



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

# BIODEGRADACE 3D TIŠTĚNÝCH KOMPOZITŮ NA BÁZI POLY(3-HYDROXYBUTYRÁTU)

BIODEGRADATION OF 3D PRINTED COMPOSITES BASED ON POLY(3-HYDROXYBUTYRATE)

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

**Nikol Gazdová**

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

**Ing. Veronika Melčová, Ph.D.**

**BRNO 2023**

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1834/2022

Akademický rok: 2022/23

Ústav: Ústav chemie materiálů

Studentka: **Nikol Gazdová**

Studijní program: Chemie a technologie materiálů

Studijní obor: bez specializace

Vedoucí práce: **Ing. Veronika Melčová, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Biodegradace 3D tištěných kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu)

### Zadání bakalářské práce:

- 1) Literární rešerše na poly(3-hydroxybutyrát) (PHB) a jeho biodegradaci a využití v medicíně,
- 2) Příprava filamentů pro FDM 3D tisk z biokompozitů na bázi biopolymeru PHB a polylaktidu plněného různými typy minerálu složeného z hydroxyapatitu/fosforečnanu vápenatého (HAP/TCP),
- 3) Tahová a tlaková zkouška připravených materiálů,
- 4) Příprava plných a porézních 3D tištěných těles pro biodegradační testy,
- 5) Biodegradace in vitro v simulovaném prostředí lidského těla při 37 °C.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Nikol Gazdová  
studentka

-----  
Ing. Veronika Melčová, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
doc. Ing. František Šoukal, Ph.D.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se zabývá biodegradací 3D tištěných těles složených z poly(3-hydroxybutyrátu), kyseliny polymléčné, biokeramiky a změkčovadla. Tyto složky byly vybrány pro svou biokompatibilitu a vlastnosti, které by mohly být využity v tkáňovém inženýrství jako dočasná, vstřebatelná náhrada kostní tkáně. Hlavním cílem bylo zkoumání vlivu jednotlivých složek těles na samotnou biodegradaci. Biodegradace probíhala při 37 °C v roztoku simulující iontovou koncentraci krevní plazmy. Vzorky byly postupně vytahovány v měsíčních intervalech po dobu pěti měsíců. Pro vyhodnocení výsledků byly použity 2 metody – změna hmotnosti a zkouška v tlaku, kde byla vyhodnocována pevnost jednotlivých těles. Z vyhodnocení dat nešlo dojít k jednotnému výsledku, která látka nejvíc ovlivňuje biodegradaci, protože vždy záleželo i na poměru látek ostatních. Pro zkoumání vlivu poly(3-hydroxybutyrátu) a kyseliny polymléčné na rychlost biodegradace byly porovnávány směsi RP9, RP10 a RP15. Ukázalo, že vyšší zastoupení kyseliny polymléčné a nižší zastoupení poly(3-hydroxybutyrátu) výrazně pozitivně ovlivňuje rychlost biodegradace, jelikož rozdíl mezi poklesem hmotnosti pro směs RP9 s nejvyšším zastoupením poly(3-hydroxybutyrátu) a RP10 s nejvyšším zastoupením kyseliny polymléčné činil 8,37 % pro plné tělesa a 4,13 % pro tělesa porézní. U pevnosti to pak byl rozdíl o 73,32 % pro plné a 73,65 % pro porézní těleso. Při pozorování vlivu obsahu biokeramiky na směsích RP11, RP12 a RP15, jsme došli k závěru, že tento vliv je na rychlost biodegradace téměř zanedbatelný rozdíl poklesu hmotnosti mezi směsí RP11 s nejnižším obsahem biokeramiky a RP12 s nejvyšším zastoupením biokeramiky činil pouze 1,68 % pro plné tělesa a 0,99 % pro tělesa porézní, naopak směs RP15 se vykazovala nevyšší mírou biodegradace, přestože má střední hodnotu biokeramiky ve směsi. Pro mechanické vlastnosti to pak činí rozdíl o 10,4 % pro plné a 7,57 % u porézních těles. Při porovnání vlivu změkčovadla u směsí RP13, RP14 a RP15 byl zaznamenán vliv spíše na pokles pevnosti, kdy rozdíl v poklesu pevnosti u směsi RP13 s nejnižším obsahem změkčovadla a RP14 s nejvyšším obsahem změkčovadla byl rozdílný o 20,3 % pro plné a 18,16 % pro porézní těleso. Pokles hmotnosti pak byl rozdílný o 4,1 % pro plné a 0,83 % pro porézní těleso. Jako důležitým faktorem pro rychlost biodegradace se nakonec stala biokeramika od rozdílných firem. Nejlépe se biodegradoval hydroxyapatit od firmy Applichem a nejhůře zase hydroxyapatit od firmy CN Lab. Rozdíl na pokles hmotnosti činil 17,35 % pro plné a 5,93 % pro porézní těleso. Úbytek pevnosti pak byl rozdílný o 55,6 % pro plné těleso a o 33,38 % pro porézní těleso.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Poly(3-hydroxybutyrát), kyselina polymléčná, biodegradace, 3D tisk, zkouška v tlaku, pevnost v tlaku, FDM, SBF médium

