



# Studium degradace polyesterových mikro a nanovláknenných materiálů

## Bakalářská práce

*Studijní program:* B3107 – Textil  
*Studijní obor:* 3106R016 – Textilní technologie, materiály a nanomateriály  
*Autor práce:* **Senta Müllerová**  
*Vedoucí práce:* Ing. Věra Jenčová, Ph.D.





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC  
Faculty of Textile Engineering ■

# Study of degradation of polyester micro and nanofibrous materials

## Bachelor thesis

*Study programme:* B3107 – Textil

*Study branch:* 3106R016 – Textile Technologies, Materials and Nanomaterials

*Author:* **Senta Müllerová**

*Supervisor:* Ing. Věra Jenčová, Ph.D.





## Zadání bakalářské práce

# Studium degradace polyesterových mikro a nanovláknenných materiálů

*Jméno a příjmení:* **Senta Müllerová**  
*Osobní číslo:* T16000159  
*Studijní program:* B3107 Textil  
*Studijní obor:* Textilní technologie, materiály a nanomateriály  
*Zadávací katedra:* Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů  
*Akademický rok:* **2017/2018**

### Zásady pro vypracování:

1. Rešerše daného tématu.
2. Základní charakteristika vybraných polyesterových vláknenných materiálů: morfologie (průměr vláken, plošná hmotnost), smáčivost (kontaktní úhel).
3. Optimalizace enzymaticky katalyzované degradace.
4. Analýza průběhu degradace: měření hmotnostního úbytku, změna morfologie, změna molekulové hmotnosti použitých polyesterů, vliv na mechanické vlastnosti.
5. Vyhodnocení výsledků.

*Rozsah grafických prací:*

dle potřeby dokumentace

*Rozsah pracovní zprávy:*

30-40 dle potřeby

*Forma zpracování práce:*

tištěná/elektronická



### **Seznam odborné literatury:**

1. Dong Y., Liao S., Nghiam M., Chan C., Ramakrishna S. Degradation Behaviors of Electrospun Resorbable Polyester Nanofibres. *TISSUE ENGINEERING: Part B. Volume 15, Number 3, 2009.*
2. Castilla-Cortázar I., Más-Estellés J., Meseguer-Duenas J.M., Escobar Ivirico J.L., Marí B., Vidaurre A. Hydrolytic and enzymatic degradation of a poly(epsilon-caprolactone) network. *Polymer Degradation and Stability. 2012.*
3. Fakirov S., *Biodegradable Polyesters, 2015.*
4. Ratner B.D. et al. *Biomaterials Science, Academic Press, 2013.*

*Vedoucí práce:*

Ing. Věra Jenčová, Ph.D.  
Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

*Datum zadání práce:*

20. února 2018

*Předpokládaný termín odevzdání:*

18. dubna 2019

Ing. Jana Drašarová, Ph.D.  
děkanka

V Liberci 20. února 2018



Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.  
vedoucí katedry

## Prohlášení

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

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

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

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

Současně čestně prohlašuji, že texty tištěné verze práce a elektronické verze práce vložené do IS STAG se shodují.

23. 4. 2019

Senta Müllerová

## Poděkování

Velmi ráda bych poděkovala své vedoucí Ing. Věře Jenčové, Ph.D. a konzultantce Ing. Kristýně Havlíčkové za jejich vstřícnost, trpělivost, odborné a cenné rady, připomínky a věnovaný čas při vypracování této práce. Děkuji také panu Ing. Ondřeji Novákovi Ph.D. za zprostředkování mechanického testování a za cenné rady, panu Mgr. Vítu Novotnému a panu Ing. Lubošovi Běhálkovi Ph.D. za odbornou pomoc a věnovaný čas.

Ráda bych také poděkovala své rodině, zvláště svému Tátovi, za podporu a trpělivost při psaní této práce a během celého studia.

## ABSTRAKT

Cílem práce je studium degradace a sledování vlivu degradace na mechanické vlastnosti polyesterových mikro a nanovláknenných materiálů, se zaměřením na polykaprolakton. V teoretické části jsou rešeršní formou popsány technologie výroby nanovláknenných vrstev, materiály využívané v tkáňovém inženýrství, mechanismus degradace a testování mechanických vlastností. V experimentální části jsou popsány metody a materiály použité při experimentech. V části výsledky a diskuze je popsána charakteristika vstupních materiálů, optimalizace enzymatické degradace (použitým enzymem byla Lipáza z *Pseudomonas Cepacia*) a měření mechanických vlastností v závislosti na stupni degradace. Během degradace se sledoval a hodnotil hmotnostní úbytek materiálu, změna morfologie, změna molekulové hmotnosti polymeru a změna krystalinity. Dále se sledovaly mechanické vlastnosti v průběhu degradace pomocí tahových zkoušek. Z výsledků vyplývá, že při vhodně zvolené koncentraci enzymu, je možné prodloužit dobu degradace a tím i déle provádět mechanické testování. Při koncentraci 5 U/10 mg vzorku bylo možné měřit mechanické vlastnosti až do 6. dne. V průběhu degradace dochází ke zhoršení mechanických vlastností všech testovaných materiálů. Zásadní vliv na degradaci má molekulová hmotnost polymeru. Materiál s vyšší molekulovou hmotností (PCL80) degraduje pomaleji a má lepší mechanické vlastnosti ve srovnatelné fázi degradace než materiály s nižší molekulovou hmotností (PCL45\_A, PCL45\_B).

Klíčová slova: degradace, biodegradace, nanovláknena, polyestery, polykaprolakton, mechanické testování

## ABSTRACT

The main aim of this thesis is to study the degradation and monitoring of degradation effect on the mechanical properties of polyester microfibrous and nanofibrous materials. The work is focused on materials made from polycaprolactone. The theoretical part describes the technologies of nanofibrous layers production, materials used in the tissue engineering, the mechanism of polymer degradation and testing of mechanical properties. The experimental part describes the methods and materials used in the experiments. The results and discussion section describes the characteristics of the input materials, the optimization of enzymatic degradation (the enzyme used was Lipase from *Pseudomonas Cepacia*) and the measurement of mechanical properties depending on the degree of degradation. During the degradation were monitored and evaluated the weight loss of the material, the change in morphology, the change in molecular weight of polymer and the change in crystallinity. Selected mechanical properties of materials during degradation were studied. The results show that with appropriately enzyme concentration the degradation time can be extended and the mechanical testing can be performed longer. At the concentration 5 U/10 mg of the sample was possible to measure the mechanical properties till day 6. During the degradation the mechanical properties of all tested materials deteriorate. The material prepared from the higher molecular weight polymer (PCL80) degrades significantly lower than those prepared from the polymer of the lower molecular weight (PCL45\_A, PCL45\_B). This material also exhibits better mechanical properties in a comparable degradation phase.

Key words: degradation, biodegradation, nanofibers, polyesters, polycaprolactone, mechanical testing



# Obsah

Obsah .....	9
Seznam zkratk .....	11
Úvod.....	12
1. TEORETICKÁ ČÁST .....	13
1.1 Mikro a nanovláknenné materiály .....	13
1.2 Výroba mikro a nanovláknenných materiálů.....	14
1.2.1 Odstředivé zvláknění .....	15
1.2.2 Drawing .....	16
1.2.3 Fázová separace .....	16
1.2.4 Melt-blown.....	17
1.2.5 Elektrostatické zvláknění.....	18
1.3 Materiály pro přípravu mikro a nanovláknenných materiálů .....	18
1.3.1 Biodegradabilní materiály.....	19
1.3.2 Přírodní polymery .....	19
1.3.3 Syntetické biodegradabilní polymery .....	21
1.3.3.1 Kyselina polyglykolová PGA .....	21
1.3.3.2 Kyselina polymléčná PLA .....	22
1.3.3.3 Kopolymer kyseliny polymléčné a polyglykolové PLGA.....	23
1.3.3.4 Polykaprolakton PCL.....	23
1.4. Degradace .....	25
1.4.2. Biodegradace .....	25
1.4.3. Biodegradace polyesterů.....	26
1.4.4. Degradace nanovláknenných materiálů .....	27
1.4.5. Hodnocení degradace.....	28
1.4.5.1. Změna morfologie materiálu vlivem degradace .....	28
1.4.5.2. Změna molekulové hmotnosti .....	29
1.4.5.3. Změna stupně krystalinity.....	30
1.5. Mechanické vlastnosti.....	31
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	33
2.1. Materiály a metody .....	33
2.1.1. Použité chemikálie.....	33
2.1.2. Použité roztoky .....	34
2.1.3. Použité přístroje a programy.....	34
2.1.4. Příprava materiálů pro zvláknění .....	35
2.1.5. Příprava vzorků pro degrační experimenty.....	35
2.1.6. Metoda degradace .....	36
2.1.7. Hodnocení hmotnostního úbytku.....	36
2.1.8. Příprava vzorků na SEM.....	36

2.1.9. Příprava vzorků na GPC .....	36
2.1.10. Příprava vzorků pro DSC.....	37
2.1.11. Mechanické testování .....	37
2.2. Výsledky a diskuze .....	38
2.2.1. Charakteristika vstupních materiálů .....	38
2.2.2. Optimalizace podmínek degradace .....	41
2.2.2.1. Příprava materiálů a nastavení degradace.....	41
2.2.2.2. Analýza průběhu degradace.....	42
2.2.3. Testování mechanických vlastností v závislosti na stupeň degradace.....	46
2.2.3.1. Příprava vzorků a nastavení degradace.....	46
2.2.3.2. Analýza průběhu degradace.....	47
2.2.3.3. Mechanické vlastnosti testovaných materiálů .....	50
Závěr .....	60
Literatura.....	62
Přílohy.....	66

## Seznam zkratek

CN – cyklické namáhání

dH<sub>2</sub>O – destilovaná voda

DSC – diferenciální skenovací kalorimetrie

GPC – gelová permeační chromatografie

HDPE – vysokohustotní polyethylen

hm % - hmotnostní procento

CHEKO – rozpouštědlový systém chloroform, ethanol a kyselina octová v poměru 8:1:1

NC – negativní kontrola

PCL – polykaprolakton

PBS – fosfátový pufr

PGA – kyselina polyglykolová

PLA – kyselina polymléčná

PLGA – kopolymer kyseliny polyglykolové a kyseliny polymléčné

SEM – rastrovací elektronový mikroskop

TEM – transmisní elektronový mikroskop

UHMWPE – polyethylen s ultravysokou molekulární mnotností

95% IS – 95% interval spolehlivosti

## Úvod

V dnešní době dochází k rozvoji různých vědních oborů, jedním z nich je tkáňové inženýrství. Tkáňové inženýrství se zabývá snahou regenerovat a nahradit poškozenou tkáň. Je snaha vytvořit umělé náhrady (scaffoldy), které budou pro lidské tělo biokompatibilní a netoxické. Právě nanovláknenné degradabilní materiály jsou pro tyto účely velmi vhodné. Nanovláknna velmi dobře simulují mezibuněčnou hmotu (extracelular matrix) a představují tedy vhodné prostředí pro buňky.

Degradabilita těchto materiálů je velmi důležitá, je-li materiál biodegradabilní, je schopný se rozložit v lidském těle, odpadá tedy nutnost jeho následného vyoperování. Je podstatné proces a rychlost degradace sledovat. Pokud se materiál rozkládá velmi rychle nebo naopak velmi pomalu, nemusí dojít k obnově poškozené tkáně. Rychlost degradace také může určit aplikaci vhodnou pro daný materiál. Při degradaci je podstatné sledovat produkty degradace, aby nebyly pro lidské tělo toxické a nedošlo k přehnané imunitní reakci. Během degradace dochází ke změně vlastností materiálů a tyto vlastnosti je potřeba sledovat. Sleduje se například změna molekulové hmotnosti polymeru, změna krystalického podílu materiálu nebo jeho mechanické vlastnosti. Mechanické vlastnosti materiálu jsou také velmi důležité, protože určují jeho aplikaci.

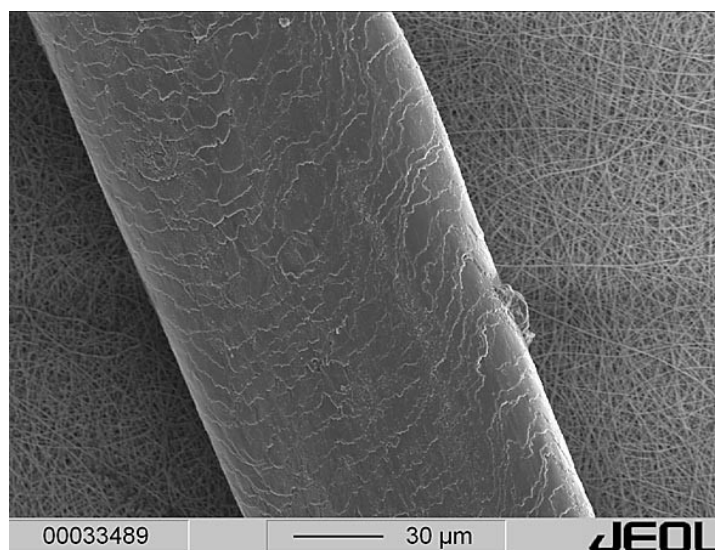
Mezi tyto materiály vhodné pro tkáňové inženýrství, které jsou schopné být vyrobené ve formě nanovláken a zároveň jsou degradabilní, patří z přírodních materiálů například chitosan, kolagen a želatina. Ze syntetických to jsou zejména polyestery (například kyselina polyglykolová, kyselina polymléčna, kopolymer těchto kyselin a polykaprolakton).

Tato práce obsahuje teoretickou část, která je vypracována jako rešerše. Obsahuje technologie výroby nanovláknenných materiálů, základní informace k materiálům používaným v tkáňovém inženýrství, informace k metodám, kterými se testuje degradace a mechanické testování. V druhé části práce jsou popsány a vyhodnoceny dva experimenty, kdy byl enzymaticky degradován polykaprolakton, s různou plošnou a molekulovou hmotností, a následně mechanicky namáhán. Na závěr práce jsou tyto experimenty vyhodnoceny na základě výsledků a dat z metod hodnocení degradace a mechanického testování.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Mikro a nanovláknenné materiály

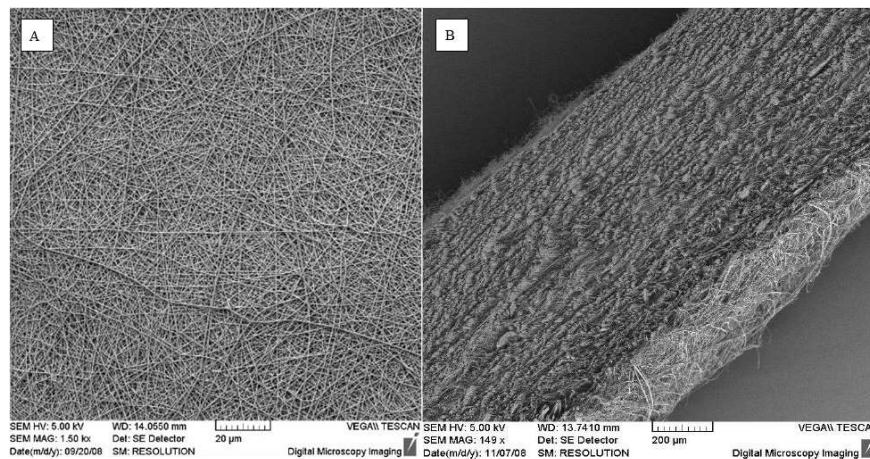
Nanovláknna se vyznačují průměrem v řádu nanometrů, většinou 100 nm a méně. (Nayak et al., 2011) Vynikají charakteristickými vlastnostmi jako je velký poměr povrchu k objemu, malé rozměry pórů a dobré mechanické vlastnosti. Tyto vlastnosti umožňují široký rozsah aplikací jako je vysokovýkonná filtrace, obvazy (Nayak et al., 2011), elektronika a optika (Cao, 2004), ale především jejich aplikace v tkáňovém inženýrství.



*Obr. 1: Srovnání nanovláknenné vrstvy s lidským vlasem*

Tkáňové inženýrství je multidisciplinární obor. Dříve bylo přidružené biomateriálům a inženýrství, jelikož došlo k velkému rozvinutí, stalo se samostatnou disciplínou. Tkáňové inženýrství se zabývá snahou nahradit poškozené tkáně nebo orgány funkčními náhradami (scaffoldy). (Thomas et al., 2015) Kmenové buňky v lidském těle mají schopnost sebeobnovy a možnost vázat se ke vhodným povrchům, jako jsou například polymerní materiály. Ty tvoří příznivé prostředí pro adhezi buněk, proliferaci, diferenciaci a pro tvorbu mezibuněčné hmoty (ECM). Toto vede k regeneraci poškozené tkáně. (Ravichandran et al., 2012) Ve tkáňovém inženýrství se používají jak degradabilní, tak i nedegradabilní materiály. Mezi nedegradabilní materiály patří například polyethylen (HDPE, UHMWPE), který se používá na ortopedické implantáty a katetry, polypropylen používaný na dodávání léčiv a jako šicí nitě nebo polyethylentereftalát na pletené cévní náhrady. Degradabilní materiály jsou uvedeny v následujících kapitolách. (Shastri., 2003)

Mikrovlákna a nanovlákna jsou většinou uspořádána do různých strukturních útvarů, se kterými lze snadněji manipulovat. Velmi zřídka se vyskytují samostatně, kromě technologie drawing (metoda je popsána v kapitole 1.2.2.). Nanovlákna mohou být ve formě nití či příze. Tento textilní útvar je málo běžný, důvodem jsou technologické potíže při přípravě. (Petráš et al., 2009) Mnohem častější nanovlákenný útvar jsou vrstvy. V tomto případě jsou nanovlákna položena tak, že nevystupují z roviny a jsou nahodile kladena přes sebe a výsledná vrstva je izotropní. Nanovlákenné vrstvy jsou v dnešní době nejrozšířenějším strukturním tvarem s nanovláknem. Dále pak mohou nanovlákna tvořit objemové struktury. Tyto útvary jsou velmi podobné jako nanovlákenné vrstvy a však zde nanovlákna výrazněji vystupují do třetího rozměru. Takové útvary připomínají například objemovou vatu. (Petráš et al., 2009)



Obr. 2: Nanovlákenná vrstva plošná (A) a objemová (B) z různých pohledů a při různém zvětšení (Petráš et al., 2009)

## 1.2 Výroba mikro a nanovlákenných materiálů

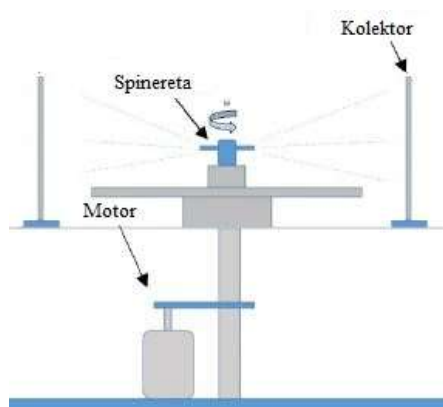
Metod výroby nanovlákných materiálů je hned několik, například odstředivé zvlákňování, fázová separace, melt-blown, metoda výroby jednotlivých vláken drawing a elektrostatické zvlákňování. Je možná kombinace metod, například kombinace melt-blown a elektrostatického zvlákňování. (Erben et al., 2014) Technologie výroby ovlivňuje strukturu vrstvy, průměr vláken a následné použití. V Tab. 1 je přehled vybraných používaných technologií výroby nanovlákenných materiálů, jejich výhody a nevýhody.

Tab. 1: Přehled vybraných technologií výroby nanovláknenných materiálů, jejich výhody a nevýhody (Nayak., 2011)

Technologie výroby	Výhody	Nevýhody
Odstředivé zvlákňování	Není potřeba vysokého napětí	Občas je potřeba vysoké teploty
Drawing	Jednoduchost procesu	Proces je diskontinuální
Fázová separace	Použití jednoduchých zařízení	Funguje pouze s vybranými polymery
Melt-blown	Dlouhá a kontinuální vlákna, vysoká produktivita, nejsou problémy s rozpouštědlem	Může nastat termická degradace polymeru
Elektrostatické zvlákňování z roztoku	Dlouhá a kontinuální vlákna	Problémy s odpařováním rozpouštědla, nízká produktivita, stabilita trysky
Elektrostatické zvlákňování z taveniny	Dlouhá a kontinuální vlákna	Může nastat termická degradace polymeru

### 1.2.1 Odstředivé zvlákňování

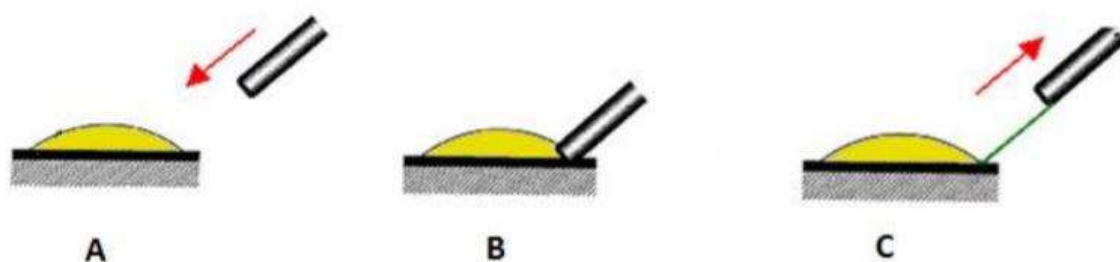
Důležitou komponentou používanou pro odstředivé zvlákňování je spinnereta, která může být tvořena tryskou či jehlou nebo může mít kruhový tvar (disk). (Edmonson et al., 2012) Do nebo na rotující spinneretu je dávkován polymerní roztok a když spinnereta dosáhne kritické rychlosti otáčení, je pomocí odstředivé síly překonáno povrchové napětí a dochází ke zvlákňování. Z jehly/trysky/disku je vymrštěn polymerní roztok, který je tažen do tvaru vlákna. Ta jsou chycena na kolektor. (Zhang et al., 2014) Tento technologický proces ovlivňuje povrchové napětí, rychlost rotace spinnerety, která ovlivňuje orientaci vláken, vzdálenost mezi spinneretou a kolektorem, typ spinnerety, druh polymerního roztoku, koncentrace a jeho viskozita. Případně se dá kombinovat odstředivá síla s napětím, které je přiváděno do spinnerety. (Edmonson et al., 2012) Schéma přístroje pro odstředivé zvlákňování je na Obr. 3.



Obr. 3: Schéma zařízení pro odstředivé zvlákňování (Obregon et al., 2016)

### 1.2.2 Drawing

Ke kapce roztoku či taveniny polymeru je přiložena kapilára, ta se odtahuje definovaným způsobem a konstantní rychlostí. Při odtahování vzniká mezi kapkou a kapilárou vlákno (Obr. 4). (Petráš et al., 2009) Oproti ostatním metodám výroby má technologie drawing menší produktivitu, ale je možnost produkovat jednotlivá vlákna v různých orientacích a strukturách. Je zde menší spotřeba polymeru. (Strnadová et al., 2019) Výsledné vlákno závisí na složení polymeru, rychlosti tažení a rychlosti odpaření rozpouštědla. (Bajáková et al., 2011)

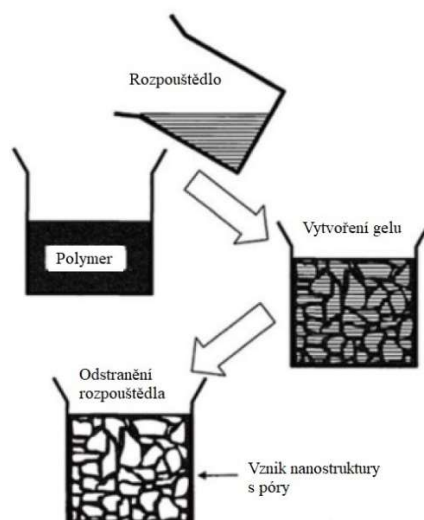


Obr. 4: Technologie drawing, A – přikládání kapiláry ke kapce polymerního roztoku, B – posun kapiláry na okraj kapky, C – odtah kapiláry od kapky, vznik vlákna (Bajáková et al., 2011)

### 1.2.3 Fázová separace

Je využíváno oddělení dvou fyzikálně odlišných fází. Podstatou technologie je příprava homogenní fáze, kdy je polymer rozpuštěn v rozpouštědle. Poté nastává ochlazení na teplotu, při které dochází k vytvoření gelu. Následuje odstranění rozpouštědla z gelu pomocí jiného rozpouštědla. Druhé rozpouštědlo musí být také odstraněno, a to většinou pomocí sublimace při sníženém tlaku. (Petráš et al., 2009) Morfologie se dá řídit výrobními parametry, jako je teplota gelatinace a koncentrace polymeru. Výsledkem je nanovláknenná porézní síť. Používají se především polymery PLLA, PLGA, PDLA, průměr vláken je 50 až 500 nm a pórozita 98,5 %. (Xing et al., 2012)

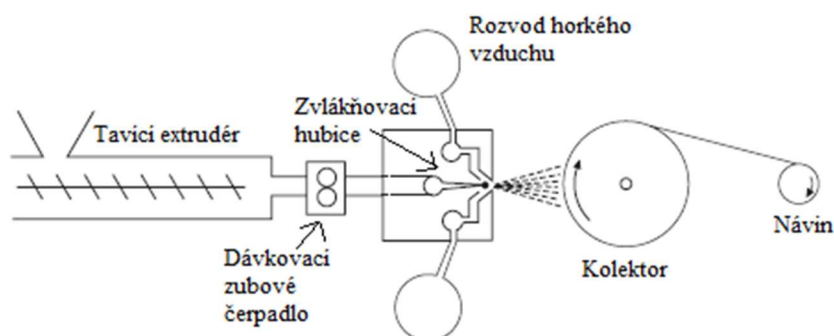




Obr. 5: Schéma technologie Fázová separace (Xing et al., 2012)

#### 1.2.4 Melt-blown

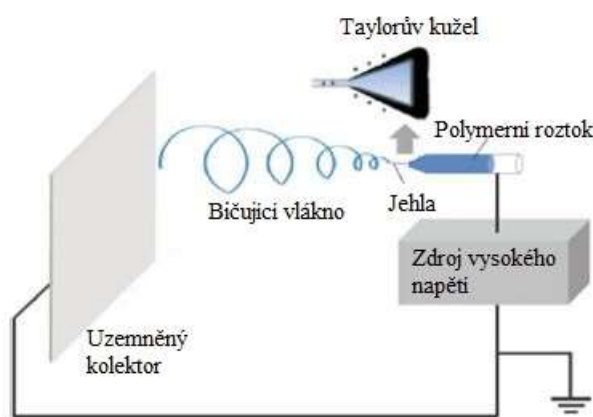
Technologií melt-blown se většinou vyrábějí vlákna a průměru 2-4  $\mu\text{m}$ , je zde však možnost vyrobit jak jemnější, tak i hrubší vlákna. Výsledná vlákna mají velký měrný povrch. V tomto procesu je nejprve polymer roztaven a dopraven k hubici, kde dochází k formování vláken, která jsou strhávána proudem vzduchu. Vzduch, který vlákna také chladí, je strhává na kolektor (sběrný buben nebo pás). Vlákna tvoří na sběrném místě vrstvu a ta musí být pojena. Polymery, používané pro tuto technologii musí být vysoce tekuté a termoplastické. (Jirsák et al., 2003) Použití výsledných materiálů je časté v technických, hygienických a zdravotnických aplikacích, také jako filtry a sorpční textilie. (Erben et al., 2015)



Obr. 6: Schéma technologie Melt-blown

### 1.2.5 Elektrostatické zvlákňování

Metoda elektrostatického zvlákňování je známa od roku 1934, kdy byla poprvé patentována. (Ratner., 2004) Proces je široce používaný díky možnosti používání celé řady polymerů, keramiky a kovů. (Nayak et al., 2012) Pro elektrostatické zvlákňování je potřeba tři komponent: vysoké napětí, kapilára (jehla nebo pipeta) a kovový uzemněný kolektor. (Huang et al., 2003) Princip je v dodání elektrostatického náboje na polymerní roztok či taveninu, vytvoření Taylorova kužele a po přesáhnutí kritického napětí, vytrysknutí bičujícího vlákna, které dopadá na kolektor. Zvlákňuje se buď z roztoku nebo z taveniny (melt electrospinning). Používá se jehlový systém (jedna nebo více jehel v různém postavení) nebo bezjehlový systém (váleček, struna). (Nayak et al., 2012)



Obr. 7: Schéma elektrostatického zvlákňování (Li., 2013)

Pracovní parametry ovlivňující elektrostatické zvlákňování jsou velmi důležité a dělí se na dvě skupiny: parametry procesní a parametry materiálové. Mezi materiálové patří koncentrace, viskozita, molekulová hmotnost, elektrická vodivost roztoku a povrchové napětí. Procesním parametrem je napětí, rychlost dávkování, vzdálenost kolektoru a okolní parametry. (Li., 2013)

### 1.3 Materiály pro přípravu mikro a nanovláknenných materiálů

Vhodným materiálem pro přípravu nanovláken, v tkáňovém inženýrství, jsou přírodní či syntetické degradabilní i nedegradabilní polymery. Mezi nedegradabilní materiály patří například polyethylen, polypropylen, polyethyltereftalát či teflon. (Shastri., 2003) Tyto materiály, ale nejsou biologicky odbouratelné.

