsme zpracovávali a upravovali pomocí programu Gwyddion. Vzorek umístěný do mikroskopu mohl být v libovolném směru nahnutý, proto jsme používali vyrovnání dat odečtením střední roviny a fit polynomem druhého stupně.

Nejprve jsme měřili neopracovanou polymerní fólii, viz obrázek 7. Na vzorku jsou patrné nerovnosti – úzké rýhy, které vznikly pravděpodobně již při výrobě nebo následné přípravě fólií dodavatelem. RMS drsnost používaných fólií byla 10.5 nm.

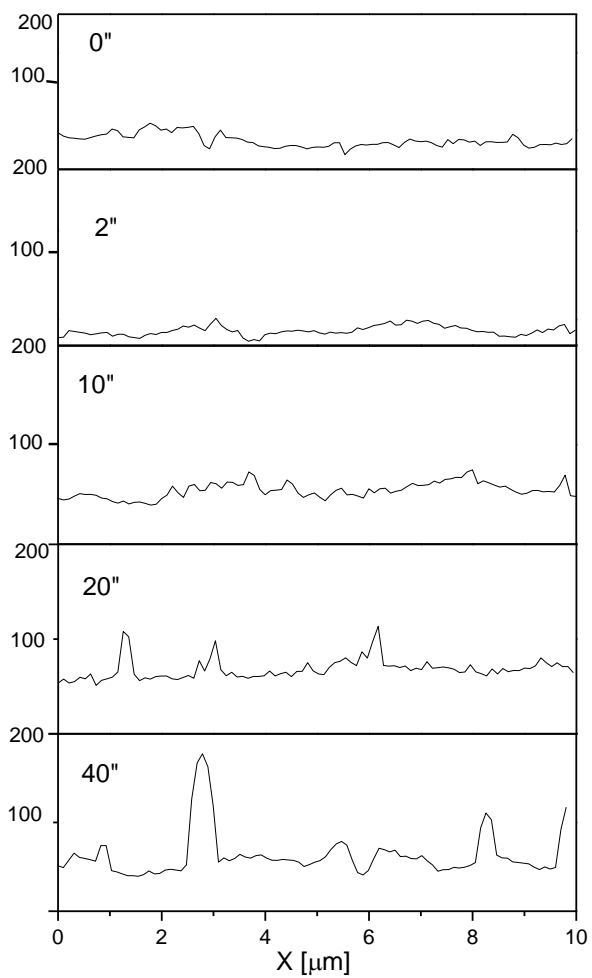


Obr. 7- Neopracovaný PEEK, obrázek z AFM s rozlišením $10 \times 10 \mu\text{m}^2$

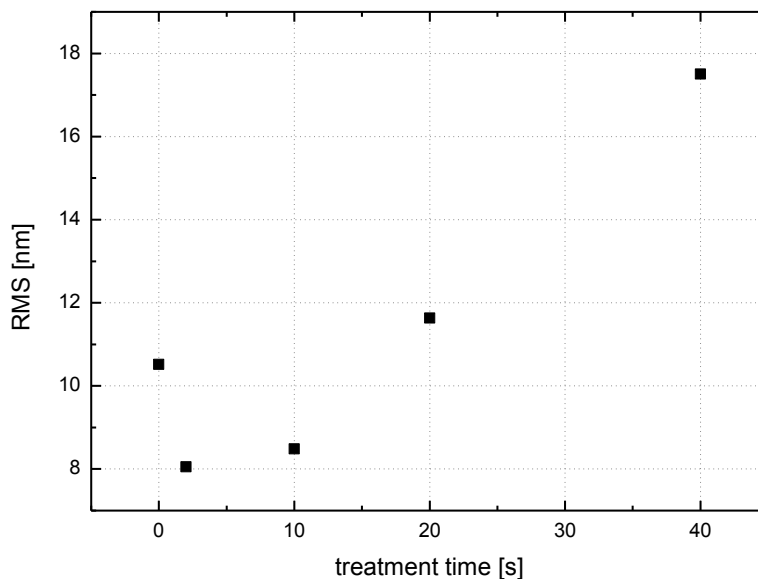
Jak je vidět na obrázku 8 a grafu 9, kde jsou uvedeny příklady AFM skenů PEEK a typické výškové profily fólie po 2, 10, 20 a 40 sekundách vystavení plazmatu při výkonu 40 W, působení DBD plazmatu vyvolává výraznou změnu morfologie PEEK fólie: po modifikaci plazmatem vznikají na PEEK fólii menší kulové útvary, jejichž velikost postupně roste s dobou působení plazmatu. Tato změna charakteru drsnosti má zásadní vliv i na drsnost povrchu, která byla určena pomocí programu Gwyddion. Jak je ukázáno v grafu 10, krátká doba vystavení povrchu vede nejprve ke snížení drsnosti původní polymerní fólie. Pro delší časy opracování pak RMS drsnost povrchu monotónně narůstá a pro nejdelší čas opracování, v našem případě 40 sekund, dosahuje hodnoty přibližně 18 nm.



Obr. 8 – AFM skeny PEEK fólie vystavené DBD plazmatu a) 2 sekundy, b) 10 sekund, c) 20 sekund a d) 40 sekund. DBD výkon 40 W.