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis deals with the biodegradation of 3D printed bodies composed of poly(3-hydroxybutyrate), polylactic acid, bioceramics and plasticizer. These components were selected for their biocompatibility and properties that could be used in tissue engineering as a temporary, absorbable bone tissue replacement. The main objective was to investigate the effect of the individual constituent bodies on the biodegradation itself. Biodegradation was carried out at 37 °C in a solution simulating the ionic concentration of blood plasma. Samples were sequentially withdrawn at monthly intervals for five months. To evaluate the results, 2 methods were used, weight change and compression test, where the strength of each body was evaluated. From the evaluation of the data it was not possible to reach a uniform result on which substance influences biodegradation the most, because it always depended on the ratio of the other substances. To investigate the effect of poly(3-hydroxybutyrate) and polylactic acid on the rate of biodegradation, mixtures of RP9, RP10 and RP15 were compared. It showed that a higher polylactic acid and lower poly(3-hydroxybutyrate) content had a significant positive effect on the biodegradation rate, as the difference between the weight loss for the RP9 blend with the highest poly(3-hydroxybutyrate) content and the RP10 blend with the highest polylactic acid content was 8.37% for solid bodies and 4.13% for porous bodies. For strength, the difference was 73.32% and 73.65% for the solid and porous bodies, respectively. Observing the effect of bioceramic content on the RP11, RP12 and RP15 mixtures, we concluded that this effect was almost negligible on the biodegradation rate. The difference in weight loss between the RP11 mixture with the lowest bioceramic content and the RP12 mixture with the highest bioceramic content was only 1,68 % for solid bodies and 0.99 % for porous bodies, while mixture RP15 showed the highest biodegradation rate despite having a medium value of bioceramics in the mixture. For the mechanical properties, this then amounts to a difference of 10.4% for the solids and 7.57% for the porous bodies. When comparing the effect of plasticizer for mixes RP13, RP14 and RP15, the effect was more on the strength drop, where the difference in strength drop for mix RP13 with the lowest plasticizer content and RP14 with the highest plasticizer content was different by 20.3% and 18.16% for the solid and porous body, respectively. The decrease in weight was then different by 4.1 % and 0.83 % for the solid and porous body, respectively. Finally, bioceramics from different companies emerged as an important element for the biodegradation rate. Hydroxyapatite from Applichem was the best biodegraded and hydroxyapatite from CN Lab was the worst. The difference for weight loss was 17.35% for the solid and 5.93% for the porous body. The strength loss was then different by 55.6% for the solid body and 33.38% for the porous body.

## **KEYWORDS**

Poly(3-hydroxybutyrate), polylactic acid, biodegradation, 3D printing, compressive test, compressive strength, FDM, SBF medium

GAZDOVÁ, Nikol. *Biodegradace 3D tištěných kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu)*. Brno, 2023. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů. Vedoucí práce Veronika Melčová.

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT

.....

podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

V první řadě bych ráda poděkovala vedoucí práce Ing. Veronice Melčové, PhD., za její pečlivé vedení, trpělivost, vstřícnost, konzultace a podnětné připomínky k práci. Mé poděkování patří také členům Laboratoře konce života za pomoc při jednotlivých měřeních. V neposlední řadě chci poděkovat rodině, za podporu při studiu a svým přátelům za psychickou podporu při těžkých časech během studia.