### 1.3.1. Biodegradabilní materiály

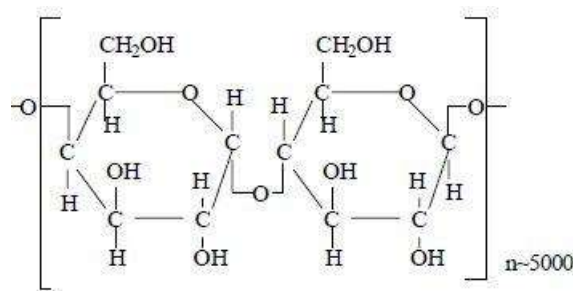
Biodegradabilní materiály musí mít určité vlastnosti a předpoklady. Důležitým předpokladem je biokompatibilita, materiál nesmí vyvolávat zbytečné záněty, či vyvolávat nepříznivé imunitní reakce. Musí být snadno sterilizovatelný, aby nedošlo k infekci. (Zhang et al., 2017) Doba degradace měla odpovídat době hojení či regenerace. Musí mít vhodné mechanické vlastnosti pro jeho aplikaci a musí být dobře zpracovatelný, vzhledem k aplikaci použití. Především produkty degradace materiálu nesmí být toxické. (Nair et al., 2007) V Tab. 2 je přehled biodegradabilních materiálů a jejich vlastností.

Tab. 2: Přehled vybraných biodegradabilních polymerů a jejich vlastností (Zhang et al., 2017)

Polymer	Smáčivost		Mechanické vlastnosti		Degraduje	
	Hydrofilní	Hydrofobní	Dobré	Špatné	Hydrolyticky	Enzymaticky
<i>Přírodní</i>						
Kolagen	✓			✓		✓
Želatina	✓			✓		✓
Chitosan	✓			✓		✓
<i>Syntetické</i>						
PLA		✓	✓		✓	
PGA		✓	✓		✓	
PLGA		✓	✓		✓	
PCL		✓	✓		✓	

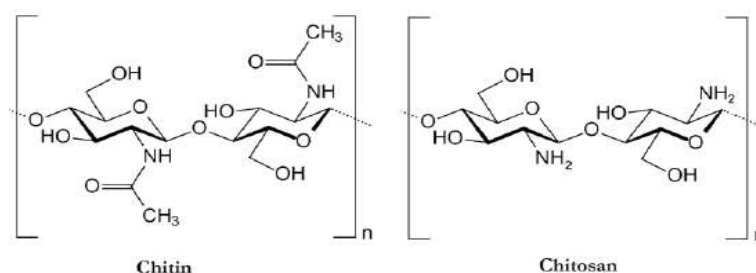
### 1.3.2. Přírodní polymery

Přírodní polymery patří k populárním materiálům, které se používají pro tkáňové inženýrství, mají z pravidla nízkou toxicitu, dobrou biokompatibilitu a zajímavé fyzikálně-chemické vlastnosti. (Zhang et al., 2017) Nejrozšířenější vysokomolekulární látka na zemi je celulóza. Patří mezi polysacharidy, její základní jednotkou je  $\beta$  - D-glukopyranóza. (Militký., 2012) Celulóza má velmi silné intramolekulární vodíkové vazby, to způsobuje její nerozpustnost v běžných rozpouštědlech. Její deriváty jsou ovšem lépe rozpustné. Nanovlákná z celulózy se připravují elektrostatickým zvlákňováním. (Petráš et al., 2009)



Obr. 8: Chemická struktura  $\beta$  - D-glukopyranózy

Dalším polysacharidem je chitin, který je extrahováním ze schránek korýšů nebo je získáván fermentačním procesem. Chitosan je získáván deacetylací chitinu. Může být zpracován do membrán a maticí pro tkáňové inženýrství. Jeho nižší molekulová hmotnost umožňuje zpracování chitosanu do různých forem včetně vláken. (Lukáš et al., 2008) Chitin a chitosan jsou zobrazené na Obr. 9. Další přírodní polysacharidy, které jsou používány v tkáňovém inženýrství je například kyselina hyaluronová.



Obr. 9: Chemická struktura chitinu a chitosanu

Mezi další přírodní polymery, využívané ve tkáňovém inženýrství, patří kolagen. Kolagen se řadí mezi proteiny, jedná se o fibrilární bílkoviny, které tvoří pojivovou tkáň v chrupkách, šlachách, kostech či kůži. Je nerozpustný ve vodě a má skvělé mechanické vlastnosti. Nanovlákná z kolagenu se vyrábí elektrostatickým zvlákněním za použití ekologicky nešetrných rozpouštědel, které ničí kolagenní strukturu a tím se ztrácí jedinečné vlastnosti. (Petráš et al., 2009) Denurací se z kolagenu připravuje želatina. Je rozpustná v běžných rozpouštědlech a také ztrácí mechanické vlastnosti kolagenu. Síťováním lze zamezit rozpustnosti. Výroba nanovláken se provádí elektrostatickým zvlákněním vodného roztoku s kyselinou octovou. (Petráš et al., 2009)

### 1.3.3. Syntetické biodegradabilní polymery

Syntetické biodegradabilní polymery jsou využívány díky jejich degradabilitě především v medicínských aplikacích. (Fakirov., 2015) Nejvíce jsou používány biodegradabilní polyestery, a to hlavně v tkáňovém inženýrství jako scaffoldy. Značnou výhodou je biodegradabilita jejich produktů degradace. Rychlost, jakou je materiál degradován ovlivňuje konstituce polymeru. (Dong et al., 2009) Nejčastější syntetické biodegradabilní polymery jsou zobrazeny v Tab. 3.

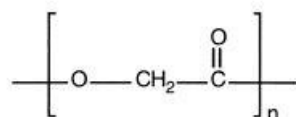
Tab. 3: Přehled biodegradabilních polyesterů používaných v TI, jejich aplikace a degradace (Dong et al., 2009)

Polyester	Struktura	Aplikace	Degradace
PGA		Srdce	Rychlá degradace v některých aplikacích
PLA		Nervy, kosti, srdce, cévní náhrady	Stabilní polymer s delší dobou degradace
Poly(D, L-Laktid)		Kosti, srdce, cévní náhrady	Amorfní struktura, rychlejší degradace než PLA
PLGA		Nervy, kůže, srdce, cévní náhrady	Degradace se dá kontrolovat poměrem PGA:PLA
PCL		Kůže, kosti, srdce, cévní náhrady	Stabilní polymer s delší dobou degradace

#### 1.3.3.1. Kyselina polyglykolová PGA

PGA je nejjednodušší lineární alifatický polyester s vysokým stupněm krystalinity (45-55 %) a vysokou teplotou tání ( $T_m$ : 220-225 °C), teplota skelného přechodu je 35-40 °C. (Lukáš et al., 2008) Je obtížně rozpustná v organických rozpouštědlech. Vlákná z PGA jsou velmi pevná mají vysoký modul pružnosti. Při degradaci PGA dochází

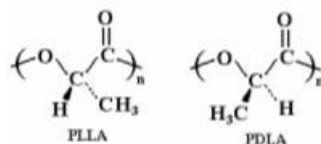
nejprve k hydrataci, ztrátě pevnosti v tahu, která je způsobena štěpením řetězců a následně dochází ke snížení molekulové hmotnosti, K urychlení degradace dochází při použití enzymů. Degradaci ovlivňuje teplota, pH prostředí, molekulová hmotnost a krystalinita. Vzniklý produkt degradace je kyselina glykolová. (Lukáš et al., 2008)



Obr 10: Chemická struktura PGA (Ratner., 2004)

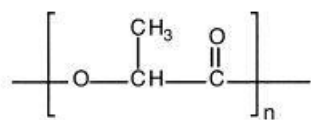
### 1.3.3.2. Kyselina polymléčná PLA

Polylaktidová kyselina neboli kyselina polymléčná je biodegradabilní, termoplastický polymer získávaný z obnovitelných zdrojů jako je kukuřičný škrob nebo cukrová řepa. Kyselina mléčná má chirální uhlík, existují tedy stereoizomerické formy L-laktid a D-laktid.



Obr. 11: Kyselina polymléčná a její isomerické formy (Lima et al., 2009)

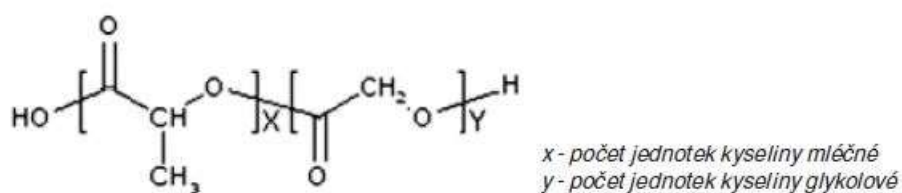
Vlastnosti PLA souvisí s její formou a poměrem, například pro maximální tepelnou stabilitu je potřeba mít směs forem L a D v poměru 50:50. (Lukáš et al., 2008) PLA lze připravit kondenzací kyseliny mléčné nebo polymerací při otevření kruhu cyklického laktidu. Při degradaci PLA nejprve dojde k hydrolytickému štěpení řetězců na kratší řetězce – oligomery. Následně dochází ke snižování molekulové hmotnosti až do rozpadu materiálu. (Drumright et al., 2000) Při degradaci PLA vzniká kyselina mléčná, která je běžně přítomna v lidském metabolismu. (Lukáš et al., 2008)



Obr. 12: Chemická struktura PLA

### 1.3.3.3. Kopolymer kyseliny polylactonové a polyglykolové PLGA

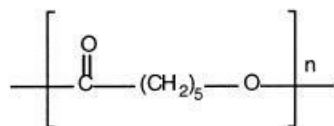
Jedná se o kopolymer složený z monomerů PGA a PLA. Monomery mohou být v kopolymeru uspořádané náhodně nebo blokově. Různé poměry PGA:PLA mají různé vlastnosti, některé jako kopolymer degradují rychleji než samotný homopolymer. (Lukáš et al., 2008) Produktem degradace je kyselina glykolová a kyselina mléčná. Nanovláknenné scaffoldy z tohoto kopolymeru jsou velmi porézní a mají vynikající kompatibilitu. Je velmi oblíbeným polymerem v aplikacích pro tkáňové inženýrství, systém dodávání léčiv nebo jako šicí nitě. (Dong Y. et al, 2009)



Obr. 13: Chemická struktura PLGA (Lukáš et al., 2008)

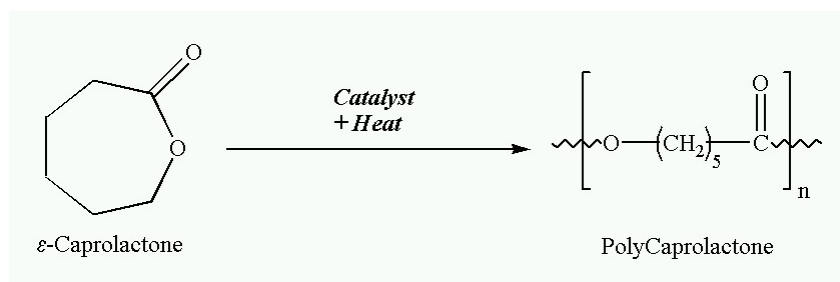
### 1.3.3.4. Polykaprolakton PCL

PCL je hydrofobní, semikrystalický polymer. Je dobře rozpustný, jeho teplota tání je v rozmezí mezi 59 až 64 °C, je dobře kompatibilní ve směsích. Je proto využíván ve výzkumu pro aplikace v biomedicíně. V 70. a 80. letech 19. století během „boomu“ sorbovatelných polymerů byl PCL a jeho kopolymery používány k řízenému dodávání léčiv. Tomuto biopolymeru byla věnována pozornost především díky jeho výhodám oproti jiným biopolymerům v té době. Jako například přizpůsobitelná degradace, kinetické a mechanické vlastnosti a snadné tvarování. Je možné přidat funkční skupiny k vytvoření více hydrofilního, adhezivního nebo více biokompatibilního polymeru. PCL degraduje pomaleji než PGA, byl původně využíván pro dodávání léčiv a pomalu degradujících šicích materiálů (Maxon™). (Woodruff et al., 2010)



Obr. 14: Chemická struktura PCL

PCL se připravuje například polymerací při otevření kruhu cyklického monomeru  $\epsilon$ -caprolactonu (Obr. 15). Pro řízení molekulové hmotnosti se používají různé katalyzátory. Každá metoda polymerace ovlivňuje molekulovou hmotnost a její distribuci, pozici koncové skupiny a chemickou strukturu. (Woodruff et al., 2010). Semikrystalická povaha umožňuje snadnou tvarovatelnost při nízkých teplotách. Molekulová hmotnost může být v rozmezí 3000 až 80000 g/mol. (Woodruff et al., 2010) PCL je rozpustný například v chloroformu, dichlormethanu, benzenu a toulenu. Naopak má nízkou rozpustnost například v acetonu, ethylacetátu a dimethylformamidu. V alkoholu a diethylesteru je nerozpustný.



Obr. 15: Příklad syntézy PCL polymerací při otevření kruhu

Pro změnu vlastností je možné PCL kombinovat s jinými polymery, kompatibilita závisí na poměru. PCL je díky snadné výrobě a nízké ceně vhodný pro výrobu elektrostaticky zvláknovaných nanovláken. Elektrostatické zvláknování reorganizuje polymerní řetězce PCL a výsledná nanovlákná mají méně krystalického podílu než nezpracovaný PCL. Elektrostaticky zvlákněný PCL se používá především v tkáňovém inženýrství. (Dong et al, 2009)

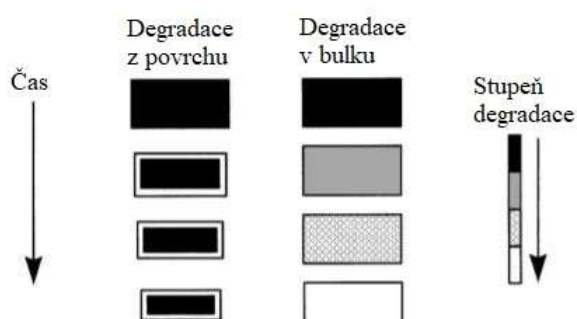


## 1.4. Degradace

Proces degradace se popisuje jako štěpení polymerních řetězců za vzniku oligomerů a nakonec monomerů. Degradace polymerů je velmi důležitá. Rozdíly mezi degradabilními a nedegradabilními polymery jsou nepatrné, protože lze říci, že všechny polymery degradují. Atribut „degradabilní“ se přiřazuje polymerům, které degradují během jejich aplikace, hned po aplikaci nebo v krátké době po aplikaci. Nedegradabilní polymery potřebují výrazně delší dobu. (Gopferich A., 1994) Existují různé typy degradace jako například fotodegradace, tepelná, mechanická či chemická. Všechny biodegradabilní polymery obsahují hydrolyticky štěpitelné vazby, proto je nejdůležitější hydrolytická degradace nebo hydrolytická degradace enzymaticky katalyzovaná. Degradace způsobená biologickým systémem se nazývá biodegradace. (Gopferich A., 1994)

### 1.4.2. Biodegradace

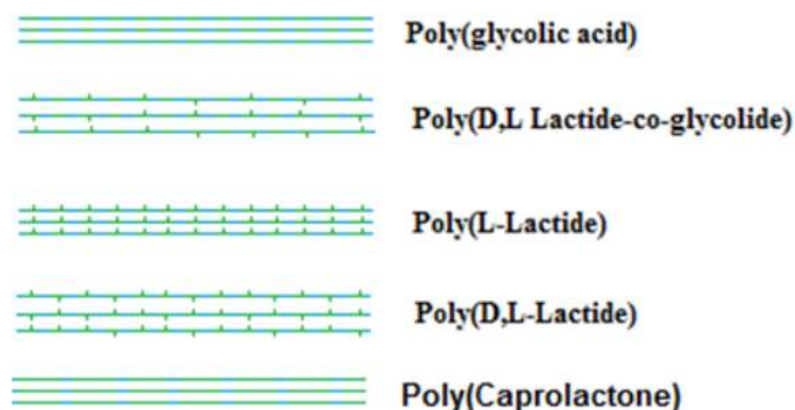
Biodegradace je degradace, která je katalyzovaná enzymem. (Gopferich A., 1994) Její rychlost určuje několik faktorů: molekulární hmotnost polymeru, chemická struktura, stereochemie, smáčivost, mobilita řetězců a krystalinita polymeru. (Rizzarelli et al., 2004) Biodegradace může být povrchová nebo v „bulku“ (v celém objemu). Při degradaci v „bulku“, dochází ke ztrátě hmoty a štěpení řetězců v celém objemu polymeru. Mění se molekulová hmotnost polymeru. Tato degradace je způsobena vodou, kyselinami nebo zásadami. Enzymy působí především na povrchu. Při povrchové degradaci dochází ke štěpení řetězců na povrchu. Krátké polymerní řetězce odpadávají a rozpouštějí se a molekulová hmotnost zbylého polymeru zůstává stále stejná. Na Obr. 16 je schématicky zobrazena degradace povrchová a v bulku. (Lucas et al., 2008)



Obr. 16: Schéma povrchové degradace a degradace v bulku (Von Burkersroda et al., 2002)

### 1.4.3. Biodegradace polyesterů

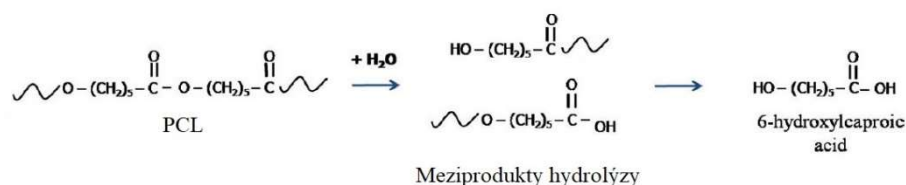
Při degradaci polyesterů dochází k hydrolyze esterové vazby, tvoří se alkoholy a kyseliny. Prostředí může být buď zásadité nebo kyselé. Krystalinita je důležitý parametr při degradaci polyesterů, krystalická oblast hůře propouští vodu, zatímco do amorfni části voda proniká lehce. Stupeň krystalické fáze ovlivňuje rychlost degradace. Další důležitým parametrem je hydrofobicita nebo hydrofilicita částí řetězce. Na Obr. 17 jsou schématicky zobrazené hydrofobní a hydrofilní části polymerní řetězce. U PGA jsou polymerní řetězce velmi blízko u sebe, má vysokou krystalinitu a je hydrofobní, to způsobuje pomalou degradaci. Stejně tak PCL, který má dlouhý alkylový řetězec, který je hydrofobní. Řetězce mohou být opět velmi blízko sebe a tvořit sekundární interakce mezi vazbami. To zamezuje přístup vody, doba degradace je tedy dlouhá. Velmi podobně je na tom PLLA, kdy jsou substituenty methylu orientované pouze na jednu stranu řetězce. To umožňuje řetězcům být velmi blízko u sebe a také špatné pronikání vody. To znamená pomalejší degradaci. Ovšem u kopolymeru poly(D,L Lactide-co-glycolide) a PDLA kde jsou substituenty orientovány zcela náhodně, dochází k rychlejší degradaci. Náhodně orientované substituenty methylu neumožňují řetězcům být blíž u sebe, což způsobuje rychlejší průnik vody mezi řetězce. (Middleton et al., 2000)



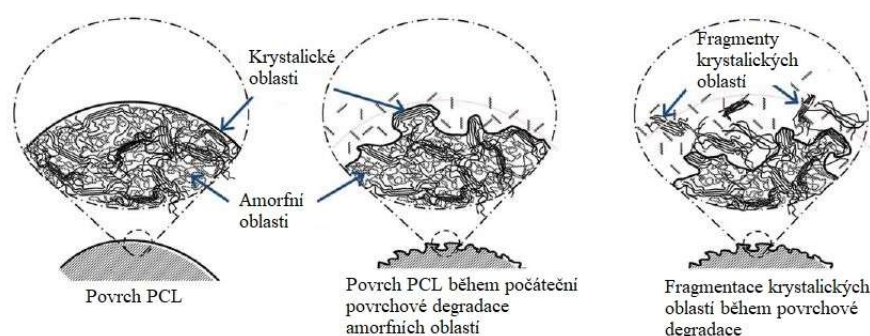
Obr. 17: Schéma hydrofilních (modré) a hydrofobních (zelené) částí polymerních řetězců vybraných polyesterů

PCL degraduje v závislosti na molekulové hmotnosti, stupni krystalinity a podmínkách degradace. Nejprve dojde k degradaci amorfni části polymeru. Štěpí se esterové vazby a vznikají meziprodukty (Obr. 18). Degradace je dále katalyzována karboxylovými kyselinami, které se uvolňují jako produkt hydrolyzy. Rychlejší degradace nastává, když ji katalyzují enzymy. (Labet et al., 2009) Na Obr. 19 je zobrazena povrchová degradace, kdy dochází ke štěpení nejprve v amorfni oblastech na povrchu a následně

k fragmentaci krystalických oblastí. Nakonec dochází k degradaci i v krystalických částech.



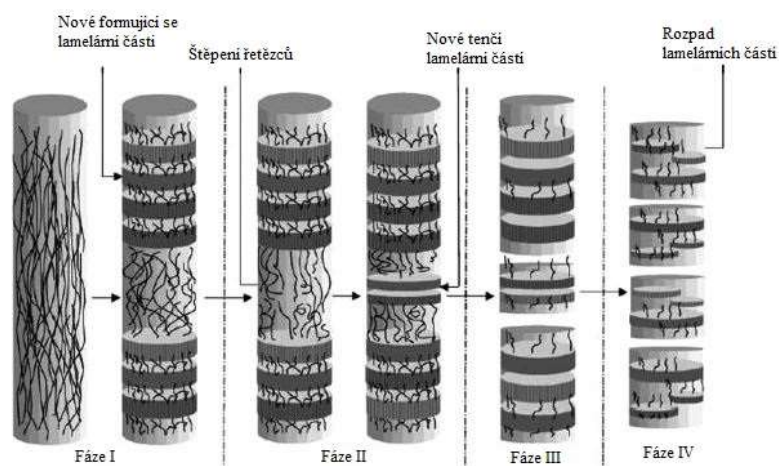
Obr. 18: Mechanismus hydrolytické degradace PCL (Woodruff et al., 2010)



Obr. 19: Schéma povrchové degradace PCL (Woodruff et al., 2010)

#### 1.4.4. Degradace nanovláknenných materiálů

Tato kapitola popisuje degradaci PLGA nanovláken (Obr. 20). Degradace probíhá ve čtyřech fázích. V první fázi dochází k rekrystalizaci, jelikož se teplota inkubace blíží k teplotě skelného přechodu. Protože segmenty polymeru v amorfni fázi, jsou pohyblivé, dochází k přeuspořádání. Vzniká tak dvoufázová lamelární struktura. Ve druhé fázi polymerní řetězce začínají degradovat v amorfni částech. Důvodem je snadnější vniknutí vody do amorfni částí. Následně dochází k jevu „cleavage – induced crystallization“ neboli ke krystalizaci, která je způsobena štěpením řetězců. Vznikají další tenčí lamelární části. Ve třetí fázi se vzorek rozpadá důsledkem rychlejší degradace amorfni částí. Je ztraceno až 40% hmotnosti a vzorek se stává hydrofilnějším díky karboxylovým skupinám, které vznikají při hydrolyze. Při čtvrté fázi dochází k úbytku hmotnosti krystalické části a lamely se rozpadají. (Zong et al., 2003)



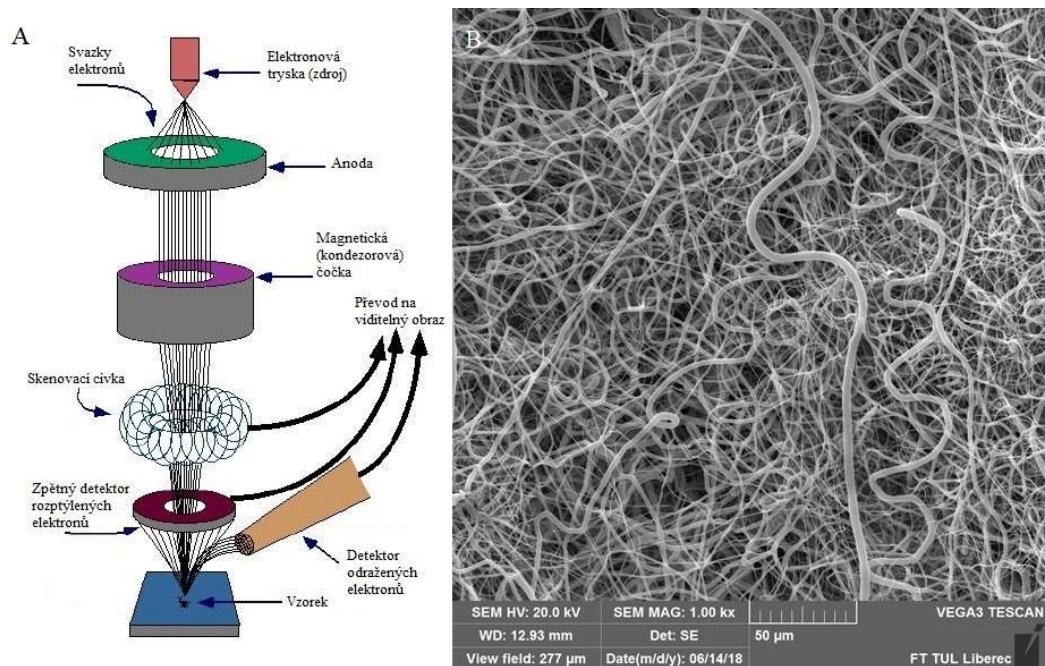
Obr. 20: Schéma degradace nanovláken (Zong et al., 2003)

#### 1.4.5. Hodnocení degradace

Pro vyhodnocení změn, které nastávají při degradaci se využívá různých metod. Degradaci lze hodnotit makroskopicky tedy pohledem na degradovaný vzorek, sledováním úbytku hmotnosti vzorku, dá se hodnotit změna morfologie materiálu, změna molekulové hmotnosti polymeru a změna stupně krystalinity v polymeru. Tyto metody jsou popsány v následujících kapitolách.

##### 1.4.5.1. Změna morfologie materiálu vlivem degradace

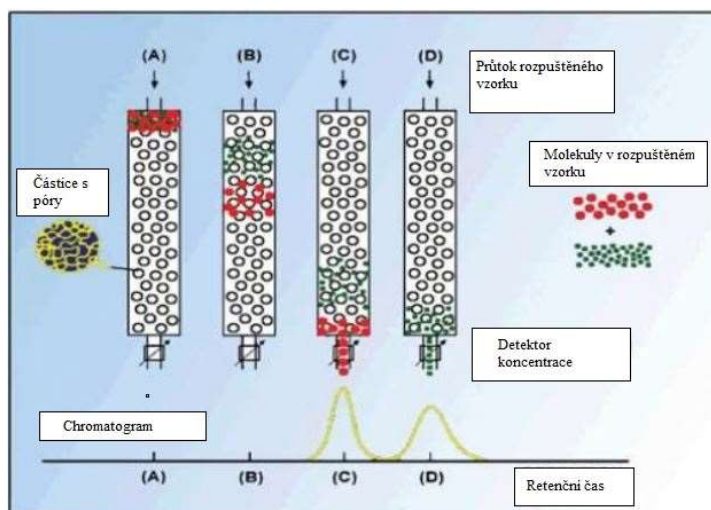
Vlivem degradace dochází ke změně vzhledu a povrchu materiálu. Ne vždy stačí hodnotit pouze makroskopicky, aby byla vidět změna povrchu nanovláken je potřeba použít mikroskop. Pro zhodnocení morfologických vlastností se používají optické a elektronové mikroskopy. Optické mikroskopy využívají viditelné světlo fokusované čočkami, zatímco elektronové mikroskopy používají svazky elektronů, které fokusují pomocí magnetů. Princip elektronových mikroskopů spočívá v použití proudů elektronů ve vakuu. Rastrovací elektronový mikroskop (SEM) využívá tenký proud elektronů, který dopadá postupně na všechna místa na vzorku. Odražený paprsek se přetváří na viditelný obraz. Vzorek musí být pokoven, aby byl vodivý. Kromě rastrovacího elektronového mikroskopu se využívá i transmisní elektronový mikroskop (TEM).