Graf 9 – Typické výškové profily PEEK fólie určené pomocí AFM



Graf 10 - Závislost RMS drsnosti na době opracování PEEK fólie, DBD výkon 40W

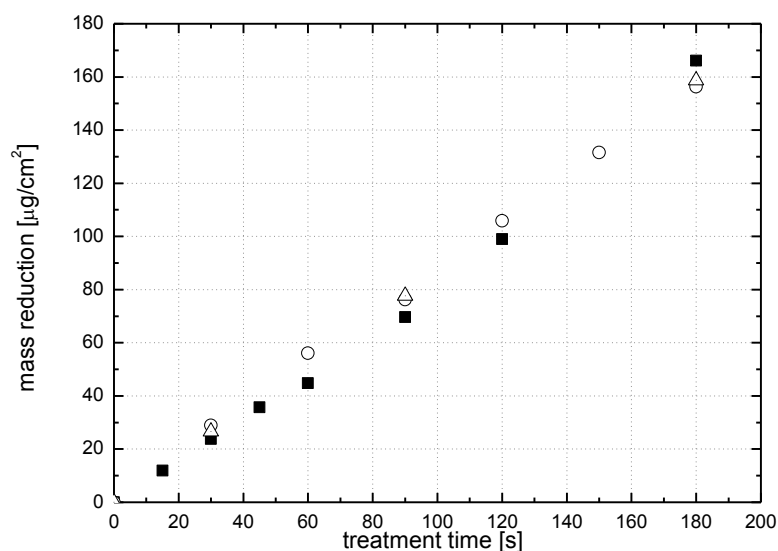
Na tomto místě je vhodné zmínit, že původ vzniklých nanostruktur, který byl pozorován i pro jiné polymery (např. [7,8]), je stále nejasný. Jedním z možných vysvětlení je, že každý pozorovaný útvar odpovídá dopadu jednoho streameru, který způsobí lokální zahřátí polymeru. Nicméně, vezmeme-li v úvahu počet streamerů dopadajících na $1 \mu\text{m}^2$ povrchu PEEK fólie za jednu sekundu (cca 1×10^{-3}), je vidět, že počet streamerů je o několik řádů nižší než počet vytvořených nanostruktur a tudíž toto vysvětlení není pravděpodobné. Druhým možným jevem je různá rychlost odleptávání různých oblastí PEEK fólie. Tento efekt byl dříve popsán při studiu efektu plazmatu na semikrystalické polymery. [29]

4.2.3 Určení leptací rychlosti

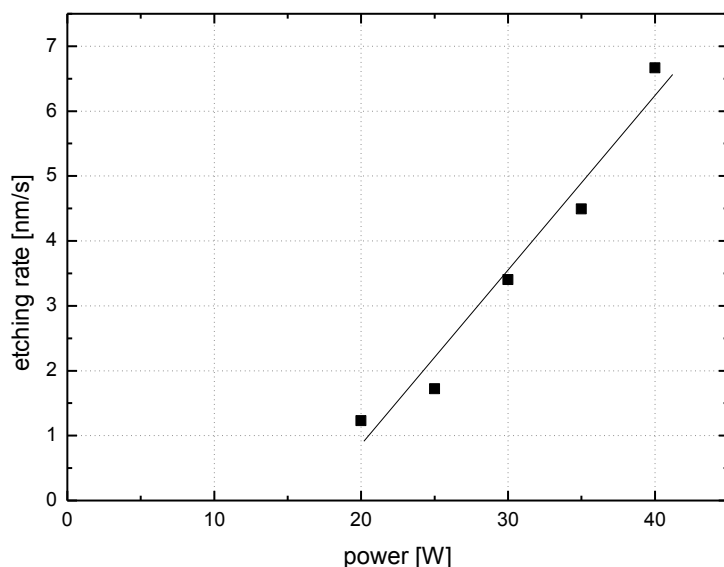
Abychom získali detailnější představu o tom, co se s polymerem během opracování děje, proužek polymerní fólie (cca 10 cm^2) jsme zvážili před a po vystavení plazmatu na vahách Mettler Toledo XS205. Vážení jsme prováděli vždy třikrát a počítáme s průměrnou hodnotou z těchto vážení. Na základě provedených experimentů bylo zjištěno, že úbytek hmotnosti normovaný na jednotku plochy

PEEK fólie roste lineárně s časem a je velmi dobře reprodukovatelný (viz. graf 11). Vezmeme-li v úvahu výrobcem uváděnou hustotu PEEK fólie (1.29 g/cm^3) a známou plochu fólie, je možné z naměřených dat určit i leptací rychlost. Na základě provedených výpočtů efektivní leptací rychlost vychází (6.6 ± 1.0) nm/s.

V druhém kroku jsme proměřili leptací rychlost v závislosti na DBD výkonu. Pro potlačení vlivu plochy vzorku na výsledná měření jsme tyto experimenty provedli na jednom vzorku: pro různé výkony jsme tentýž vzorek opracovávali 30 sekund a následně ho zvážili. Jak je vidět v grafu 12, kde jsou uvedeny naměřené hodnoty, leptací rychlost roste takřka lineárně s DBD výkonem.



Graf 11 - Závislost úbytku hmotnosti vzorku na počtu skenů, DBD výkon 40 W, různé symboly odpovídají různým experimentům

