

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТОМСКИЙ
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(ФГАОУ ВО НИ ТПУ)

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИШХБМТ

_____ М.Е. Трусова
« __ » _____ 2023 г.

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Методические указания к выполнению лабораторных работ по дисциплине «Материалы и покрытия биомедицинского назначения»

Составители: **Р.А. Сурменев, Ю.Р. Мухортова, И.Ю. Грубова,
М.А. Сурменова**

Издательство
Томского политехнического университета
2023

УДК 539.4.001.1(075.8)

ББК 30.121я73

ИЗ74

Лабораторный практикум: методические указания к выполнению лабораторных работ по дисциплине «Материалы и покрытия биомедицинского назначения» / Сост. Р.А. Сурменев, Ю.Р. Мухортова, И.Ю. Грубова, М.А. Сурменева; Томский политехнический университет. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2023. – 49 с.

Рецензенты:

Кандидат физико-математических наук, заместитель начальника отдела разработки ускорительно-накопительного комплекса Управления по созданию исследовательской установки «СИЛА», НИЦ «Курчатовский институт»

Амиров Абдулкарим Абдулнатипович

Доктор технических наук, заведующий лабораторией
Нанобиоинженерии Института физики прочности и материаловедения
Сибирского отделения Российской академии наук (ИФПМ СО РАН)

Ложкомоев Александр Сергеевич

Содержание

Лабораторная работа 1. Исследование адгезионной прочности биосовместимых кальцийфосфатных покрытий.....	4
Лабораторная работа 2. Исследование смачиваемости поверхности и расчет поверхностной энергии	18
Лабораторная работа 3. Получение полиэлектролитных микрокапсул	37

Лабораторная работа 1. Исследование адгезионной прочности биосовместимых кальцийфосфатных покрытий

1. Общие сведения

Биосовместимое покрытие наносят на поверхность материала (субстрата или подложки) с целью предупреждения коррозии, придания поверхности биоактивных, антибактериальных или других функциональных свойств.

Наиболее распространенными методами формирования тонких покрытий являются: плазменное напыление, метод лазерной абляции, золь-гель технология, электрофорез и высокочастотное магнетронное распыление (осаждение).

Важным этапом при исследовании покрытий является определение адгезии. Адгезия (от лат. *adhaesio* – сцепление, прилипание, притяжение) – связь между разнородными конденсированными телами при их молекулярном взаимодействии. Другими словами, это характеристика, показывающая силу связи между двумя объектами или материалами на границе их раздела (межфазовой границе).

Данные о силе связи в системе «покрытие – подложка» позволяют оптимизировать технологические процессы получения покрытий по таким параметрам, как режимы их осаждения, способ подготовки поверхности материала-основы, а также произвести оценку качества полученных покрытий.

Необходимо четко разграничивать понятия термодинамической работы адгезии – равновесной величины, не зависящей от условий испытания, нанесения адгезива и т.п., и определяемой только термодина-

мическими характеристиками поверхностей (в том числе их структурой) и адгезионной прочностью.

Адгезионная прочность как прочность любого тела является кинетической величиной, определяемой условиями разрушения, дефектами структуры материала и многими другими факторами, также зависит от условий отрыва или расслоения. Теоретическая прочность твердых тел, как правило, не всегда строго соответствует экспериментальной. Так, теоретическая прочность определяется молекулярными силами, а на экспериментальную оказывают влияние различные факторы, такие как дефекты структуры, наличие слабых граничных слоев. Кроме того, деформация твердых тел – обычно неравновесный процесс, связанный с рассеянием энергии. Несоответствие термодинамически вычисленной работы адгезии и адгезионной прочности – результат неравновесного процесса разрушения адгезионного соединения. Между величинами адгезии и адгезионной прочности существует соответствие только в том случае, когда последняя будет определяться в термодинамически равновесных условиях разрушения бездефектной структуры, т.е. при деформации с бесконечно малой скоростью.

Таким образом, адгезионная прочность определяет силу, которую нужно приложить к покрытию определенной площади, чтобы нарушить связь в системе «покрытие – подложка». Исходя из этого определения можно установить количественную величину адгезии в абсолютных единицах измерения (Н/м^2 или МПа), расчет которых производится согласно выражению (1.1):

$$A = \frac{F_{отр}}{S}, \quad (1.1)$$

где A – адгезионная прочность покрытия, МПа; $F_{отр}$ – сила отрыва покрытия от подложки, Н; S – площадь покрытия, подверженного нагрузке, м².

Существует три группы методов оценки адгезионной прочности.

К первой группе относятся методы отрыва пленок: нормальный отрыв, центрифугирование, вибрация, инерционный метод, отслаивание, расщепление, сдвиг, кручение, срез. Использование методов данной группы позволяет получить количественные характеристики адгезионной прочности.

Вторая группа методов позволяет получить относительные характеристики адгезионного взаимодействия. К этой группе относятся методы, основанные на определении твердости пленки методом царапания или склерометрии (scratch test) и наноиндентирования (nanoindentation). К косвенным методам относится также метод определения адгезионной прочности пленок многократным изгибом.

Третья группа методов позволяет определить фактическую адгезию пленок без их разрушения. Измерение адгезии основано на взаимосвязи между адгезией и физическими свойствами адгезионных соединений: электросопротивление, емкость и др.

Измерение адгезионной прочности методом отрыва требует заметно большего времени, затраченного на испытания в сравнении с другими методами. Однако этот метод более точно определяет адгезию, так как результат ее измерения выражается физической величиной – усилием отрыва покрытия от основания (в кг/см² или МПа). Метод применяется для измерения адгезии однослойных и многослойных покрытий. В случае

многослойных покрытий этот метод является незаменимым, так как позволяет измерять адгезию каждого слоя покрытия в отдельности.

Различают следующие виды разрушения:

- 1) адгезионный (А) – отрыв покрытия от основания (подложки);
- 2) когезионный (К) – разрушение внутри слоя покрытия;
- 3) межслойный (М) – разрушение между слоями покрытия;
- 4) смешанный (А, К, М) – сочетание перечисленных выше разрушений.

2. Экспериментальная часть

2.1. Цель работы

Оценить характер разрушения биосовместимого кальцийфосфатного покрытия и адгезию (силу сцепления) покрытия с подложкой при испытании на отрыв.

2.2. Задачи работы

- Изучить теоретические основы определения адгезии покрытий методом на отрыв.
- Изучить экспериментальную установку для исследования адгезионной прочности покрытия методом на отрыв.
- Изучить методику статистической обработки полученных экспериментальных данных.
- Выполнить работу, обработать результаты исследований и подготовить отчет.

2.3. Описание установки

Приборы и принадлежности: адгезиометр PosiTest АТ, оптический микроскоп, пять образцов с осажденным методом высокочастотного магнетронного осаждения биосовместимым кальцийфосфатным

покрытием (или аналог), адгезив для приклеивания пуансона (для отрыва) к поверхности покрытия (эпоксидная смола или аналог).

Измерения адгезионной прочности покрытия проводятся с использованием комплекта PosiTest AT с автоматическим расчетом и регистрацией данных. Внешний вид прибора приведен на рисунке 1.1.



Рисунок 1.1 – Измеритель адгезии PosiTest AT

PosiTest AT измеряет силу, необходимую для снятия тестового покрытия определенного диаметра с тестируемой поверхности, используя гидравлическое давление.

В состав комплекта для измерения адгезии входят: упоры, устанавливаемые на покрытие, гидравлическая система (гидравлический насос), электронный манометр и привод для физического отделения упора и покрытия от подложки.

Самоустанавливающиеся упоры и исполнительная система PosiTest AT позволяют равномерно распределить тяговое усилие по тестируемой поверхности и, соответственно, увеличить воспроизводимость результатов за счет устранения возможного влияния поперечных

сил, которые могут возникнуть при отрыве от искривленных и неровных поверхностей. Отрыв упора должен всегда производиться перпендикулярно плоскости исследуемого образца с покрытием.

Методика проведения испытаний на отрыв осуществляется в соответствии со стандартами ASTM D4541 и ISO 4624.

2.4. Порядок выполнения работы

2.4.1. Подготовка к испытаниям

1. Подготовить не менее пяти образцов для испытания (экспериментальные образцы выдаются преподавателем).

2. Очистить поверхность покрытия от возможных поверхностных загрязнений, которые могут негативно повлиять на результаты, обезжирить ацетоном (или другим способом по согласованию с преподавателем). Поверхность образцов должна быть сухой.

3. Обработать упоры шлифовальной бумагой класса 3М, очистить от загрязнений и обезжирить ацетоном (или другим средством по согласованию с преподавателем).

4. При выборе клея следует учитывать, что предел прочности шва клеевого соединения ($\sigma_{кс}$) при отрыве, определяемый по ГОСТ 114760, должен быть выше адгезионной и когезионной прочности исследуемого покрытия.