Obr. 21: A - Schéma rastrovacího elektronového mikroskopu, B - snímek s jím pořízený

#### 1.4.5.2. Změna molekulové hmotnosti

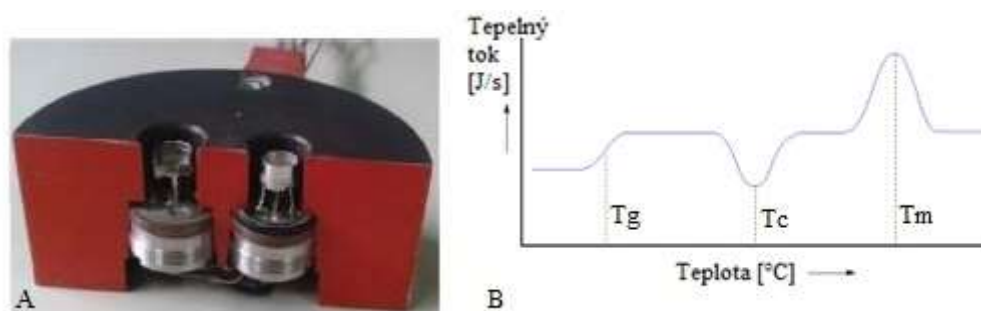
Při degradaci dochází ke štěpení polymerních řetězců na kratší a s tím se mění molekulová hmotnost polymeru. Pro vyhodnocení její změny se nejčastěji využívá gelové permeační chromatografie (GPC). Jedná se separační metodu, která dokáže oddělit části o jiných molekulových hmotnostech. Kolony, které jsou naplněné kulovitými porézními částicemi neionogenního gelu, umožňují separaci makromolekul v roztoku. Kulové částice mají póry o různých velikostech a distribucích. Testovaný materiál musí být rozpuštěn, následně prochází polymerní roztok kolonou. Největší molekuly z roztoku nemohou vniknout do pórů v gelových částicích, proto dochází k jejich vylučování nejdříve. Zatímco menší makromolekuly se v pórech zadržují. Výsledkem je chromatogram, na kterém je závislost mezi intenzitou a retenčním časem. (Šňupárek., 2014)



Obr. 22: Schéma metody gelové permeační chromatografie

#### 1.4.5.3. Změna stupně krystalinity

Velmi používaná metoda tepelné analýzy v oblasti polymerních materiálů je diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC). Při degradaci dochází k přeorientaci polymerních řetězců a vznikají oblasti s různým stupněm krystalinity. DSC určuje množství tepla, které absorbuje nebo vyvine zkoumaný vzorek ve srovnání s referenčním vzorkem. Změny teplotních vlastností vzorků jsou vyhodnoceny izotermicky, jako funkce času nebo konstanty ohřívání nebo chlazení v závislosti na teplotě.



Obr. 23: A - Příčný řez přístrojem Perkin Elmer® DSC 7 (Guo., 2016), B – Schéma výsledného grafu,  $T_g$  – teplota skelného přechodu,  $T_c$  – teplota krystalizace,  $T_m$  – teplota tání

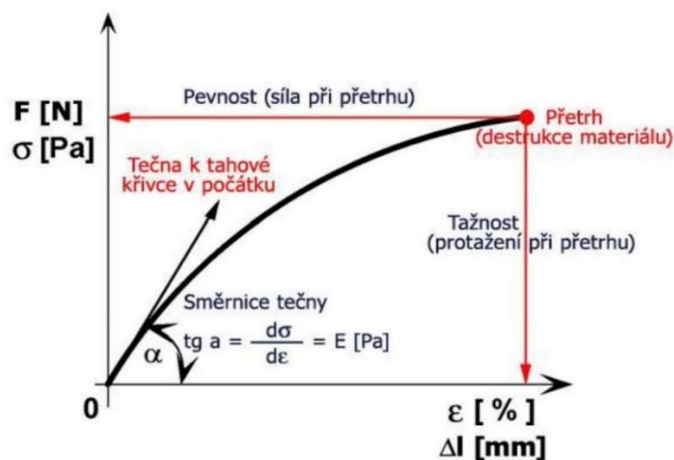
Na Obr. 23 A je zobrazeno zařízení, které je složeno ze dvou separovaných adiabatických pecí, kde je uložen zkoumaný vzorek a referenční vzorek v hliníkové pánvi. Referenčním materiálem bývá vzduch. Každá pec je vybavena odporem a termočlánkem. Napájení pecí je současné, teplota se zvyšuje lineárně s časem. Ke sledování teplot se používají termočlánky. Zařízení pracuje tak, že udržuje rozdíl teplot mezi zkoumaným vzorkem

a referenčním vždy na nule. To se provádí kompenzací dodávaného napětí do vzorku, když dojde k fázové změně nebo tepelnému přechodu, kdy je vyžadováno více nebo méně energie. Kompenzace napětí je přímo úměrná množství tepla, které bylo vedeno do vzorku. (Guo., 2016)

### 1.5. Mechanické vlastnosti

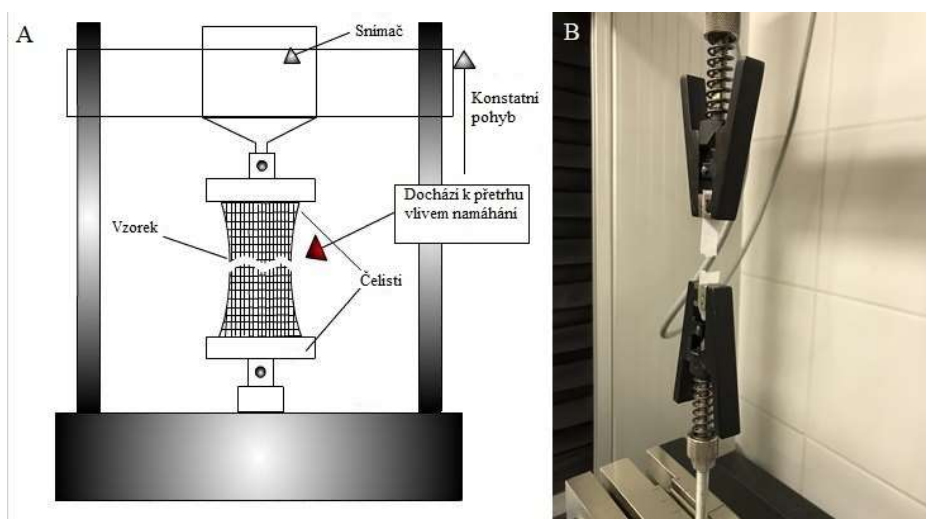
Pro efektivní použití materiálů v tkáňovém inženýrství jsou důležité mechanické vlastnosti materiálů. Při používání může docházet velmi často k mechanickému namáhání, proto je důležité, aby materiály byly mechanicky odolné. Vlastnosti materiálu jako například molekulová hmotnost polymerních řetězců a stupeň krystalické a amorfni fáze ovlivňují mechanické vlastnosti.

Testování mechanických vlastností se provádí různými způsoby. Jednoosé namáhání v tahu nebo tlaku, kdy působí rostoucí síla na materiál a dochází k jeho prodloužení, dokud se nepřetrhne. Výsledkem mechanických testů je graf, označován jako pracovní křivka nebo tahová křivka, která je schématicky zobrazena na Obr 24. Z grafu pracovní křivky lze určit charakteristické hodnoty jako například síla při přetrhu (pevnost), prodloužení či počáteční modul pružnosti. Dále se testuje víceosé namáhání v ohybu nebo krutu. Namáhání je možné opakovat, rozlišuje se na prosté a cyklické. Podle časové délky namáhání lze rozlišit na statické, časově závislé a dynamické. Pokud při namáhání dochází k přetrhu, nazývá se ultimativní. (Militký., 2012) Při mechanickém namáhání dochází v testovaném vzorku ke změně tvaru neboli deformaci, kterou ovlivňuje velikost zatížení, rychlost, jakou je vzorek namáhán a doba trvání zkoušky. (Kovačič., 2004)



Obr. 24: Schéma grafu pracovní křivky

Přístroj, na kterém je možné provádět mechanické testy se nazývá trhačí přístroj neboli trhačka. Schéma trhačího stroje na Obr. 25 A, kde je vzorek upnut do dolní a horní čelisti a jedna nebo obě čelisti vykonávají pohyb, kterým je vzorek namáhán. Síla, která je vzorkem vyvíjena vlivem namáhání, je měřena a zaznamenávána. Zaznamenaná síla odpovídá nějakému prodloužení a tyto veličiny jsou v závislosti – pracovní křivka, zobrazeno na Obr. 24. (Kovačič., 2004)



Obr. 25: A - schéma trhačího stroje pro plošné textilie, B - fotografie trhačího přístroje LabTech 2.050

V praxi může dojít k mechanické degradaci například při stlačení, natažení či smyku. Vzniklá poškození nemusí být často vidět, může docházet pouze k poškození na molekulární úrovni. Mechanické poškození materiálu může urychlit biodegradaci. (Lucas et al., 2008)

Castilla-Cortázar et al., (2012) ve své práci hydrolyticky a enzymaticky degradoval sítě z PCL, kde prováděl i mechanické testování. Testovány byly tři vzorky s různou dobou degradace a nedegradované vzorky. Průměrná tloušťka materiálů na začátku testu byla  $0,75 \pm 0,01$  mm. Namáhal materiál třikrát za sebou v rozmezí zatížení 1 – 400 g, mezi cykly docházelo k zotavení po dobu 1 minuty. Data byla zaznamenávána každých 5 sekund. V tomto experimentu byly hodnoceny moduly pružnosti pro 1. a 3. namáhání a plastické deformace. Tento článek byl prvotní inspirací pro nastavení mechanického testování v této bakalářské práci. Díky obecným požadavkům na mechanické testování a na základě práce a posudku k práci M. Lisnenka (2018) byla vytvořena metoda, kterou bylo možné aplikovat na materiály použité v této práci. Metoda je podrobněji popsána v kapitole 2.1.11.



## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V této práci bylo cílem optimalizovat proces degradace PCL mikro a nanovlákných vrstev pomocí enzymu (Lipáza), dále pak sledování procesu degradace a vliv degradace na mechanické vlastnosti vrstev.

### 2.1. Materiály a metody

Tato kapitola popisuje veškeré materiály, přístroje a metody, které byly použity při degračních experimentech a mechanických zkouškách.

#### 2.1.1. Použité chemikálie

Tab. 4: Chemikálie použité během experimentů

Název	Firma
Azid sodný $\text{NaN}_3$	Sigma – Aldrich, Německo
Chlorid draselný $\text{KCl}$	Analytika, spol. s.r.o., ČR
Chlorid sodný $\text{NaCl}$	Analytika, spol. s.r.o., ČR
Chloroform $\text{CHCl}_3$	Penta
Destilovaná voda $\text{dH}_2\text{O}$	
Dihydrogenfosforečnan draselný $\text{KH}_2\text{PO}_4$	Analytika, spol. s.r.o., ČR
Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Analytika, spol. s.r.o., ČR
Kyselina chlorovodíková $\text{HCl}$	Penta
Lipáza z <i>Pseudomonas cepacia</i>	Sigma – Aldrich, Německo
pH standardy 4.01; 7.00; 10.01	Hamilton Bonaduz AG, Švýcarsko
Tetrahydrofuran $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$	Chromservis, Praha, ČR
PCL $M_n = 80\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	Sigma – Aldrich, Německo
PCL $M_n = 45\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	Sigma – Aldrich, Německo

### 2.1.2. Použité roztoky

Tab. 5: Roztoky použité během experimentů a jejich příprava

Roztok	Příprava
Fosfátový pufr PBS s 0,02% azidem sodným	Pro přípravu 2,5l PBS bylo potřeba navážit 20 g NaCl, 0,5g KCl, 9,075g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *12H <sub>2</sub> O, 0,6g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , to vše bylo přidáno do velké nádoby s 2000 ml dH <sub>2</sub> O. Vše bylo pořádně promícháno a pH bylo upraveno pomocí HCl na hodnotu 7,4. Bylo dolito zbývajících 500ml a vše bylo přefiltrováno přes filtrační papír. Následně bylo přidáno 0,5g NaN <sub>3</sub> .
Roztok PBS s Lipázou	Bylo přidáno vždy 10 mg Lipázy do 100ml roztoku PBS s 0,02% NaN <sub>3</sub> , aby koncentrace Lipázy byla 3U/1ml PBS s 0,02% NaN <sub>3</sub> . Objem roztoku byl pro každý den určován počtem vzorků.

### 2.1.3. Použité přístroje a programy

Tab. 6: Přístroje a programy používané během experimentů

Přístroje a programy	Firma
Analytické váhy - ATL124-I Analytical Scale	Acculab Sartorius Group
Biological Thermostat - BT 120	Laboratorní přístroje Praha
Chromatograf Dionex UltiMate 3000 HPLC	Thermo Scientific
Elektronový mikroskop - Vega 3 <sub>SEM</sub>	Tescan
Hlubokomrazací box MDF-033V	Sanyo Electric
Nanospider™ - NS 1WS500U	Elmarco
Software pro analýzu obrazů – NIS Elements AR 4.30.00	NIS Elements AR 4.30.00
Microsoft Office Excel – tvorba tabulek a grafů	Microsoft Corporation
Microsoft Office Word – psaní textů	Microsoft Corporation
Software – analýza mechanických vlastností - LabTest v.3.21.2138	LaborTech
Trhací stroj - LabTest 2.050	LaborTech
Zlatíci přístroj - Quorum Q150R ES	Quorum technologies

#### 2.1.4. Příprava materiálů pro zvlákňování

Pro výrobu testovaných materiálů bylo potřeba připravit dva polymerní roztoky. První o koncentraci 16% PCL 45 000 g/mol firmy Sigma - Aldrich, rozpuštěného v chloroformu, ethanolu a kyselině octové v poměru 8:1:1 (dále jako CHEKO). Druhý PCL 80 000 g/mol firmy Sigma - Aldrich o koncentraci 10%, rozpuštěný v CHEKO. Následně se polymerní roztoky zvlákňovaly na zařízení Nanospider™ Ing. Kristýnou Havlíčkovou. Zvlákňeny byly tři materiály, 16% PCL 45 000 g/mol v CHEKO byl zvlákňěn dvakrát při rozdílných rychlostech odtahu podkladového materiálu, tudíž výsledný materiál byl ve dvou plošných hmotnostech (vyšší a nižší). Dále byl zvlákňěn jeden materiál z roztoku 10% PCL 80000 g/mol v CHEKO.

#### 2.1.5. Příprava vzorků pro degrační experimenty

Pro experimenty bylo vždy připraveno od každého materiálu na den 4 nebo 6 vzorků. Dále byly připraveny pro každý materiál negativní kontroly, to jsou materiály, ke kterým se přidává médium bez enzymu. Vzorky musely odpovídat hmotnosti  $50 \pm 5$  mg. Pro mechanické testování bylo potřeba mít vzorky ve tvaru 50 x 10 mm a zbytek dovážen na  $50 \pm 5$  mg. Všechny vzorky byly uchovány ve zkumavkách o objemu 15 ml. Před experimentem byly vzorky vysterilizovány 12 hodin v pokojové teplotě v ethylen oxidu.



Obr. 26: Připravené vzorky pro degrační experiment v 15 ml zkumavkách

#### 2.1.6. Metoda degradace

Byl připraven roztok PBS + 0,02% NaN<sub>3</sub> s enzymem, jeho objem se řídil počtem vzorků v určitý den. Ke každému vzorku se přidalo 5 ml PBS + 0,02% NaN<sub>3</sub> s enzymem, pouze do negativních kontrol bylo přidáno PBS + 0,02% NaN<sub>3</sub> bez enzymu. Vzorky byly uchovávány v inkubátoru o teplotě 37 °C. Každý den byl roztok PBS + 0,02% NaN<sub>3</sub> s enzymem i bez enzymu vyměněn a odebrán určitý počet vzorků. Odebrané vzorky byly propláchnuty destilovanou vodou a byly uloženy do destiček s jamkami vystlanými parafilmem. Pro mechanické testování byly každý den čtyři vzorky od každého materiálu propláchnuty a uchovány v destilované vodě, aby nedošlo k jejich vyschnutí. Následně s nimi byla provedena trhací zkouška. Zbylé dva byly vzorky byly pouze propláchnuty a uloženy. Tento postup se opakoval každý den experimentu.

#### 2.1.7. Hodnocení hmotnostního úbytku

Degradované vzorky, uložené v destičkách s jamkami vystlanými parafilmem, byly zváženy na analytických vahách ATL124-I Analytical Scale. Hodnoty byly pečlivě zapsány a byl vytvořen graf.

#### 2.1.8. Příprava vzorků na SEM

Pro snímání vzorků pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu bylo potřeba uštíhnout malý kus suchého vzorku. Na kovový terč byla nalepena oboustranně lepící páska a na to nalepen kus vzorku. Následně byly terče se vzorky pozlaceny na zlatícím přístroji Quorum Q150R ES, kde byla nanesena 10 μm vrstva zlata. Pomocí softwaru NIS Elements AR 4.30.00 se naměřily průměry vláken, pro každý materiál 200 měření z více snímků se zvětšením 5000x.

#### 2.1.9. Příprava vzorků na GPC

Na gelovou permeační chromatografii bylo potřeba připravit vzorky o hmotnosti 4 mg. Vzorky byly rozpuštěny v 4 ml tetrahydrofuranu, zvortexovány a filtrovány pomocí stříkačkového mikrofiltru s velikostí pórů 0,45 μm. Samotné měření probíhalo na přístroji Dionex UltiMate 3000 HPLC. Z výsledných dat byl sestaven chromatogram.

#### 2.1.10. Příprava vzorků pro DSC

Navážka materiálu byla 4 – 10 mg. Vzorek se vkládá do kelímku s víčkem, které má díрку. Vzorky musí být rozprostřeny na dně kelímku. Vzorky byly pomocí lisu zalisovány. Vzorek v kelímku umístil do pravé cely, v levé byl referenční kelímek bez vzorku. Výsledkem měření je graf s křivkou, kde plocha pod křivkou určuje entalpii fázového přechodu.

#### 2.1.11. Mechanické testování

Mechanické zkoušky byly prováděny na trhacím stroji Lab Tech 2.050. Testovaný vzorek byl, po vyjmutí z media, uchováván v destilované vodě, než byl upnut do tenkých čelistí (Obr. 27). Upínací délka byla 20 mm a rychlost 20 mm/min. Kromě degradovaných vzorků byly také testovány negativní kontrol (vzorky, které byly v PBS + 0,02% NaN<sub>3</sub> bez enzymu). První dva vzorky byly namáhány do přetrhu, z maximálních hodnot sil byly stanoveny průměry a přesně polovina těchto průměrů sloužila jako nastavená hodnota maximální síly při cyklickém namáhání. Cyklické namáhání mělo 5 cyklů, po pátém cyklu následovalo namáhání až do přetrhu. Jedná se tedy o ultimativní namáhání. Výstupem jsou číselná data, která se dají zpracovat do grafu.

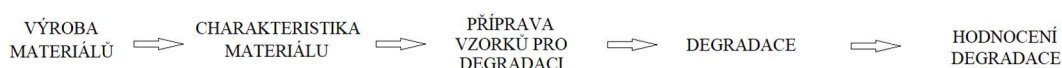


*Obr.27: Testovaný vzorek upnutý do tenkých čelistí na přístroji LabTech 2.050*

## 2.2. Výsledky a diskuze

Cílem práce bylo optimalizovat, sledovat a vyhodnotit enzymatickou degradaci nanovlákněných materiálů a změnu mechanických vlastností vlivem degradace. Enzymem použitým při degradaci byla Lipáza z *Pseudomonas Cepacia*. Degradace byla hodnocena hmotnostním úbytkem, změnou morfologie pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM), změnou molekulové hmotnosti polymeru pomocí gelové permeační chromatografie (GPC) a změnou krystalinity polymeru pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC). Probíhalo také mechanické testování, kdy byly degradované materiály namáhány tahem do přetrhu a cyklicky. Hodnotí se vliv stupně degradace na mechanické vlastnosti materiálu.

V této kapitole je popsána základní charakteristika vstupních materiálů, optimalizace degradace a dále testování mechanických vlastností v závislosti na stupeň degradace. Základní schéma průběhu experimentu je na Obr. 28.



Obr. 28: Základní schéma průběhu experimentu

### 2.2.1. Charakteristika vstupních materiálů

Níže je popsána výroba a základní charakteristika vstupních materiálů, které byly použity při degradačních experimentech. Je zkoumána plošná hmotnost, morfologie a průměry vláken.

Pro tuto práci byly připravené tři materiály. 16% PCL s molekulovou hmotností 45 000 g/mol vyšší plošná hmotnost, dále v značen jako PCL45\_A, 16% PCL s molekulovou hmotností 45 000 g/mol nižší plošná hmotnost, značen PCL45\_B, a 10% PCL s molekulovou hmotností 80 000, značen PCL80. Rozpouštědlový systém byl chloroform, ethanol a kyselina octová v poměru 8:1:1. Materiály byly zvlákněny na stroji Nanospider<sup>TM</sup> – NS 1WS500U firmy Elmarco Ing. Kristýnou Havlíčkovou. Pro větší přehlednost byla vytvořena Tab. 7.

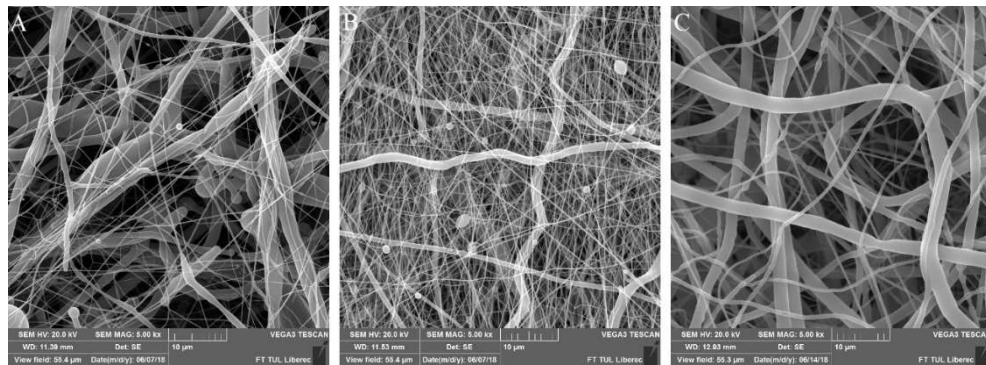
Tab. 7: Připravené polymerní roztoky a rozpouštědlový systém, zvlákněný materiál a jeho název v práci

Polymerní roztoky	Materiál	Název v práci
16 hm % PCL molekulová hm. 45000 g/mol v rozpouštědlovém systému chloroform, ethanol, kyselina octová v poměru 8:1:1	PCL 45000 g/mol vyšší plošná hmotnost	PCL45_A
16 hm % PCL molekulová hm. 45000 g/mol v rozpouštědlovém systému chloroform, ethanol, kyselina octová v poměru 8:1:1	PCL 45000 g/mol nižší plošná hmotnost	PCL45_B
10 hm % PCL molekulová hm. 80000 g/mol v rozpouštědlovém systému chloroform, ethanol, kyselina octová v poměru 8:1:1	PCL 80000 g/mol	PCL80

Tab. 8: Parametry zvláknování na přístroji Nanospider<sup>TM</sup>

Parametry zvláknování	PCL45_A	PCL45_B	PCL80
Napětí [kV]	+ 30/ -10	+ 30/ -10	+ 30/ -10
Odtah podkladové textilie [mm/min]	11	22	15
Vzdálenost kolektoru od textilie [mm]	185	186	180
Rychlost cartridge [mm/sec]	330	329	330
Odtah struny	14	14	15
Průtah [mm]	0,6	0,6	0,6
Teplota [°C]	24,8	24,6	25,2
Vlhkost [%]	37,30	42,30	35,80

Pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu byly nasnímány snímky vstupního materiálu v různých zvětšeních, na kterých je vidět rozdílná morfologie materiálů. Na Obr. 29 jsou snímky ve zvětšení 5000x.



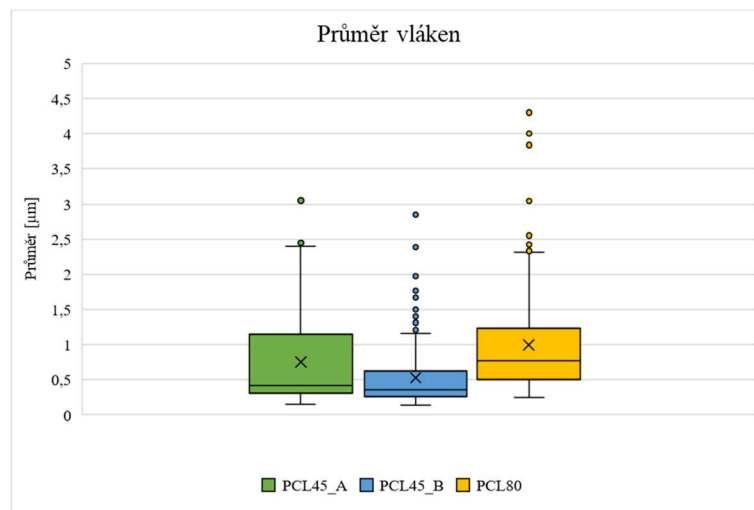
Obr 29: Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu vstupních materiálů A – 16% PCL 45000 vyšší plošná hmotnost, B – 16% PCL 45000 nižší plošná hmotnost, C – 10% PCL 80000

Průměry vláken byly měřeny v softwaru NIS Elements AR 4.30.00. Kde byly proměřovány SEM snímky o zvětšení 5000x. Bylo provedeno 200 měření pro každý materiál a nalezena průměrná hodnota a směrodatná odchylka (Tab. 9 a Graf 1). Materiál PCL80 má největší průměry vláken, konkrétně má průměrnou hodnotu  $0,992 \pm 0,675$  [ $\mu\text{m}$ ]. Nejmenší průměry má materiál PLC45\_B a to  $0,527 \pm 0,451$  [ $\mu\text{m}$ ]. Byly také hodnoceny 95% intervaly spolehlivosti průměrů vláken. Pro zjištění plošné hmotnosti bylo z různých částí vstupního materiálu bylo vystřiženo 5 vzorků o velikost 10x10 cm. Vzorky byly zváženy a hodnoty byly statisticky vyhodnoceny (Tab. 9). Tloušťkoměrem byly měřena tloušťka suchých materiálů. Bylo naměřeno 10 hodnot pro každý materiál. Následně byly naměřené hodnoty statisticky vyhodnoceny (Tab. 9)

Tab. 9: Průměrné hodnoty průměrů vláken, plošné hmotnosti a tloušťky vláken a 95% intervaly spolehlivosti průměrů vláken vstupních materiálů  $\pm$  směrodatná odchylka

Materiál	Průměr vláken [ $\mu\text{m}$ ]	95% IS průměrů vláken [ $\mu\text{m}$ ]	Plošná hmotnost [ $\text{g}/\text{m}^2$ ]	Tloušťka [mm]
PCL45_A	$0,752 \pm 0,62$	(0,66;0,84)	$26,7 \pm 2,32$	$0,174 \pm 0,02$
PCL45_B	$0,527 \pm 0,45$	(0,46;0,58)	$18,8 \pm 4,19$	$0,132 \pm 0,02$
PCL80	$0,992 \pm 0,67$	(0,9;1,08)	$10,1 \pm 0,97$	$0,122 \pm 0,018$





Graf 1: Krabicové grafy průměrů vláken, × zobrazuje střední průměrnou hodnotu

Byla také hodnocena smáčivost pomocí kontaktního úhlu. Jelikož mají nanovláknenné vrstvy velmi pórovitou strukturu, je velmi těžké kontaktní úhel změřit. Ve většině případů dochází k rychlému vsáknutí kapky. Vstupní materiál je tedy hodnocen jako smáčivý. Struktura měřeného materiálu ovlivňuje velikost kontaktního úhlu, jiné hodnoty je možné naměřit na folii a jiné na vláknenné vrstvě ze stejného materiálu. Smáčivost materiálu ovlivňuje drsnost povrchu vláken a povrchové napětí vláken, které je ovlivněno vzduchem zachyceným v pórech mezi vlákny. (Szewczyk et al., 2018)

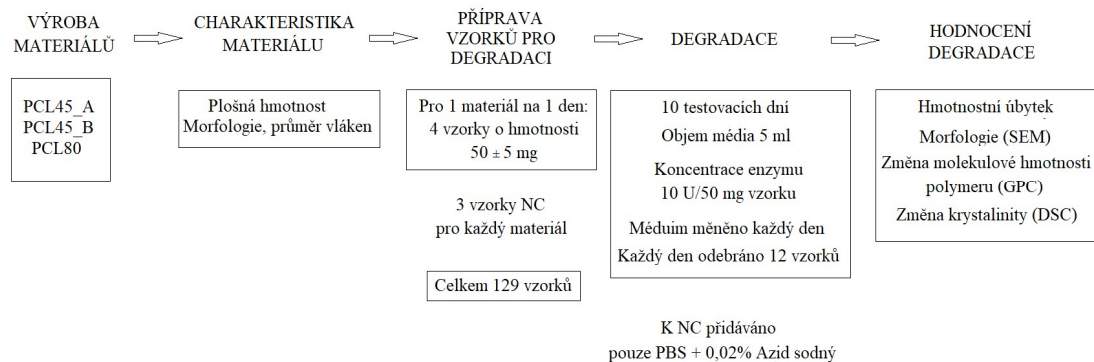
### 2.2.2. Optimalizace podmínek degradace

Tato práce navazuje na práci M. Lisnenka (2018), který degradoval PCL a PLCL a Blendy těchto polymerů v různých poměrech. PCL bylo degradováno Lipázou, PLCL Proteinázou K a Blendy byly degradovány oběma enzymy. Degradace probíhala 4 dny, stejně tak i mechanické testování. Autor pro další experimenty doporučuje prodloužit dobu degradace, aby mechanické chování bylo možné studovat detailněji v závislosti na postupné degradaci materiálu. Tato práce je zaměřena pouze na degradaci PCL, snaží se zpomalit dobu degradace a tím jí prodloužit na 10 dní.