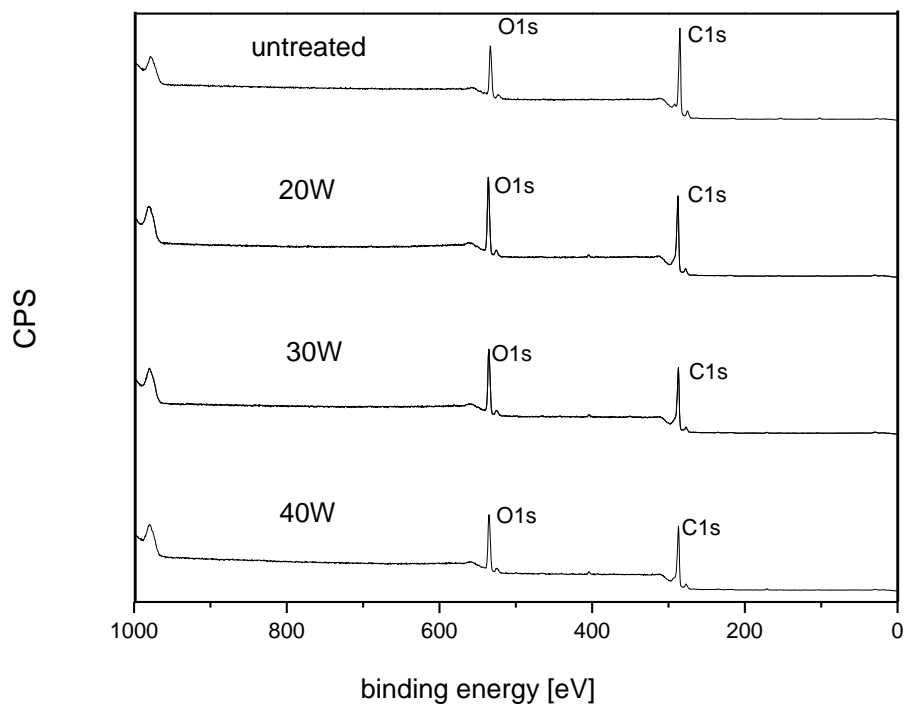


Graf 12 - Závislost leptací rychlosti na DBD výkonu

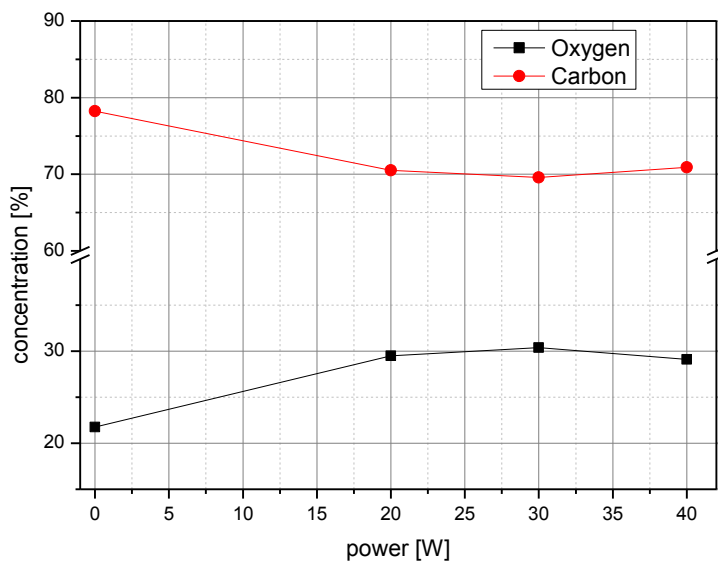
4.2.4. Chemické složení povrchu PEEK fólie

Další studovanou vlastností PEEK fólie je její povrchové složení. To bylo určeno pomocí XPS jak na neopracované fólii, tak i na fóliích vystavených působení DBD plazmatu. Přehledová XPS spektra jsou znázorněna v grafu 13 včetně vyznačení detekovaných píků. Jak je vidět povrch neopracované PEEK fólie se skládá pouze z uhlíku (78 %) a kyslíku (22 %)¹. Zastoupení kyslíku je poněkud nižší a zastoupení kyslíku vyšší než by odpovídalo chemické struktuře PEEK. Tato odchylka může být způsobena částečnou oxidací PEEK fólie, popřípadě přítomností nečistot. Jak je vidět na grafu 13 a na grafu 14, působení plazmatu vede k dramatické změně prvkového složení povrchu PEEK fólie. Bylo zjištěno, že atomární koncentrace kyslíku vzrostla na 30%, zatímco povrchová koncentrace uhlíku klesla na 70%. Žádná závislost na DBD výkonu nebyla pozorována.

¹ Vodík, který je také přítomný v PEEK není XPS detekovatelný

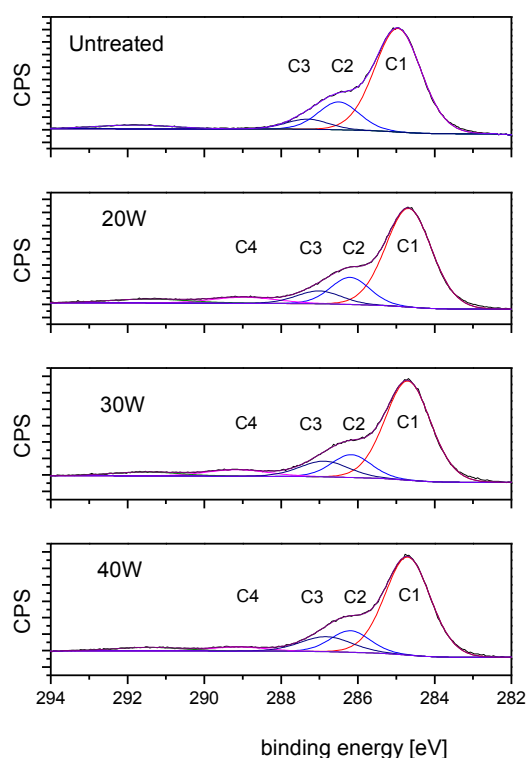


Graf 13 – XPS spektra neopracované PEEK fólie a spektra po opracování pro různé výkony



Graf 14 – Prvkové složení určené pomocí XPS před a po opracování PEEK fólie v závislosti na DBD výkonu, doba opracování 10 sekund

Detailnější analýzu chemické struktury povrchu PEEK fólie umožnila XPS spektra vysokého rozlišení C1s a O1s píků. Tyto píky pro neopracovanou PEEK fólii a PEEK fólie vystavené DBD plazmatu o různých výkonech po dobu 10 sekund, které byly fitovány pomocí softwaru CasaXPS, jsou vyneseny v grafech 15 (C1s) a 16 (O1s).

