

**Příprava a
charakterizace
struktur typu včelí
plástev**

Teoretický úvod – Struktura typu včelí pláštěv

Struktura typu včelí pláštěv (z ang. HCP, *honeycomb like pattern*) našla široké uplatnění v mnoha odvětvích od architektury a strojírenství, až po chemické inženýrství a biomedicínu. Hlavním úkolem těchto oblastí, je porozumět jedinečným vlastnostem HCP struktur, které závisí na jejich struktuře, rozměrech a použitých materiálech [1]. Mezi tyto jedinečné vlastnosti patří jejich velký specifický povrch, vysoká mechanická pevnost, dobrá strukturní stabilita a nízká hustota [2].

Během posledních několika desetiletí byla vyvinuta řada technik top-down a bottom-up, včetně fotolitografie, měkké litografie, fázové separace blokových kopolymerů a emulze k vytvoření uspořádané HCP konstrukce s kontrolovatelnými rozměry pórů v rozsahu jednotek nano- až mikrometrů [2,3]. Tyto metody však obvykle zahrnují několik komplikovaných a nákladných kroků a v konečné fázi mohou poškodit HCP vzor [1].

V roce 1994 Widawski a kol. [4] jako první uvedl, že použitím takzvané Breath Figure (BF) metody, mohou být připraveny vysoce uspořádané filmy se vzorem včelích pláštěv. Tato průkopnická práce popisuje přípravu polystyrenových (PS) HCP filmů odlitím roztoku blokového kopolymeru PS-polyparafenylen ve vlhkém prostředí. Ve srovnání s jinými metodami je BF všestrannou, jednoduchou, levnou metodou, avšak možnou nevýhodou metody BF může být požadavek velmi vlhkých podmínek, které mohou omezit průmyslovou výrobu [1,5]. Stenzel a kol. [6,7] rozšířili BF metodu na všechny druhy stavebních jednotek, jako jsou hvězdovité polymery, blokové kopolymery, amfifilní polyionové komplexy, organické anorganické hybridy, nanočástice kovu stabilizované ligandy (NPs) a polyoxometaláty zapouzdřené v povrchově aktivních látkách. Nejen, že studovali mechanismy tvorby filmů, ale také používali tyto filmy k různým aplikacím, jako jsou separační membrány, superhydrofobní materiály, fotonické nebo optoelektronické přístroje a substráty pro kultivaci buněk.

Nedávno Bui a kol. [3,8] popsali dvoustupňovou metodu, nazvanou metoda "vylepšené fázové separace" (IPS), která byla úspěšně použita při výrobě HCP filmů bez přítomnosti vlhkého prostředí a bez použití povrchově aktivních látek. Morfologie vzniklé struktury může být kontrolovatelná poměrem a výběrem rozpouštědla (chloroform, dichlormethan, disulfid uhlíku)/nerozpouštědla (methanol, ethanol), koncentrací polymeru [8], a proto je nezbytné nalézt optimální dvojici rozpouštědla a nerozpouštědla, stejně jako optimální výrobní parametry [9]. Metoda IPS byla vyvinuta pro biokompatibilní a biologicky

odbouratelnou kyselinu polymléčnou (PLLA), ale byla také testována na několik dalších komerčně dostupných polymerech, jako PMMA nebo PS [3,10,11].

Bylo prokázáno, že uspořádaná HCP struktura z PLLA poskytuje vhodný substrát pro dobrou adhezi a proliferaci NIH3T3 buněk pro využití v budoucích biomedicínských aplikacích. Poskytuje buňkám trojrozměrné prostředí, ve kterém se mohou chovat stejně, jako se chovají *in vivo* [12,13].