#### 2.2.2.1. Příprava materiálů a nastavení degradace

Degradační experiment byl sestaven tak, aby na každý den od každého materiálu byly 4 vzorky o hmotnosti  $50 \pm 5$  mg. Testovacích dní bylo 10. Dohromady bylo 129 vzorků z toho 9 vzorků negativní kontroly. Objem média u každého vzorku byl 5 ml. Množství Lipázy bylo zvoleno 10 U/50 mg vzorku na 5 ml média. K negativním kontrolám byl

přidávám pouze roztok PBS s 0,02% azidem sodným. Každý den bylo médium vyměněno a odebráno od každého materiálu 4 vzorky, celkem 12 vzorků. Na následujícím Obr. 30 je celé schéma od výroby materiálu, přes degradaci, až po hodnocení.

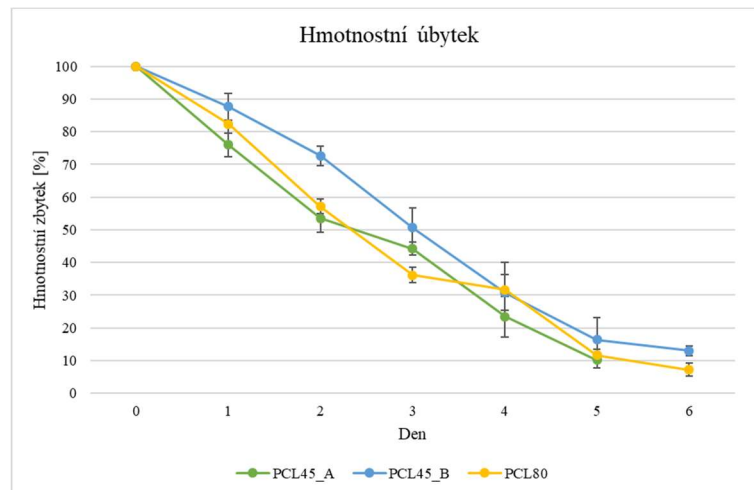


Obr 30: Schéma průběhu degradačního experimentu

#### 2.2.2.2. Analýza průběhu degradace

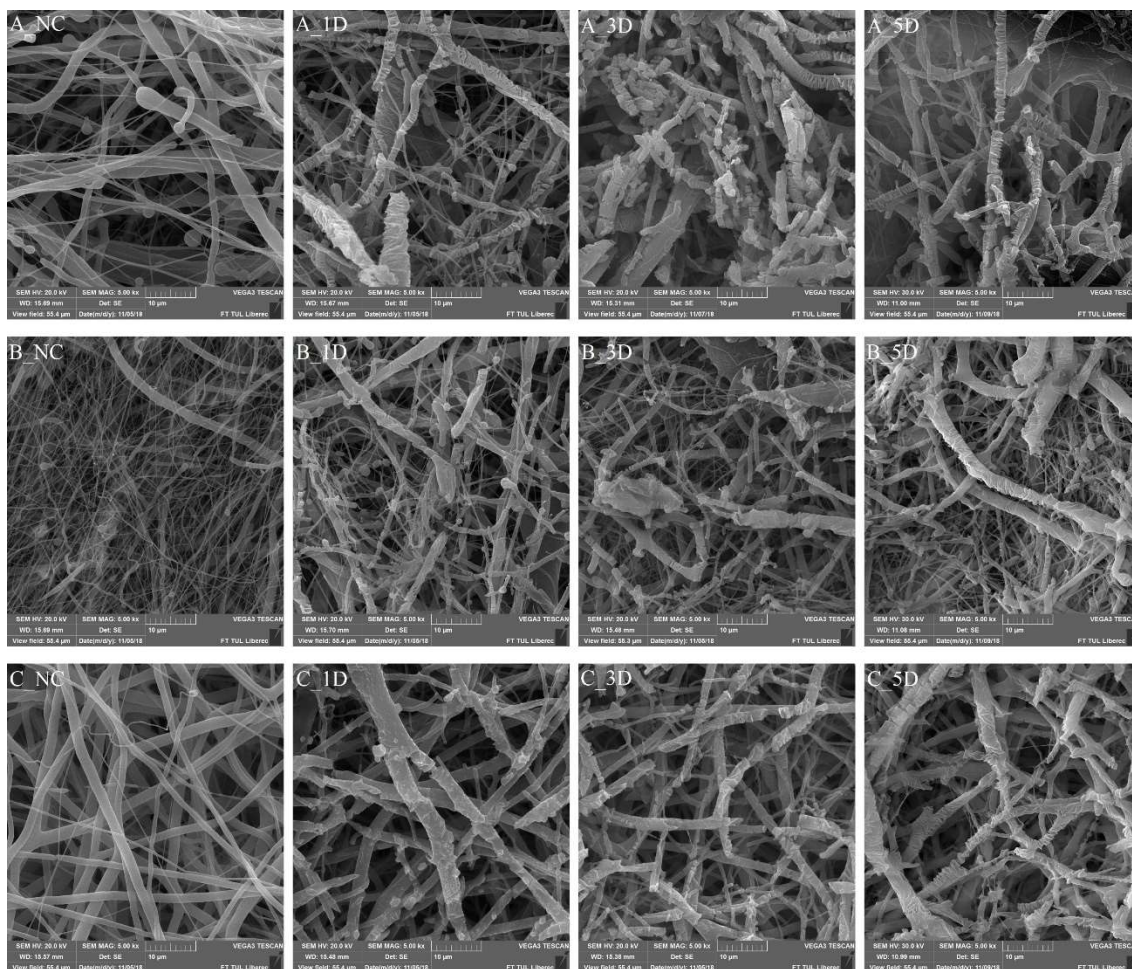
V této kapitole je analyzován průběh degradace. Je sledován hmotnostní úbytek materiálu v průběhu degradace v závislosti na původní hmotnosti. Změna morfologie materiálů a vláken je sledována pomocí SEM snímků. Dále se je zde vyhodnocena změna molekulové hmotnosti polymeru pomocí gelové permeační chromatografie a změna krystalinity polymeru.

Vlivem degradace dochází ke štěpení polymerních řetězců a materiál se rozpadá. Snižuje se tedy jeho hmotnost. Lze tedy určit procentuální úbytek hmotnosti. Pomocí metody v kapitole 2.1.7. byly zváženy degradované vzorky a ze zaznamenaných dat byl sestaven graf (Graf 2). Z grafu je patrné, že 5. den degradace byl hmotnostní úbytek u všech materiálů téměř 100%. Na základě těchto výsledků byla v navazujícím experimentu snížena koncentrace Lipázy na polovinu, aby degradace probíhala 10 dní.



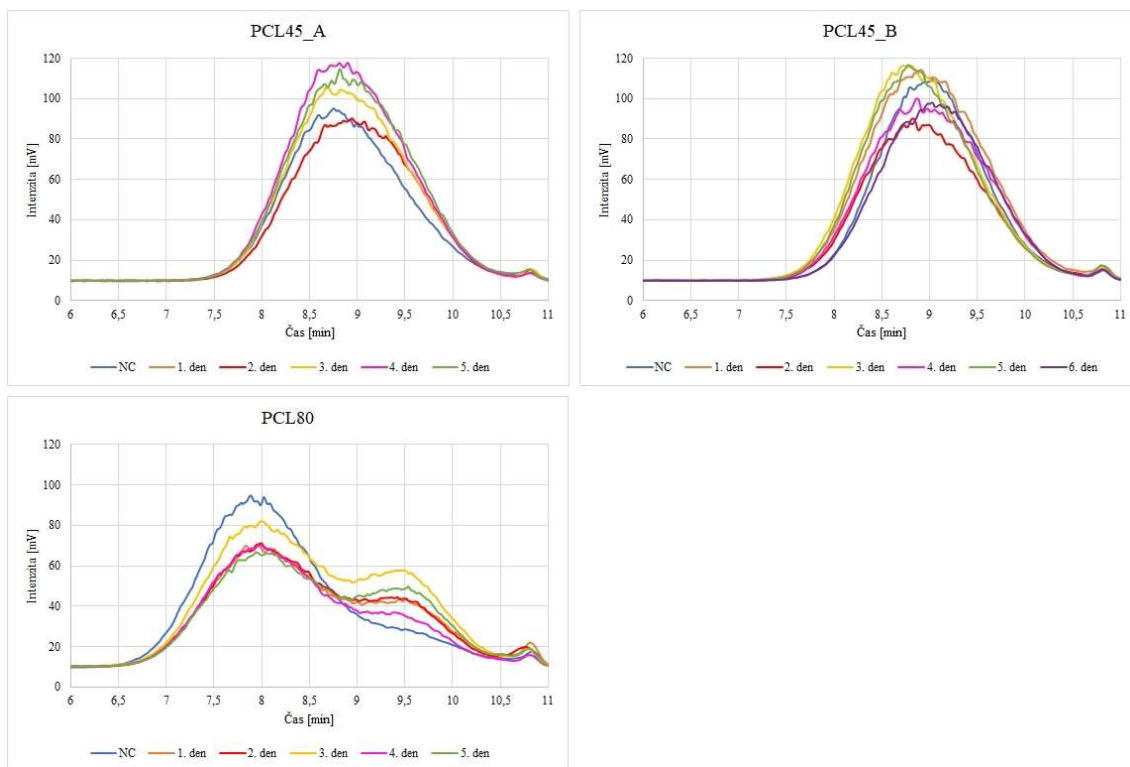
*Graf 2: Průměrný hmotnostní úbytek v procentech  $\pm$  směrodatná odchylka pro jednotlivé materiály, pro 0. až 6. den degradace*

Na rastrovacím elektronovém mikroskopu byly pořízeny snímky materiálů každý den degradace, které zobrazují, jak se změnila morfologie vláken. Obr. 31 jsou zobrazené SEM snímky pro negativní kontroly 1., 3. a 5. den degradace pro jednotlivé materiály. Při srovnání snímků negativních kontrol s dalšími dny, lze vidět, že k degradaci dochází. Snímky také ukazují, že degradace probíhá podle mechanismu, který je popsán v kapitole 1.4.4. Nejprve dochází k degradaci na povrchu, poté degraduje amorfni část, vznikají další lamelární části a vlákna se „drobí“. Již v prvních dnech degradují tenká nanovlákna, která zcela mizí. Tvorba krystalických lamel způsobují „nanostrukturování“ povrchu vláken. Následně dochází i k degradaci krystalických lamel.



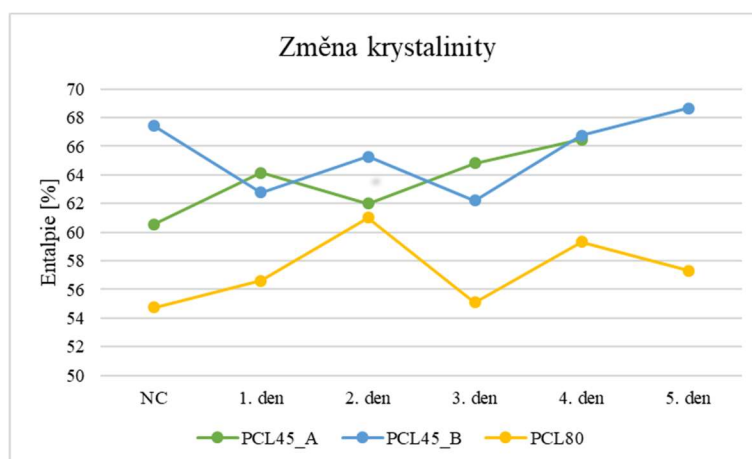
Obr. 31: Snímky SEM pro jednotlivé materiály pro NC, 1., 3. a 5. den degradace. A – PCL45\_A, B – PCL45\_B, C – PCL80

Při degradaci dochází také ke změně molekulové hmotnosti polymeru vlivem štěpení řetězců. Pro hodnocení této změny byla použita metoda permeační gelové chromatografie s detektorem založeným na rozptylu světla. Chromatogramy (Obr. 29) materiálů PCL45\_A a PCL\_B, zobrazují, že ke změně molekulové hmotnosti nedochází. To je způsobeno tím, že tyto materiály mají nižší molekulovou hmotnost a také jsou ve formě nanovláken. Rychleji vznikají produkty s nízkou molekulovou hmotností, které jsou rozpustné, tudíž okamžitě disociují do prostředí. PCL80 má vyšší molekulovou hmotnost a průměry vláken jsou větší. Proto u tohoto materiálu zůstávají polymerní řetězce částečně štěpené déle a nedochází k rychlému rozpuštění a disociaci do prostředí.



Obr. 32: Chromatogramy pro jednotlivé materiály ukazující změnu molekulové hmotnosti, pro 1. až 5. případně 6. den degradace

Pomocí metody DSC byla sledována změna krystalinity polymeru. V Grafu 3 je možné vidět, že krystalinita u PCL45\_A a PCL45\_B stoupá. To je v souladu s mechanismem degradace pospaným v kapitole, že během degradace vznikají nové krystalické oblasti. U materiálu PCL80 krystalinita nestoupá a je nižší.



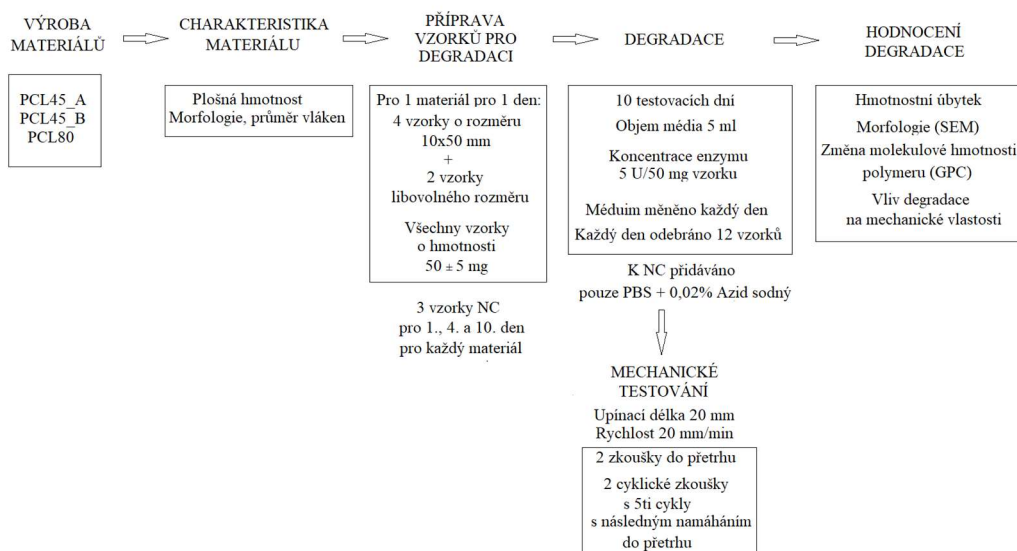
Graf 3: Změna krystalinity během 1. až 5. dne degradace jednotlivých materiálů a negativních kontrol

### 2.2.3. Testování mechanických vlastností v závislosti na stupeň degradace

Tento experiment navazuje na předchozí optimalizaci degradace. Bylo zjištěno, že koncentrace enzymu byla příliš vysoká a docházelo k rychlé degradaci. V tomto experimentu byla koncentrace Lipázy snížena na 5 U/50 mg vzorku, aby docházelo k pomalejší degradaci. Také byl navýšen počet vzorků. Současně s degradací probíhalo mechanické testování. Degradované vzorky byly namáhány tahem do přetrhu a cyklicky. Hodnotil se hmotnostní úbytek materiálů, změna morfologie, změna molekulové hmotnosti polymeru a mechanické vlastnosti v průběhu degradace.

#### 2.2.3.1. Příprava vzorků a nastavení degradace

Při druhém experimentu byly sníženy jednotky enzymu na 5 U/50 mg vzorku. Objem média zůstal stejný 5 ml. Hmotnost vzorků opět  $50 \pm 5$  mg. Pro každý den bylo od každého materiálu připraveno 6 vzorků. Z toho 4 byly připraveny o rozměrech 10x50 mm pro mechanické testování a zbytek dovážen do již zmiňované hmotnosti. Celkem tedy 207 vzorků, z toho 27 negativních kontrol. Každý den bylo odebráno 18 vzorků z toho bylo 12 bylo propláchnuto a uchováno v destilované vodě a následně podrobena mechanickým zkouškám.

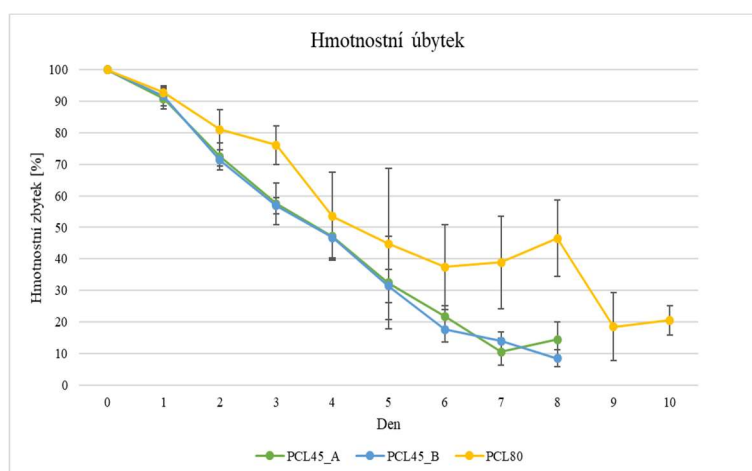


Obr. 33: Schéma přípravy vzorků a optimalizace degradace

### 2.2.3.2. Analýza průběhu degradace

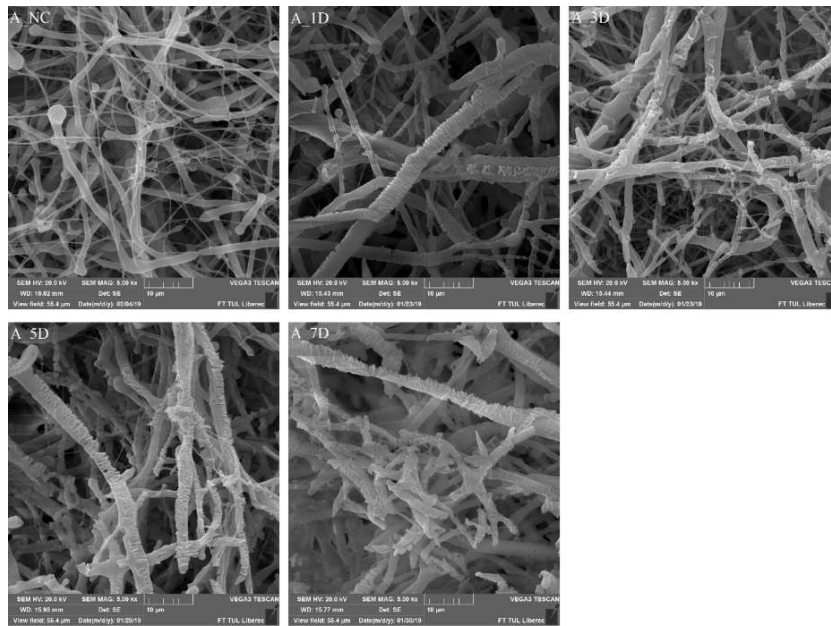
Pro vyhodnocení degradace byl sledován hmotnostní úbytek, změna morfologie a změna molekulové hmotnosti polymeru.

Z dat, vyhodnocených metodou hmotnostního úbytku popsané v kapitole 2.1.7., byl sestaven Graf 4. Materiály PCL45\_A a PCL45\_B mají již 6. den 20% hmotností úbytek. Materiál PCL80 degradoval výrazně pomaleji, v 6. den je jeho hmotnostní úbytek zhruba 40%. U materiálu PCL80 je vidět odchylka od klesajícího trendu křivky. To je dáno nehomogenitou materiálu a vysokou variabilitou, to ukazují i velké směrodatné odchylky.

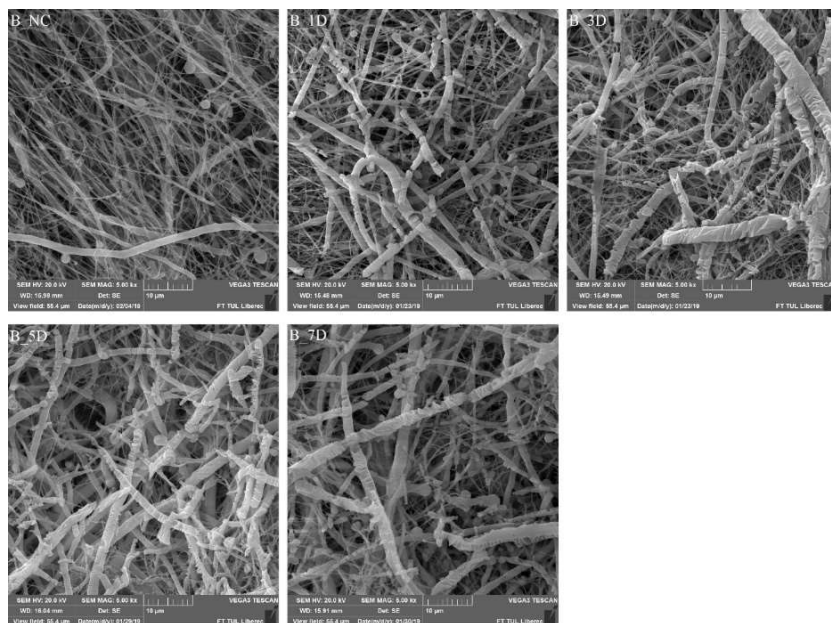


Graf 4: Průměrný hmotnostní úbytek v procentech  $\pm$  směrodatná odchylka pro jednotlivé materiály, pro 0. až 10. den degradace

Degradované materiály byly nasnímány rastrovacím elektronovým mikroskopem. Zde jsou snímky negativních kontrol, 1., 3., 5., 7., a případně 9. dnů pro jednotlivé materiály. Opět při porovnání NC s dny degradace, je patrné, že k degradaci dochází. A to podle mechanismu, který je popsán v kapitole 1.4.4. Nejprve degradovala amorfni část, tvoří se nové krystalické lamelární oblasti, vlákna se „drobí“ a následně degradovaly i krystalické oblasti.

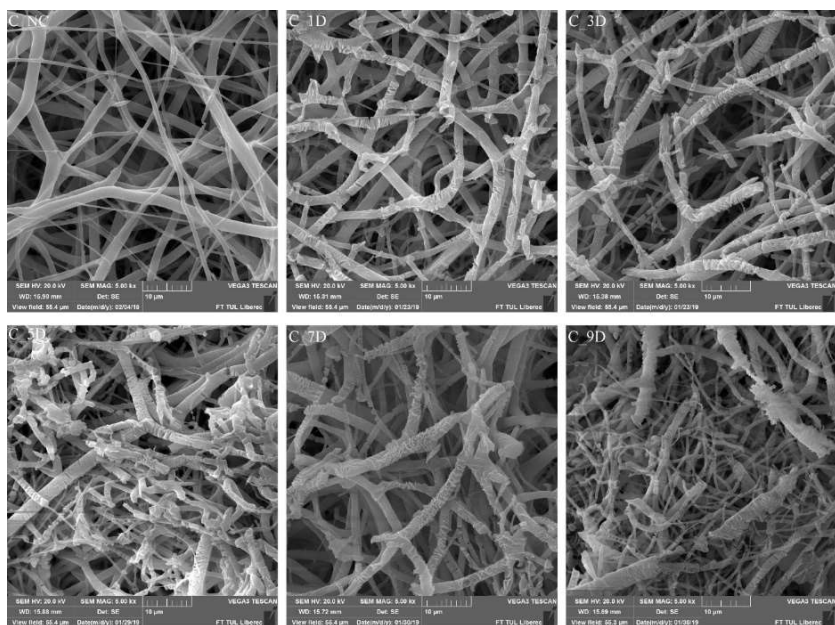


Obr. 34: SEM snímky materiálu PCL45\_A, pro NC, 1. den, 3. den, 5. den a 7. den



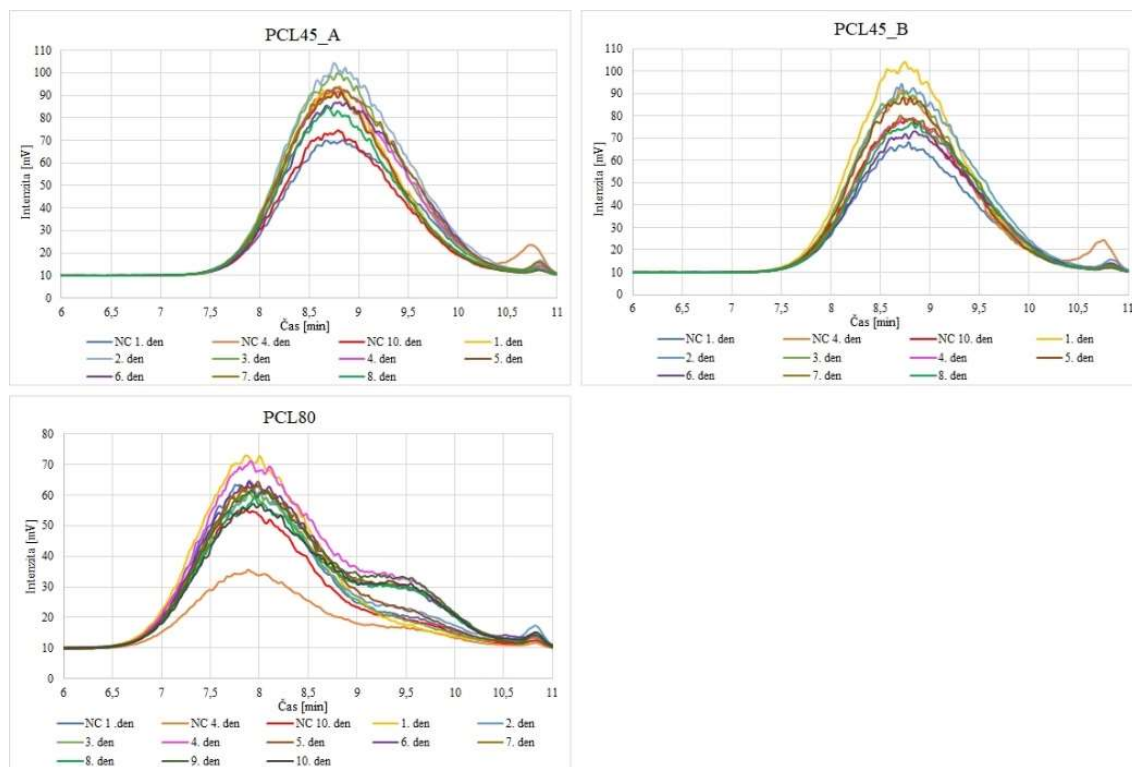
Obr. 35: SEM snímky materiálu PCL45\_B, pro NC, 1. den, 3. den, 5. den a 7. den





Obr. 36: SEM snímky materiálu PCL80, pro NC, 1. den, 3. den, 5. den, 7. den a 9. den

V tomto experimentu byla také hodnocena změna molekulové hmotnosti. Dá se říct, že výsledky jsou velmi podobné výsledkům z předchozího experimentu. Z chromatogramů (Obr. 37) je zřejmé, že u materiálů PCL45\_A a PCL45\_B nedošlo ke změně molekulové hmotnosti. Tyto materiály mají nižší molekulovou hmotnost polymerů a menší průměry vláken, proto došlo rychleji k rozštěpení řetězců na povrchu materiálu a jejich rozpuštění a disociaci do prostředí. Zatímco u PCL80, který má vyšší molekulovou hmotnost a větší průměry vláken, došlo k částečnému rozštěpení řetězců a nedošlo k jejich rozpuštění a disociaci.