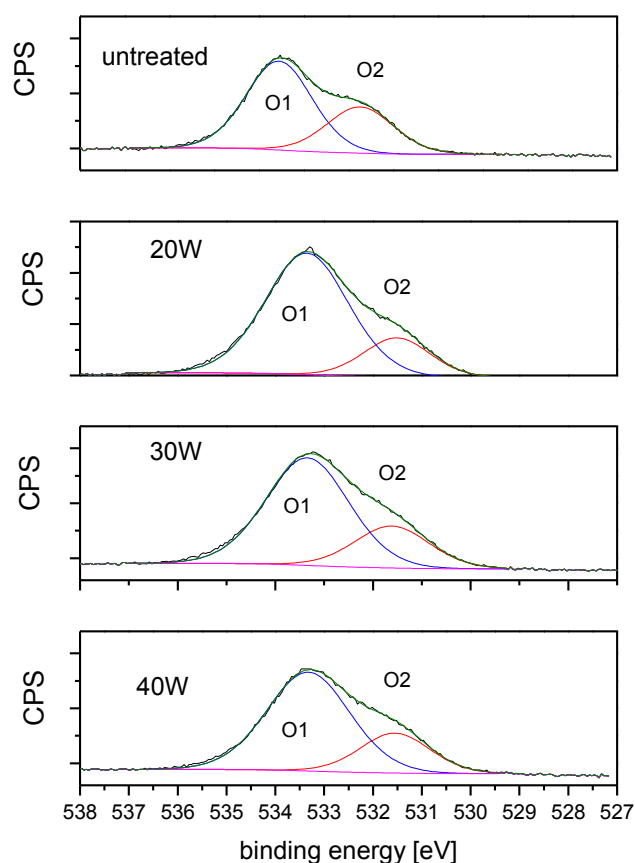


Graf 15 - Spektra získaná z měření pomocí XPS ve vysokém rozlišení, pro vzorky připravené opracováním za různých výkonů - pík náležící C1s

	Neopracováno	20 W	30 W	40 W
C-C/C-H	76	69	69	70
C-O-C	18	16	14	14
C=O	6	9	11	12
O-C=O	0	6	6	4

Tabulka 2 - Zastoupení jednotlivých funkčních skupin v C1s XPS píku

Pro neopracovanou fólii byly v XPS spektrech C1s píku pozorovány pouze funkční skupiny odpovídající uhlíku vázaném v aromatickém ringu (pík C1, vazebná energie 284.7 eV), C-O-C (pík C2, vazebná energie 286.3) a C=O (pík C3, vazebná energie 287.1 eV). Vypočtené plochy těchto píků jsou 76%, 18% a 6%, což koresponduje s publikovanými hodnotami [6][30]. Po aplikaci plazmatu byl pozorován pokles píku C1, který byl doprovázen nárůstem píku C3 a vznikem nového píku C4, který odpovídá vazbám O-C=O (vazebná energie 289.2 eV). Tyto výsledky, které jsou uvedeny v tabulce 2, jsou ve velmi dobré shodě s dříve publikovanými daty [6] i ve shodě s pozorovaným nárůstem polární složky povrchové energie.

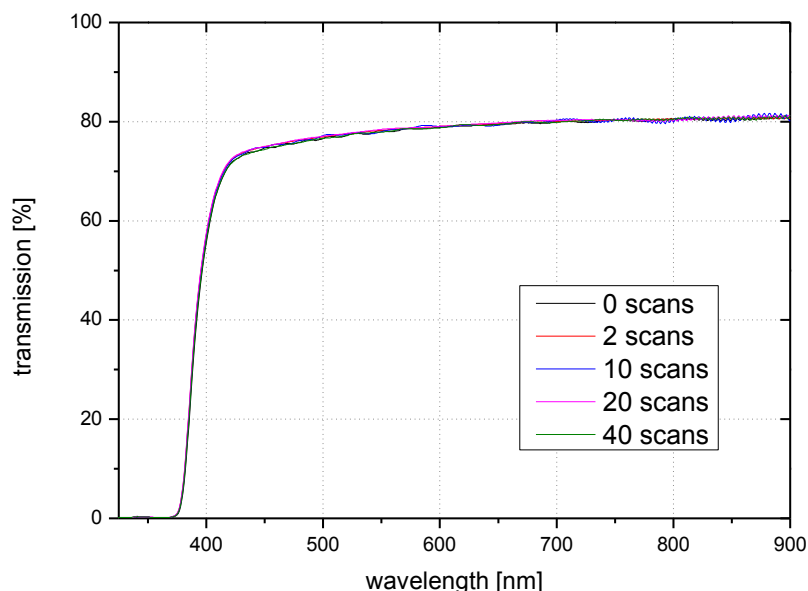


Graf 16 - Spektra získaná z měření pomocí XPS ve vysokém rozlišení, pro vzorky připravené opracováním za různých výkonů - pík náležící O1s

Graf 16 znázorňuje pík O1s, je složením píků odpovídajících dvěma vazbám kyslíku a to C-O o vazebné energii zhruba 534 eV (O1) a C=O s vazebnou energií zhruba 532 eV (O2). Po opracování se složení píků mění, přibývá C-O vazeb na úkor vazeb C=O. Percentuální zastoupení C-O vazeb v píku v závislosti na výkonu opracování se zvýšilo z 65% na více než 74%.