## OBSAH

1	ÚVOD .....	6
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	7
2.1	Poly(3-hydroxybutyrát) .....	7
2.1.1	Fyzikální a mechanické vlastnosti P3HB .....	7
2.1.2	Syntéza P3HB .....	8
2.1.3	Hydrolýza a biodegradace PHB .....	9
2.2	Kyselina polymlečná .....	11
2.2.1	Fyzikální a mechanické vlastnosti PLA .....	12
2.2.2	Výroba PLA .....	12
2.2.3	Degradace a hydrolýza PLA .....	13
2.3	Biokeramika .....	15
2.3.1	Fyzikální a mechanické vlastnosti biokeramiky .....	15
2.3.2	Výroba biokeramického materiálu .....	16
2.3.3	Biologické vlastnosti a biodegradace <i>in vivo</i> a <i>in vitro</i> .....	17
2.4	Trojrozměrný (3D) tisk .....	18
2.4.1	Material jetting .....	18
2.4.2	Binder jetting .....	18
2.4.3	Vat fotopolymerizace .....	19
2.4.4	Metody tavení termoplastického prášku .....	20
2.4.5	FDM tisk .....	20
3	PRAKTICKÁ ČÁST .....	21
3.1	Použité materiály .....	21
3.2	Vzorky .....	21
3.2.1	Příprava filamentů .....	21
3.2.2	3D tisk testovacích těles .....	22
3.2.3	Biodegradace <i>in vitro</i> .....	25
3.2.4	Zkouška v tlaku .....	26
4	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	27
4.1	Vliv obsahu PHB a PLA na biodegradaci .....	27
4.2	Vliv obsahu HAp ve směsi na biodegradaci .....	30
4.3	Vliv obsahu změkčovadla na biodegradaci .....	32
4.4	Vliv typu HAp na biodegradaci .....	35

4.5	Obecné poznatky .....	38
5	ZÁVĚR .....	41
6	POUŽITÉ ZDROJE .....	43
7	POUŽITÉ ZKRATKY .....	47

# 1 ÚVOD

Lidé v průběhu celé historie chápali, že technologický pokrok vyžaduje nejen vývoj nových technologií, ale také dostupnost vhodných materiálů pro jejich použití. Lidé postupně objevovali a vyvíjeli nové materiály, které jim usnadňovaly život a vytvářely nové možnosti. V dnešní době jsme již schopni zpracovávat horniny, přírodní materiály či využívat živočichy abychom vyvinuli takové materiály které nás jsou schopny dostat do vesmíru, zajistit sterilní prostředí, odolat válkám či přírodním katastrofám nebo nahradit lidskou tkáň.

Největším objevem pak byl vynález nejméně progresivního materiálu v celé historii-plast. Mohli jsme vyrábět nové součástky neobvyklých rozměrů, protože je tvarovatelný. Vznikl sterilní materiál na jedno použití, obaly. Bohužel se však obliba tohoto materiálu dostala do takového stádia, že se jim začalo zbytečně plýtvat, což je taky hlavní příčina plastové krize. Byť je plast recyklovatelný, této jeho schopnosti se ve světě moc nevyužívá a vyrábí se stále nový, s tím že jeho degradace pak trvá v řádu stovek let. Proto se jedná o velmi neekologický materiál, který pomáhá usnadnit život na úkor životního prostředí.

Díky ekologické zátěži se tedy začaly zkoumat alternativní možnosti. S tímto výzkumem přišly i biodegradabilní plasty. Jedná se o materiály, které vykazují úplný rozklad na uhlíkové sloučeniny v řádech měsíců, maximálně pár let. Získat je můžeme úpravou zemědělských surovin nebo činností mikroorganismů. V omezeném množství se již používají jako obalový materiál nebo jednorázové kelímky, jeden z nejdůležitějších výzkumů se však v těchto dnech dostává k využití v medicíně, např. v tkáňovém inženýrství.

Tkáňové inženýrství je jeden z více rozmáhajících se oborů v medicínském výzkumu. Kvůli stárnoucí populaci a civilizačním chorobám, je potřeba stále udržovat a zlepšovat kvalitu zdravotnické péče. Pro toto zkvalitnění je pak potřeba nových výzkumů a objevů. Jedním z velmi prosperujících materiálů se teď považuje poly(3-hydroxybutyrát). Který řadíme mezi poly(hydroxyalkonáty). Tento materiál se pro své vhodné mechanické a biologické vlastnosti hodlá využívat jako náhrada kostních scaffoldů.

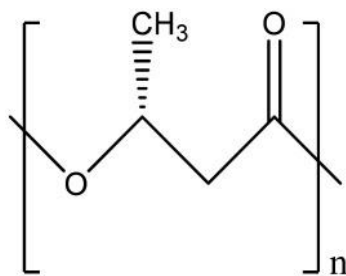


## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Poly(3-hydroxybutyrát)

Poly(3-hydroxybutyrát) (P3HB) patří do skupiny poly(hydroxyalkanoátů) (PHA) a je to jeden z nejznámějších biopolymerů. Momentálně je nejvíce studován pro své využití ve vědeckém a průmyslovém světě pro svou fyzikální a mechanickou charakteristiku a termoplastické vlastnosti podobné konvenčním plastům. Mezi hlavní přednosti tohoto biopolymeru patří jeho biologická rozložitelnost na  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ , netoxické vlastnosti a biokompatibilita. Lze ho získat z obnovitelných zdrojů, jeho výroba je však zatím velmi nákladná [1].