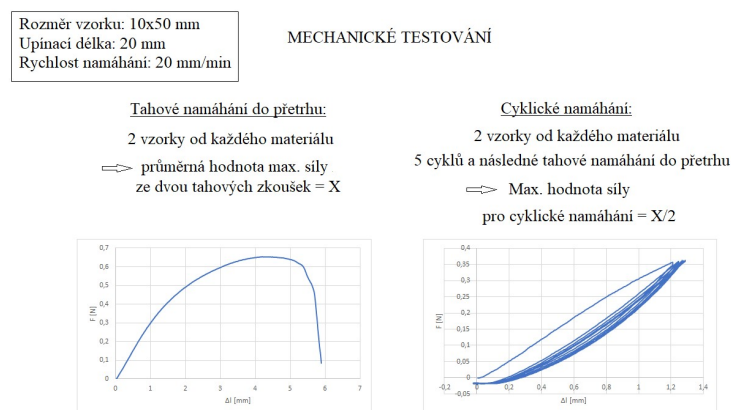
Obr. 37: Chromatogramy jednotlivých materiálů ukazující změnu molekulové hmotnosti, pro 1. až 8. případně 10. den degradace

Z kapacitních důvodů nebyly výsledky změny krystalinity degradovaných materiálů, pro testování mechanických vlastností v závislosti na stupni degradace, v době odevzdávání této práce, k dispozici.

### 2.2.3.3. Mechanické vlastnosti testovaných materiálů

Mechanické testování probíhalo podle metody popsané v kapitole 2.1.11. Byly vždy namáhány dva vzorky tahem do přetrhu. Z průměrné hodnoty maximální síly dvou tahových namáhání, byla nastavena polovina této hodnoty jako maximální síla pro cyklické namáhání. Cyklické namáhání mělo vždy pět cyklů, po pátém cyklu byl vzorek namáhán do přetrhu. Schéma mechanického testování je na Obr. 38. Hodnocené parametry jsou maximální síla do přetrhu, tažnost, napětí a počáteční modul tažnosti. Z dat pro cyklické namáhání byla hodnocena maximální síla do přetrhu po pěti cyklech, tažnost po pěti cyklech a nárůst tažnosti během pěti cyklů. Byly také hodnoceny 95% intervaly spolehlivosti, které jsou v příloze 3. Pro většinou hodnocených vlastností byly testovány pouze dva vzorky (pro jeden den), kvůli časové náročnosti degradačního experimentu. Nehomogenost materiálu, vysoká variabilita a malé množství vzorků mají za následek velké směrodatné odchylky. Mechanické testování probíhalo od 1. dne

až po 6. den degradace, jelikož další dny nebylo možné degradované vzorky testovat, pro příliš vysoký stupeň degradace. V následujících tabulkách a grafech jsou zobrazeny výsledky pouze do 4. dne degradace, protože data pro 5. a 6. den byla velmi variabilní a pro některé vlastnosti nebylo vůbec možné je naměřit. A proto v následujících tabulkách a grafech některé hodnoty chybí (chybějící hodnoty jsou značeny „-“). Při některém testování byl testován pouze jeden vzorek opět z důvodu vysokého stupně degradace, to vysvětluje, že tyto hodnoty nemají směrodatné odchylky.



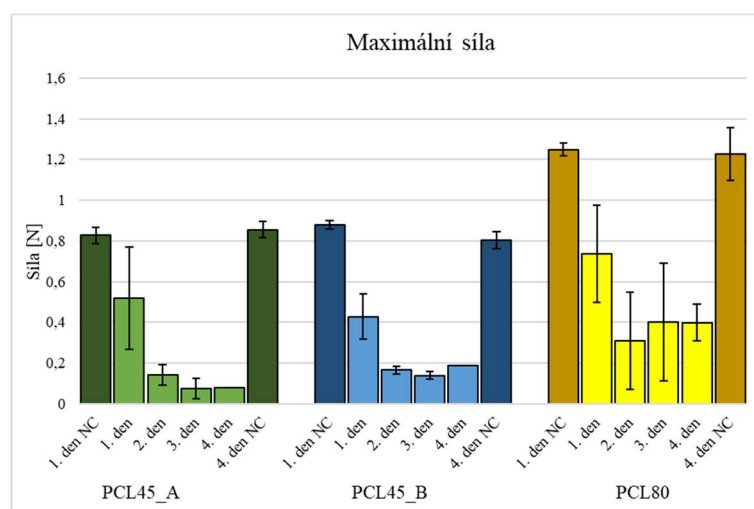
Obr. 38: Schéma mechanického testování pro tuto práci

V Tab. 10 a Grafu 5 jsou porovnány průměrné maximální síly pro jednotlivé materiály v průběhu degradace. Z výsledků vyplývá, že PCL80 má nejvyšší síly do přetrhu, je tedy nejpevnější. To je dáno tím, že jeho molekulová hmotnost je vyšší než u materiálů PCL45\_A a PCL45\_B, které mají molekulovou hmotnost nižší. Průměrné tažnosti jednotlivých materiálů jsou v Tab. 11 a Grafu 6. Tažnost je procentuální vyjádření prodloužení vůči původní délce. Graf 6 zobrazuje, že při namáhání PCL80 došlo k největšímu prodloužení a má tedy největší tažnost. PCL45\_A a PCL45\_B jsou méně tažné než PCL80. V Tab. 12 a Grafu 7 jsou zaznamenány hodnoty napětí pro jednotlivé materiály. Napětí je podíl síly a průřezu materiálu (zaplnění materiálu je zanedbáno). Je to míra vnitřního rozložení sil na jednotku plochy, která je způsobena působením silového namáhání. PCL80 vyvíjí největší napětí při namáhání. Počáteční modul pružnosti ukazuje tuhost materiálu, jinak řečeno odpor materiálu k namáhání. Hodnotí se jako rozdíl dvou hodnot síly (přepočteno na napětí) vůči rozdílu dvou hodnot prodloužení (přepočteno na tažnost), z lineární oblasti počátku pracovní křivky (tečna ke křivce z počátku grafu). Tab. 13 a Graf 8 zobrazují, že nevyšší počáteční modul má PCL80. Má tedy ze všech materiálů největší odpor k namáhání. PCL80 má ve třetí den vybočené

měření, to může být dáno nehomogenitou materiálu a malým počtem měření. Počáteční moduly pružnosti PCL45\_A a PCL45\_B jsou nižší než u PCL80.

Tab. 10: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky maximálních sil pro jednotlivé materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace

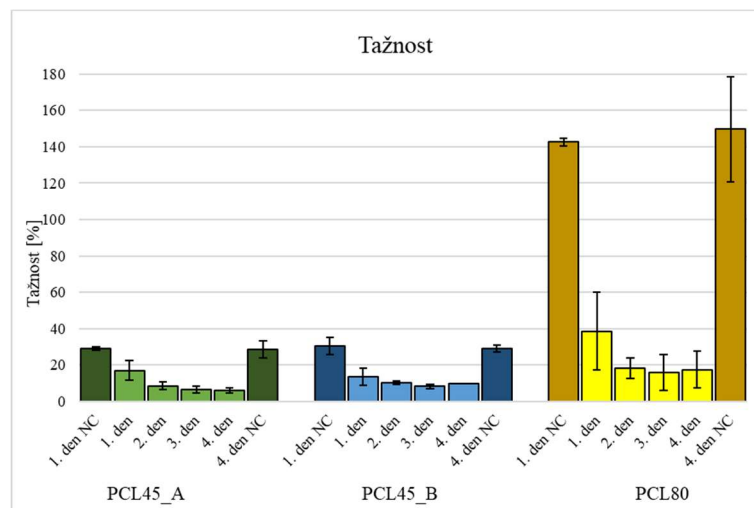
Maximální síla do přetrhu [N]	PCL45_A	NC_PCL45_A	PCL45_B	NC_PCL45_B	PCL80	NC_PCL80
<b>1. den</b>	0,519 $\pm$ 0,25	0,827 $\pm$ 0,04	0,428 $\pm$ 0,11	0,879 $\pm$ 0,02	0,737 $\pm$ 0,24	1,249 $\pm$ 0,03
<b>2. den</b>	0,143 $\pm$ 0,05	-	0,165 $\pm$ 0,02	-	0,309 $\pm$ 0,24	-
<b>3. den</b>	0,073 $\pm$ 0,05	-	0,139 $\pm$ 0,02	-	0,401 $\pm$ 0,29	-
<b>4. den</b>	0,077	0,854 $\pm$ 0,04	0,186	0,803 $\pm$ 0,04	0,397 $\pm$ 0,09	1,228 $\pm$ 0,13



Graf 5: Graf maximálních sil do přetrhu pro všechny materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace, pro sloupce bez směrodatných odchylek byla naměřena jen jedna hodnota

Tab. 11: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky tažností pro jednotlivé materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace

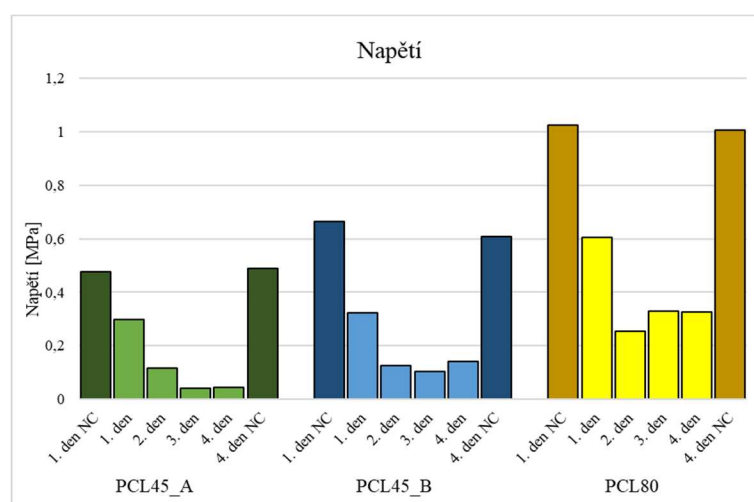
Tažnost [%]	PCL45_A	NC_PCL45_A	PCL45_B	NC_PCL45_B	PCL80	NC_PCL80
<b>1. den</b>	17,060 $\pm$ 5,48	29,102 $\pm$ 0,75	13,395 $\pm$ 4,72	30,70 $\pm$ 4,70	38,673 $\pm$ 21,57	142,537 $\pm$ 2,06
<b>2. den</b>	8,555 $\pm$ 2,22	-	10,238 $\pm$ 0,92	-	18,323 $\pm$ 5,61	-
<b>3. den</b>	6,525 $\pm$ 2,03	-	8,277 $\pm$ 1,23	-	15,838 $\pm$ 9,89	-
<b>4. den</b>	5,978 $\pm$ 1,28	28,527 $\pm$ 4,81	9,58	29,13 $\pm$ 1,91	17,465 $\pm$ 10,13	149,715 $\pm$ 28,82



Graf 6: Graf tažností pro všechny materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace, pro sloupce bez směrodatných odchylek byla naměřena jen jedna hodnota

Tab. 12: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky napětí pro jednotlivé materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace

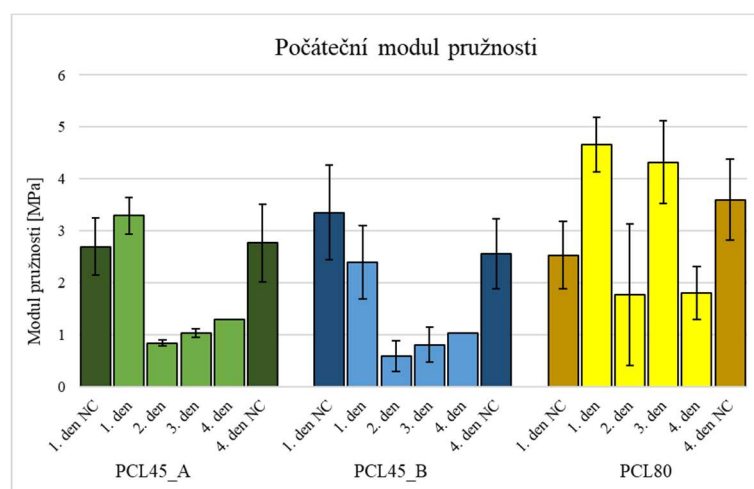
Napětí [MPa]	PCL45_A	NC_PCL45_A	PCL45_B	NC_PCL45_B	PCL80	NC_PCL80
1. den	0,298	0,475	0,324	0,665	0,604	1,023
2. den	0,117	-	0,125	-	0,253	-
3. den	0,042	-	0,105	-	0,328	-
4. den	0,044	0,490	0,14	0,608	0,325	1,006



Graf 7: Hodnoty napětí pro jednotlivé materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace

Tab. 13: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky počátečního modulu pružnosti pro jednotlivé materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace

Počáteční modul pružnosti [MPa]	PCL45_A	NC_PCL45_A	PCL45_B	NC_PCL45_B	PCL80	NC_PCL80
1. den	3,292 ± 0,35	2,691 ± 0,55	2,397 ± 0,71	3,354 ± 0,91	4,659 ± 0,523	2,533 ± 0,65
2. den	0,838 ± 0,06	-	0,589 ± 0,3	-	1,769 ± 1,36	-
3. den	1,029 ± 0,08	-	0,805 ± 0,34	-	4,324 ± 0,79	-
4. den	1,301	2,767 ± 0,75	1,033	2,554 ± 0,67	1,808 ± 0,51	3,594 ± 0,78



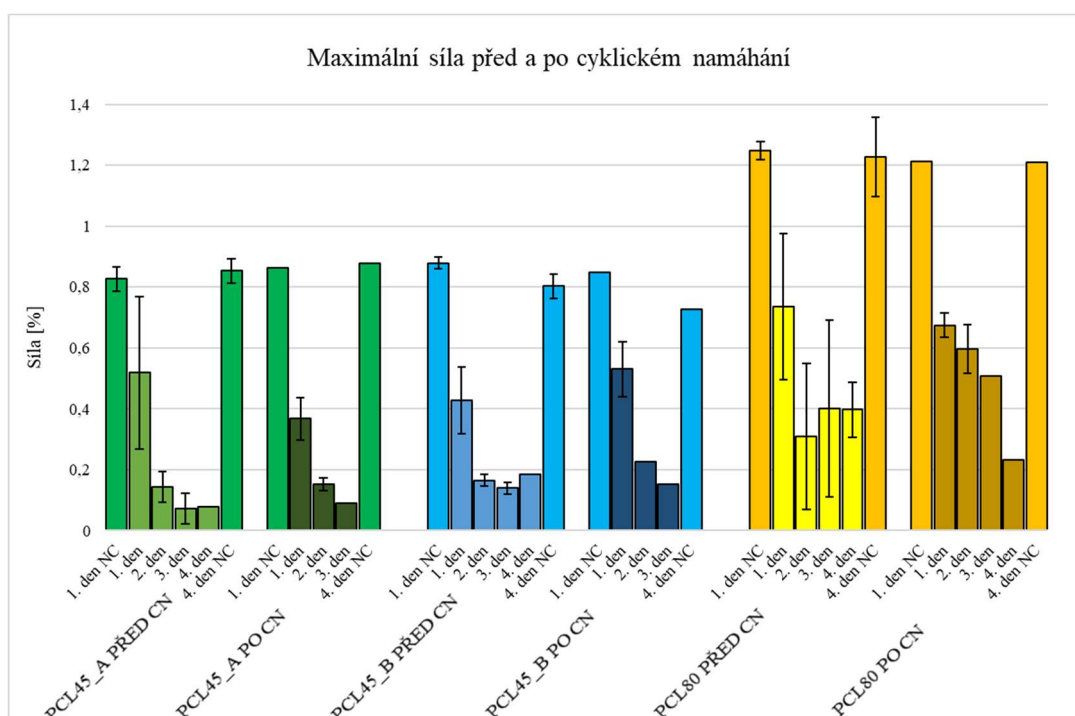
Graf 8: Graf počátečního modulu pružnosti pro všechny materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace, pro sloupce bez směrodatných odchylek byla naměřena jen jedna hodnota

Dále je zde sledováno, jaké budou mechanické vlastnosti cyklicky namáhaných vzorků. V Tab. 14 a Grafu 9 jsou srovnány maximální síly před a po pěti cyklech tahového namáhání. Výsledky jsou velmi variabilní. V některých dnech průběhu degradace je maximální síla po cyklickém namáhání (v Tab. 14, 15 a Grafech 9, 10 značeno cyklické namáhání zkratkou CN) vyšší než před cyklickém namáhání. V případě PCL80 je ve 2. a 3. dni průběhu degradace maximální síla po cyklickém namáhání výrazně vyšší než před. To může být dáno tím, že při cyklickém namáhání došlo k přeorientování polymerních řetězců a vytvoření nových sekundárních interakcí mezi řetězci, což způsobuje vyšší pevnost. Podobně je tomu při dlužení vláken. Při výrobě vláken zvláknováním, je potřeba operace dlužení, při které dochází k tahové deformaci vlákna. Polymerní řetězce a segmenty jsou orientovány ve směru osy vlákna, vzniká tak více krystalických oblastí a vlákno dosahuje vyšší pevnosti. (Militký., 2012) Tab. 15 a Graf 10 zobrazují tažnosti před a po cyklickém namáhání. PCL80 má nejvyšší tažnosti i po

cyklickém namáhání. To opět potvrzuje, že molekulová hmotnost má velmi výrazný vliv na mechanické vlastnosti. Z kapacitních důvodů jsou data pro negativní kontroly před a po cyklickém namáhání z Grafů 9 a 10 v příloze 3. V Tab. 17 a Grafu 11 lze sledovat procentuální nárůst tažnosti v průběhu cyklického namáhání. Neboli o kolik procent narostla tažnost mezi prvním a pátým cyklem. PCL45\_A a PCL45\_B mají v první dny degradace procentuální nárůst vyšší, to znamená, že došlo k většímu prodloužení během cyklického namáhání. U PCL80 narůstá tažnost v průběhu degradace téměř stejně.

Tab. 14: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky maximálních sil před a po cyklickém namáhání pro jednotlivé materiály, pro 1. až 4. den degradace. Hodnoty pro negativní kontroly jsou z kapacitních důvodů zobrazeny v příloze 3

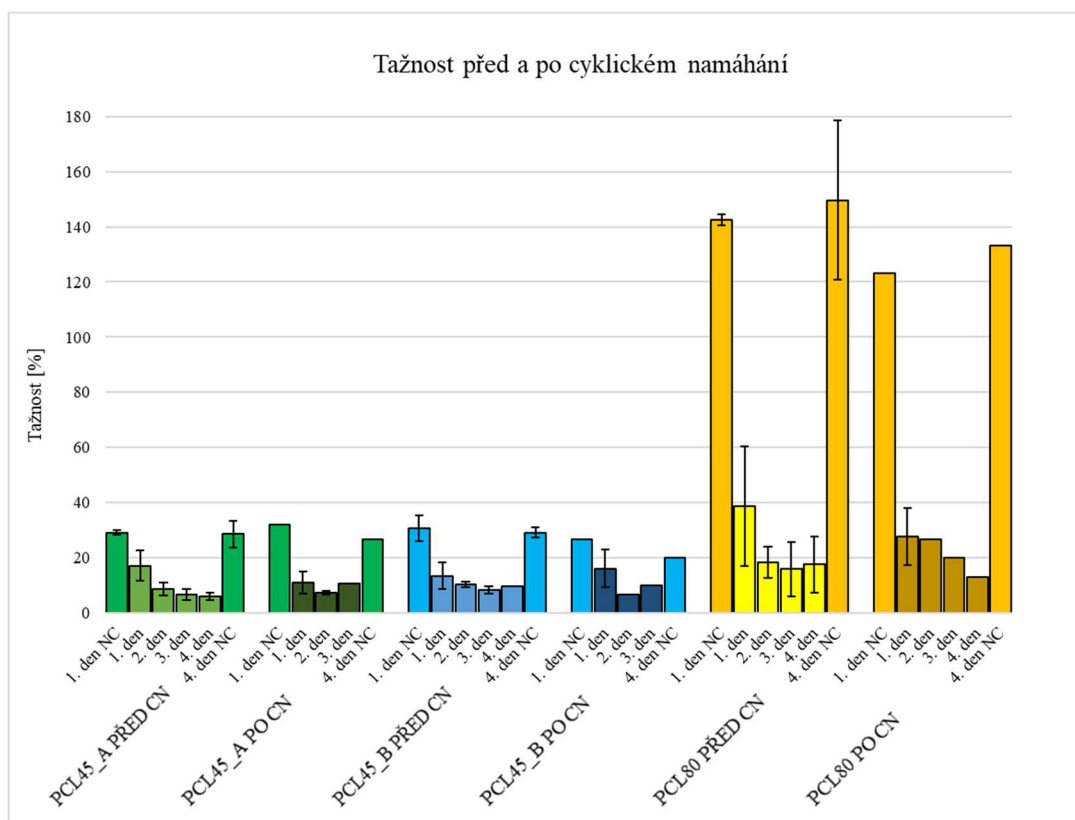
Maximální síla PŘED a PO CN [N]	PCL45_A PŘED CN	PCL45_A PO CN	PCL45_B PŘED CN	PCL45_B PO CN	PCL80 PŘED CN	PCL80 PO CN
1. den	0,519 $\pm$ 0,25	0,368 $\pm$ 0,07	0,428 $\pm$ 0,11	0,531 $\pm$ 0,09	0,737 $\pm$ 0,24	0,674 $\pm$ 0,04
2. den	0,143 $\pm$ 0,05	0,152 $\pm$ 0,02	0,165 $\pm$ 0,02	0,225	0,309 $\pm$ 0,24	0,598 $\pm$ 0,08
3. den	0,073 $\pm$ 0,05	0,091	0,139 $\pm$ 0,02	0,152	0,401 $\pm$ 0,29	0,509
4. den	0,077	-	0,186	-	0,397 $\pm$ 0,09	0,231



Graf 9: Graf maximálních sil do přetruhu před cyklickém namáhání (ve grafu značeno „PŘED CN“) a po cyklickém namáhání (v grafu značeno „PO CN“), pro všechny materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace, pro sloupce bez směrodatných odchylek byla naměřena jen jedna hodnota

Tab. 15: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky tažností před (v tabulce značeno „PŘED CN“) a po (v tabulce značeno „PO CN“) cyklickém namáhání pro jednotlivé materiály, pro 1. až 4. den degradace. Hodnoty pro negativní kontrole jsou z kapacitních důvodů zobrazeny v příloze 3

Tažnost PŘED a PO CN [%]	PCL45_A PŘED CN	PCL45_A PO CN	PCL45_B PŘED CN	PCL45_B PO CN	PCL80 PŘED CN	PCL80 PO CN
1. den	17,060 $\pm$ 5,48	10,915 $\pm$ 4,1	13,395 $\pm$ 4,72	15,963 $\pm$ 6,85	38,673 $\pm$ 21,57	27,77 $\pm$ 10,33
2. den	8,555 $\pm$ 2,22	7,215 $\pm$ 0,7	10,238 $\pm$ 0,92	6,65	18,323 $\pm$ 5,61	26,48
3. den	6,525 $\pm$ 2,03	10,69	8,277 $\pm$ 1,23	9,8	15,838 $\pm$ 9,89	19,995
4. den	5,978 $\pm$ 1,28	-	9,58	-	17,465 $\pm$ 10,13	13,025

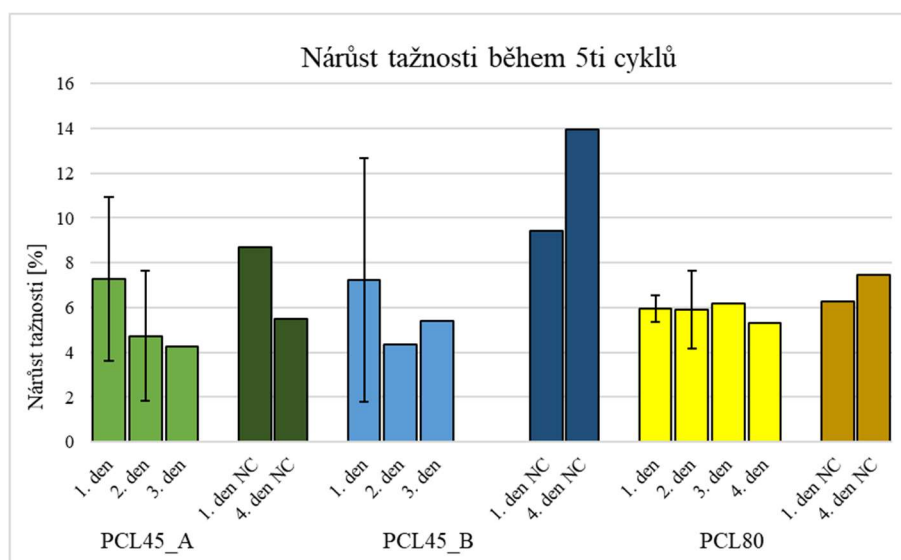


Graf 10: Graf tažností před cyklickém namáhání (ve grafu značeno „PŘED CN“) a po cyklickém namáhání (v grafu značeno „PO CN“), pro všechny materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace, pro sloupce bez směrodatných odchylek byla naměřena jen jedna hodnota



Tab. 16: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchytky nárůstu tažnosti během pěti cyklů cyklického namáhání pro jednotlivé materiály, pro 1. až 4. den degradace

Nárůst tažnosti během pěti cyklů [%]	PCL45_A	NC_PCL45_A	PCL45_B	NC_PCL45_B	PCL80	NC_PCL80
1. den	7,275 $\pm$ 3,67	8,698	7,222 $\pm$ 5,44	9,419	5,951 $\pm$ 0,59	6,25
2. den	4,737 $\pm$ 2,92	-	4,339	-	5,894 $\pm$ 1,74	-
3. den	4,236	-	5,416	-	6,181	-
4. den	-	5,48	-	13,973	5,310	7,472

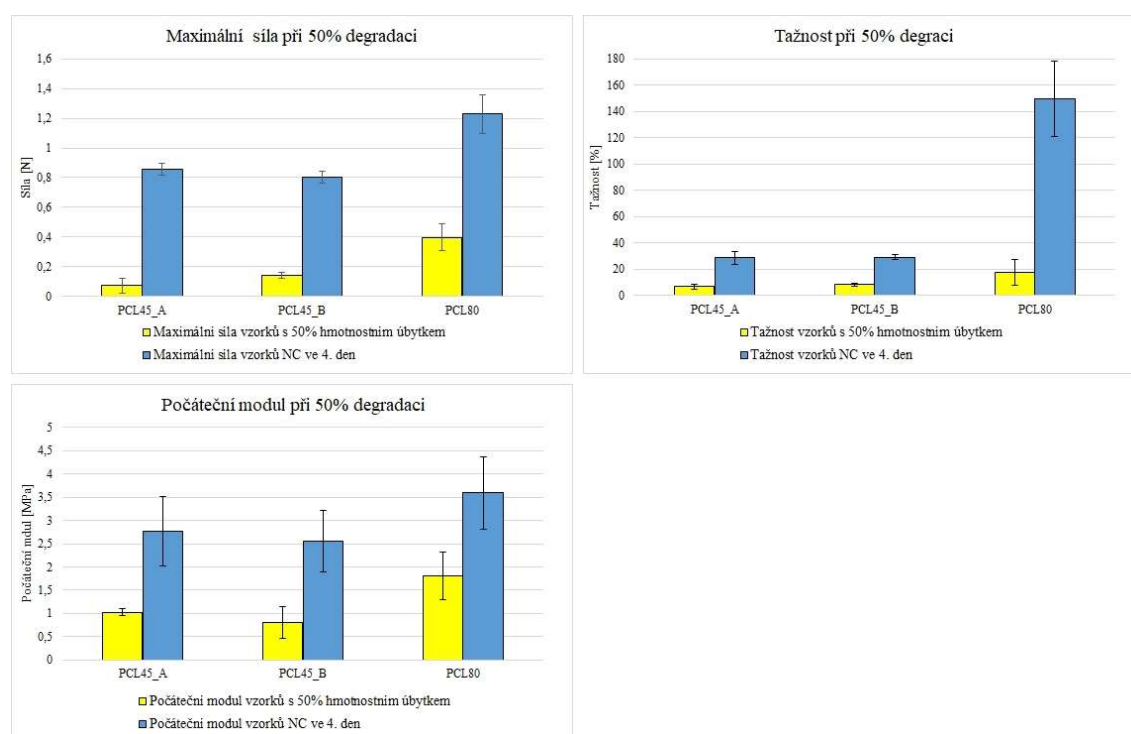


Graf 11: Graf zobrazující procentuální nárůst tažnosti pro všechny materiály a jejich negativní kontroly, pro 1. až 4. den degradace, pro sloupce bez směrodatných odchytek byla naměřena jen jedna hodnota

Téměř k 50% degradaci dochází u PCL45\_A a PCL45\_B ve 3. den, u PCL80 ve 4. den. V následujících grafech jsou porovnány vybrané mechanické vlastnosti vzorků s 50% hmotnostním úbytkem s jejich negativními kontrolami ze 4. dne. Na Obr. 39 je porovnána maximální síla jednotlivých materiálů při téměř 50% hmotnostním úbytku, s negativními kontrolami ze 4. dne. Všechny enzymaticky degradované vzorky mají výrazně menší pevnosti než nedegradované (negativní kontroly). Nejvyšší pevnost má materiál PCL80. Další graf na Obr. 39 porovnává tažnosti již zmíněných materiálů. PCL80 má ve 4. den degradace velmi nízkou tažnost, na rozdíl od své negativní kontroly. Mezi PCL45\_A a PCL45\_B není významný rozdíl v tažnostech. Poslední porovnávanou vlastností na

Obr. 39 je počáteční modul pružnosti. PCL80 má nejvyšší počáteční modul, to potvrzuje, že má největší odpor k namáhání.