В случае использования двухкомпонентного клея необходимо:

- равномерно выдавить компоненты клея на заранее подготовленную бумагу или другую удобную поверхность;
- перемешать шпателем оба компонента до достижения однородности субстанции;
- убедиться в однородности субстанции после смешивания и отсутствии пузырьков воздуха.

5. Нанести шпателем тонкий слой клея до полного смачивания на поверхность упора.

6. Установить упоры строго перпендикулярно поверхности образца, избегая при этом кручения, качания или перемещения по поверхности. Излишки клея аккуратно удалить.

7. Поместить склеиваемые детали под нагрузку и оставить до полной вулканизации клея. В случае необходимости погрузить образцы в термостат и выдержать их при температуре 175 °С в течение 2–3 часов (см. инструкцию по использованию клея).

8. После успешной вулканизации с помощью канцелярского ножа (или иным способом) устранить излишки клея во избежание увеличения площади отрыва, что может повлиять на величину измеряемой адгезии.

2.4.2. Проведение испытаний

1. Испытание проводят при комнатной температуре (20±5) °С.
2. Убедитесь, что предохранительный клапан насоса открыт.
3. Подготовленное для испытания соединение закрепить в приспособлении для центрирования упора.
4. Прочно затянуть клапан давления насоса.
5. Нажатием кнопки 3 (рис. 1.2) выбрать используемый диаметр упора.
6. Нажатием кнопки 4 (рис. 1.2) выбрать размерность измерения.
7. Для начала измерения нажать кнопку 1 (рис. 1.2).
8. Испытание необходимо проводить, надавливая на гидравлический поршень до разрыва соединения упор – образец.
9. Открыть предохранительный кран насоса.

10. Зафиксировать давление, при котором произошло разрушение. Нажатием кнопки 2 (рис. 1.2) результат измерения будет автоматически занесен в память прибора.

11. Пометить упор и исследованный образец для последующего качественного анализа.

12. Провести пять параллельных испытаний для дальнейшего расчета статистической погрешности.

13. Провести качественный анализ на оптическом микроскопе, определить характер разрушения.

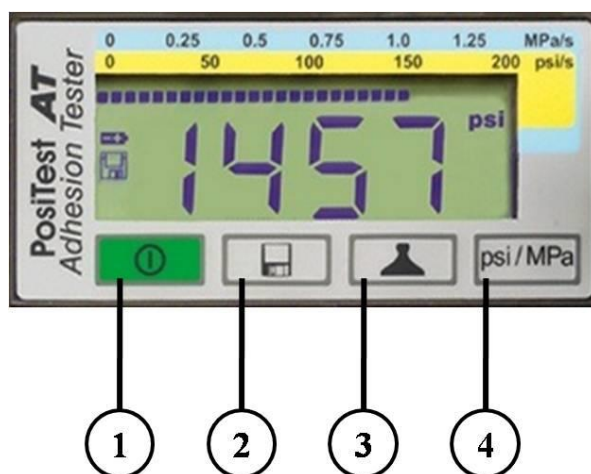


Рисунок 1.2 – Панель управления адгезиометра PosiTest AT

2.4.3. Оформление полученных экспериментальных результатов исследований

Долю адгезионного, когезионного и межслоевого отрыва при смешанном характере разрушения определяют в процентах от площади каждого экспериментального образца и рассчитывают как среднее арифметическое значение площадей пяти образцов, соответствующих каждому характеру разрушения.

Качественный анализ проводится с использованием оптического микроскопа, схема которого представлена на рисунке 1.3.

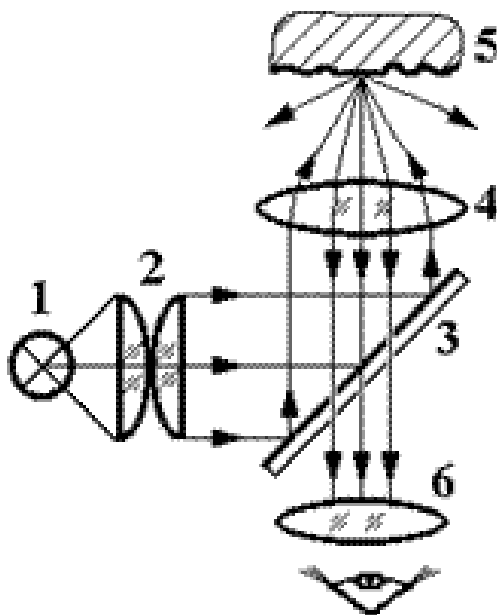


Рисунок 1.3 – Схема микроскопа на отражение: 1 – источник света; 2 – конденсор; 3 – полупрозрачное зеркало; 4 – объектив; 5 – объект; 6 – проекция объекта в глаз оператора

Свет от лампы 1 попадает в конденсор 2, формирующий яркий равномерный пучок, который отражается от полупрозрачного зеркала 3, проходит через объектив 4 и фокусируется на объекте 5. Полученное изображение поверхности (в отраженных лучах) увеличивается объективом, проходит через полупрозрачное зеркало и попадет в окуляр 6. Окуляр дополнительно увеличивает изображение и проецирует его в глаз. Увеличение микроскопа можно определить по формуле $M_m = M_{об} \cdot M_{ок}$, где $M_{об}$ и $M_{ок}$ – увеличение объектива и окуляра соответственно. Для получения изображения необходимо установить изучаемый образец на

предметный стол микроскопа исследуемой поверхностью в сторону объектива. Включить микроскоп тумблером на блоке питания. Посмотреть в окуляр микроскопа и, вращая рукоятку грубой настройки резкости, приблизить объектив к образцу до появления изображения. Получить резкое изображение с помощью корректировки положения рукоятки тонкой настройки. При изучении поверхности разрыва перемещать образец с помощью винтов предметного стола.

2.4.4. Обработка результатов и расчет погрешности измерений

1. По результатам испытаний вычислить среднее арифметическое значение предела адгезионной прочности покрытия ($\bar{\sigma}$) при отрыве по формуле (1.2):

$$\bar{\sigma} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sigma_i, \quad (1.2)$$

где n – количество измерений.

2. Среднее квадратичное отклонение (S), характеризующее рассеивание экспериментальных данных относительно среднего значения, вычисляют по формуле (1.3):

$$\bar{S}_{\bar{\sigma}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\sigma_i - \bar{\sigma})^2}{(n-1)}}, \quad (1.3)$$

где σ_i – результат i -го измерения; $\bar{\sigma}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений; n – количество измерений.

3. Абсолютное отклонение значения предела прочности покрытия при отрыве (ε) в паскалях вычисляют по формуле (1.4):

$$\varepsilon = SEM \cdot t_{\gamma}, \quad (1.4)$$

где t_{γ} – квантиль распределения Стьюдента с $(n-1)$ степенями свободы и уровнем значимости $\alpha/2$ (для двухсторонней проверки гипотезы); SEM – стандартная ошибка среднего, определяемая по формуле:

$$SEM = \bar{S}_{\bar{\sigma}} / \sqrt{n}, \quad (1.5)$$

Квантиль распределения Стьюдента определяют по СТ СЭВ 876-78 при доверительной вероятности (γ) 0,9 для числа определений n (Таблица 1.2, Приложение 1).

4. В зависимости от характера разрушения при испытаниях предел прочности покрытия записывается в следующем виде:

а) при адгезионном отрыве:

$$\sigma = \bar{\sigma} \pm \varepsilon, \quad (1.6)$$

б) при когезионном отрыве:

$$\sigma_{\text{кс}} > \bar{\sigma} \pm \varepsilon, \quad (1.7)$$

в) при смешанном отрыве (с указанием характера разрушения А, К, М – в процентах):

$$\sigma = \bar{\sigma} \pm \varepsilon. \quad (1.8)$$

Для определения доли адгезионного, когезионного и межслойного отрыва при смешанном разрушении необходимо выразить их в процентах от площади каждого образца. Это значение вычисляется как среднее арифметическое площадей пяти параллельных образцов, соответствующих каждому типу разрушения. Если доля адгезионного разрушения составляет менее 20 %, то следует повторить испытания.

5. Вычислить относительную погрешность измерения в процентах по формуле:

$$\delta = \frac{\varepsilon}{\bar{\sigma}} \cdot 100 \% \quad (1.9)$$

6. Относительная погрешность измерения не должна превышать 20 %. При невыполнении этого требования испытания необходимо повторить и провести обработку результатов заново.

7. При условии нормального распределения ряда полученных в ходе испытаний значений по адгезионной прочности покрытия к

подложке провести статистический анализ с помощью теста Стьюдента (одновыборочный t -тест).

8. Вычислить одновыборочный t -критерий, который используется для сравнения $\bar{\sigma}$ полученных данных с неким заданным значением (μ) (значение уточнить у лаборанта), по формуле (1.10):

$$t = \frac{\bar{\sigma} - \mu}{SEM}. \quad (1.10)$$

9. Если абсолютное значение статистики t -критерия ($|t|$) больше критического значения t_{γ} , то разница измеренного и заданного значения считается значительной. В противном случае разница значений не является статистически значимой.