PHB byl poprvé izolován v roce 1926 francouzským mikrobiologem Maurice Lemoignem. Jedná se o bakteriální alifatický polyester  $\beta$ -hydroxybutanové kyseliny, stereoregulární homopolymer, který je opticky aktivní. Hlavním monomerní jednotka je v *R* konfiguraci, což umožňuje zvýšenou odbouratelnost. Základní struktura je zobrazena na Obr. 1. [1] [2].



Obrázek 1 Schéma struktury poly(3-hydroxybutyrátu) [3]

Využití PHB se i přes velkou cenu výroby těší stále většímu zájmu. Jeho rozmezí využití začíná již u biomedicíny, kde se využívá pro tkáňové inženýrství, jako opora kostí a kloubů, či samotné implantáty jako náhrada. Jako zapouzdření léků, v kosmetickém odvětví do krémů proti vráskám. Dále se můžou do jeho folií balit potraviny, vyrábět láhve, tašky apod. A nakonec pro další syntézu polymerů [1]. Dalším zajímavým a poslední dobou rozvíjeným odvětvím je využití kopolymerů PHA v odvětví zemědělství, kde fungují k zapouzdření osiv a hnojiv nebo při potahování herbicidů a insekticidů [4].

#### 2.1.1 Fyzikální a mechanické vlastnosti P3HB

P3HB je izotaktický polymer, který se jako člen skupiny PHA vyznačuje methylovou funkční skupinou ( $-\text{CH}_3$ ) a esterovou vazebnou skupinou ( $-\text{COOR}$ ). Díky těmto skupinám a pro svou lineární strukturu vykazuje vysokou krystalinitu, křehkost, termoplastičnost a hydrofobnost. Obsahuje jak amorfni, tak krystalickou fázi. Stupeň krystalinity je možno nalézt v intervalu 50-80 %, obecně platí, čím větší stupeň krystalinity, tím tužší a pevnější, avšak křehčí materiál [3].

Molekulová hmotnost PHB závisí na jeho zdroji a způsobu extrakce. Pohybuje se od 50 000 do 1 000 000 Da. Hustota krystalického a amorfního PHB je  $1,26 \text{ g/cm}^3$  a  $1,18 \text{ g/cm}^3$ . [2] Teplota skelného přechodu se pohybuje mezi  $5\text{-}9^\circ\text{C}$ , teplotou tání okolo  $175^\circ\text{C}$ . Velkým problémem je

úzký interval mezi  $T_m$  a teplotou degradace  $T_d$ , vysoká teplota zpracování proto může vést k tepelné degradaci. Youngův modul pružnosti v tahu je 3-3,5 GPa, pevnost v tahu 20-40 MPa a tažností okolo 5–10 %. Pro své vlastnosti může PHB konkurovat dnešním nejznámějším plastům. Jejich porovnání lze najít v Tabulce 1 [3].

Tabulka 1 Vlastnosti PHB a jiných plastů [3]

Mechanické vlastnosti	P3HB	PP	PET	LDPE	HDPE	PLLA
Modul pružnosti [GPa]	3-3,5	1,95	9,4	0,26-0,5	0,5-1,1	1-3,5
Pevnost v tahu [Mpa]	20-40	31-45	62	30	30-40	15,5-150
Tažnost [%]	5-10	50-145	230	200-600	500-700	20-30
Stupeň krystalinity [%]	50-80	42,6-58,1	8	25-50	60-80	13,97
Teplota tání [°C]	175	160-169,1	260	115	135	170-200
Teplota skelného přechodu [°C]	5-9	-20 – (-5)	67-81	-230	50-60	50-60