Z těchto grafů je zřejmé, že při stejném stupni degradace, degraduje PCL80 nejpomaleji a jeho mechanické vlastnosti jsou výrazně vyšší než u ostatních materiálů. Ve 4. den degradace má PCL80 maximální sílu  $0,397 \pm 0,09$  N, PCL45\_A a PCL45\_B mají maximální sílu již ve 3. den výrazně nižší (PCL45\_A má  $0,073 \pm 0,05$  N, PCL45\_B má  $0,139 \pm 0,02$  N). PCL45\_A a PCL45\_B degradují rychleji a mají mechanické vlastnosti velmi podobné.



Obr. 39: Porovnání maximálních sil, tažností a počátečních modulů vzorků s 50% hmotnostním úbytkem (3. a 4. den degradace) s negativní kontrolou

Z výsledků vyplývá, že v průběhu degradace dochází u většiny vyhodnocených vlastností k poklesu hodnot vlivem enzymatické degradace. PCL80 má ze všech materiálů nejlepší mechanické vlastnosti. Má vysokou molekulovou hmotnost, takže jeho degradace je pomalejší. Na rozdíl od materiálů PCL45\_A a PCL45\_B, které mají molekulovou hmotnost výrazně menší a degradují rychleji. Molekulová hmotnost je tedy důležitý faktor při testování mechanických vlastností. Rozdíly mechanických vlastností mezi PCL45\_A a PCL45\_B mohou být připisovány rozdílné plošné hmotnosti materiálů. Také je podstatné sledovat rozdíly mezi degradovanými a nedegradovanými (NC) vzorky.

Vzorky, které byly pouze ve fosfátovém pufru (PBS + 0,02% Azid sodný) bez enzymu, mají výrazně vyšší mechanické vlastnosti. Mohou být použity jako reference k degradovaným vzorkům. Výsledky ovlivňuje také variabilita naměřených dat. Některé vzorky nebylo schopné testovat pro jejich vysoký stupeň degradace. Různý stupeň degradace a nehomogenita materiálů má za následek velké směrodatné odchylky či malý počet dat pro statistické vyhodnocení.

## Závěr

Cílem této práce bylo optimalizovat degradaci nanovlákných polyesterových materiálů, sledovat a vyhodnotit její průběh a sledovat a vyhodnotit vliv degradace na mechanické vlastnosti testovaných materiálů. Experiment je rozdělen na dvě části, nejprve byla optimalizována degradace materiálů a poté byly testovány mechanické vlastnosti v závislosti na stupni degradace.

Při optimalizaci byla snaha nastavit dobu degradace na 10 dní. Byl hodnocen hmotnostní úbytek, změna morfologie, změna molekulové hmotnosti a změna krystalinity polymeru. Koncentrace Lipázy byla 10 U/50 mg vzorku. Při této koncentraci došlo k téměř 100% degradaci již 5. a 6. den. Na základě těchto výsledků byla nastavena degradace pro testování mechanických vlastností v závislosti na stupni degradace. Aby degradace probíhala déle, byl snížena koncentrace Lipázy na polovinu, tedy 5 U/10 mg vzorku.

Testované materiály měly rozdílné vlastnosti, lišila se molekulová hmotnost použitých polymerů (45000 g/mol a 80000 g/mol), plošná hmotnost (26,7 – 10,1 g/m<sup>2</sup>) a průměry vláken (0,992 – 0,527 μm). V průběhu degradace byl hodnocen hmotnostní úbytek a změna morfologie materiálů, změna molekulové hmotnosti a změna krystalinity polymeru a vliv degradace na mechanické vlastnosti.

V případě materiálu PCL80 je degradace pomalejší než u ostatních materiálů, to je dáno vyšší molekulovou hmotností polymeru. Vliv plošné hmotnosti na degradaci je nevýrazný. Sledováním morfologie materiálů během degradace bylo zjištěno, že dochází nejprve k degradaci nanovláken s menším průměrem. Následně dochází k degradaci tlustších vláken v amorfní oblasti, vlákna se rozpadají (drobí) a nakonec degradují i krystalické lamelární části. Při hodnocení změny molekulové hmotnosti bylo zjištěno, že u materiálů s nižší molekulovou hmotností dochází k rychlejší degradaci a štěpení řetězců, štěpené řetězce se velmi rychle rozpouští a disociují do prostředí. Proto na výsledných chromatogramech pro PCL45\_A a PCL45\_B není vidět změna molekulové hmotnosti i přes to, že k degradaci dochází. U PCL80 dochází k pomalejší degradaci, kratší štěpené řetězce (meziprodukty degradace) zůstávají ve zbylém materiálu a nedochází k jejich rozpuštění. Na chromatogramech materiálu PCL80 je vidět, že se molekulová hmotnost zbývajících polymerních řetězců snižuje. U PCL45\_A a PCL45\_B krystalinita stoupá, u PCL80 se nemění.

Z tahových zkoušek mechanického testování se hodnotila maximální síla, tažnost, napětí a počáteční modul. Vzorky byly také namáhány tahem cyklicky. Hodnotila se změna maximální síly a tažnosti během cyklického namáhání, také se hodnotil nárůst tažnosti během pěti cyklů. Z výsledků vyplývá, že dochází ke zhoršení všech mechanických vlastností v průběhu degradace. Materiál PCL80 má nejvyšší hodnoty maximální síly, tažnosti, napětí a počátečního modulu. U materiálů PCL45\_A a PCL45\_B jsou mechanické vlastnosti velmi podobné, i přes jejich rozdílné plošné hmotnosti. Z toho vyplývá, že vliv rozdílné plošné hmotnosti materiálů se při experimentech neprojevil. Byly také porovnány materiály při 50% degradaci. Je patrné, že materiál PCL80 při 50% degradaci má stále lepší mechanické vlastnosti než ostatní materiály. Ve výsledcích mechanického testování je možné zaznamenat vysoké směrodatné odchylky. To je dáno nehomogenitou materiálů a jejich variabilitou. Také malé množství testovaných vzorků ovlivňuje výsledné hodnoty.

Degradaci i mechanické vlastnosti ovlivňuje především molekulová hmotnost polymeru. PCL80 má výrazně vyšší molekulovou hmotnost než PCL45\_A a PCL45\_B. Proto jeho degradace je pomalejší a mechanické vlastnosti lepší.

V této práci bylo cílem optimalizovat enzymatickou degradaci a provést mechanické testy v závislosti na stupni degradace. Podařilo se optimalizovat degradaci tak, že bylo možné provádět mechanické testování až do 6. dne. Pro následující experimenty zkoumající mechanické vlastnosti v průběhu degradace doporučuji optimalizovat degradaci tak, aby došlo k pomalejší degradaci a zároveň navýšit počet vzorků pro mechanické testování, aby bylo možné statisticky hodnotit větší počet dat.

## Literatura

BAJÁKOVÁ, J., CHALOUPEK, J., LUKÁŠ, D., LACARIN, M., (2011). „Drawing“ – The Production of Individual Nanofibers by Experimental Method. In: NANOCON 2011. Czech Republic, Brno.

CAO, G., (2004). *Nanostructures & Nanomaterials*. Synthesis, Properties and Applications. UK, London: Imperial College Press. 448 s. ISBN: 1-86094-4159

CASTILLA – CORTÁZAR, I., MÁŠ – ESTELLÉS, J., MESEGUER - DUEÑAS, J. M., ESCOBAR IVIRICO, J. L., MARÍ, B., VIDAURRE, A., (2012). Hydrolytic and enzymatic degradation of a poly( $\epsilon$ -caprolactone) network. *Polymer Degradation and Stability*. **97**(8), 1241-1248. ISSN: 01413910. DOI: 10.1016/j.polyimdegradstab.2012.05.038

DONG, Y., LIAO, S., NGIAM, M., CHAN, C. K., RAMAKRISHNA, S., (2009). Degradation Behaviors of Electrospun Resorbable Polyester Nanofibers. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. **15**(3), 333-351. DOI: 10.1089/ten.teb.2008.0619

DRUMRIGHT, R. E., GRUBER, P. R., HENTON, D. E., (2000). Polylactic Acid Technology. *Advanced Materials*. **12**(23), 1841-1846. ISSN: 0935-9648. DOI: 10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E

EDMONDSON, D., COOPER, A., JANA, S., WOOD, D., ZHANG, M., (2012). Centrifugal electrospinning of highly aligned polymer nanofibers over a large area. *Journal of Materials Chemistry*. **22**(35), 18646–18652. ISSN: 0959-9428, 1364-5501. DOI: 10.1039/c2jm33877g

ERBEN, J., PILAROVA, K., SANETRNIK, F., CHVOJKA, J., JENCOVA, V., BLAZKOVA, L., HAVLICEK, J., NOVAK, O., MIKES, P., PROSECKA, E., LUKAS, S., KUZELOVA KOSTAKOVA, E., (2015). The combination of meltblown and electrospinning for bone tissue engineering. *Materials Letters* **143**, 172-176. ISSN: 0167577X. DOI: 10.1016/j.matlet.2014.12.100

FAKIROV, S., (2015). *Biodegradable Polyesters*. Germany, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 368 s. ISBN: 978-3-527-65698-1

GÖPFERICH, A., (1994). Mechanism of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*, **1996**. **17**(2), 103-114. DOI: 014s9612/961\$15.00

GUO, Q., (2016). *Polymer morphology: principles, characterization, and processing*. USA, New Jersey: Wiley. 464 s. ISBN: 978-1-118-45215-8

HUANG, Z.-M., ZHANG, Y.-Z., KOTAKI, M., RAMAKRISHNA S., (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*. **63**(15), 2223-2253. ISSN: 02663538. DOI: 10.1016/S0266-3538(03)00178-7

JIRSÁK, O., KALINOVÁ, K., (2003). Netkané textilie. Liberec: Technická univerzita v Liberci. ISBN: 80-7083-746-2

KOVAČIČ, V., (2004). *Textilní zkušebnictví*. Díl I. Liberec: Technická univerzita v Liberci. ISBN 80-7083-824-8.

LABET, M., THIELEMANS, W., (2009). Synthesis of polycaprolactone: a review. *Chemical Society Reviews*. **38**, 3484-3504. DOI: 10.1039/b820162p

LI, Z., WANG, C., (2013). *One-Dimensional Nanostructures*. Electrospinning Technique and Unique Nanofibers. New York: Springer. 141 s. ISBN: 978-3-642-36427-3

LIMA, M. V., DUEK, E. A. R., SANTANA, C. C., (2009). Adsorption of human immunoglobulin G to poly ( $\beta$ -hydroxybutyrate) (PHB), poly (L-lactic Acid) (PLLA) and PHB/PLLA blends. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. **26**(2), 257-264. ISSN: 0104-6632. DOI: 10.1590/S0104-66322009000200003

LISNENKO, M., (2018). *Vliv degradace na mechanické vlastnosti nanovlákných polyesterových materiálů*. *Effect of degradation on the mechanical properties of nanofibrous polyester materials*. Bakalářská práce. Liberec: Technická univerzita v Liberci.

LUCAS, N., BIENAIME, C., BELLOY, C., QUENEUDEC, M., SILVESTRE, F., NAVA-SAUCEDO, J-E., (2008). Polymer biodegradation: Mechanism and estimation techniques. *Chemosphere*. **73**, 429-442. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.064

LUKÁŠ, D., MARTINOVÁ, L., a spol., (2008). *Lékařské textilie 2. Díl*. Praha: Asociace inovačního podnikání ČR. Vydání první. 248 s.

MIDDLETON, J. C., TIPTON, A. J., (2000). Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*. **21**(23), 2335-2346. ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00101-0

MILITKÝ, J., 2012. *Textilní vlákna: klasická a speciální*. 2. vydání. Liberec: Technická univerzita. ISBN 978-80-7372-844-1

NAIR, L. S., LAURENCIN, C. T., (2007). Biodegradable Polymers as Biomaterials. *Progress in Polymer Science*. **32**(8-9), 762-798. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017

NAYAK, R., PADHYE, R., ARNOLD, L., KYRATZIS, I. L., TRUONG, Y. B., PEETERS, G., NICHOLS, L., O'SHEA, M., (2012). Mechanism of Nanofibre Fabrication by Meltblowing. *Applied Mechanics and Materials*. **217-219**, 207-212. ISSN: 1662-7482. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMM.217-219.207

NAYAK, R., PADHYE, R., KYRATZIS, I. L., TRUONG, Y. B., ARNOLD, L., (2011). Recent advances in nanofibre fabrication techniques. *Textile Research Journal*. **82**(2), 129-147. ISSN: 0040-5175, 1746-7748. DOI: 10.1177/0040517511424524

PETRÁŠ, D., KIMMER, D., SOUKUP, K., KLUSOŇ, P., (2009). Bezpečná Nanovlákná. *Chemické listy*. **103**, 1009-1016.

RATNER, B. D., (2004). *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. Biomaterials science. Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press. 2nd ed. 851 s. ISBN: 978-0-12-582463-7

RAVICHANDRAN, R., SUNDARRAJAN, S., VENUGOPAL, J. R., MUKHERJEE, S., RAMAKRISHNA, S., (2012). Advances in Polymeric Systems for Tissue Engineering and Biomedical Applications. *Macromolecular Bioscience*. **12**(3), 286-311. ISSN: 16165187. DOI: 10.1002/mabi.201100325

RIZZARELLI, P., PUGLISI, C., MONTAUDO, G., (2004). Soil burial and enzymatic degradation in solution of aliphatic co-polyesters. *Polymer Degradation and Stability*. **85**(2), 855-863. ISSN: 01413910. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.03.022

SHASTRI, V., (2003). Non-Degradable Biocompatible Polymers in Medicine: Past, Present and Future. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. **4**(5), 331-337. ISSN: 13892010. DOI: 10.2174/1389201033489694

STRNADOVÁ, K., STANISLAV, L., KRABICOVÁ, I., SABOL, F., LUKÁŠEK, J., ŘEZANKA, M., LUKÁŠ, D., JENČOVÁ V., (2019). Drawing aligned polymer microfibers for tissue engineering. *Journal of Industrial Textiles*. 1-15. DOI: 10.1177/1528083718825318

SZECWCZYK, P., URA, D., METWALLY, S., KANPCZYK-KORCZAK, J., GAJEK, M., MARZEC, M., BERNASIK, A., STACHEWICZ, U., (2018). Roughness and Fiber Fraction Dominated Wetting of Electrospun Fiber-Based Porous Meshes. *Polymers*. **11**(1) 34. ISSN: 2073-4360 DOI: 10.3390/polym11010034

ŠŇUPÁREK, J., (2014). *Makromolekulární chemie: úvod do chemie a technologie polymerů*. Pardubice: Univerzita Pardubice. Vydání třetí. ISBN: 978-80-7395-761-2

THOMAS, S., GROHENS, Y., NINAH, N., (2015). *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering*. Amsterdam: William Andrew. 336 s. ISBN: 978-0-323-32889-0

Von BURKERSRODA, F., SHEDL, L., GÖPFERICH, A., (2002). Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. *Biomaterials*. **23**(21) 4221-4231. ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00170-9

WOODRUFF, M. A., HUTMACHER, D. W., (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*. **35**(10), 1217-1256. ISSN: 00796700. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002

XING, X., DAS, N., YU, H., ZHU, D., ZHENG, J., CHEN, H., CHEN, W., CAI, J., (2012). *Optical Communication*. Subwavelength and Nanometer Diameter Optical Polymer Fibers as Building Blocks for Miniaturized Photonics Integration. InTech. ISBN: 978-953-51-0784-2. DOI: 10.5772/47822



ZHANG, X., LU, Y., (2014) Centrifugal Spinning: An Alternative Approach to Fabricate Nanofibers at High Speed and Low Cost. *Polymer Reviews*. **54**(4), 677-701. ISSN: 1558-3724, 1558-3716. DOI: 10.1080/15583724.2014.935858

ZHANG, Q., LI, Y., LIN, Z. Y., WONG, K. K. Y., LIN, M., YILDIRIMER, L., ZHAO, X., (2017). Electrospun Polymeric Micro/nanofibrous Scaffolds for Long-term Drug Release and Their Biomedical Application. *Drug Discovery Today*. **22**(9), 1351-1366. ISSN: 13596446. DOI: 10.1016/j.drudis.2017.05.007

ZONG, X., RAN, S., KIM, K.-S., FANG, D., HSIAO, B. S., CHU, B., (2003). Structure and Morphology Changes during in Vitro Degradation of Electrospun Poly(glycolide-co-lactide) Nanofiber Membrane. *Biomacromolecules*. **4**(2), 416-423. ISSN: 1525-7797. DOI: 10.1021/bm025717o

## Přílohy

Příloha 1: Doplnění kapitoly 2.2.2.2. Data pro vyhodnocení hmotnostního úbytku, hmotnostní úbytek NC, snímky SEM průběhu degradace a data pro vyhodnocení krystalinity

Tab. P1: Navážky vzorků před degradací, po degradaci a hmotností úbytek pro PCL45\_A

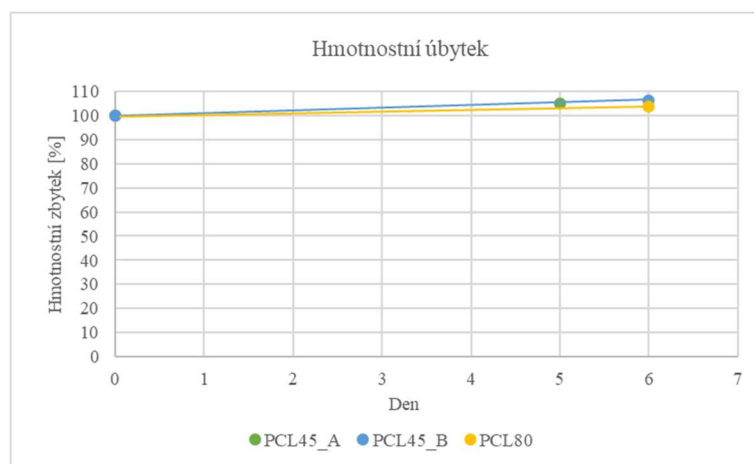
PCL45_A	[g]	a	b	c	d	Průměr ± SD
1D	původní hmotnost	52,3	51,4	52,2	51,8	
	hm. po degradaci	37	39,6	41	40,3	
	hm. úbytek [%]	70,7	77,0	78,5	77,7	76,03 ± 3,5
2D	původní hmotnost	52,5	52,4	52	52,9	
	hm. po degradaci	27,1	29	30,5	25,7	
	hm. úbytek [%]	51,6	55,3	58,6	48,5	53,54 ± 4,3
3D	původní hmotnost	53,5	48,7	47	50,5	
	hm. po degradaci	22,9	20,8	22,2	22,4	
	hm. úbytek [%]	42,8	42,7	47,2	44,3	44,27 ± 2,1
4D	původní hmotnost	53,5	48,2	48,7	49,9	
	hm. po degradaci	15,7	13,3	7,7	10,6	
	hm. úbytek [%]	29,3	27,5	15,8	21,2	23,49 ± 6,1
5D	původní hmotnost	47,5	50,8	51,5	51,2	
	hm. po degradaci	3,8	4,5	5,4	6,8	
	hm. úbytek [%]	8	8,8	10,4	13,2	10,15 ± 2,3
NC	původní hmotnost	51,6	51,7	48,2		
	hm. po degradaci	52	54,2	52,5		
	hm. úbytek [%]	100,7	104,8	108,9		104,84 ± 4,1

Tab. P2: Navážky vzorků před degradací, po degradaci a hmotností úbytek pro PCL45\_B

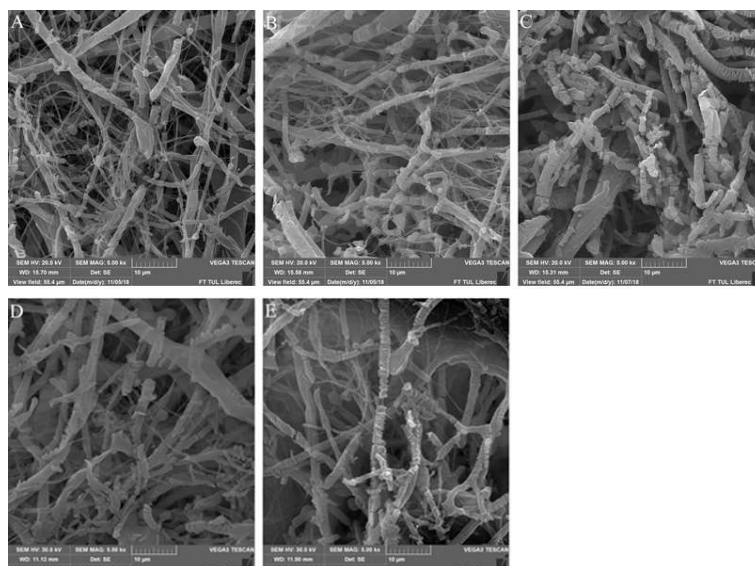
PCL45_B	[g]	a	b	c	d	Průměr ± SD
1D	původní hmotnost	49,7	51,9	54,2	51,2	
	hm. po degradaci	44,5	44	45,4	47,4	
	hm. úbytek [%]	89,5	84,7	83,7	92,5	87,66 ± 4,1
2D	původní hmotnost	48,9	52,5	51,9	53,3	
	hm. po degradaci	36,6	39,7	36,1	37,6	
	hm. úbytek [%]	74,84	75,6	69,5	70,5	72,64 ± 3
3D	původní hmotnost	51,4	46,9	52,6	49,6	
	hm. po degradaci	24,7	27,2	23,1	26,2	
	hm. úbytek [%]	48,0	57,9	43,9	52,8	50,69 ± 6
4D	původní hmotnost	51,4	52,2	51,2	52,6	
	hm. po degradaci	20	14,7	13,6	15,6	
	hm. úbytek [%]	38,9	28,1	26,5	29,6	30,82 ± 5,5
5D	původní hmotnost	51	51,7	52,6	50,8	
	hm. po degradaci	6,4	6,9	7	13,5	
	hm. úbytek [%]	12,5	13,3	13,3	26,5	16,44 ± 6,7
6D	původní hmotnost	49,4	49,9	50,6	49,5	
	hm. po degradaci	6,4	5,4	7,4	6,7	
	hm. úbytek [%]	12,9	10,8	14,6	13,5	12,98 ± 1,5
NC	původní hmotnost	51,5	50,9	48,7		
	hm. po degradaci	53,8	54,2	52,2		
	hm. úbytek [%]	104,4	106,4	107,1		106,04 ± 1,4

Tab. P3: Navážky vzorků před degradací, po degradaci a hmotností úbytek pro PCL80

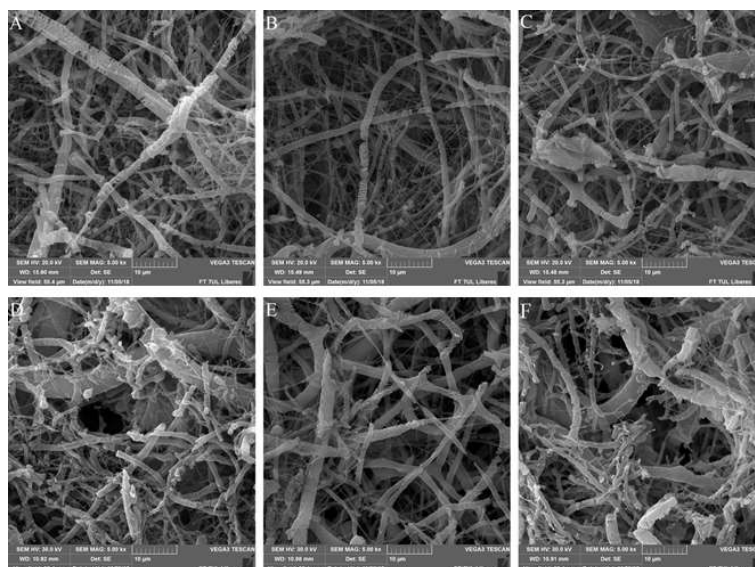
PCL80	[g]	a	b	c	d	Průměr ± SD
1D	původní hmotnost	49	50,9	50,3	50,1	
	hm. po degradaci	39,5	41	39,2	45,2	
	hm. úbytek [%]	80,6	80,5	77,9	90,2	87,66 ± 5,4
2D	původní hmotnost	50,8	50	51	51,2	
	hm. po degradaci	30,7	28,1	28,5	28,6	
	hm. úbytek [%]	60,4	56,2	55,8	55,8	57,09 ± 2,2
3D	původní hmotnost	50,5	50,3	50,5	50,5	
	hm. po degradaci	17,2	19,5	17,3	19	
	hm. úbytek [%]	34,0	38,7	34,24	37,6	36,1 ± 2,3
4D	původní hmotnost	51,4	49,1	50,4	50,7	
	hm. po degradaci	14,3	19,4	10,9	19	
	hm. úbytek [%]	27,8	39,51	21,6	37,4	31,6 ± 8,3
5D	původní hmotnost	50,9	50	50,1	50,1	
	hm. po degradaci	5,9	5,1	5,3	7,1	
	hm. úbytek [%]	11,5	10,2	10,5	14,1	11,63 ± 1,7
6D	původní hmotnost	50,5	50,3	50	50	
	hm. po degradaci	4,6	4	3,6	2,2	
	hm. úbytek [%]	9,1	7,9	7,2	4,4	7,16 ± 2
NC	původní hmotnost	47,2	49,3	48,8		
	hm. po degradaci	49,3	51,7	49,7		
	hm. úbytek [%]	104,4	104,8	101,8		103,7 ± 1,6



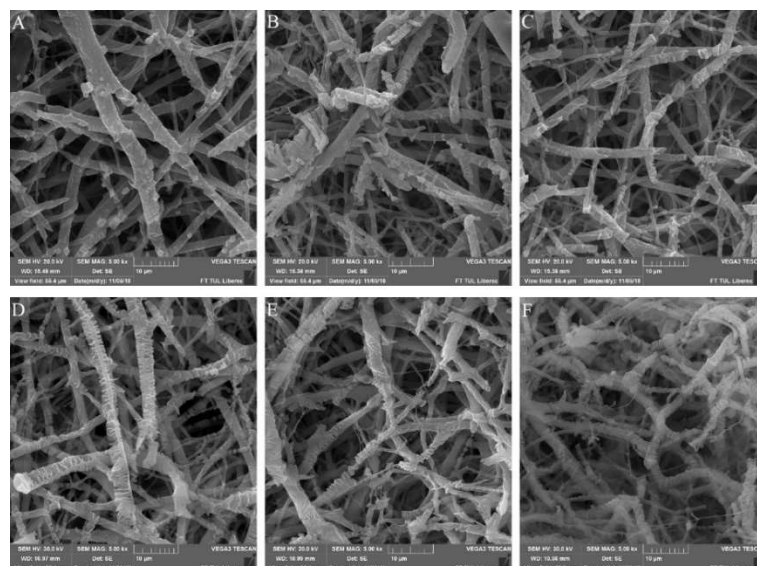
Graf P1: Hmotnostní úbytek negativních kontrol během degradace