10. Свести полученные результаты в таблицу 1.1 (Приложение 1).

11. Сделать выводы и заключение об адгезионной прочности покрытий на основании результатов экспериментальных исследований в сформированном отчете.

12. В отчет должна быть включена также следующая информация:

- Краткое описание общих условий проведения испытаний.
- Описание типа покрытия, подложки, клея и т.д.
- Описание параметров испытаний.
- Расчетные значений адгезионной прочности и статистическая обработка результатов измерений.

3. Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «адгезионная прочность покрытия».
2. В чем отличие между адгезионной и когезионной прочностью покрытия?
3. От чего зависит адгезия покрытия к подложке?

4. Какова природа межатомного взаимодействия на границе раздела покрытие – подложка? Типы химических связей.

5. Основные характеристики и свойства используемых материалов, от которых зависит адгезионная прочность покрытия к подложке.

6. Способы повышения адгезионной прочности покрытий.

7. Способы измерения адгезии.

8. Принцип измерения адгезии на отрыв. Виды разрушений. Плюсы и минусы данного метода.

9. В чем разница между методом склерометрии и методом на отрыв?

10. В чем суть склерометрического метода измерения адгезии?

4. Список литературы

1. Зимон А.Д. Адгезия пленок и покрытий / Зимон А.Д. – М. : Химия, 1977. – 352 с.

2. Руководство по эксплуатации. Адгезиометр PosiTest AT.

3. ГОСТ Р 52641–2006. Имплантаты для хирургии. Стандартный метод испытаний для проверки на сдвиг фосфатно-кальциевых и металлических покрытий.

4. ГОСТ 27890–88. Покрытия лакокрасочные защитные дезактивируемые. Метод определения адгезионной прочности нормальным отрывом.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица 1.1. – Протокол измерений и оформления результатов исследований

Номер образца	1	2	3	4	5
Материал подложки					
Материал покрытия					
Характер разрушения покрытия					
Доля адгезионного разрушения, %					
Доля когезионного разрушения, %					
Адгезионная/когезионная прочность, МПа					
Среднее арифметическое значение адгезионной прочности, МПа					
Среднее квадратичное отклонение, МПа					
Предел прочности, МПа					
Абсолютное отклонение, МПа					
Относительная погрешность измерения, %					

Таблица 1.2. – Квантиль распределения Стьюдента для разного количества измерений (от 2 до 6)

df=n-1	n	γ				
		0,9	0,95	0,98	0,99	0,999
1	2	6,31	12,70	31,82	63,7	636,62
2	3	2,92	4,30	6,97	9,92	31,60
3	4	2,35	3,18	4,54	5,84	12,92
4	5	2,13	2,78	3,75	4,60	8,61
5	6	2,01	2,57	3,37	4,03	6,87

Лабораторная работа 2. Исследование смачиваемости поверхности и расчет поверхностной энергии

1. Общие сведения

1.1. Смачиваемость и контактный угол

Смачивание, процесс взаимодействия воды с поверхностью, имеет решающее значение в повседневной жизни человека и во многих биологических и технологических системах.

Например, в медицине увеличение смачиваемости титановых имплантатов позволяет лучше прикрепиться к нему костным клеткам, обеспечивая интеграцию имплантата с костью. Для процессов окрашивания, печати, склеивание и диспергирования необходимо оптимизировать как поверхностное натяжение жидкости, так и свойства поверхности твердого тела, чтобы обеспечить надлежащее смачивание, сцепление жидкости. Поверхностная энергия также должна учитываться во многих процессах, требующих, например, теплопередачи или смазки.

Смачиваемость (смачивание) – поверхностное явление, возникающее на границе соприкосновения фаз, заключающееся во взаимодействии жидкости с поверхностью твердого тела или другой жидкости.

Смачиваемость проявляется в частичном или полном растекании жидкости по твердой поверхности, а также в пропитывании пористых тел или порошков.

Большинство методов определения характеристик смачивания можно разделить на две основные группы. В оптических методах измеряется форма капли, тогда как в большинстве других методов оценивается сила, с которой вода действует на твердое тело. Оптический метод (гониометрия), называемый методом лежачей или сидячей капли,

благодаря своей универсальности и простоте, вероятно, является наиболее широко используемым. К другим оптическим методам относится, например, метод наклонной пластины, в котором угол наклона поверхности образца с каплей постепенно увеличивают до тех пор, пока капля не начнет двигаться, и регистрируют этот так называемый угол скольжения. Каждый метод измерения имеет сильные и слабые стороны, и выбор наиболее подходящего метода осуществляется на основании характеристик поверхности исследуемого объекта.

Смачивание поверхности зависит от соотношения между силами сцепления молекул жидкости с молекулами смачиваемого тела (адгезия) и силами взаимного сцепления молекул внутри жидкости (когезия).

Когда жидкость контактирует с твердым телом, могут быть реализованы две возможности:

– сила притяжения между молекулами жидкости выше, чем сила взаимодействия между жидкостью и исследуемой поверхностью, что приводит к формированию капли на поверхности. В этом случае говорят, что жидкость не смачивает поверхность. Этот механизм взаимодействия жидкости с поверхностью соответствует гидрофобной поверхности.

– молекулы жидкости притягиваются друг к другу слабее, чем к молекулам исследуемой поверхности или, иначе, сила взаимодействия жидкости выше со смачиваемой поверхностью, чем между молекулами внутри жидкости. В результате жидкость стремится «прижаться» к поверхности, равномерно расплываясь по ней. В этом случае можно сделать заключение о том, что жидкость хорошо смачивает поверхность. Такой механизм взаимодействия жидкости с поверхностью соответствует гидрофильной поверхности.

Между жидкостью и твердой поверхностью существует граница раздела фаз. Угол на границе раздела, где встречаются жидкость, газ и твердое тело, является мерой того, насколько вероятно, что поверхность будет смачиваться водой. Низкие значения контактного угла демонстрируют склонность воды к прилипанию и растеканию по поверхности, тогда как высокие значения – к отталкиванию.

Таким образом, угол, который образуется между касательной, проведенной к поверхности фаз жидкость – газ и твердой поверхностью с вершиной, располагающейся в точке контакта трех фаз, называется контактным углом θ или краевым углом смачивания. Его величина определяет межмолекулярное (атомное, ионное) взаимодействие частиц поверхности твердых тел с жидкостями. Контактный угол измеряется всегда внутрь жидкой фазы (рис. 2.1).

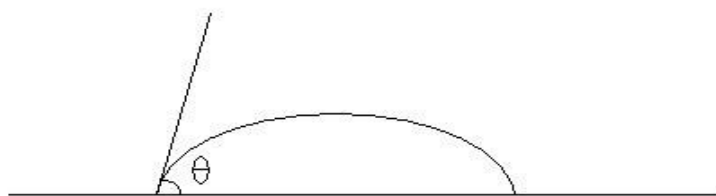


Рисунок 2.1 – Контактный угол смачивания

Контактный угол (косинус этого угла $\cos\theta$) является количественной мерой смачиваемости твердого тела жидкостью и рассчитывается по закону Юнга (2.1.):

$$\cos \theta = \frac{\sigma_{т/г} \cdot \sigma_{т/ж}}{\sigma_{ж/г}}, \quad (2.1)$$

где $\sigma_{m/2}$ – свободная поверхностная энергия твердого тела (мДж/м²);

$\sigma_{т/ж}$ – поверхностная энергия на границе твердого тела с жидкостью (мДж/м²);

$\sigma_{ж/г}$ – поверхностное натяжение жидкости (мДж/м²).

Считается, что если величина контактного угла меньше $\theta < 90^\circ$, то происходит смачивание жидкостью твердой поверхности, а сама поверхность называется лиофильной (если жидкость вода – гидрофильной). Если величина контактного угла больше $\theta \geq 90^\circ$, то твердая поверхность не смачивается жидкостью и является лиофобной (гидрофобной). При полном или абсолютном смачивании (растекании) контактный угол смачивания близок к нулю, поверхность при этом называют супергидрофильной. При полном или абсолютном несмачивании контактный угол стремится к 180° , но последнее значение почти не наблюдается в природе, однако известны случаи, когда значение контактного угла смачивания может максимально приближаться к этой величине, такая поверхность является супергидрофобной (URL: <https://www.kruss-scientific.com/en/know-how/glossary/contact-angle>).