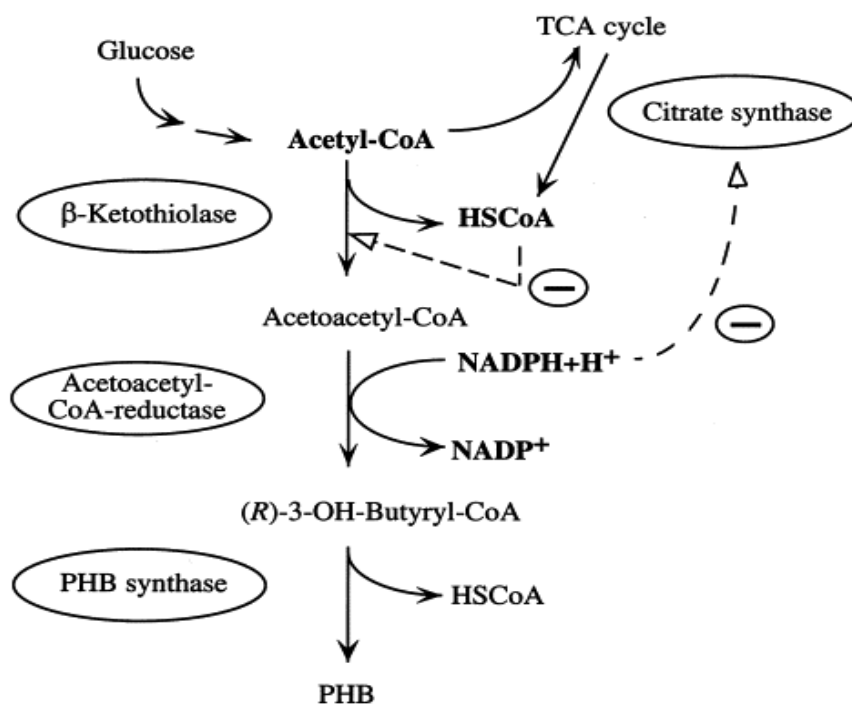
### 2.1.2 Syntéza P3HB

Pro biosyntézu PHB jsou používány především bakterie. Většina bakterií hromadí PHB jako zásobní materiál uhlíku a energie, pokud je zdroj uhlíku poskytován v nadbytku a pokud je limitující jiná živina (dusík, síra, fosfát, železo atd.). Po obnovení přísunu limitující živiny může být PHB depolymerizováno a následně metabolizováno jako zdroj uhlíku a energie [5].

Způsobem produkce lze ovlivňovat chemickou strukturu získaného PHB. Např. při využití bakteriálního postupu lze získat izotaktický PHB s malou stereoregulací, zatímco syndiotaktický PHB se stereoregulární strukturou lze dosáhnout chemickou syntézou. Existují tři hlavní typy syntézy PHB. Prvním typem je prostřednictvím polymerace  $\beta$ -butyrolaktonu (BL) s otevřením kruhu (ROP). Dalším způsobem je využití transgenních rostlin a poslední je již zmiňovaná bakteriální fermentace [3].

PHB se v bakteriích biosyntetizuje třístupňovou reakcí, která začíná acetyl-koenzymem A (acetyl-CoA). Dvě molekuly acetyl-CoA se spojí za vzniku acetoacetyl-CoA v kondenzační reakci katalyzované 3-ketothiolázou. Produkt je následně stereoselektivně redukován na (R)- 3- hydroxybutyryl-CoA v reakci katalyzované na NADPH závislou acetoacetyl-CoA

reduktázou. Nakonec je PHB syntetizován z molekul (R)-3-hydroxybutyryl-CoA pomocí PHB syntázy a uvolňuje se volný CoA. Syntézu stimuluje jak vysoké intracelulární koncentrace NAD(P)H, tak vysoký poměr NAD(P)H/NAD(P). Dalším důležitým kontrolním bodem celého procesu syntézy je citrát syntáza, protože je schopná řídit dostupnost CoA. Celý průběh je znázorněn na Obr.2 [5]



Obrázek 2 Syntéza PHB [5]