Obr. P1: Snímky SEM PCL45\_A během optimalizace degradace, A – 1. den degradace, B – 2. den degradace, C – 3. den degradace, D – 4. den degradace, E – 5. den degradace



Obr. P2: Snímky SEM PCL45\_B během optimalizace degradace A – 1. den degradace, B – 2. den degradace, C – 3. den degradace, D – 4. den degradace, E – 5. den degradace, F – 6. den degradace



Obr. P3: Snímky SEM PCL80 během optimalizace degradace, A – 1. den degradace, B – 2. den degradace, C – 3. den degradace, D – 4. den degradace, E – 5. den degradace, F – 6. den degradace

Tab. P4: Výsledky měření krystalinity pomocí DSC, hodnoty entalpie pro jednotlivé materiály a NC

	PCL45 A		PCL45 B		PCL80	
	Entalpie [J/g]	Entalpie [%]	Entalpie [J/g]	Entalpie [%]	Entalpie [J/g]	Entalpie [%]
NC	84,450	60,538	94,050	67,419	76,360	54,738
1. den	89,490	64,151	87,560	62,767	78,980	56,616
2. den	86,490	62,000	91,040	65,262	85,090	60,996
3. den	90,400	64,803	86,770	62,201	76,870	55,104
4. den	92,740	66,480	93,140	66,767	82,730	59,305
5. den	-	-	95,760	68,645	79,930	57,297

Příloha 2: Doplnění kapitoly 2.2.3.2. Data pro vyhodnocení hmotnostního úbytku, hmotnostní úbytek NC a snímky SEM průběhu degradace

Tab. P5: Navážky vzorků před degradací, po degradaci a hmotnostní úbytek pro PCL45\_A

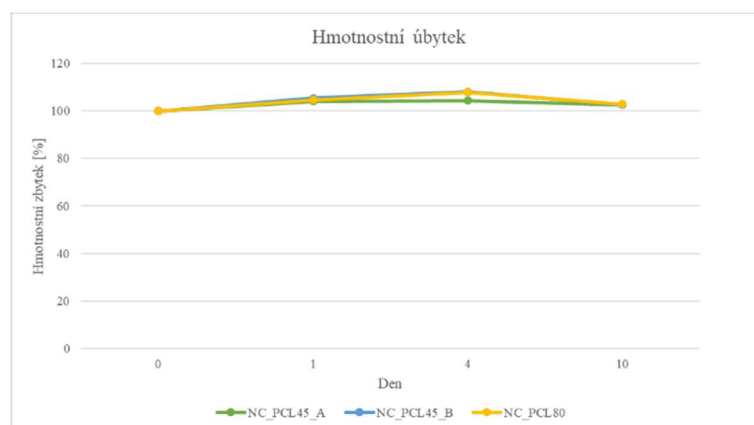
PCL45_A	[g]	a	b	c	d	e	f	Průměr ± SD
1D	původní hmotnost	50,4	52,5	49,2	51	49,6	50,3	
	hm. po degradaci	45,7	45,9	43,4	49,3	44,8	45,9	
	hm. úbytek [%]	90,7	87,4	88,2	96,7	90,3	91,3	90,76 ± 3,2
2D	původní hmotnost	51	48	48,9	49,1	50,1	49,2	
	hm. po degradaci	36,8	32	35,7	38,7	37,5	34,1	
	hm. úbytek [%]	72,2	66,7	73,0	78,8	74,9	69,3	72,47 ± 4,2
3D	původní hmotnost	50,8	49,3	50,5	51	50	52	
	hm. po degradaci	31,5	30,6	26,5	24	28,4	33,5	
	hm. úbytek [%]	62,0	62,1	52,5	47,1	56,8	64,4	57,47 ± 6,6
4D	původní hmotnost	49,9	50,5	50,7	50,8	51,5	52	
	hm. po degradaci	23,1	18,3	22,5	25,3	25,2	29,8	
	hm. úbytek [%]	46,3	36,2	44,4	49,8	48,9	57,3	47,16 ± 6,9
5D	původní hmotnost	50,5	49,1	49,7	50,4	48,7	47,8	
	hm. po degradaci	7,8	19,9	21	7,8	14,7	24,4	
	hm. úbytek [%]	15,4	40,5	42,3	15,5	30,2	51,0	32,49 ± 14,7
6D	původní hmotnost	50,6	48,7	51	47	50,1	50,4	
	hm. po degradaci	13,9	9,5	10,4	8,8	10,2	12,4	
	hm. úbytek [%]	27,5	19,5	20,4	18,7	20,4	24,6	21,84 ± 3,43
7D	původní hmotnost	47,1	52,4	51,2	52,2	49,8	49,5	
	hm. po degradaci	2,8	5,5	6,3	9,4	4	4,3	
	hm. úbytek [%]	5,9	10,5	12,3	18,0	8,0	8,7	10,58 ± 4,2
8D	původní hmotnost	50,3	50,8	51,4	52,9	51,7	52,2	
	hm. po degradaci	7,1	7,7	6,3	13,2	5	5,7	
	hm. úbytek [%]	14,1	15,2	12,3	25,0	9,7	10,9	14,51 ± 5,5
NC 1D	původní hmotnost	53,2	51,6	49,7				
	hm. po degradaci	56	53	51,8				
	hm. úbytek [%]	105,2	102,7	104,2				104,07 ± 1,28
NC 4D	původní hmotnost	53,3	52	51,8				
	hm. po degradaci	56,6	54,1	53,4				
	hm. úbytek [%]	106,1	104,0	103,0				104,44 ± 1,59
NC 10D	původní hmotnost	51,5	52,1	50,1				
	hm. po degradaci	53	52,8	52				
	hm. úbytek [%]	102,9	101,3	103,7				102,68 ± 1,24

Tab. P6: Navážky vzorků před degradací, po degradaci a hmotností úbytek pro PCL45\_B

PCL45_B	[g]	a	b	c	d	e	f	Průměr ± SD
1D	původní hmotnost	47,5	48,1	48,2	49,8	47,8	49,8	
	hm. po degradaci	41,7	43	46,6	45,5	43,8	46,4	
	hm. úbytek [%]	87,8	89,4	96,7	91,4	91,6	93,2	91,67 ± 3
2D	původní hmotnost	50,5	49,9	49,8	50,9	48	50,7	
	hm. po degradaci	34,6	35,3	35,4	36,4	35,6	36,6	
	hm. úbytek [%]	68,5	70,7	71,1	71,5	74,2	72,2	71,37 ± 1,8
3D	původní hmotnost	51,7	50,7	48,8	51,4	50,3	50,7	
	hm. po degradaci	28,2	27,6	28,1	30,7	27,7	30,5	
	hm. úbytek [%]	54,5	54,4	57,6	59,7	55,1	60,2	56,92 ± 2,6
4D	původní hmotnost	50,4	51,1	50,0	49,1	50,2	49,0	
	hm. po degradaci	20,3	21,2	22,7	21,0	27,1	27,6	
	hm. úbytek [%]	40,3	41,5	45,4	42,8	54,0	56,3	46,71 ± 6,8
5D	původní hmotnost	49,9	51,4	50,8	50,0	49,9	49,5	
	hm. po degradaci	18,9	14,0	19,5	13,4	14,6	14,3	
	hm. úbytek [%]	37,9	27,2	38,4	26,8	29,3	28,9	31,41 ± 5,2
6D	původní hmotnost	50,1	50,5	51,6	50,7	50,7	49,8	
	hm. po degradaci	8,1	10,6	7,0	6,7	10,0	11,2	
	hm. úbytek [%]	16,2	21,0	13,6	13,2	19,7	22,5	17,69 ± 3,9
7D	původní hmotnost	51,0	50,6	49,3	50,7	50,3	50,7	
	hm. po degradaci	8,8	7,9	5,8	7,7	7,2	4,9	
	hm. úbytek [%]	17,3	15,6	11,8	15,2	14,3	9,7	13,97 ± 2,7
8D	původní hmotnost	49,3	50,1	49,9	50,0	50,2	51,1	
	hm. po degradaci	2,7	4,7	4,3	3,5	3,6	6,8	
	hm. úbytek [%]	5,5	9,4	8,6	7,0	7,2	13,3	8,49 ± 2,7
NC 1D	původní hmotnost	49,6	49,7	50,3				
	hm. po degradaci	52,5	52,2	53,1				
	hm. úbytek [%]	105,8	105,0	105,6				105,48 ± 0,4
NC 4D	původní hmotnost	50,7	49,2	50,6				
	hm. po degradaci	54,9	52,3	55,4				
	hm. úbytek [%]	108,3	106,3	109,5				108,02 ± 1,6
NC 10D	původní hmotnost	50,6	50,4	50,9				
	hm. po degradaci	51,0	52,0	53,0				
	hm. úbytek [%]	100,8	103,2	104,1				102,70 ± 1,7

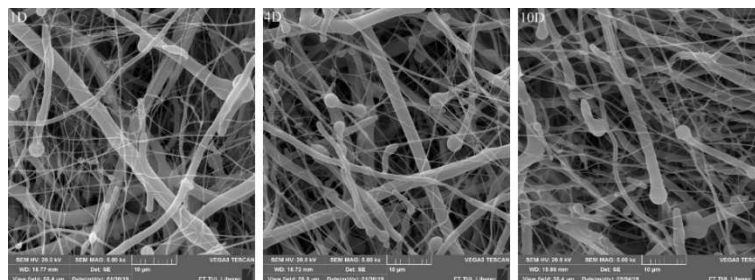
Tab. P7: Navážky vzorků před degradací, po degradaci a hmotností úbytek pro PCL80

PCL80	[g]	a	b	c	d	e	f	Průměr ± SD
1D	původní hmotnost	50,4	50,1	50,1	50,4	49,3	49,4	
	hm. po degradaci	45,1	46,3	46,6	47,1	46,5	46,2	
	hm. úbytek [%]	89,5	92,4	93,0	93,5	94,3	93,5	92,70 ± 1,7
2D	původní hmotnost	50,3	49,9	50,8	49,8	51,0	49,8	
	hm. po degradaci	38,6	38,4	39,9	37,6	45,9	43,8	
	hm. úbytek [%]	76,7	77,0	78,5	75,5	90,0	88,0	80,95 ± 6,3
3D	původní hmotnost	50,6	50,2	50,4	50,8	50,5	51,1	
	hm. po degradaci	36,7	35,5	38,5	37,2	44,3	38,8	
	hm. úbytek [%]	72,5	70,7	76,4	73,2	87,7	75,9	76,09 ± 6
4D	původní hmotnost	50,7	50,2	49,8	50,6	50,8	50,6	
	hm. po degradaci	24,4	23,4	22,6	21,8	40,7	29,0	
	hm. úbytek [%]	48,1	46,6	45,4	43,1	80,1	57,3	53,44 ± 13,9
5D	původní hmotnost	50,9	50,8	49,3	50,0	49,8	50,5	
	hm. po degradaci	13,5	15,5	14,0	16,1	37,4	38,5	
	hm. úbytek [%]	26,5	30,5	28,4	32,2	75,1	76,2	44,83 ± 23,7
6D	původní hmotnost	49,5	50,3	50,2	50,3	49,1	50,4	
	hm. po degradaci	10,7	23,7	25,5	9,8	21,3	21,3	
	hm. úbytek [%]	21,6	47,1	50,8	19,5	43,4	42,3	37,44 ± 13,4
7D	původní hmotnost	50,7	49,7	49,7	50,4	49,4	48,7	
	hm. po degradaci	8,5	11,8	23,4	25,0	23,1	24,2	
	hm. úbytek [%]	16,8	23,7	47,1	49,6	46,8	49,7	38,94 ± 14,9
8D	původní hmotnost	50,3	51,0	50,6	49,6	51,1	50,0	
	hm. po degradaci	31,0	25,9	20,4	13,5	27,8	22,5	
	hm. úbytek [%]	61,6	50,8	40,3	27,2	54,4	45,0	46,56 ± 12
9D	původní hmotnost	50,8	51,0	50,1	49,1	48,1	50,6	
	hm. po degradaci	13,0	15,9	13,7	2,6	5,8	4,9	
	hm. úbytek [%]	25,6	31,2	27,3	5,3	12,1	9,7	18,52 ± 10,8
10D	původní hmotnost	50,6	50,2	50,4	49,1	50,9	50,8	
	hm. po degradaci	7,0	10,0	10,3	9,7	14,4	10,8	
	hm. úbytek [%]	13,8	19,9	20,4	19,8	28,3	21,3	20,58 ± 4,6
NC 1D	původní hmotnost	50,2	50,1	49,5				
	hm. po degradaci	52,8	52,4	51,7				
	hm. úbytek [%]	105,2	104,6	104,4				104,74 ± 0,3
NC 4D	původní hmotnost	50,6	49,5	50,8				
	hm. po degradaci	55,6	54,3	53,0				
	hm. úbytek [%]	109,9	109,7	104,3				107,97 ± 3,1
NC 10D	původní hmotnost	49,6	49,8	50,3				
	hm. po degradaci	51,0	52,0	51,0				
	hm. úbytek [%]	102,8	104,4	101,4				102,88 ± 1,5

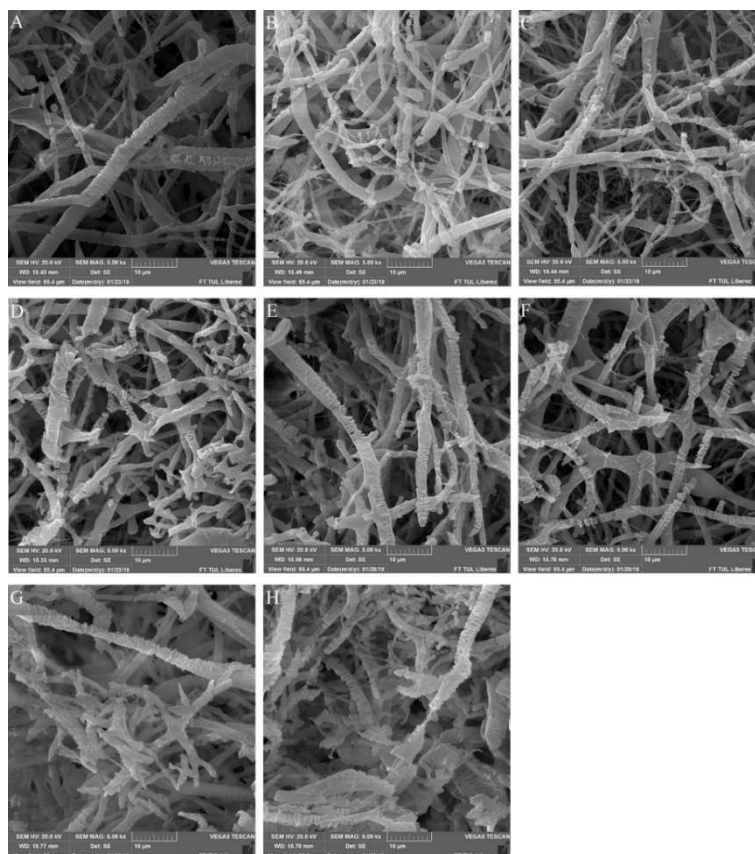


Graf P2: Hmotnostní úbytek pro negativní kontroly jednotlivých materiálů během testování mechanických vlastností v závislosti stupně degradace

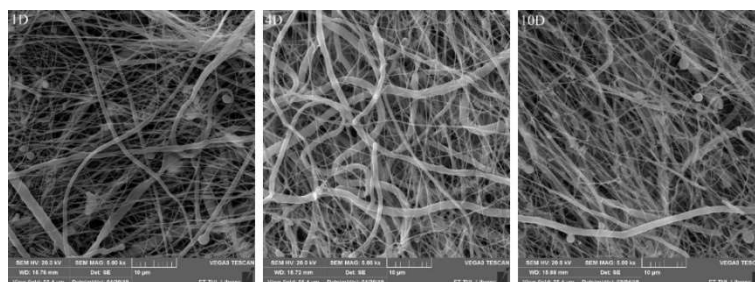




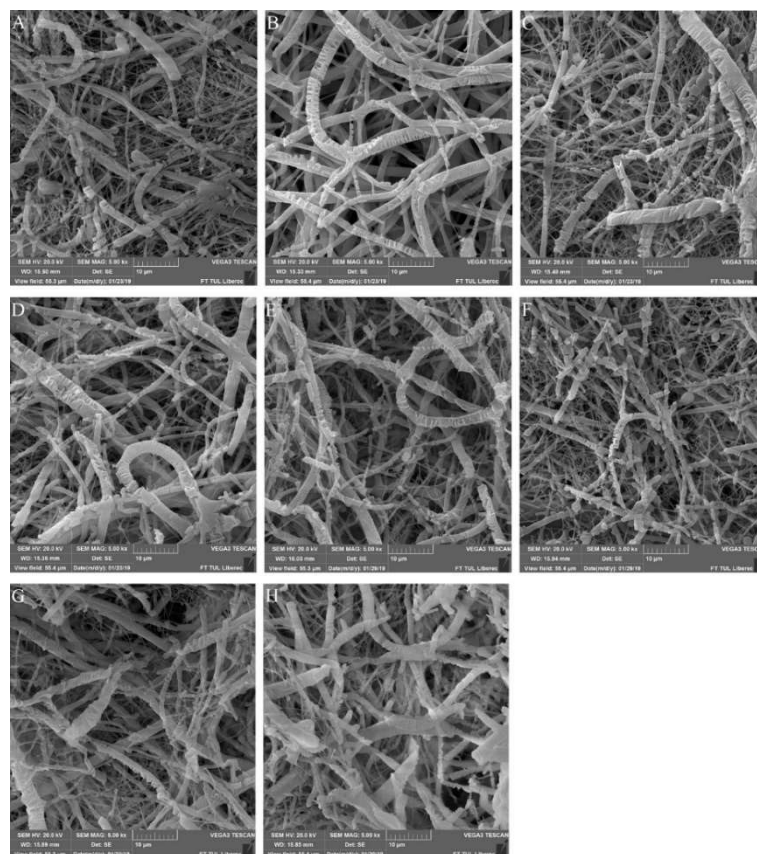
Obr. P4: Negativní kontroly pro 1., 4. a 10. degradace materiálu PCL45\_A



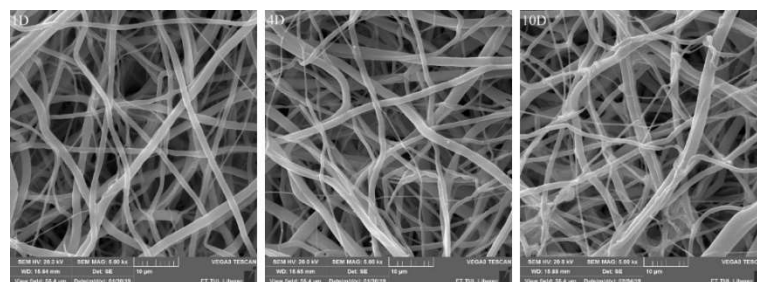
Obr. P5: Snímky SEM PCL45\_A během testování mechanických vlastností v závislosti na stupeň degradace, A – 1. den degradace, B – 2. den degradace, C – 3. den degradace, D – 4. den degradace, E – 5. den degradace, F – 6. den degradace, G – 7. den degradace, H – 8. den degradace



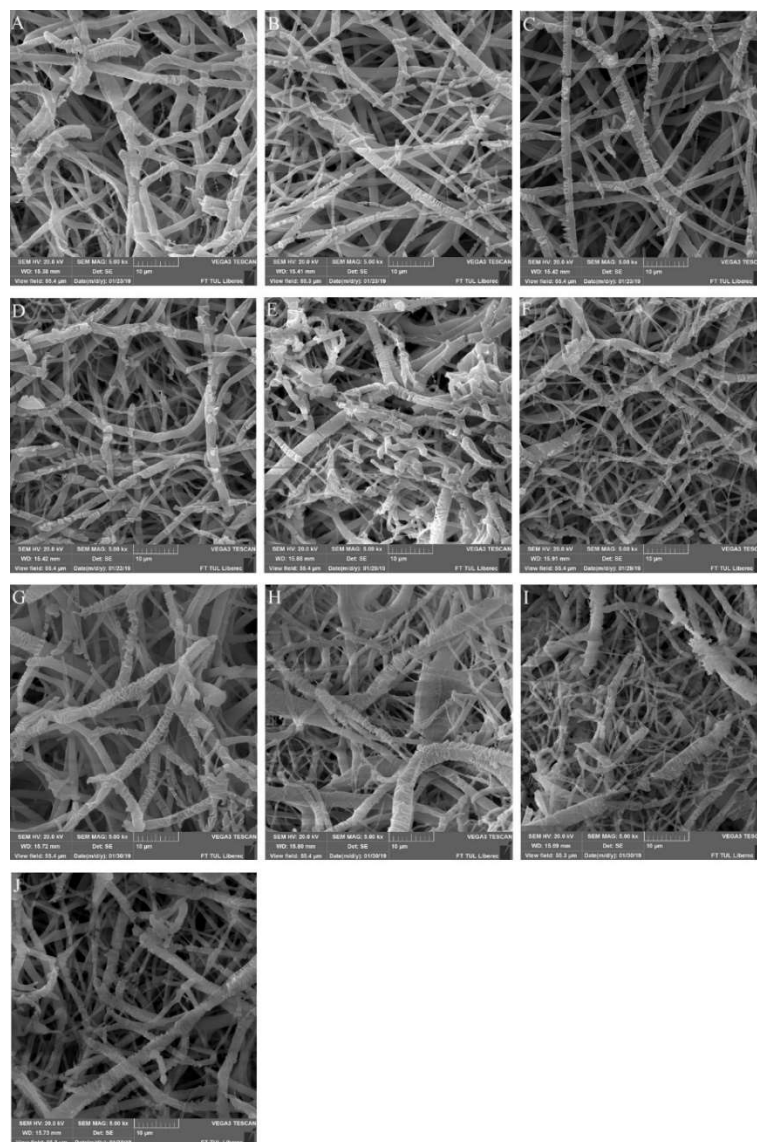
Obr. P6: Negativní kontroly pro 1., 4. a 10. degradace materiálu PCL45\_B



*Obr. P7: Snímky SEM PCL45\_B během testování mechanických vlastností v závislosti na stupeň degradace, A – 1. den degradace, B – 2. den degradace, C – 3. den degradace, D – 4. den degradace, E – 5. den degradace, F – 6. den degradace, G – 7. den degradace, H – 8. den degradace*



*Obr. P8: Negativní kontroly pro 1., 4. a 10. degradace materiálu PCL80*



Obr. P9: Snímky SEM PCL80 během testování mechanických vlastností v závislosti na stupeň degradace, A – 1. den degradace, B – 2. den degradace, C – 3. den degradace, D – 4. den degradace, E – 5. den degradace, F – 6. den degradace, G – 7. den degradace, H – 8. den degradace, I – 9. den degradace, J – 10. den degradace

### Příloha 3: Doplnění kapitoly 2.2.3.3. Výsledky mechanického testování

Tab. P8: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností, včetně 95% intervalů spolehlivosti pro PCL45\_A

PCL45_A	Maximální síla do přerhu [N]	95% IS maximální síly do přerhu [N]	Tažnost [%]	95% IS tažnosti [%]	Napětí [MPa]	Počáteční modul tažnosti [MPa]	95% IS počátečního modulu tažnosti [MPa]
1. den	0,519 ± 0,25	(0,178;0,865)	17,060 ± 5,48	(9,45;24,66)	0,298	3,292 ± 0,35	(2,802;3,783)
2. den	0,143 ± 0,05	(0,066;0,219)	8,555 ± 2,22	(5,47;11,6)	0,117	0,838 ± 0,06	(0,748;0,928)
3. den	0,073 ± 0,05	(0,006;0,138)	6,525 ± 2,03	(3,71;9,33)	0,042	1,029 ± 0,08	(0,921;1,137)
4. den	0,077	-	5,978 ± 1,28	(4,19;7,75)	0,044	1,301	-
5. den	0,037	-	8,055	-	0,021	0,242	-

Tab. P9: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností cyklického namáhání, včetně 95% intervalů spolehlivosti pro PCL45\_A

PCL45_A	Maximální síla do přetrhu po cyklickém namáhání [N]	95% IS maximální síly do přetrhu po cyklickém namáhání [N]	Tažnost po cyklickém namáhání [%]	95% IS tažnosti po cyklickém namáhání [%]	Nárůst tažnosti při cyklickém namáhání [%]	95% IS nárůstu tažnosti při cyklickém namáhání [%]
1. den	0,368 ± 0,07	(0,27;0,466)	10,915 ± 4,1	(5,231;16,598)	7,275 ± 3,67	(2,184;12,365)
2. den	0,152 ± 0,02	(0,111;0,191)	7,215 ± 0,7	(6,244;8,185)	4,737 ± 2,92	(0,696;8,776)
3. den	0,091	-	10,69	-	4,236	-

Tab. P10: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností včetně 95% intervalů spolehlivosti pro negativní kontroly PCL45\_A

NC_PCL45_A	Maximální síla do přetrhu [N]	95% IS maximální síly do přetrhu [N]	Tažnost [%]	95% IS tažnosti [%]	Napětí [MPa]	Počáteční modul tažnosti [MPa]	95% IS počátečního modulu tažnosti [MPa]
1. den	0,827 ± 0,04	(0,761;0,893)	29,102 ± 0,75	(28,058;30,146)	0,475	2,691 ± 0,55	(1,922;3,460)
4. den	0,854 ± 0,04	(0,792;0,916)	28,527 ± 4,81	(21,858;35,196)	0,490	2,767 ± 0,75	(1,724;3,810)
10. den	0,771 ± 0,08	(0,650;0,892)	22,475 ± 3,06	(18,231;26,718)	0,443	4,559 ± 0,77	(3,482;5,636)

Tab. P11: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností cyklického namáhání, včetně 95% intervalů spolehlivosti, pro negativní kontroly PCL45\_A

NC_PCL45_A	Maximální síla do přetrhu pro cyklickém namáhání [N]	Tažnost po cyklickém namáhání [%]	Nárůst tažnosti při cyklickém namáhání [%]
1. den	0,862	31,835	8,698
4. den	0,877	26,59	5,48
10. den	0,705	13,53	4,681

Tab. P12: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností, včetně 95% intervalů spolehlivosti, pro PCL45\_B

PCL45_B	Maximální síla do přetrhu [N]	95% IS maximální síly do přetrhu [N]	Tažnost [%]	95% IS tažnosti [%]	Napětí [MPa]	Počáteční modul tažnosti [MPa]	95% IS počátečního modulu tažnosti [MPa]
1. den	0,428 ± 0,11	(0,281;0,576)	13,395 ± 4,72	(6,848;19,941)	0,324	2,397 ± 0,71	(1,41;3,384)
2. den	0,165 ± 0,02	(0,135;0,195)	10,238 ± 0,92	(8,968;11,506)	0,125	0,589 ± 0,3	(0,164;1,013)
3. den	0,139 ± 0,02	(0,11;0,173)	8,277 ± 1,23	(6,577;9,977)	0,105	0,805 ± 0,34	(0,326;1,284)
4. den	0,186	-	9,58	-	0,14	1,033	-

Tab. P13: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností cyklického namáhání, včetně 95% intervalů spolehlivosti, pro PCL45\_B

PCL45_B	Maximální síla do přetrhu po cyklickém namáhání [N]	95% IS maximální síly do přetrhu po cyklickém namáhání [N]	Tažnost po cyklickém namáhání [%]	95% IS tažnosti po cyklickém namáhání [%]	Natažení při cyklickém namáhání [%]	95% IS nárůstu tažnosti při cyklickém namáhání [%]
1. den	0,531 ± 0,09	(0,403;0,658)	15,963 ± 6,85	(6,461;25,463)	7,222 ± 5,44	(-0,316;14,761)
2. den	0,225		6,65		4,339	
3. den	0,152		9,8		5,416	

Tab. P14: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností včetně 95% intervalů spolehlivosti, pro negativní kontroly PCL45\_B