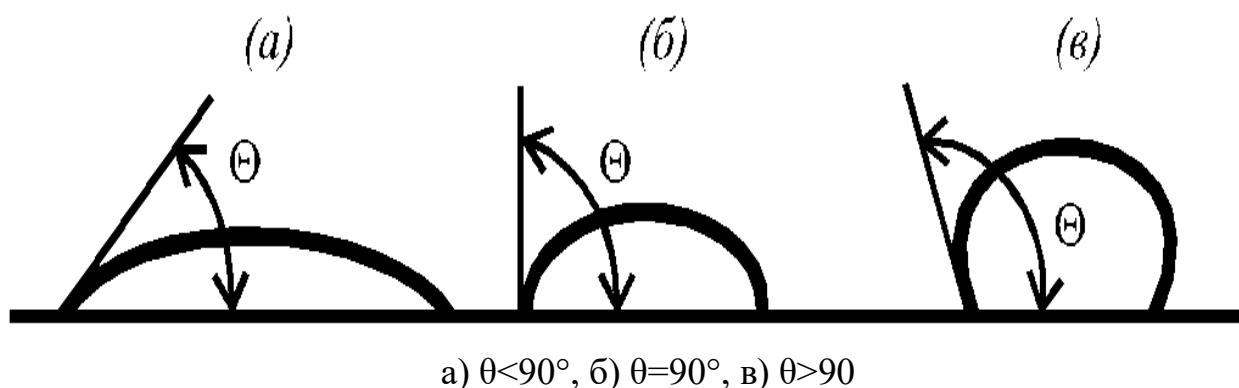


Рисунок 2.2 – Случаи неполного смачивания поверхности

На смачиваемость твердых тел жидкостями существенное влияние оказывают следующие факторы: химический и фазовый состав, состояние поверхно-

сти твердого тела, в частности шероховатость, наличие поверхностных дефектов и неоднородностей. Эффект шероховатости зависит от того, будет ли капля смачивать канавки на поверхности или между каплей и поверхностью останутся воздушные карманы. Так, некоторые материалы с очень шероховатой поверхностью могут иметь контактный угол с водой даже больше 150° из-за наличия воздушных карманов под каплей жидкости.

При проведении экспериментов важно также учитывать температуру и влажность окружающей среды, которые определяют скорость испарения капли жидкости с исследуемой поверхности.

1.2. Свободная энергии поверхности

Одной из главных термодинамических характеристик поверхности является ее свободная энергия (СЭП), представляющая собой избыточную энергию поверхности по сравнению с объемом. Источником СЭП являются силы межмолекулярного взаимодействия, некомпенсированные в поверхностном слое (вследствие разной энергии Ван-дер-Ваальсова взаимодействия молекул поверхностного слоя с молекулами смежной фазы и между собой), нарушение координации поверхностных атомов при формировании границы раздела фаз между несколькими поверхностями по сравнению с объемом вещества, возникающее по причине обрыва ковалентных связей. Обратным процессом является исчезновение поверхностей в результате «слияния» двух объемов вещества, который, как термодинамически выгодный процесс, сопровождается выделением тепла.

Понятия поверхности и, соответственно, поверхностной энергии характерны для веществ в жидком и твердом состояниях, где роль межатомных и/или межмолекулярных взаимодействий в объеме является

определяющей. Поскольку в результате появления поверхности общая энергия системы повышается, система будет стремиться к ее снижению. Для веществ в жидком состоянии такое снижение достигается за счет минимизации отношения поверхность/объем, т.е. жидкость будет стремиться приобрести форму сферы в отсутствие других действующих сил. Для твердого тела, структура которого задана сильными межатомными (межионными) связями, понижение поверхностной энергии, как правило, происходит за счет релаксации и реконструкции поверхности, т.е. ее перестройки и образования поверхностной структуры, отличной от структуры объема твердого тела. Однако такая перестройка поверхности не приводит к полному исчезновению поверхностной энергии, а только частично снижает энергию системы.

Теоретически перестройку поверхности твердого тела можно рассматривать как способ уменьшить отношение поверхность/объем. Для описания такого стремления вводят понятие «сила поверхностного натяжения». Коэффициент пропорциональности, характеризующий силу (F), действующую на единицу длины поверхности (L), называется поверхностным натяжением (σ) (2.2):

$$\sigma = \frac{F}{L}. \quad (2.2)$$

С энергетической точки зрения поверхностное натяжение – это коэффициент пропорциональности, связывающий изменение поверхностной энергии (G) с изменением площади поверхности (S) (2.3):

$$\sigma = \frac{dG}{dS}. \quad (2.3)$$

Таким образом, поверхностное натяжение σ однозначно характеризует поверхностную энергию и силу поверхностного натяжения и

стремление системы к снижению как поверхностной энергии, так и отношения объем/поверхность.

Способом снижения поверхностной энергии вещества является его взаимодействие с другим веществом. По сути, существование поверхностной энергии твердого тела является причиной таких явлений, как адсорбция, адгезия, смачиваемость, катализ и др.

СЭП твердых материалов не может быть измерена непосредственно, она рассчитывается на основе контактного угла смачивания поверхности разными жидкостями. Основная задача при анализе свободной энергии поверхности – правильно подобрать тестовые жидкости и метод расчета, чтобы получить достоверный результат.

Как правило, для неполярных поверхностей используют неполярные жидкости и теории, которые не придают особого значения межмолекулярным взаимодействиям. Для полярных поверхностей, наоборот, применяются полярные жидкости и теории, основанные на взаимодействии активных центров (молекул) поверхности с газовой или жидкой фазой.

Для определения СЭП образцов наиболее часто используемым является метод Оуэнса – Вендта – Рабеля – Кьельбле (ОВРК), являющийся косвенным методом определения СЭП и основанный на определении смачиваемости поверхности материала жидкостями с разным поверхностным натяжением. Для проведения расчетов по этому методу необходимо знать не только значения контактных углов смачивания (θ) образцов сразу несколькими жидкостями, но и дисперсионную и полярную составляющие поверхностного натяжения каждой из них. Дисперсионная составляющая включает силы Ван-дер-Ваальса и другие неспецифические взаимодействия, полярная составляющая – сильные

взаимодействия и водородные связи. Соотношение между этими составляющими поверхностной энергии выражается формулой Оуэнса – Вендта (2.4):

$$\sigma_{m/ж} = \sigma_{m/г} + \sigma_{ж/г} - 2(\sigma_{m/г}^d \cdot \sigma_{ж/г}^d)^{0,5} - 2(\sigma_{m/г}^p \cdot \sigma_{ж/г}^p)^{0,5}, \quad (2.4)$$

где $\sigma_{m/ж}$ – поверхностная энергия на границе твердого тела с жидкостью (мДж/м²);

$\sigma_{m/г}$ – свободная поверхностная энергия твердого тела (мДж/м²);

$\sigma_{ж/г}$ – поверхностное натяжение жидкости (мДж/м²);

$\sigma_{m/г}^d$ и $\sigma_{m/г}^p$ – полярная и дисперсионная составляющие СЭП твердого тела, соответственно (мДж/м²);

$\sigma_{ж/г}^d$ и $\sigma_{ж/г}^p$ – полярная и дисперсионная составляющие поверхностного натяжения жидкости, соответственно (мДж/м²).

При подстановке выражения (2.4) в уравнение Дюпре – Юнга можно получить выражение (2.5):

$$\sigma_{ж/г} \cdot (\cos \theta + 1) = 2 \left[(\sigma_{т/г}^d \cdot \sigma_{ж/г}^d)^{0,5} + (\sigma_{т/г}^p \cdot \sigma_{ж/г}^p)^{0,5} \right] \quad (2.5)$$

которое, в свою очередь, можно преобразовать к виду (2.6.):

$$\frac{\sigma_{ж/г} \cdot (\cos \theta + 1)}{2 \cdot \sqrt{\sigma_{ж/г}^d}} = \frac{\sqrt{\sigma_{т/г}^p} \cdot \sqrt{\sigma_{ж/г}^p}}{\sqrt{\sigma_{ж/г}^d}} + \sqrt{\sigma_{т/г}^d} \quad (2.6)$$

и далее привести к виду (2.7.):

$$\frac{\sigma_{ж/г} \cdot (\cos \theta + 1)}{2 \cdot \sqrt{\sigma_{ж/г}^d}} = f \left(\frac{\sqrt{\sigma_{ж/г}^p}}{\sqrt{\sigma_{ж/г}^d}} \right). \quad (2.7)$$

Теперь можно построить графическую зависимость, приведенную на (рис. 2.3).