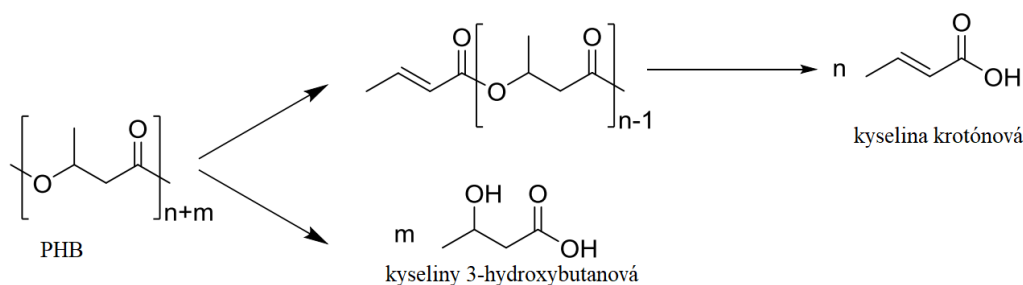
### 2.1.2.1 Bakteriální fermentace

PHB jsou produkovány mnoha různými bakteriálními kulturami za použití substrátů jako je glukóza a sacharóza [6]. Nejrozsáhleji je studována a využívána bakterie *Cupriavidus necator*, díky své schopnosti akumulovat pozoruhodné množství PHB, které dosahuje až 90 % sušiny jeho buněk, je biosyntéza pomocí této bakterie v bakteriální fermentaci nákladově nejefektivnější [7]. Mezi několik dalších kmenů, které jsou významné patří např. *Bacillus spp.*, *Alcaligenes spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas hydrophila*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Escherichia coli*, *Burkholderia sacchari* a *Halomonas boliviensis*. V současné době však existuje pouze malý počet bakteriálních kmenů, které byly úspěšně použity pro výrobu PHB v průmyslovém měřítku. Fermentační výroba PHB se většinou provádí jako dvoustupňový proces s krmením. Počáteční fáze růstu v nutričně obohaceném médiu poskytuje dostatečné množství biomasy, po níž následuje fáze tvorby produktu v médiu ochuzeném o dusík [8].

### 2.1.3 Hydrolýza a biodegradace PHB

Hydrolýza představuje dobře definovanou degrační reakci v přítomnosti vody, kdy molekuly vody napadají nejslabší esterovou vazbu na páteři polymeru. V důsledku toho klesá molekulová hmotnost, která pak ovlivňuje i pokles materiálových vlastností PHB (např. pevnost v tahu,

pevnost v tlaku atd.) ty se pak rychle mění i v závislosti na dalších podmínkách, jako je obsah vlhkosti, teplota, pH, katalýza atd. Při hydrolýze dochází ke vzniku dvou produktů. Hydrolýza vede nejprve k tvorbě různých rozpustných a nerozpustných oligomerů s nižší molekulovou hmotností. Po úplné hydrolýze dochází k rozkladu na původní monomer kyseliny 3-hydroxybutanové (KHB). Jako druhý produkt hydrolýzy PHB pak vzniká kyselina krotónová. Ta se pravděpodobně syntetizuje dehydratací PHB za alkalických podmínek, kdy na konci polymeru vzniká dvojná nenasycená vazba, a následně i probíhající hydrolýzou [9] [10].



Obrázek 3 Hydrolýza PHB [10] [9]

Jak už bylo zmíněno mezi největší přednosti PHB patří jeho biologická rozložitelnost, tedy proces živých organismů, při níž dochází k rozkladu složité struktury organických sloučenin na netoxické produkty s nižší molekulovou hmotností. Mikroorganismy v přírodě jsou schopny degradovat PHB pomocí PHB hydroláz a PHB depolymeráz. Konečné produkty biodegradčního procesu lze využít jako energii a jako zdroj výživy pro anabolismus neprodukcujících organismů. Biodegradace může probíhat buď za anaerobních podmínek za vzniku  $\text{CO}_2$ , vody a methanu nebo aerobních podmínkách za vzniku  $\text{CO}_2$  a vody.

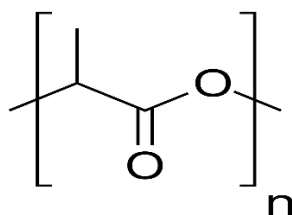
Existuje mnoho degradačních mechanismů, které se v přírodě synergicky kombinují při rozkladu polymerů. Mezi tyto mechanismy patří biodeteriorace, biofragmentace, asimilace, mineralizace a enzymatická degradace prostřednictvím extracelulárních a intracelulárních depolymeráz, které rozkládají polymer na produkty rozpustné ve vodě. Rychlost degradace kusu PHB se obvykle pohybuje v řádu několika měsíců (v anaerobních odpadních vodách) až let (v mořské vodě). UV záření zpomaluje degradaci PHB [11]. Polyhydroxybutyrát (PHB) může být degradován na kyselinu 3-hydroxymáselnou pomocí oligomerní hydrolázy a depolymerázy PHB. Vzniklá kyselina 3-hydroxymáselná pak může oxidovat na acetyl-acetát pomocí enzymu dehydrogenázy. Reakce acetyl-acetátu s  $\beta$ -ketothiolázou vzniká acetylkoenzym A. PHA mají schopnost rozkládat i některé bakterie a houby, například rody *Pseudomonas*, *Actinomadura*, *Penicillium* *Aspergillus spp.* a *Microbispora*, *Saccharomonospora*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces* a *Bacillus spp.* Bylo zjištěno, že nejvhodnější prostředí pro biodegradaci je půda [8] [4]. Biodegradace PHB může mít i pozdější přínos pro hledání enzymů, které by mohly být použity pro degradaci konvekčních plastů [12]. Zrychlení rychlosti rozkladu PHB je možné přidáním polymerů nebo změkčovadel. Na jedné straně amorfní nebo hydrofilní přísady vedou k vyšší adsorpci vody a urychlují hydrolýzu, na druhou stranu vyluhování ve vodě rozpustných přísad vede ke zvětšení povrchu polymeru.