NC_PCL45_B	Maximální síla do přetrhu [N]	95% IS maximální síly do přetrhu [N]	Tažnost [%]	95% IS tažnosti [%]	Napětí [MPa]	Počáteční modul [MPa]	95% IS počátečního modulu tažnosti [MPa]
1. den	0,879 ± 0,02	(0,849;0,909)	30,70 ± 4,70	(24,185;37,229)	0,665	3,354 ± 0,91	(2,093;4,615)
4. den	0,803 ± 0,04	(0,735;0,871)	29,13 ± 1,91	(26,474;31,785)	0,608	2,554 ± 0,67	(1,623;3,486)
10. den	0,789 ± 0,13	(0,61;0,968)	18,2 ± 10,42	(3,755;32,644)	0,597	4,78 ± 3,13	(0,444;9,116)

Tab. P15: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností cyklického namáhání, včetně 95% intervalů spolehlivosti pro negativní kontroly PCL45\_B

NC_PCL45_B	Maximální síla do přetrhu pro cyklickém namáhání [N]	Tažnost po cyklickém namáhání [%]	Nárůst tažnosti při cyklickém namáhání [%]
1. den	0,847	26,635	9,419
4. den	0,728	20,025	13,973
10. den	0,844	25,835	5,646

Tab. P16: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností, včetně 95% intervalů spolehlivosti, pro PCL80

PCL80	Maximální síla do přetrhu [N]	95% IS maximální síly do přetrhu [N]	Tažnost [%]	95% IS tažnosti [%]	Napětí [MPa]	Počáteční modul tažnosti [MPa]	95% IS počátečního modulu tažnosti [MPa]
1. den	0,737 ± 0,24	(0,401;1,073)	38,673 ± 21,57	(8,778;68,566)	0,604	4,659 ± 0,523	(3,934;5,384)
2. den	0,309 ± 0,24	(-0,021;0,639)	18,323 ± 5,61	(10,546;26,098)	0,253	1,769 ± 1,36	(-0,118;3,3656)
3. den	0,401 ± 0,29	(-0,006;0,808)	15,838 ± 9,89	(2,1329;564)	0,328	4,324 ± 0,79	(3,229;5,419)
4. den	0,397 ± 0,09	(0,259;0,535)	17,465 ± 10,13	(3,431;31,498)	0,325	1,808 ± 0,51	(1,099;2,516)
5. den	0,024		6,96		0,019	0,264	
6. den	0,049		14,807 ± 2,23	(11,715;17,899)	0,04	0,218	

Tab. P17: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností cyklického namáhání, včetně 95% intervalů spolehlivosti, pro PCL80

PCL80	Maximální síla do přetrhu pro cyklickém namáhání [N]	95% IS maximální síly do přetrhu po cyklickém namáhání [N]	Tažnost po cyklickém namáhání [%]	95% IS tažnosti po cyklickém namáhání [%]	Natažení při cyklickém namáhání [%]	95% IS nárůstu tažnosti při cyklickém namáhání [%]
1. den	0,674 ± 0,04	(0,615;0,732)	27,77 ± 10,33	(13,452;42,08)	5,951 ± 0,59	(5,132;6,769)
2. den	0,598 ± 0,08	(0,482;0,713)	26,48	-	5,894 ± 1,74	(3,476;8,312)
3. den	0,509	-	19,995	-	6,181	
4. den	0,231	-	13,025	-	5,310	

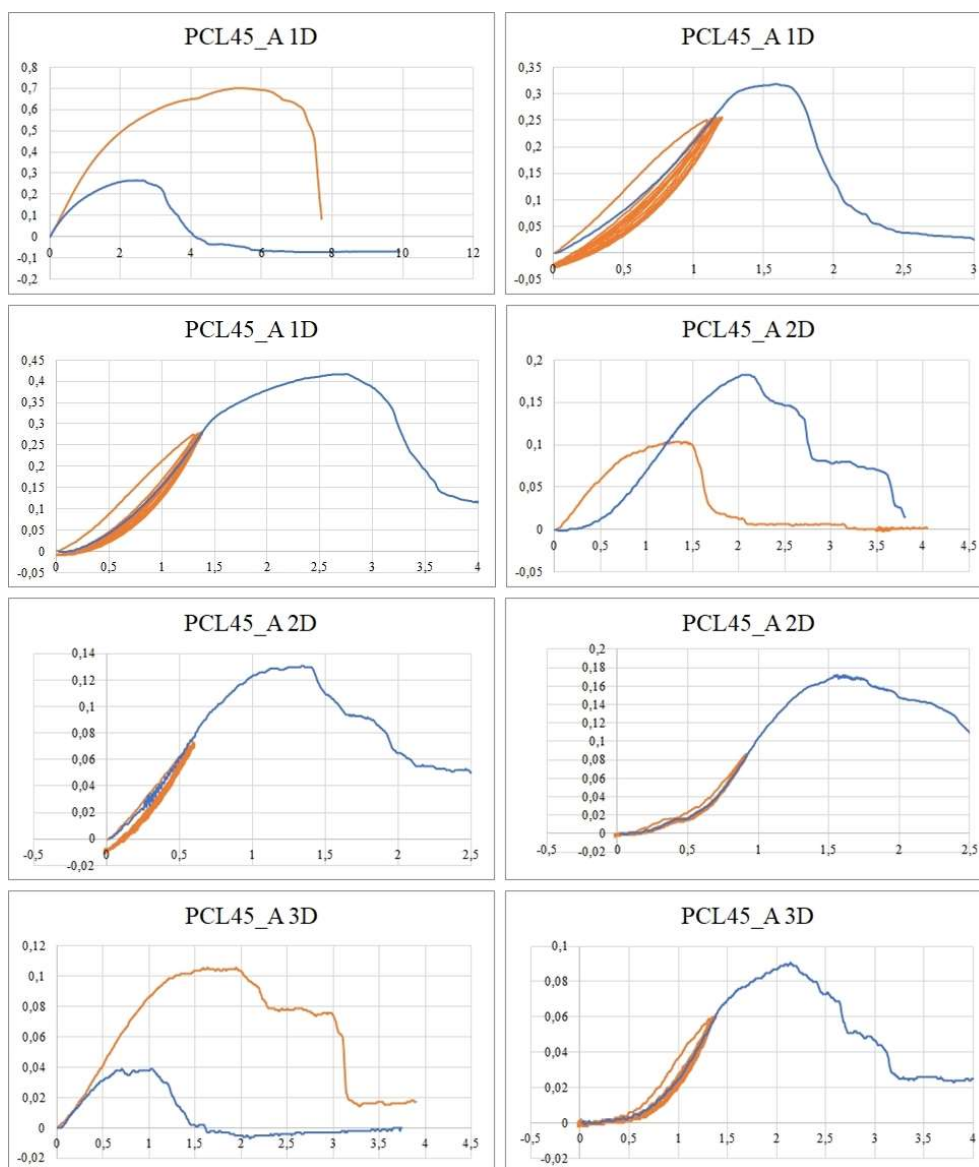
Tab. P18: Průměrné hodnoty ± směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností, včetně 95% intervalů spolehlivosti pro negativní kontroly PCL80

NC_PCL80	Maximální síla do přetrhu [N]	95% IS maximální síly do přetrhu [N]	Tažnost [%]	95% IS tažnosti [%]	Napětí [MPa]	Počáteční modul tažnosti [MPa]	95% IS počátečního modulu tažnosti [MPa]
1. den	1,249 ± 0,03	(1,195;1,303)	142,537 ± 2,06	(139,671;145,403)	1,023	2,533 ± 0,65	(1,622;3,445)
4. den	1,228 ± 0,13	(1,039;1,417)	149,715 ± 28,82	(109,770;189;659)	1,006	3,594 ± 0,78	(2,499;4,689)
10. den	1,282 ± 0,1	(1,136;1,427)	122,48 ± 38,09	(69,678;175,281)	1,050	4,349 ± 1,05	(2,883;5,816)

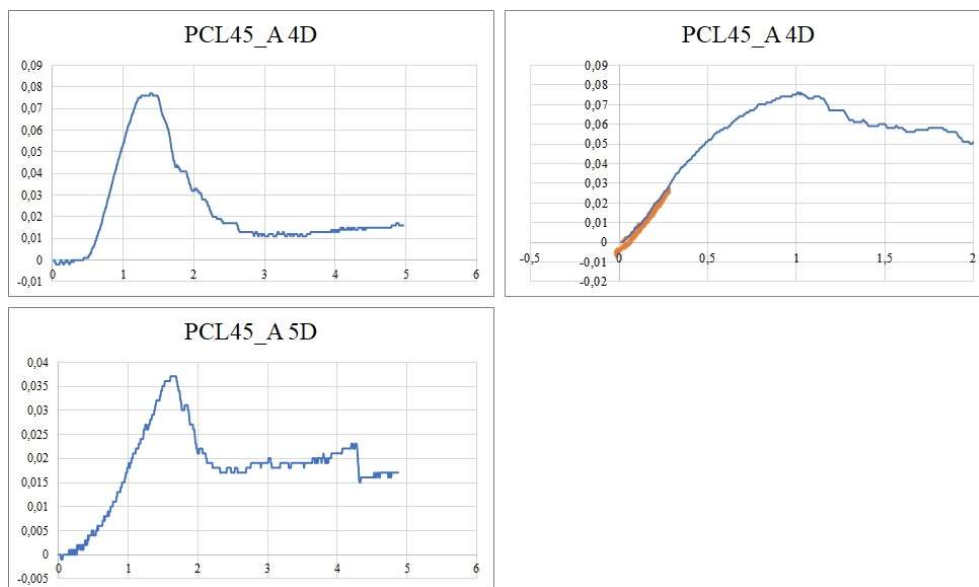
Tab. P19: Průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky výsledků mechanických vlastností cyklického namáhání, včetně 95% intervalů spolehlivosti pro PCL80

NC_PCL80	Maximální síla do přetrhu pro cyklickém namáhání [N]	Tažnost po cyklickém namáhání [%]	Nárůst tažnosti při cyklickém namáhání [%]
1. den	1,212	123,135	6,25
4. den	1,21	133,25	7,472
10. den	1,196	129,68	7,918

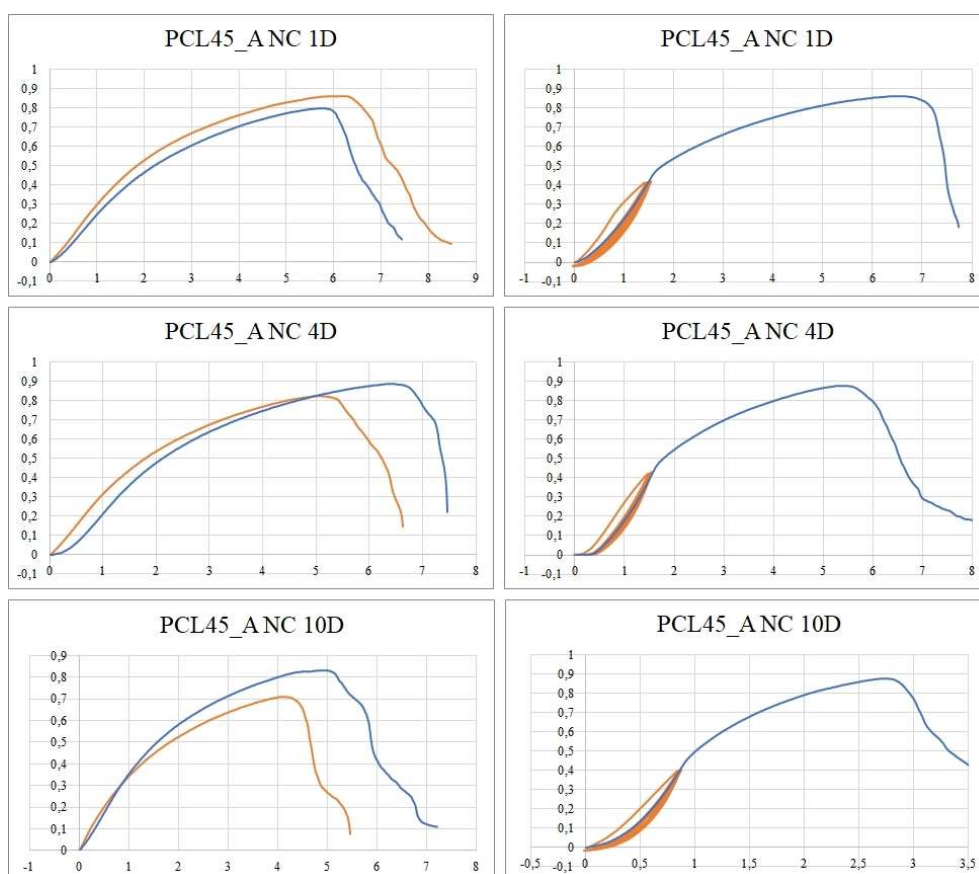
Příloha 4: Doplnění kapitoly 2.2.3.3. Grafy tahových křivek mechanického testování



Obr. P10 Grafy pracovních křivek materiálu PCL45\_A, 1. až 3. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]

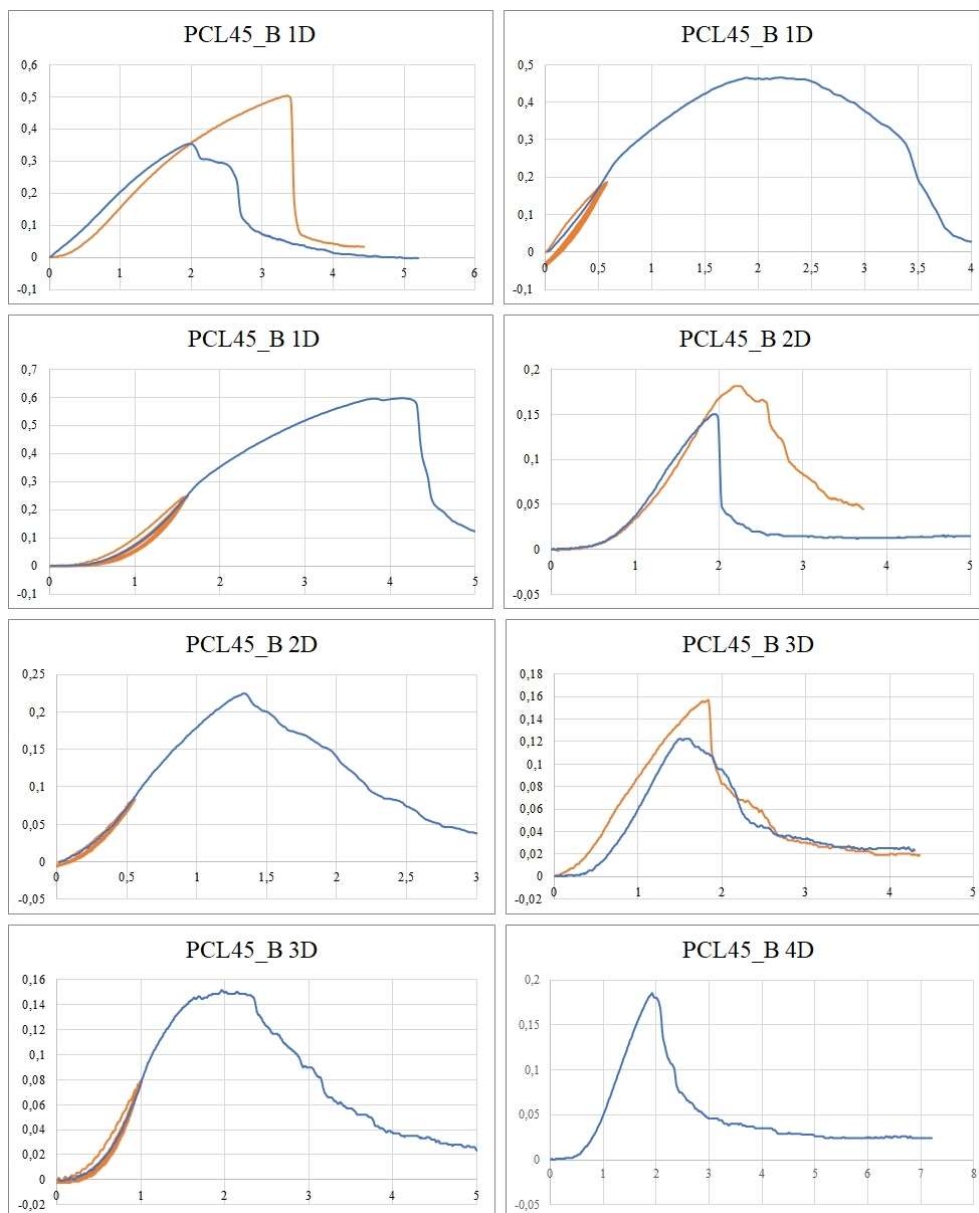


Obr. P11 Grafy pracovních křivek materiálu PCL45\_A, 4. a 5. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]

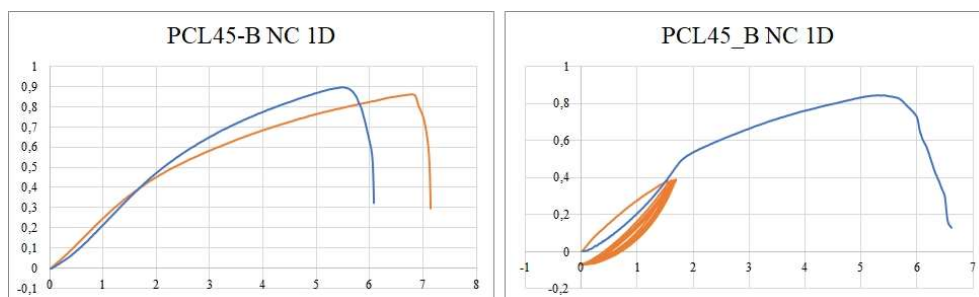


Obr.P12: Grafy pracovních křivek NC materiálu PCL45\_A, 1., 4. a 10. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]

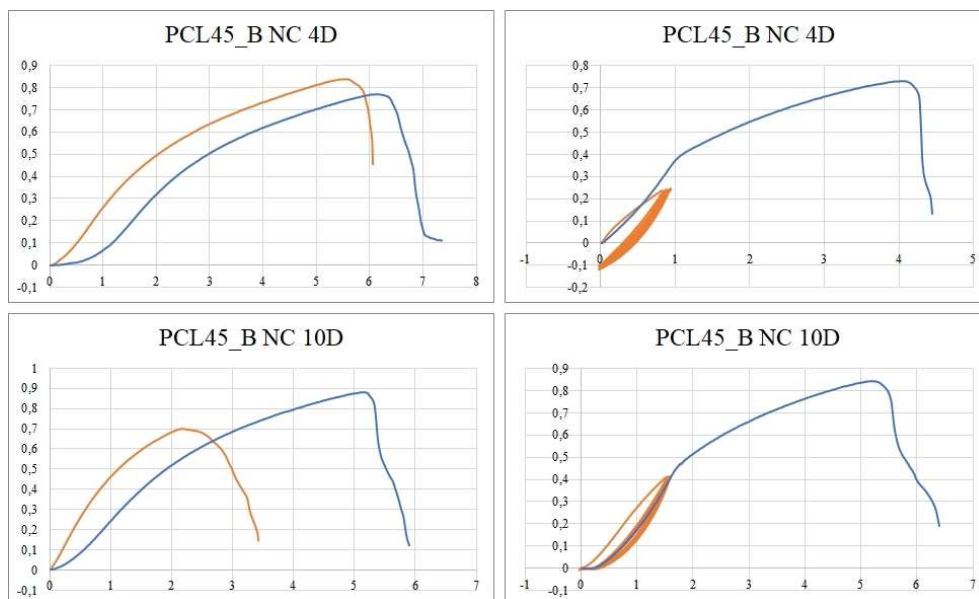




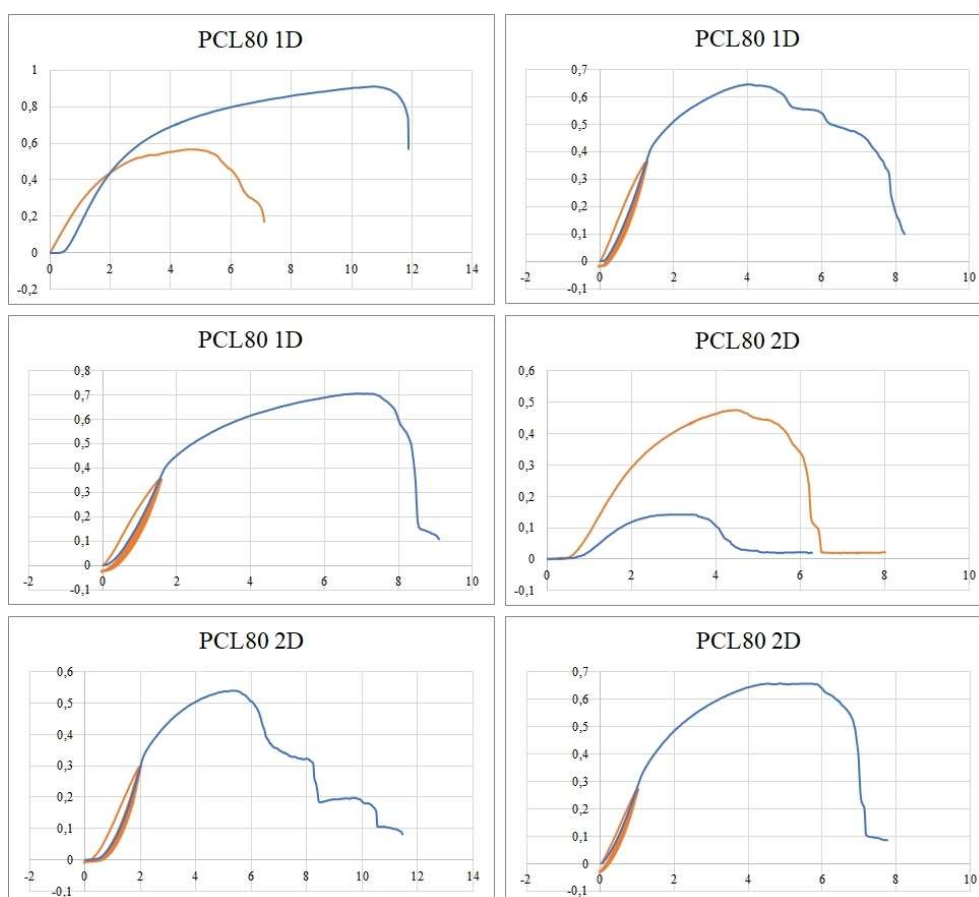
Obr. P13: Grafy pracovních křivek materiálu PCL45\_B, 1. až 4. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]



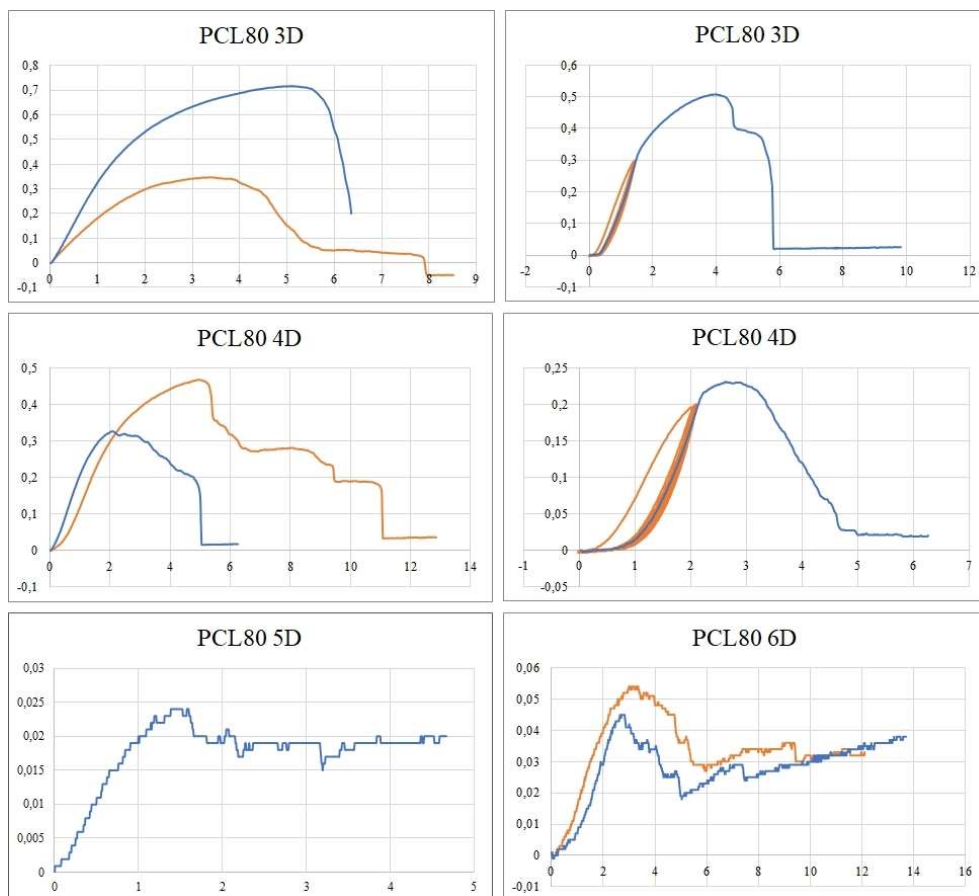
Obr. P14: Grafy pracovních křivek NC materiálu PCL45\_B, 1. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]



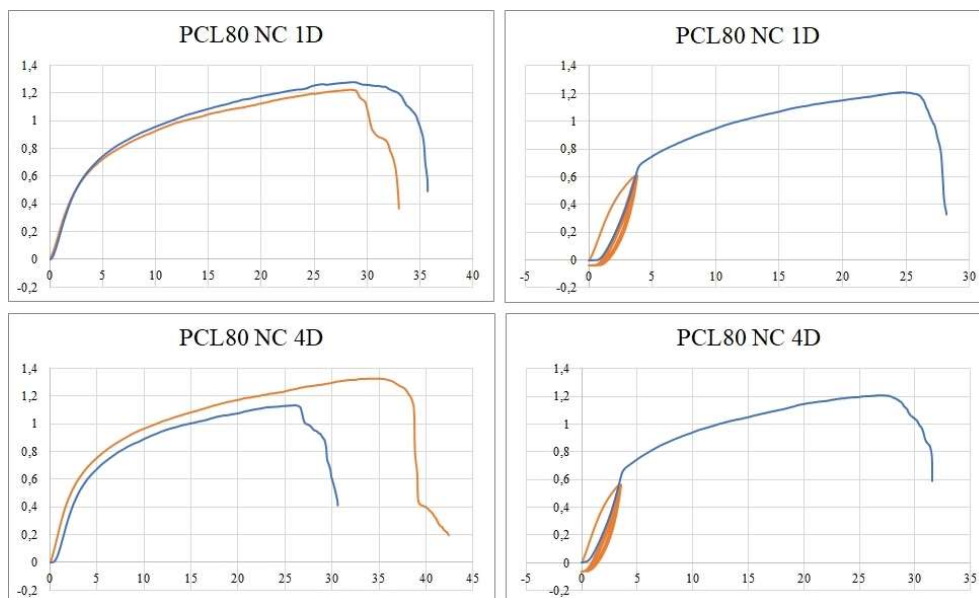
Obr. P15: Grafy pracovních křivek NC materiálu PCL45\_B, 4. a 10. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]



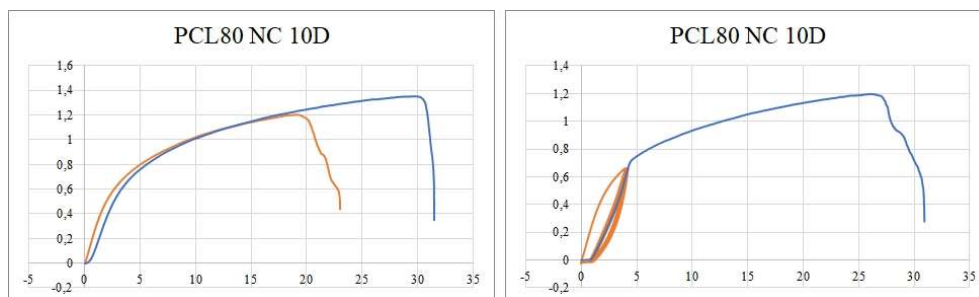
Obr. P16: Grafy pracovních křivek materiálu PCL 80 1. a 2. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]



Obr. P17: Grafy pracovních křivek materiálu PCL80, 3., 4., 5. a 6. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]



Obr. P18: Grafy pracovních křivek NC materiálu PCL80, 1. a 4. den testování, na ose x je prodloužení [mm], na ose y je síla [N]



Obr. P19: Grafy pracovních křivek NC materiálu PCL80, 10. den testování, na ose  $x$  je prodloužení [mm], na ose  $y$  je síla [N]