- [1] Zhang, Q.; Yang, X.; Li, P.; Huang, G.; et al. Bioinspired engineering of honeycomb structure – Using nature to inspire human innovation. *Progress in Materials Science* **2015**, *74*, 332–400.
- [2] Heng, L.; Wang, B.; Li, M.; Zhang, Y.; Jiang, L. Advances in Fabrication Materials of Honeycomb Structure Films by the Breath-Figure Method. *Materials* **2013**, *6*, 460–482.
- [3] Bui, V. T.; Ko, S. H.; Choi, H. S. Large-Scale Fabrication of Commercially Available, Nonpolar Linear Polymer Film with a Highly Ordered Honeycomb Pattern. *ACS Applied Materials Interfaces* **2015**, *7*, 10541–10547.
- [4] Widawski, G.; Rawiso, M.; Francois, B. Advances in Fabrication. Self-organized honeycomb morphology of star-polymer polystyrene films. *Nature* **1994**, *369*, 387–389.
- [5] Yabu, H. Fabrication of honeycomb films by the breath figure technique and their applications. *Science and Technology of Advanced Materials* **2018**, *19*(1), 802–822.
- [6] Stenzel-Rosenbaum, M.; Davis, T.; Fane, A.; Chen, V. Porous polymer films and honeycomb structures made by the self-organization of well-defined macromolecular structures created by living radical polymerization techniques. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 3428–3432.
- [7] Hernandez-Guerrero, M.; Davis, T.; Barner-Kowollik, C.; Stenzel-Rosenbaum, M. Polystyrene comb polymers built on cellulose or poly(styrene-co-2-hydroxyethylmethacrylate) backbones as substrates for the preparation of structured honeycomb films. *Eur. Polym. J.* **2005**, *41*, 2264–2277.
- [8] Bui, V. T.; Ko, S. H.; Choi, H. S. A surfactant-free bio-compatible film with a highly ordered honeycomb pattern fabricated via an improved phase separation method. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 3817–3819.
- [9] Escalé, P.; Rubatat, L.; Billon, L.; Save, M. Recent advances in honeycomb-structured porous polymer films prepared via breath figures. *Eur. Polym. J.* **2012**, *48*, 1001–1025.

- [10] Bui, V. T.; Lee, H. S.; Choi, J. H.; Choi, H. S. Highly ordered and robust honeycomb films with tunable pore sizes fabricated via UV crosslinking after applying improved phase separation. *Polymer* **2015**, *74*, 46–53.
- [11] Male, U.; Shin, B. K.; Huh, D. S. Coupling of breath figure method with interfacial polymerization: Bottom-surface functionalized honeycomb-patterned porous films. *Polymer* **2017**, *119*, 206–211.
- [12] Bui, V. T.; Thuy, L. T.; Nguyen, V. T.; Dao, V. D.; et al. Ordered honeycomb biocompatible polymer films via a one-step solution-immersion phase separation used as a scaffold for cell cultures. *J. Chem. Eng.* **2017**, *320*, 561–569.
- [13] Huang, Ch.; Kamra, T.; Chaudhary, S.; Shen, X. Breath Figure Patterns Made Easy. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6* (8), 5971–5976.

Zadání práce

Úkoly:

- a) Připravte strukturu typu včelí plástev o různém množství biopolymeru PLLA v roztoku (0,5 - 2 g) na plazmatem aktivovaném substrátu FEP při různé době modifikace (40 - 240 s) a výkonu 8 W.
- b) Změřte pomocí goniometrie smáčivost všech připravených vzorků a výsledky diskutujte v závislosti na množství použitého biopolymeru a době plazmatické modifikace.
- c) Připravené vzorky analyzujte na laserovém konfokálním mikroskopu a výslednou povrchovou morfologii diskutujte v závislosti na množství použitého biopolymeru a době plazmatické modifikace.

Postup:

1. V digestoři si připravte do třech Erlenmayerových baněk roztok chloroformu a methanolu v objemovém poměru 85/15 (50 ml roztoku: 42,5 ml chloroformu, 7,5 ml methanolu) a nechte 1 min míchat na magnetických míchačkách.
2. Navažte si 0,5; 1 a 2 g kyseliny poly-L-mléčné (PLLA), přidejte do roztoků rozpouštědel a nechte míchat při laboratorní teplotě, dokud se PLLA nerozpustí (min. 1 hod).