### 2.1.3.1 Biodegradace PHB *in vitro* a *in vivo*

*In vivo* degradace PHB uvnitř živých organismů vede ke vzniku netoxických metabolitů, při kterém vzniká 3-hydroxybutyrát, který se přirozeně vyskytuje v krvi a kyselina 3-hydroxymáselná, která je metabolitem všech vyšších živých bytostí. V různých studiích, kdy byly vzorky v pufové roztoku při 37 °C se ukázalo, že po 180 dnech nedochází k úbytku hmotnosti. Naproti tomu pokles molekulové hmotnosti, který je již významnější, je s časem charakteristickým rysem mechanismu v podmínkách neenzymatické hydrolýzy. Bylo zjištěno, že lze výrazně urychlit biodegradaci přidáním amorfního ataktického PHB do směsi s vysokomolekulárním PHB. Obecným trendem je však rychlejší rozklad u PHB s nižší molekulovou hmotností. Rychlost biodegradace pozitivně ovlivňuje vyšší teplota [13]. Hydrolýza probíhá ve dvou krocích-nejprve se štěpí jak amorfni, tak krystalické oblasti náhodného řetězce polymerní matrice. V druhém kroku začíná úbytek hmotnosti pod molekulovou hmotností 13 000 [14]. Bylo potvrzeno, že rychlost biodegradace není závislá na krystalinitě polymeru [13].

## 2.2 Kyselina polymlečná

Kyselina polymlečná (PLA) je alifatický polyester, spadající pod skupinu termoplastů, který se získává z obnovitelných materiálů jako je škrob nebo cukrová třtina. Kyselinu polymlečnou poprvé syntetizoval francouzský chemik Theophile-Jules Pelouze v roce 1845 polykondenzací mléčné kyseliny (LA) na nízkomolekulární PLA. Potom chemik společnosti DuPont Wallace Hume Carothers, vynálezce nylonu, zdokonalil výrobní proces, který umožnil zvýšit průměrnou molekulovou hmotnost polymeru. [15] Jedná se o vysoce průhledný, lesklý a inovativní netoxický materiál, který je v poslední době stále více oblíbený pro své ekologické vlastnosti. Může se aplikovat na široké spektrum využití, proto se vědci v poslední době snaží o různé chemické modifikace, aby bylo možno PLA využívat v co největším měřítku. Protože se jedná o chirální molekulu, existuje jako dva enantiomery, L- a D-mléčná kyselina. Jejich poměr pak vysoce ovlivňuje vlastnosti výsledného PLA. Její základní struktura je znázorněna na obr 4 [16].



Obrázek 4 Schéma struktury kyseliny polymlečné [17]

PLA se využívá pro lékařské aplikace i jako jednorázové plasty. PLA se používá k výrobě scaffoldů pro tkáňové inženýrství, krycích membrán, různých bioabsorbovatelných lékařských implantátů a stehů v dermatologii a kosmetice, či jako cílené dávkování léčiv. Také se z nich dělají běžné kelímky. Mechanické vlastnosti PLA, které jsou srovnatelné s polystyrenem a polyethylenem, můžou z PLA udělat ekologický materiál pro obalování zboží. Při lékařském použití je PLA velmi vhodný i pro 3D tisk [18].

### 2.2.1 Fyzikální a mechanické vlastnosti PLA

PLA má stejně jako PHB mnoho vlastností srovnatelných s polyestery vyrobených z ropy. Nicméně oproti jiným biopolymerům (PHA, PEG, PCL) má lepší tepelnou zpracovatelnost, proto může být zpracováván vstřikováním, vytlačováním, vyfukováním apod. PLA je velmi křehký materiál s méně než 10% tažností. Vlastnosti PLA závisí na izomerech jeho složek, teplotě zpracování, době žhání a molekulové hmotnosti ( $M_w$ ). Stereochemie a tepelná historie mají přímý vliv na krystalinitu PLA, a proto, na jeho vlastnosti obecně. Krystalinita ovlivňuje tvrdost, modul pružnosti, pevnost v tahu, rýhování a teploty tání [15].