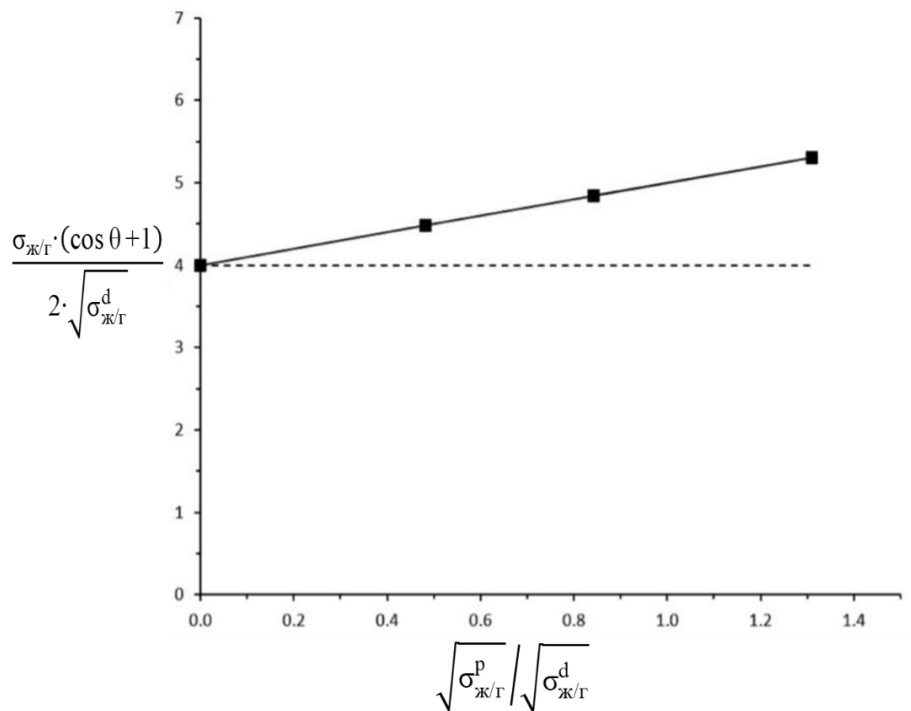


Рисунок 2.3 – Определение поверхностной энергии по методу ОВРК

Полученная зависимость выражается прямой, тангенс угла наклона которой равен величине отношения $\sqrt{\sigma_{\Gamma/\Gamma}^d}$, а отрезок, отсекаемый прямой

на оси ординат, равен $\sqrt{\sigma_{\Gamma/\Gamma}^p}$.

И далее, полная СЭП $\sigma_{\Gamma/\Gamma}$ твердого тела находится как сумма найденных компонент $\sigma_{\Gamma/\Gamma}^d$ и $\sigma_{\Gamma/\Gamma}^p$:

$$\sigma_{\Gamma/\Gamma} = \frac{\sum_{i=1}^n \left((\sigma_{\Gamma/\Gamma}^d)^2 + (\sigma_{\Gamma/\Gamma}^p)^2 \right)_i}{n} . \quad (2.8)$$

Поскольку в данной лабораторной работе свободная поверхностная энергия рассматривается как сравнительная характеристика для исследуемой серии образцов, то к ряду смачивающих жидкостей предъявляются стандартные требования: нелетучесть, разные и известные значения поверхностного натяжения и его дисперсионной и

полярной составляющих. Например, в качестве жидкостей для выполнения лабораторной работы могут быть выбраны вода и нелетучие спирты: этиленгликоль, глицерин.

Знание дисперсионной и полярной составляющих для используемой жидкости (например, используя значения из базы данных программы DSA4) позволяет определить составляющие поверхностной энергии для исследуемой твердой поверхности.

Расчеты можно выполнять с использованием программ Excel, Origin или других известных аналогов.

2. Экспериментальная часть

2.1. Цель работы

Научиться определять контактный угол смачивания и рассчитывать поверхностную энергию для разных материалов.

2.2. Задачи работы

- Получить новые знания по терминологии и основным понятиям процесса смачивания.
- Ознакомиться с работой установки и принципом измерения контактного угла смачивания.
- Подготовить установку к работе, снять показания контактного угла смачивания для нескольких жидкостей с занесением данных в лабораторный журнал.
- Научиться рассчитывать свободную энергию поверхности материалов на основе измеренных значений контактных углов смачивания.
- Обработать полученные экспериментальные данные и произвести расчет свободной энергии поверхности.
- Оформить отчет по результатам выполненной работы и провести статистическую обработку результатов измерений.

- Сформулировать выводы по свойствам исследованной поверхности.

2.3. Описание установки и принципа проводимых измерений

Смачиваемость поверхности определяется путем измерения контактного угла методом лежащей капли на цифровом угломере Drop Shape Analysis System – DSA25 (KRÜSS GmbH, Германия) (рис. 2.4).

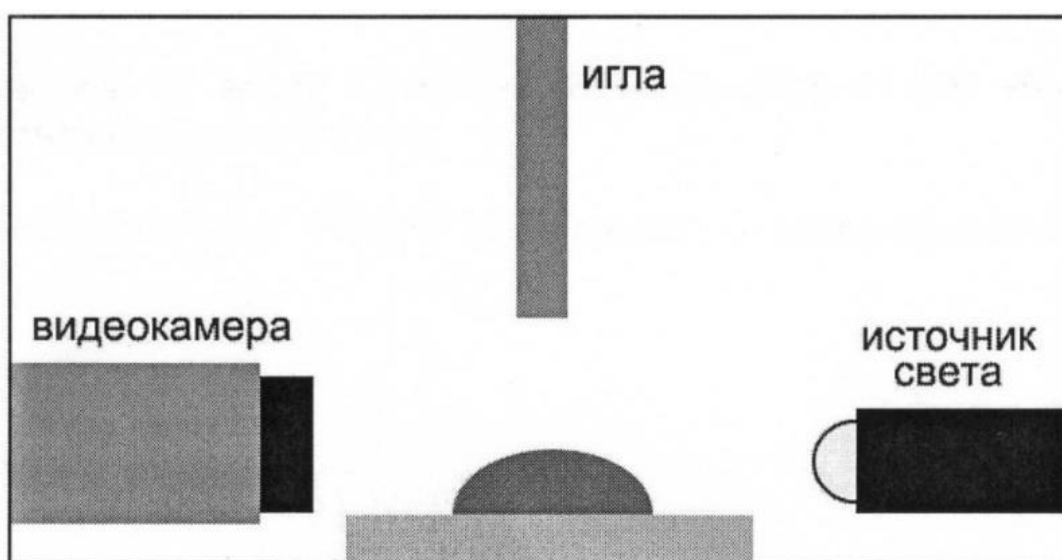


Рисунок 2.4 – Устройство цифрового угломера DSA25

Перед проведением анализа необходимо включить компьютер и подключенный к нему цифровой угломер Drop Shape Analysis System – DSA25 (рис. 2.5).



Рисунок 2.5 – Включение угломера Drop Shape Analysis System – DSA25

Далее необходимо наполнить шприц жидкостью, которую планируется использовать в эксперименте, и установить его в штатив, закрепив при этом магнитной головкой. Для проведения анализа исследуемый образец размещается на подъемном столике в поле зрения видеокамеры прибора непосредственно перед источником света (рис. 2.6).



Рисунок 2.6 – Крепление шприца и подъемный столик

Необходимо также убедиться, что камера угломера готова к съемке и находится в режиме Live. Включение этого режима, а также проведение самого процесса съемки – фиксация формы капли на образце «Freeze Image» осуществляется с помощью одной кнопки, выделенной мышью на рисунке 2.7.

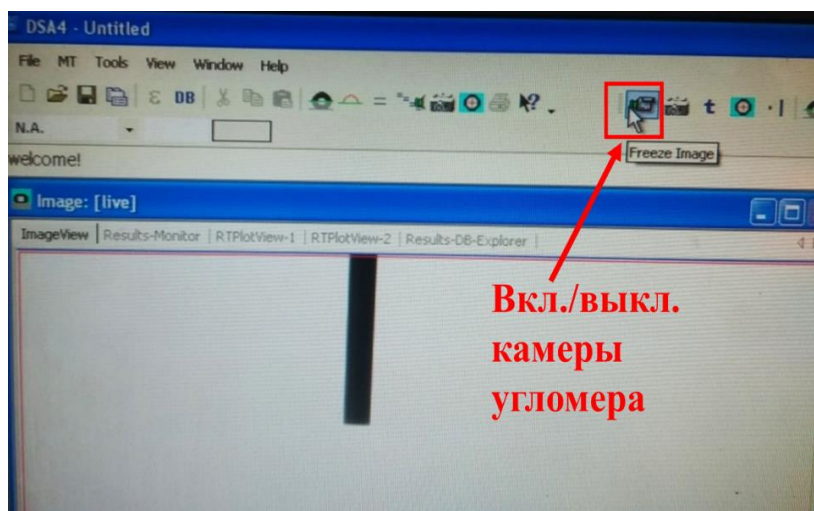


Рисунок 2.7 – Кнопка включения и выключения камеры угломера

При проведении каждого отдельного измерения на поверхность образца из системы дозирования (при вращении рукоятки шприца оператором) подается тестируемая жидкость (например, вода, глицерин, этиленгликоль) в виде капли объемом, как правило, 4-5 мкл (рис. 2.8).