4.2.5. Optické vlastnosti vzorků

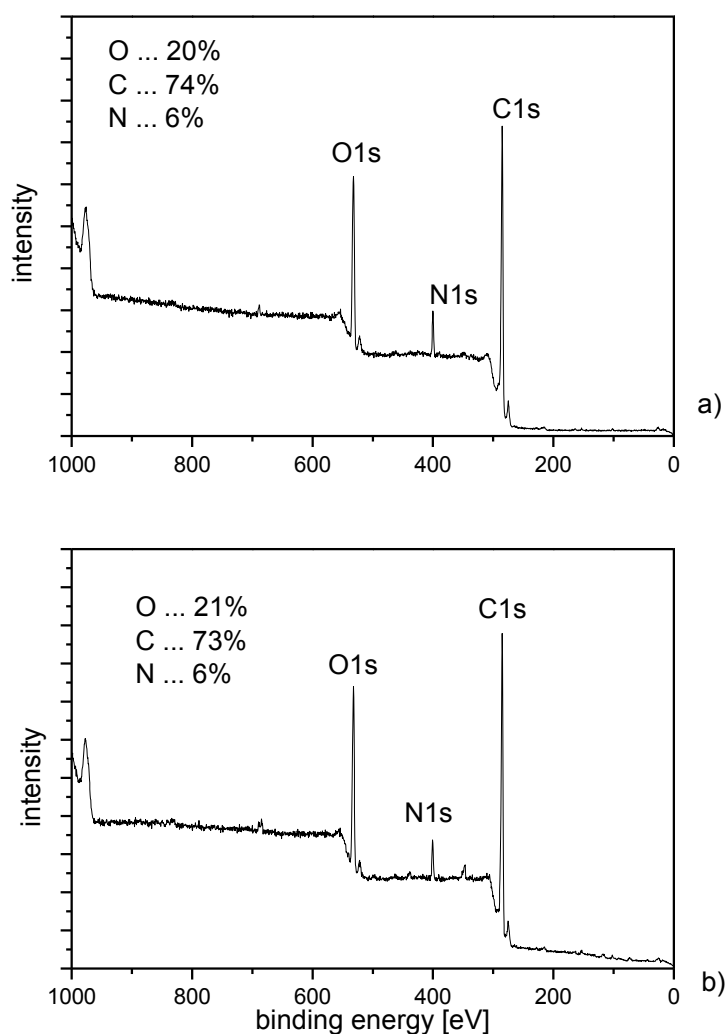
Další studovanou vlastností PEEK fólie je její optická průhlednost, která silně závisí na složení polymeru. Pro provedení experimentů jsme připravili vzorky, které byly vystaveny plazmatu po dobu 2, 10, 20, a 40 sekund při stejném výkonu 40W. Naměřené hodnoty transmitance jsou spolu s transmitancí neopracované PEEK fólie uvedeny v grafu 17. Z tohoto grafu je patrné, že pro různé doby opracování se optické vlastnosti polymerní fólie nemění. Tento výsledek je možné považovat za nepřímý důkaz toho, že se nemění ani objemové vlastnosti PEEK fólie, a tedy DBD plazma modifikuje pouze její povrch.



Graf 17 - Optická propustnost vzorků připravených za výkonu 30W pro různé počty skenů, viz legenda v grafu

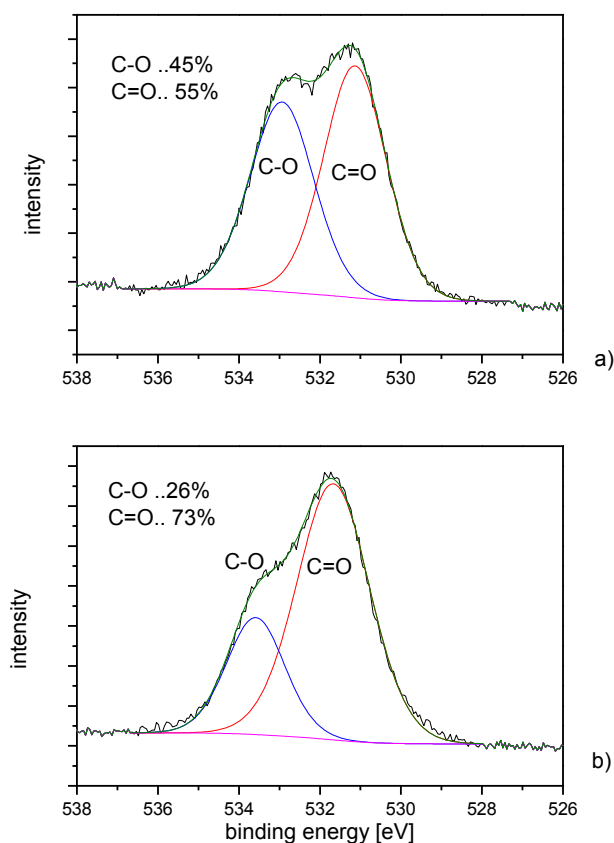
4. 2. 6. Měření kovalentního navázání proteinů

Posledním krokem analýzy vlastností PEEK fólie před a po jejím vystavení plazmatu, bylo určení schopnosti PEEK kovalentně vázat biomolekuly. Při těchto experimentech jsme připravili vzorky neopracovaného PEEKu a PEEKu opracovaného po dobu 10 sekund DBD plazmatem při výkonu 40W. Provedli jsme měření kovalentního navázání proteinů, jak je popsáno v kapitole 3.3.5. Doba navazování proteinů na vzorky byla deset dní. Výsledky měření XPS po omytí PEEK fólií SDS jsou vyneseny v grafu 18.



Graf 18 – Přehledová XPS spektra PEEK fólie po inkubaci BSA a omytí pomocí SDS. a) neopracovaná PEEK fólie b) PEEK fólie vystavená po dobu 10 sekund DBD plazmatu (40W).

Jak je vidět, v obou případech se objevuje nově ve spektru dusík, který dokazuje úspěšné navázání biomolekul. Jeho povrchová koncentrace je srovnatelná pro PEEK modifikovaný plazmatem i pro neopracovaný PEEK a pohybuje kolem 6 %. Tato hodnota odpovídá vytvoření monovrstvy proteinu na povrchu polymeru, což naznačuje, že BSA byl v obou případech kovalentně navázán na PEEK. Nicméně, XPS spektra vysokého rozlišení O1s píku ukázala jasný rozdíl mezi BSA navázaným na neopracovaný PEEK a PEEK aktivovaný DBD plazmatem. Jak je vidět na grafu 19, C=O složka O1s píku je výrazně vyšší v případě BSA navázaného na aktivovanou PEEK fólii, než je tomu v případě neopracovaného PEEK. Vyšší zastoupení C=O složky naznačuje vyšší přítomnost proteinu na povrchu, jelikož kyslík je v proteinu vázán převážně v amidových vazbách.