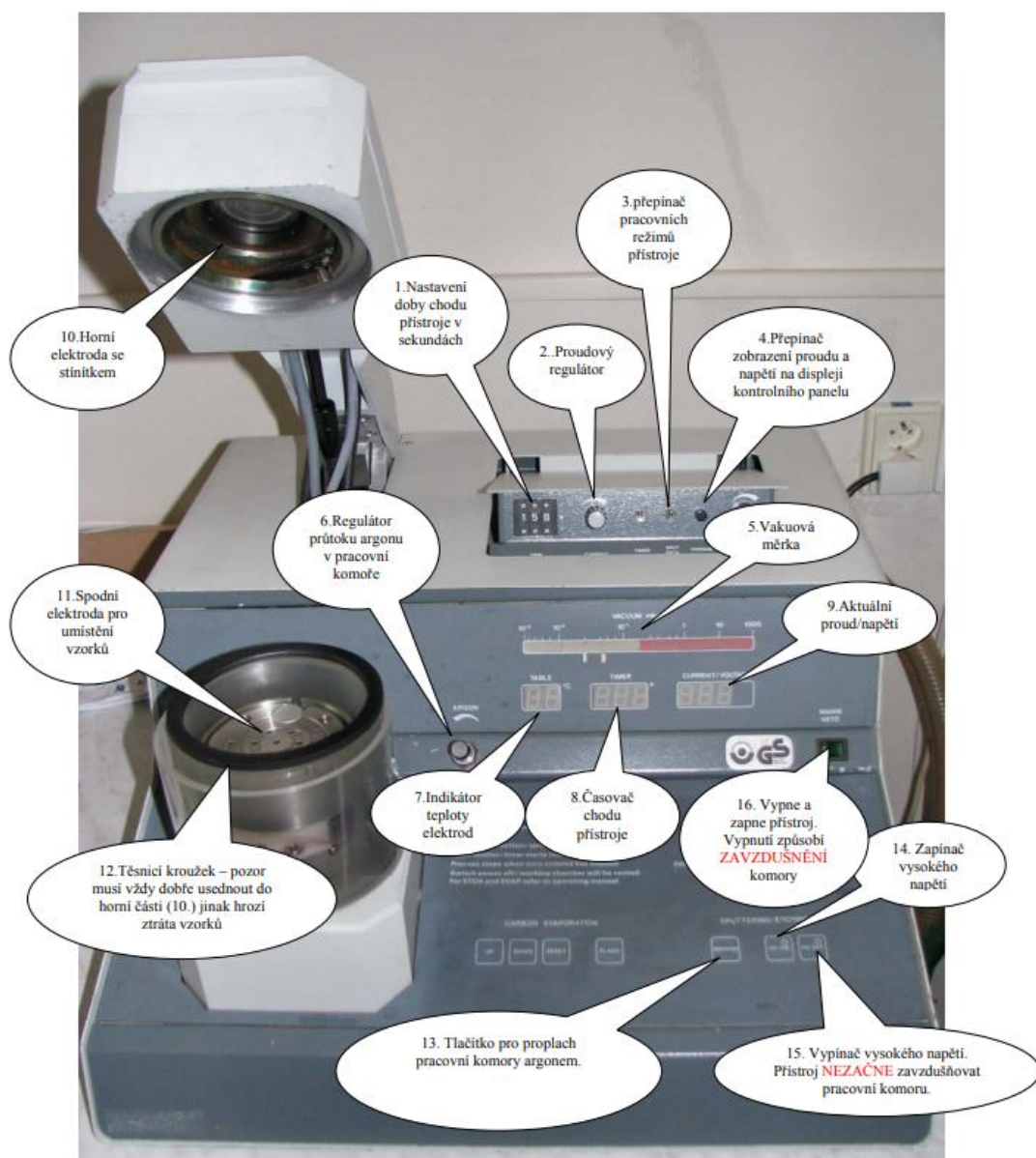
3. Pomocí raznice si připravte 25 kruhových vzorků fluorovaného ethylen-propylen (FEP) o průměru 2 cm, vzorky nastříhnete vpravo nahoře dle obrázku.