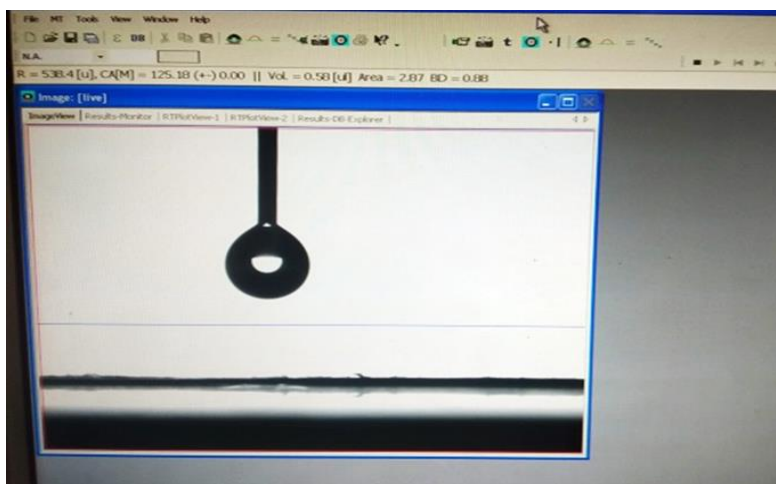


Рисунок 2.8 – Изображение капли, полученное в процессе ее формирования на игле

Далее сформированную каплю необходимо «перенести» на образец или сразу «посадить» непосредственно на исследуемую поверхность образца. В случае переноса капли на образец необходимо приподнять последний на подъемном столике и потом медленно посредством перемещения столика в вертикальном направлении «посадить» висящую в воздухе каплю на поверхность. После того как капля заняла положение равновесия, нажать кнопку «Freeze Image». Происходит фиксация видеокамерой устройства контактных углов смачивания. Обычно фиксируются контактные углы по обе стороны от капли. На основании измеренных значений вычисляется среднее значение (рис. 2.9).

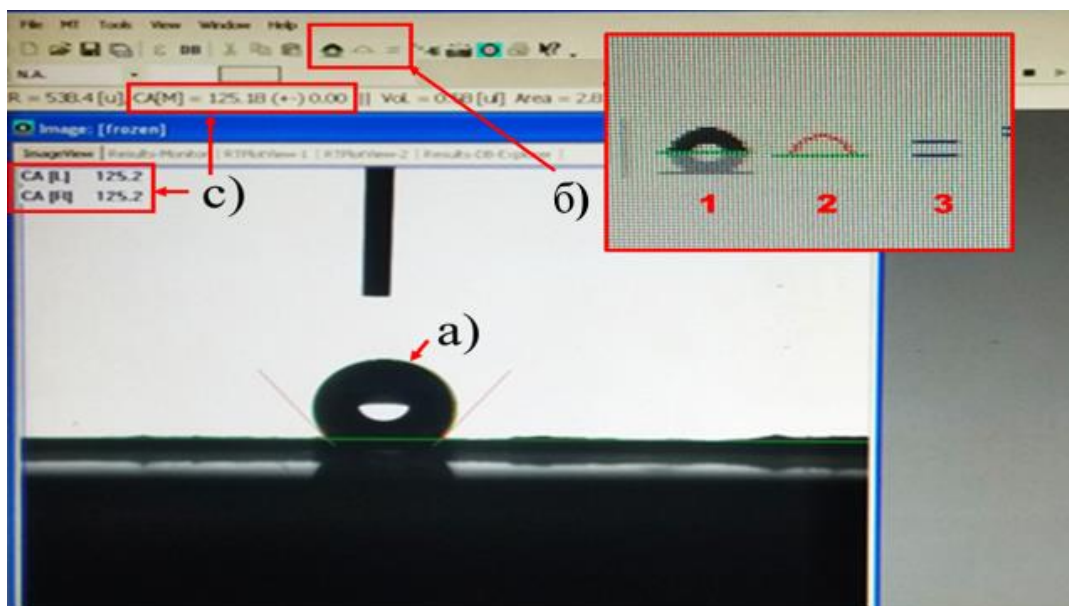


Рисунок 2.9 – а) капля на поверхности образца; б) кнопки активации расчета контактного угла; с) результат расчета по левой и правой стороне капли, а также средний результат с доверительным интервалом

Программное обеспечение DSA4 позволяет производить расчеты контактных углов смачивания (при последовательном нажатии слева направо трех кнопок, расположенных вверху на панели задач программы и изображенных на рис. 2.9) и выдает в верхнем левом углу экрана результат в виде среднего на основе расчета контактных углов смачивания по левой и правой сторонам капли.

Для каждого образца проводится не менее пяти измерений. Полученные числовые значения контактных углов смачивания отдельно фиксируются для последующего использования при подготовке отчета. Расчет среднего показателя и стандартного отклонения выполняется в программе Excel или др.

В случае необходимости расчета поверхностной энергии, кроме воды необходимо выбрать другую жидкость и выполнить всю последова-

тельность действий согласно описанному выше порядку. Как правило, для неполярных поверхностей используют неполярные жидкости, а для полярных поверхностей, наоборот, применяются полярные жидкости и используются теории расчета, основанные на взаимодействии активных центров (молекул) поверхности с газовой или жидкой фазой. Например, в качестве тестовых жидкостей обычно используют воду как жидкость с высокой полярной составляющей ($\sigma^p = 52,2$ мДж/м², $\sigma^d = 19,9$ мДж/м²) и йодистый метилен CH_2I_2 как жидкость с высокой дисперсионной составляющей ($\sigma^d = 48,5$ мДж/м², $\sigma^p = 2,3$ мДж/м²).

Специалисты фирмы KRUESS (Германия), являющейся изготовителем прибора, обнаружили, что для измерений, проводимых для последующего расчета свободной поверхностной энергии в качестве жидкости хорошо подходят водные растворы спирта, например этиленгликоля, т.к. полярность раствора меняется при изменении соотношения вода/спирт. Данные по полярной и дисперсионной составляющим для растворов с разным соотношением вода/спирт и других веществ имеются в базе данных программы DSA4, а также могут быть найдены в литературе.

2.4. Оформление результатов и расчет погрешности измерений

Оформление полученных экспериментальных данных и результатов расчетов, в том числе СЭП и ее составляющих (*расчеты выполняются в Excel или др.*) осуществляется в виде предложенной таблицы 2.1 (см. Приложение 2).

Расчет погрешности измерений проводится по методике, описанной в лабораторной работе 1, п.п. 2.4.4.

В конце работы необходимо сделать выводы о поверхностных характеристиках исследуемого образца, основываясь на полученных результатах измерений контактного угла и расчетов СЭП.

3. Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятию «смачиваемость».
2. Чем количественно характеризуется смачиваемость?
3. Что может влиять на смачиваемость поверхности твердого тела?
4. Какая взаимосвязь между смачиваемостью и адгезией/когезией?
5. Что означает термин «свободная энергия поверхности» (СЭП)?

Дайте определение.

6. Что является причиной существования СЭП, от чего она зависит?
7. Методы расчета СЭП.
8. Описание метода ОВРК.
9. Связь между СЭП, поверхностным натяжением и смачиваемостью поверхности твердого тела.
10. Какие межмолекулярные взаимодействия лежат в основе полярной и дисперсионной составляющих СЭП?

4. Список литературы

1. Методика к прибору компании KRÜSS (Германия).
2. Мозгова В.К., Севрюгина Е.А. Оценка угла смачиваемости диэлектрических подложек после плазменной очистки // Всерос. научно-технич. конф. «Студенческая научная весна: Машиностроительные технологии»: материалы конференции. – 2020. – С. 6-10.
3. Горная энциклопедия [Электронный ресурс]. – Смачиваемость. – URL: <http://www.mining-enc.ru/s/smachivaemost/>

4. Rudawska A., Jacniacka E. Analysis for determining surface free energy uncertainly by the Owens–Wendt method // *Int. J. Adhesion and Adhesives*. – 2009. – V. 29. – № 4. – P. 451–457.
5. Huhtamäki T. et al. Surface-wetting characterization using contact-angle measurements // *Nature protocols*. – 2018. – Т. 13. – № 7. – С. 1521-1538.
6. Рудакова А.В., Емелин А.В. Фотоиндуцированное изменение гидрофильности поверхности тонких пленок // *Коллоидный журнал*. – 2021. – Т. 83. – № 1. – С. 3–34.
7. Миронюк А.В., Придатко А.В., Сиволапов П.В., Свидерский В.А. Особенности оценки смачивания полимерных поверхностей // *Восточно-Европейский журнал передовых технологий*. – 2014. – Т. 1. – № 6. – С. 23–26.
8. Определение поверхностной энергии материала [Электронный ресурс]. – URL: https://tirit.org/articles/surface_theory_energy.php.
9. Дулина О.А., Тарасенко А.Д., Буканов А.М., Ильин А.А. Влияние способа выделения каучука из латекса на свойства эластомерных материалов на основе бутадиен-нитрильных каучуков // *Тонкие химические технологии*. – 2017. – Т. 12. – № 4. – С. 85–90.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Таблица 2.1 – Протокол измерения контактного угла и оформления результатов

Параметры		Повторности					Ср. знач.	Погр. изм., %
		1	2	3	4	5		
Контактный угол, °	Вода							
	Глицерин*							
	Этиленгликоль*							
Свободная поверхностная энергия, мН/м								
Полярная составляющая, мН/м								
Дисперсионная составляющая, мН/м								

Примечание: * – приводятся данные для глицерина, этиленгликоля или других выбранных для измерений и расчетов жидкостей.