Graf 19 – XPS spektra vysokého rozlišení O1s píku PEEK fólie po inkubaci BSA a omytí pomocí SDS. a) neopracovaná PEEK fólie b) PEEK fólie vystavená po dobu 10 sekund DBD plazmatu (40W).

Nicméně na tomto místě je nutné zdůraznit, že dosažené výsledky nejsou plně průkazné a rozdíl mezi nepracovanou PEEK fólií a fólií aktivovanou DBD plazmatem je velmi malý. Toto je možné vysvětlit skutečností, že v provedených experimentech byla použita velmi dlouhá inkubační doba i relativně vysoká koncentrace BSA v roztoku, což pravděpodobně umožnilo kovalentní navázání BSA i na neaktivovaný PEEK. Z tohoto důvodu a pro prokázání vhodnosti DBD plazmatu pro aktivaci PEEK by bylo vhodné tyto experimenty zopakovat s kratší inkubační dobou, či nižší koncentrací BSA v roztoku.

Závěr

V této práci byl studován vliv nerovnovážného atmosférického plazmatu generovaného ve vzduchu pomocí DBD na poly(ether ether keton). Prvním cílem bylo seznámení se s generací plazmatu za atmosférického tlaku a metodami používanými pro analýzu povrchů polymerních materiálů. Seznámení proběhlo teoreticky, pro generaci plazmatu viz kapitoly 2.1, 3.1, 3.2, metody využívané pro analýzu povrchů polymerních materiálů jsou popsány v kapitole 3.3.

Pro bližší seznámení se s DBD zdrojem jsme naměřili jeho voltampérovou charakteristiku. Na základě provedených měření jsme prokázali, že plazma se skládá z jednotlivých mikrovýbojů. Dále jsme ověřili přesnost kalibrace potenciometru, který měří výkon dodávaný do výboje, výpočtem z Lissajousových obrazců. DBD plazma jsme studovali i pomocí optické emisní spektroskopie. Naměřili jsme emisní spektra a odhadli vibrační teplotu pro různé výkony. Zdá se, že vibrační teplota se nemění s výkonem. Další informace, která nás zajímala, byla teplota substrátu. Tu jsme změřili pomocí termokamery a infračerveného pyrometru, kterým jsme měřili i při různých dodávaných výkonech. Ukázalo se, že i pro nejvyšší používaný výkon při době opracování do 100 sekund teplota nedosáhne ani poloviny teploty skelného přechodu PEEKu.

Dalším úkolem bylo modifikovat vybraný typ polymerního materiálu za různých podmínek. Zvolili jsme poly(ether ether keton) a opracovávali jsme ho plazmatem. Měnili jsme dobu opracování a výkon.

Následně jsme prováděli analýzu modifikovaných povrchů. Určili jsme smáčivost a povrchovou energii polymerní fólie. Po opracování smáčivost prudce roste, což je způsobeno zejména růstem polární složky povrchové energie. Tento výsledek je možné vysvětlit změnou chemického složení povrchu PEEK fólie vystavené DBD plazmatu. Na základě XPS analýzy bylo zjištěno, že DBD plazma vede k oxidaci PEEK fólie a vzniku polárních funkčních skupin obsahujících kyslík. Topografie povrchu PEEK fólie byla určena pomocí AFM před opracováním i po různě dlouhých opracováních. Z naměřených AFM skenů je dobře vidět tvořící se nanostruktury na povrchu, jejichž velikost se zvětšuje s prodlužující se dobou opracování. Tomu odpovídá pro delší časy opracování vyšší RMS drsnost měřených

vzorků. Další měření vedlo k vypočtení leptací rychlosti polymeru plazmatem, rychlost je v průběhu opracování konstantní a její hodnota je (6.6 ± 1.0) nm/s.

Na základě měření optických vlastností PEEK fólií se domníváme, že DBD plazma neovlivňuje objemové vlastnosti studovaného polymeru.

Na závěr jsme se pokusili prokázat možnost využití DBD plazmatu pro aktivaci PEEK fólií pro kovalentní immobilizaci biomolekul, konkrétně proteinu BSA. Provedené testy bohužel nejsou plně průkazné. Z tohoto důvodu by bylo vhodné provést další experimenty s jinou inkubační dobou, či jinou koncentrací BSA ve studovaném roztoku.

Seznam použité literatury

- [1] M. THOMAS, K. L. MITTAL. Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Polymers - Relevance to Adhesion. *John Wiley & Sons*, 2013, New Jersey, ISBN 1118747518
- [2] F. do NASCIMENTO, S. PARADA, S. MOSHKALEV, M. MACHIDA. Plasma treatment of poly(dimethylsiloxane) surfaces using a compact atmospheric pressure dielectric barrier discharge device for adhesion improvement. *Japanese journal of applied physics*. 55(2), 2016, ISSN 5502-1602
- [3] N.-Y. CUI, N. M. D. BROWN. Modification of the surface properties of a polypropylene (PP) film using an air dielectric barrier discharge plasma. *Applied Surface Science*. 189(1–2), 2002, ISSN 0169-4332, 31-38
- [4] K.G. KOSTOV, A.L.R. dos SANTOS, R.Y. HONDA, P.A.P. NASCENTE, M.E. KAYAMA, M.A. ALGATTI, R.P. MOTA. Treatment of PET and PU polymers by atmospheric pressure plasma generated in dielectric barrier discharge in air. *Surface and Coatings Technology*. 204(18–19), 2010, ISSN 0257-8972, 3064-3068
- [5] C.-S. REN, K. WANG, Q.-Y. NIE, D.-Z. WANG, S.-H. GUO. Surface modification of PE film by DBD plasma in air. *Applied Surface Science*, 255(5-2), 2008, ISSN 0169-4332, 3421-3425
- [6] D. J. UPADHYAY, N.-Y. CUI, C.A. ANDERSON, N.M.D. BROWN. Surface recovery and degradation of air dielectric barrier discharge processed poly(methyl methacrylate) and poly(ether ether ketone) films. *Polymer degradation and stability*. 87(1), 2005, ISSN 0141-3910, 33-41
- [7] A. KUZMINOVA, A. SHELEMIN, O. KYLIÁN, A. CHOUKOUROV, H. VALENTOVÁ, I. KRAKOVSKÝ, J. NEDBAL, D. SLAVÍNSKÁ, H. BIEDERMAN. Study of the effect of atmospheric pressure air dielectric barrier discharge on nylon 6,6 foils. *Polymer degradation and stability*. 110, 2014, ISSN 0141-3910, 378-388