4. Seznamte se s přístrojem pro naprašování. Prostudujte přiložený manuál k obsluze přístroje.
5. Plazmaticky modifikujte 2 vzorky pro jednotlivé doby modifikace 40, 120 a 240 s a výkonu 8 W (jeden použijete na goniometrii, jeden na konfokální mikroskop).
6. Plazmaticky modifikujte 6 vzorků pro jednotlivé doby modifikace 40, 120 a 240 s a následně je pomocí pinzety ponořte na 10 s do roztoku polymeru (0,5; 1 a 2 g) a nechte na vzduchu odpařit rozpouštědla (jeden použijete na goniometrii, jeden na konfokální mikroskop).
7. Smáčivost připravených vzorků změřte za týden pomocí goniometru a softwaru SEE System.
8. Morfologii připravených vzorků analyzujte na laserovém konfokálním mikroskopu Olympus LEXT OLS3100 (dohled a instruktáž školitelem práce).
9. Výsledky diskutujte a zpracujte do protokolu.

Obsluha naprašovacího zařízení Sputter Coater SCD 050

1. Před depozicí vždy pusťte Ar a chladicí vodu do systému!
2. Vzorky (max. po 3) modifikujte plasmatem na přístroji Balzers SCD 050 firmy BAL-TEC v režimu leptání. Vzorky modifikujte pouze z jedné strany.
3. Vzorky umístěte na spodní elektrodu 11 (vzdálenost od anody je 5,5 cm), poté zapnete tlačítko 16 a současně lehce přitlačíte rukou díl 10 a 12 (viz. schéma přístroje). Na časovači nastavte dobu modifikace. Pracovní komoru nechte vyčerpát na tlak 2 Pa.
4. Poté stiskem tlačítka 14 spustíte výboj. Použitím ventilu 6 nastavte tlak v průběhu depozice na hodnotu cca 8 Pa. Nastavte požadovaný proud 11 mA (vypočtete ze známé hodnoty výkonu) a zavřete clonu. Po ukončení modifikace zavzdušněte komoru, vyjměte vzorek a popř. celý proces opakujte. Vypněte vodu a argon!



Obsluha goniometru a softwaru See System

1. Měření provádějte na goniometru firmy Advex Instruments. Spusťte program See System.
2. V záložce "camera" vyplňte název vzorku. Na vzorek naneste automatickou pipetou (Brand typu Tranferpette® electronic) kapku kapaliny objemu 8 μ l. Pomocí šroubů zaostřete na kapku a poté ji zmáčknutím capture vyfoťte.
3. Vzorek pootočte a postup 6x zopakujte. Měření nikdy neopakujte na místě, kde již byla kapka kápnuta.
4. Po získání 6 obrázků vyhodnoťte obrázky. V pravém sloupci je uveden seznam všech vyfocených kapek, kliknutím na příslušný název obrázků zobrazíte. Vyhodnocení probíhá trojbodovou metodou, ke které je nutno označit 3 body na kapce – body dotyku

kapky a polymeru a poté nejvyšší místo na kapce. Po označení těchto 3 míst program automaticky vypočítá hodnotu kontaktního úhlu.

5. Všechna data je nutné ukládat – po vyhodnocení první kapky je nutno zmáčknout "new liquid" (dojde k vytvoření tabulky). Uložení vyhodnoceného obrázku a hodnoty kontaktního úhlu se provádí stiskem "add" a "save".
6. Po vyhodnocení v záložce calculation, v horní části tabulky vyberte z nabídky měřící kapalinu, kterou jste použili. POZOR – při změně kapaliny popř. vzorku (jiná modifikace, jiný polymer) je nutné vytvořit novou tabulku (stisk new liquid).

Výsledky práce

Protokol

Ze získaných hodnot kontaktních úhlů vypočtete průměrné hodnoty a odchylky. Tyto hodnoty uveďte graficky do protokolu. Ze snímků z laserového konfokálního mikroskopu vyberte do protokolu 3 snímky pro porovnání různého množství PLLA v roztoku a 3 snímky s různou dobou modifikace. Protokol bude dále obsahovat: jméno studenta (studentů), datum, název práce, úvod, experimentální část (stručně), výsledky (graf + snímky) + diskuze (diskutujte změny kontaktních úhlů a morfologii vrstev v závislosti na době modifikace a obsahu PLLA), závěr. Protokol doneste vedoucímu práce nebo zašlete na email bara.frydlova@vscht.cz . Odevzdání protokolu je nezbytnou podmínkou pro klasifikaci práce.