Лабораторная работа 3. Получение полиэлектролитных микрокапсул

1. Общие сведения

Полиэлектролитом называется полимер, макромолекулярные звенья которого имеют функциональные группы (сульфо-, amino-, амидо-, имино-, фосфо-, карбоксильные группы и др.), способные к электролитической диссоциации, ионизации в растворе. В зависимости от характера ионогенных функциональных групп полиэлектролиты могут быть слабыми и сильными поликатионами (при диссоциации которых основная макромолекула приобретает положительный заряд), полианионами (заряд ионизированной макромолекулы отрицательный) и полиамфолитами (макромолекула содержит как положительные, так и отрицательные заряды). Как правило, полиамфолиты относятся к гетерополимерам. Белки и нуклеиновые кислоты являются природными полиамфолитами. Следует отметить, что закономерности, установленные для синтетических полиэлектролитов, справедливы и для биополимеров.

Полиэлектролитные комплексы образуются в результате реакции противоположно заряженных полиэлектролитов (полианионов и поликатионов), макромолекулы в которых удерживаются вместе солевыми связями. Таким образом, механизм создания полиэлектролитного комплекса основан на адсорбции полиионов на поверхности частиц (выступающих первоначально в роли матрицы) с формированием двойного электрического слоя, к тому же эффективно снижающего трение и агрегацию между частицами.

Полиэлектролиты широко используются, например, как коагулирующие агенты для очистки стоков, как вещества, регулирующие

вязкость концентрированных дисперсных водных систем – паст и суспензий в производстве керамики.

Полиэлектролитные микрокапсулы представляют собой микроскопические носители, имеющие высокий потенциал применения в разных биомедицинских областях.

Капсулы изготавливаются путем послойной адсорбции (LbL) противоположно заряженных частиц на поверхность коллоидных частиц – ядер. В качестве ядра могут выступать различные объекты, например, органические полимерные шарики (меламиноформамид, полистирол), микрокристаллы, капельки эмульсионного масла и неорганические (CaCO_3 , MnCO_3 , SiO_2) ядра, которые могут быть удалены растворителем, или при изменении pH, или с помощью комплексообразователей размером от 0,1 до десятков микрон. В качестве полиэлектролитных слоев использовали множество разных веществ, таких как синтетические и природные полиэлектролиты, белки, нуклеиновые кислоты, магнитные и флуоресцентные неорганические наночастицы, липиды и т.д. Стенки капсулы обладают полупроницаемыми свойствами. Они проницаемы для небольших молекул, таких как красители и ионы, и не пропускают соединения с более высокой молекулярной массой.

Для изготовления полых полиэлектролитных капсул поли(стиролсульфонат)/поли(аллиламингидрохлорид) (PSS/PAH) является очень популярной и хорошо изученной парой полиэлектролитов. Кроме того, приготовление капсул (PSS/PAH) является воспроизводимым и не сопровождается агрегацией или разрушением капсулы при удалении ядра, что часто наблюдается в случае капсул, изготовленных из биополимеров, имеющих более низкую плотность заряда.

На рисунке 3.1 наглядно представлена методика адсорбции полиэлектролитных слоев LBL. Каждая стадия включает изменение заряда, так что поверхностный заряд вызывает стабилизацию частиц, препятствующую их флокуляции и агрегации. Средний размер частиц монотонно увеличивается с увеличением количества стадий. Ионная сила растворов полиэлектролитов находится в прямой зависимости и оказывает существенное влияние на толщину образуемого слоя. Толщину оболочки можно настроить в нанометровом диапазоне.

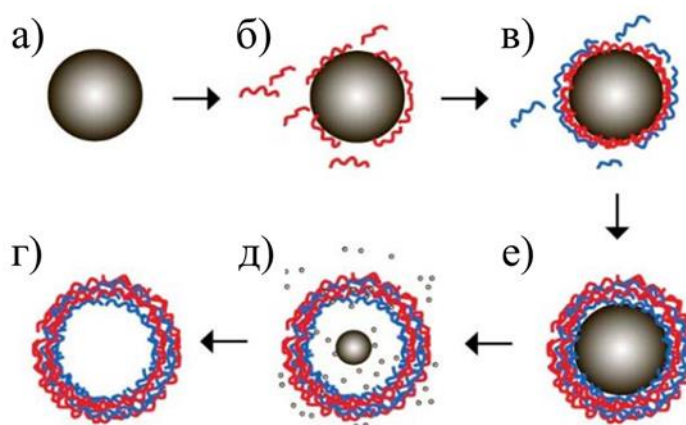


Рисунок 3.1 – Схема получения полых микрокапсул: (а) коллоидная частица – ядро; (б) электростатическая адсорбция первого полиэлектролита; (в) адсорбция второго противоположно заряженного полиэлектролита; (г) повторение процесса до нанесения необходимого числа слоев; (д) удаление ядра с формированием полых микрокапсулы; (е) полая микрокапсула после растворения ядра

Применение капсул в качестве систем, высвобождающих свою полезную нагрузку в ответ на внешние факторы воздействия (такие как рН-чувствительные, солечувствительные, глюкозочувствительные,

светочувствительные, чувствительные к окислительно-восстановительному потенциалу и капсулы, реагирующие на магнитное поле), может иметь большие преимущества в разных областях. В частности, недавно обнаружен потенциал метода LbL для создания биочувствительных систем доставки лекарств, реагирующих на определенные аминокислотные фрагменты белков.

Наиболее ключевыми преимуществами полиэлектролитных микрокапсул являются их биосовместимость и использование относительно простых «строительных блоков», а также возможность придать оболочке высокую степень функциональности в зависимости от поставленной задачи (например, загрузка флуоресцентной метки между полиэлектролитными слоями).

2. Экспериментальная часть

2.1. Цель работы

Научиться получать полиэлектролитные микрокапсулы на основе противоположно заряженных полиэлектролитов на поверхности частиц карбоната кальция методом послойной сборки – адсорбции (layer-by-layer, LBL).

2.2. Задачи работы

- Ознакомиться с основными понятиями, методами получения и направлениями практического использования LBL-процесса.
- Сформировать умение получать и анализировать научную информацию из разных источников (публикаций).
- Научиться самостоятельно планировать и реализовывать эксперимент, например, рассчитывать количество необходимых реагентов и готовить растворы.

- Получить навыки синтеза карбонатных микрочастиц – ядер (*проба 1*); нанесения LBL полиэлектролитных оболочек; формирования полиэлектролитных микрокапсул (*проба 2*) и удаления карбонатного ядра (*проба 3*); правильного забора суспензий для микроскопических исследований после каждого проведенного синтеза.
- Усовершенствовать навыки самостоятельной работы, в том числе работы на экспериментальном и аналитическом оборудовании.
- Развить умение фиксировать и интерпретировать полученные экспериментальные данные, проводить статистическую обработку, а также делать научно обоснованные выводы.

2.3. Порядок выполнения работы

На первом этапе необходимо получить ядра CaCO_3 , являющиеся сферическими микрочастицами карбоната кальция.

Реактивы

1. Хлорид кальция – CaCl_2 (0,33 М).
2. Карбонат натрия – Na_2CO_3 (0,33М).
3. Деионизованная вода.
4. Этиленгликоль.

Посуда

1. Химический стакан (100 мл).
2. Мерные колбы на 50 мл для приготовления растворов.
3. Дозирующая емкость с водой.
4. Микропробирки эппендорф с круглым дном.
5. Пробирки с крышками на 15 мл.
6. Цилиндры мерные на 10мл, 50 мл.

Оборудование

1. Центрифуга до 9000 об/мин.

2. Микropипеткки (до 1000–2000 мкл) с наконечниками.
3. Шейкер.
4. Магнитная мешалка.
5. УЗ-ванна.
6. Весы.

Приготовление растворов

Вначале необходимо рассчитать по формуле (3.1) необходимую массу соли для приготовления раствора с концентрацией 0,33 моль/л.

$$m = C \cdot V \cdot M, \quad (3.1)$$

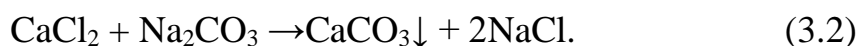
где $C = 0,33$ моль/л; $V = 50$ мл; $M(\text{CaCl}_2) = 110,984$ г/моль; $M(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 105,989$ г/моль.

Для этого необходимо засыпать соли в мерные колбы (50 мл), долить деионизованную воду по 8,3 мл и растворить соли (для интенсификации можно использовать УЗ-ванну), далее добавить этиленгликоль и перемешать, затем объем каждой колбы довести до отметки (50 мл) путем добавления деионизованной воды.