- [8] A. KUZMINOVA, M. VANDROVCOVÁ, A. SHELEMIN, O. KYLIÁN, A. CHOUKOUROV, J. HANUŠ, L. BAČÁKOVÁ, D. SLAVÍNSKÁ, H. BIEDEREMAN. Treatment of poly(ethylene terephthalate) foils by atmospheric pressure air dielectric barrier discharge and its influence on cell growth. *Applied Surface Science*. 357(A), 2015, ISSN 0169-4332, 689-695
- [9] C. TENDERO, C. TIXIER, P. TRISTANT, J. DESMAISON, P. LEPRINCE. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 61(1), 2006, ISSN 0584-8547, 2-30
- [10] R. A. WOLF. Atmospheric Pressure Plasma for Surface Modification. *John Wiley & Sons*, 2012, New Jersey
- [11] A. FRIDMAN. Plasma Chemistry. *Cambridge University Press*, 2008, Cambridge, ISBN 1139471732
- [12] M. A. LINDON, E. SCIME. CO₂ Dissociation using the Versatile Atmospheric Dielectric Barrier Discharge Experiment (VADER). *Frontiers in physics*. 2(55), 2014, ISSN 0730-9244, 1-13
- [13] V. MARTIŠOVITŠ. Základy fyziky plazmy. *Univerzita Komenského*, Bratislava, 2006, ISBN 80-223-1983-X, 76-96
- [14] P. BRUGGEMAN, R. BRANDENBURG. Atmospheric pressure discharge filaments and microplasmas: physics, chemistry and diagnostics. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 46(46), 2013, ISSN 0022-3727
- [15] M. R. ABDULLAH., A. GOHARIAN, M. R. A. KADIR, M.U. WAHIT. Biomechanical and bioactivity concepts of polyetheretherketone composites for use in orthopedic implants - A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 103(11), 2015, 3689-3702
- [16] S. NAJEEB, M. S. ZAFAR, Z. KHURSHID, F. SIDDIQUI. Applications of polyetheretherketone (PEEK) in oral implantology and prosthodontics. *Journal of Prosthodontic Research*. 60 (1), 2016, ISSN 1883-1958, 12 -19

- [17] M. ZHAO, H. LI, X. LIU, J. WEI, J. JI, S. YANG, Z. HU, S. WEI. Response of Human Osteoblast to n-HA/PEEK-Quantitative Proteomic Study of Bio-effects of Nano-Hydroxyapatite Composite. *Scientific Reports*. 6, 22832, 2016
- [18] A. DUPUIS, T. H. HO, A. FAHS, A. LAFABRIER, G. LOUARN, J. BACHAROUCHE, A. AIROUDJ, E. ARAGON, J.-F. CHAILAN. Improving adhesion of powder coating on PEEK composite: Influence of atmospheric plasma parameters. *Applied Surface Science*. 357(A), 2015, ISSN 0169-4332, 1196-1204
- [19] K. FRICKE, S. REUTER, D. SCHRÖDER, V. SCHULZ von der GATHEN, K.-D. WELTMANN, T. von WOEDTKE. Investigation of Surface Etching of Poly(Ether Ether Ketone) by Atmospheric-Pressure Plasmas. *IEEE transactions on plasma science*. 40 (11), 2012, ISSN 0093-3813, 2900-2911
- [20] H.-E. WAGNER, R. BRANDENBURG, K. V. KOZLOV, A. SONNENFELD, P. MICHEL, J. F. BEHNKE. The barrier discharge: basic properties and applications to surface treatment. *Vacuum*. 71(3), 2003, ISSN 0042-207X, 417-436
- [21] C. O. LAUX, T. G. SPENCE, C. H. KRUGER, R. N. ZARE. Optical diagnostics of atmospheric pressure air plasmas. *Plasma Sources Science and Technology*. 12(2), 2003, 125
- [22] T. BELMONTE, C. NOËL, T. GRIES, J. MARTIN, G. HENRION. Theoretical background of optical emission spectroscopy for analysis of atmospheric pressure plasmas. *Plasma Sources Science and Technology*. 6, 2015
- [23] F. KRČMA. Optical emission spectroscopy of plasma. Dostupné z: <http://www.fch.vut.cz/~krcma/vyuka/plazma/3-oes-en.pdf>, cit. 10. 5. 2016
- [24] S. B. BAYRAM, M.V. FREMAT. Vibrational spectra of N₂: An advanced undergraduate laboratory in atomic and molecular spectroscopy. *American Journal of Physics*. 80 (8), 2012, ISSN 0002-9505, 664-669