2.3.1. Получение микрочастиц

Необходимо налить 9,0 мл 0,33М раствора хлорида кальция CaCl_2 в стакан и хорошо перемешать с помощью магнитной мешалки. Затем, увеличивая скорость мешалки до 1100 об/мин, добавить 9,0 мл 0,33М раствора карбоната натрия Na_2CO_3 . Реакционную массу перемешивать в течение 25 минут.

Протекает реакция по формуле (3.2):



Затем полученную суспензию необходимо перенести в три пробирки (с крышками) объемом 15 мл и отцентрифугировать в течение 6 минут при 5000 об/мин. При этом ядра CaCO_3 выпадают в осадок, а супернатант

(жидкая фаза) необходимо убрать пипеткой или аккуратно слить. Осадок залить до 15 мл водой, хорошо встряхнуть (до полного взмучивания), опустить пробирку в УЗ-ванну на 30 с для исключения агломерации частиц. Центрифугировать нужно в тех же условиях, а супернатант удалить. Процесс промывки необходимо повторить 3 раза.

Далее осадок необходимо перенести в три эппендорфа и центрифугировать в течение 3 мин при скорости 9000 об/мин. Супернатант при этом необходимо удалить. Карбонатные ядра CaCO_3 готовы к последующей адсорбции полиэлектролитных слоев.

2.3.2. Формирование полиэлектролитных микрокапсул

Процесс получения полиэлектролитной оболочки на поверхности карбонатного ядра с последующим его растворением схематически представлен на рисунке 3.1.

Реактивы

1. Деионизованная вода.
2. Раствор хлорида натрия 0,2 М.
3. Полиаллиламин гидрохлорид (Sigma-Aldrich, Германия).
4. Полистиролсульфонат натрия (Sigma-Aldrich, Германия).
5. Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА).
6. Родамин раствор.
7. Микрочастицы карбоната кальция.
8. Раствор гидроксида натрия 1М.

Приготовление растворов полиэлектролитов (ПЭ)

Для формирования оболочки используются следующие полиэлектролиты (ПЭ):

PSS – 2 мг/мл раствор анионного ПЭ полистиролсульфоната хлорида натрия в 0,5 М растворе хлорида натрия;

РАН – 2 мг/мл раствор катионного ПЭ полиалиламина гидрохлорида в 0,5 М растворе хлорида натрия. Навеску каждого полиэлектролита 0,05 г растворяем и доводим до метки 25 мл.

Приготовление раствора ЭДТА

Для приготовления 10,0 мл 0,2М ЭДТА раствора с рН = 7,3 необходимо засыпать в мерную колбу навеску 0,744 г ЭДТА, залить 5 мл деионизованной воды и добавить 1,6 мл NaOH (1М). Колбу с раствором поместить в УЗ-ванну на 15 мин для интенсификации процесса растворения. После растворения довести до метки 10 мл. Провести контроль рН. Раствору необходимо дать постоять сутки перед использованием.

Получение микрокапсул

Полученные и промытые в предыдущей работе микрочастицы карбоната кальция необходимо залить 2 мл раствора соответствующего полиэлектролита (первый адсорбируемый слой PSS). Интенсивно встряхнуть. Опустить эппендорф в УЗ-ванну на 3 минуты. Далее зафиксировать его в шейкере и установить на 10 мин с режимом вращения 40 об/мин (выбрать из меню программу 02 mode, Intelli-Mixers™, ELMi, RM-1L).). Далее выполнить центрифугирование в течение 3 мин при 9000 об/мин и удалить супернатант. Для удаления незакрепленного ПЭ залить осадок водой, интенсивно встряхнуть, отцентрифугировать. Промывку необходимо повторить 2 раза.

Нанести следующий слой РАН по той же схеме. Далее снова нанести PSS и РАН, что в итоге приведет к получению 4-х слоев.

Затем добавить 1 мл раствора родамина для флуоресценции и идентификации капсул, обработать и промыть в тех же условиях, что были использованы для ПЭ. Далее наносим еще 1 слой PSS и РАН по аналогичной схеме. В итоге получаем 6 слоев ПЭ на карбонатных ядрах.

2.3.3. Растворение ядра CaCO₃

После формирования последнего слоя и промывки заливаем в эппендорф с частицами 2 мл 0,2М ЭДТА и хорошо встряхиваем, периодически открывая его для выхода CO₂. Далее необходимо отцентрифугировать полученную суспензию микрокапсул в течение 7 мин при скорости 3500 об/мин для предотвращения образования агломератов. Затем удалить супернатант и снова залить 2 мл ЭДТА, встряхнуть и отцентрифугировать. После растворения ядер промыть образовавшиеся микрокапсулы водой в тех же условиях 3 раза.

Полученные микрокапсулы хранить в стерильной водной среде в эппендорфе в холодильнике при температуре 4±2 °С.

Исследование полученных полиэлектролитных ядер осуществляется с помощью методов оптической или растровой электронной микроскопии.

2.3.4. Оформление эксперимента

Для обеспечения четкого контроля за ходом работы по п.п.2.3.3 необходимо заносить данные о наносимом слое LBL в таблицу 3.1 (Приложение 3) пошагово, в течение всего процесса нанесения.

2.4. Оформление результатов и расчет погрешности измерений

Работа считается выполненной в случае получения микрокапсул, а также расчета их размера (с помощью программы ImageJ) по результатам оптической микроскопии проб, отобранных на каждом этапе формирования LBL – 3 пробы (см. таблицу 3.2, Приложение 3) и построения диаграмм распределения частиц по размерам (с помощью программ Excel, Origin или др.).

Расчет погрешности измерений проводится по методике, описанной в лабораторной работе 1, п.п. 2.4.4.

3. Контрольные вопросы

1. Что такое полиэлектролит и как их классифицируют?
2. Механизм формирования полиэлектролитного комплекса.
3. Какое влияние оказывает ионная сила раствора на формирующуюся LBL-оболочку?
4. Из чего могут изготавливаться или что может быть использовано в качестве ядер для полиэлектролитной сборки? Какие критерии следует учитывать при выборе ядер для LBL?
5. Из чего могут быть изготовлены полиэлектролитные капсулы? Какие характеристики полиэлектролитов следует учитывать при изготовлении капсул LBL-методом?
6. На какие факторы внешнего воздействия может быть настроена система высвобождения из полиэлектролитных капсул?
7. Области использования полиэлектролитных капсул.
8. Какие свойства полиэлектролитных капсул обуславливают их применение для биомедицинских приложений?
9. Последовательность действий при получении капсул PSS/ПАН.
10. Каковы условия хранения ядер и готовых полиэлектролитных капсул и почему?

4. Список литературы

1. Sukhorukov Gleb, Andreas Fery, Helmuth Moehwald. Intelligent Micro- and Nanocapsules // Progress in Polymer Science. – 2005. – № 30(8). – P. 885-897. – DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2005.06.008.
2. Sukhorukov G.B. et al. Layer-by-layer self assembly of polyelectrolytes on colloidal particles [Электронный ресурс] // Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects. – 1998. – Т. 137. – № 1-3. – С.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775798002131>

3. Antipov A.A. et al. Sustained release properties of polyelectrolyte multilayer capsules [Электронный ресурс] // The Journal of Physical Chemistry B. – 2001. – Т. 105. – № 12. – С. 2281–2284. – URL:

<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jp002184+>

4. De Geest B.G. et al. Release mechanisms for polyelectrolyte capsules [Электронный ресурс] // Chemical Society Reviews. – 2007. – Т. 36. – № 4. – С. 636–649. – URL:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2007/cs/b600460c>

5. Gao H. et al. Protective composite silica/polyelectrolyte shell with enhanced tolerance to harsh acid and alkali conditions [Электронный ресурс] // Journal of colloid and interface science. – 2018. – Т. 512. – С. 198–207. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979717311979>

6. Timin A.S. et al. Multifunctional scaffolds with improved antimicrobial properties and osteogenicity based on piezoelectric electrospun fibers decorated with bioactive composite microcapsules [Электронный ресурс] // ACS applied materials & interfaces. – 2018. – Т. 10. – № 41. – С. 34849–34868. – URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.8b09810>

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Таблица 3.1 – Протокол получения LBL

Операция LBL	1	2	3	4	Родамин	5	6
	PSS	PAH	PSS	PAH		PSS	PAH
Встряхивание, начало, час. и мин.							
Встряхивание, окончание час. и мин.							
Промывка 1*							
Промывка 2*							

Примечание: * – для промывки достаточно поставить «+» о проделанной операции.

Таблица 3.2 – Результаты оптической микроскопии проб

№	Проба	Снимок	Диаграмма распределения частиц по размеру и средний размер, мкм	Погрешность измерения, %
1	Ядра			
2	Капсулы с ядрами			
3	Полые капсулы			

Учебное издание

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Методические указания к выполнению лабораторных работ
по дисциплине «Материалы и покрытия биомедицинского назначения»

Составители:

СУРМЕНЕВ Роман Анатольевич

МУХОРТОВА Юлия Руслановна

ГРУБОВА Ирина Юрьевна

СУРМЕНЕВА Мария Александровна