- [25] B. AKHAVAN, K. JARVIS, P. MAJEWSKI. Evolution of Hydrophobicity in Plasma Polymerised 1,7-Octadiene Films. *Plasma Processes and Polymers*. 10 (11), 2013, 1018-1029
- [26] R. ONO. Optical diagnostics of reactive species in atmospheric-pressure nonthermal plasma. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 49(8), 2016
- [27] M. SIMEK, S. DEBENEDICTIS, G. DILECCE, V. BABICKÝ, M. CLUPEK, P. SUNKÁ. Time and space resolved analysis of N₂ (C₃Π_u) vibrational distributions in pulsed positive corona discharge. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 35(16), 2002
- [28] P. PATEL, A. A. STEC, T. R. HULL, M. NAFFAKH, A. M. DIEZ-PASCUAL, G. ELLIS, N. SAFRONAVA, R. E. LYON. Flammability properties of PEEK and carbon nanotube composites. *Polymer Degradation and Stability*. 97(12), 2012, ISSN 0141-3910, 2492-2502
- [29] T. JACOBS, N. De GEYTER, R. MORENT, S. Van VLIERBERGHE, P. DUBRUEL, C. LEYS. Plasma modification of PET foils with different crystallinity. *Surface and Coatings Technology*. 208(2), 2011, ISSN 0257-8972, S511-S515
- [30] P. LOUETTE, F. BODINO, J.-J. PIREAUX. Poly(ether ether ketone) (PEEK) XPS Reference Core Level and Energy Loss Spectra. *Surface Science Spectra*. 12(1), 2005, 149-153

Seznam grafů

Graf 1 - Závislost napětí a proudu na čase, amplituda napětí 10,2 kV

Graf 2 - $Q-U$ oscilografická reprezentace - Lissajousovy obrazce, závislost přeneseného náboje na napětí pro různé nastavené hodnoty příkonu podle předchozí kalibrace

Graf 3 - Naměřené ro-vibrační emisní spektrum - N_2 pásy, pro různé výkony

Graf 4 - Naměřené emisní spektrum DBD plazmatu ve vzduchu za atmosférického tlaku při výkonu 40W. U každého píku je vyznačen i příslušný přechod – první číslo udává vibrační hladinu vyššího elektronického stavu molekuly, druhé pak vibrační hladinu nižšího elektronického stavu.

Graf 5 - Závislost $\ln(I_{\nu',\nu''}/(\lambda^4 A(\nu'\nu'')))$ na vibrační energii, pro jednotlivé výkony lineární regrese a směrnice odpovídající vibrační teplotě

Graf 6 - Teplota vzorku v závislosti na čase pro různé příkony viz legenda v grafu

Graf 7 - Závislost kontaktního úhlu vody na PEEK folii na době opracování pro různé výkony, viz legenda v grafu

Graf 8 - Závislost celkové povrchové energie a její polární a nepolární složky na době opracování pro různé výkony, viz legenda v grafu

Graf 9 – Typické výškové profily PEEK fólie určené pomocí AFM

Graf 10 - Závislost RMS drsnosti na době opracování PEEK fólie, DBD výkon 40W

Graf 11 - Závislost úbytku hmotnosti vzorku na počtu skenů, DBD výkon 40 W, různé symboly odpovídají různým experimentům

Graf 12 - Závislost leptací rychlosti na DBD výkonu

Graf 13 – XPS spektra neopracované PEEK fólie a spektra po opracování pro různé výkony

Graf 14 – Prvkové složení určené pomocí XPS před a po opracování PEEK fólie v závislosti na DBD výkonu, doba opracování 10 sekund

Graf 15 - Spektra získaná z měření pomocí XPS ve vysokém rozlišení, pro vzorky připravené opracováním za různých výkonů - pík náležící C1s

Graf 16 - Spektra získaná z měření pomocí XPS ve vysokém rozlišení, pro vzorky připravené opracováním za různých výkonů - pík náležící O1s

Graf 17 - Optická propustnost vzorků připravených za výkonu 30W pro různé počty skenů, viz legenda v grafu

Graf 18 – Přehledová XPS spektra PEEK fólie po inkubaci BSA a omytí pomocí SDS. a) neopracovaná PEEK fólie b) PEEK fólie vystavená po dobu 10 sekund DBD plazmatu (40W).

Graf 19 – XPS spektra vysokého rozlišení O1S píku PEEK fólie po inkubaci BSA a omytí pomocí SDS. a) neopracovaná PEEK fólie b) PEEK fólie vystavená po dobu 10 sekund DBD plazmatu (40W).

Seznam tabulek

Tabulka 1 – Srovnání hodnot výkonu podle kalibrační stupnice P_k , experimentálně zjištěný výkon P_e a jejich relativní odchylka

Tabulka 2 - Zastoupení jednotlivých funkčních skupin v C1s XPS píku

Seznam obrázků

Obr. 1a - Schéma používané DBD aparatury

Obr. 1b - Fotografie používané DBD aparatury

Obr. 2 - Struktura poly(ether ether ketonu)

Obr. 3 - Fotografie používaného DBD zařízení

Obr. 4 - Fotografie používaného AFM

Obr. 5 - Schéma mikroskopu atomárních sil

Obr. 6 - Snímek z termokamery zobrazující DBD zdroj v chodu po 60 sekundách

Obr. 7- Neopracovaný PEEK, obrázek z AFM s rozlišením $10 \times 10 \mu\text{m}^2$

Obr. 8 – AFM skeny PEEK fólie vystavené DBD plazmatu a) 2 sekundy, b) 10 sekund, c) 20 sekund a d) 40 sekund. DBD výkon 40 W

Seznam použitých zkratk

DBD (dielectric barrier discharge) - dielektrický bariérový výboj

LTE (local thermodynamic equilibrium) - lokální termodynamická rovnováha

PEEK - poly(ether ether keton)

RMS (root mean square) - kvadratický průměr

AFM (atomic force microscopy) - mikroskopie atomárních sil

UV-Vis (ultraviolet-visible) - spektrální rozsah od ultrafialového záření po viditelné světlo

XPS (X-ray photoelectron spectroscopy) - rentgenová fotoemisní spektroskopie

BSA - bovine serum albumin

PBS - phosphate buffered saline

SDS - sodiumdodecylsulfát