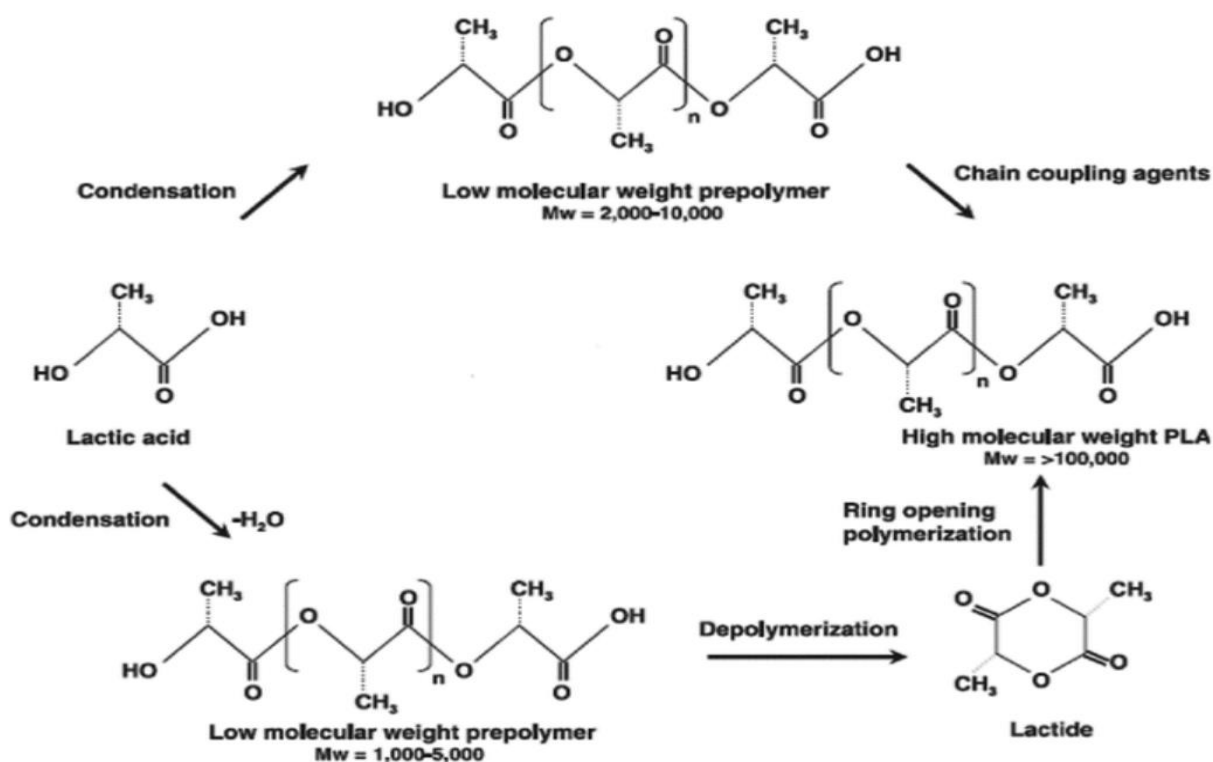
Mezi nevýhody PLA patří jeho nízké teploty tepelné deformace. V pevném stavu může být PLA v závislosti na stereochemii a tepelné historii buď amorfní, nebo semikrystalický. U amorfní části se určuje  $T_g$  jako horní teplota použití. Pro semikrystalické PLA platí jak  $T_g$  58 °C, tak  $T_m$  130-230 °C (v závislosti na struktuře). Oba tyto přechody,  $T_g$  a  $T_m$ , jsou silně ovlivněny celkovým optickým složením, primární strukturou, tepelnou historií a  $M_w$ . Pod teplotou -45 °C se PLA chová pouze jako křehký polymer. Hustota amorfní a krystalické PLA je 1,248 g/ml a 1,290 g/ml. Hustota PLA v pevném stavu je uvedena jako 1,36 g/cm<sup>3</sup> pro L-laktid, 1,33 g/cm<sup>3</sup> pro mezo-laktidu [19] [16] [20].

Mechanické vlastnosti polymerů na bázi kyseliny mléčné lze do značné míry měnit, od měkkých a pružných plastů až po tuhé a pružné plasty. Při požadavku na vyšší mechanické vlastnosti se dává přednost semikrystalickému PLA před amorfním polymerem. Semikrystalický PLA má přibližný modul pružnosti v tahu 3 GPa. Modul pružnosti v ohybu 5 GPa, pevnost v ohybu 5 GPa a tažnost přibližně 4 % [19] [21].

### 2.2.2 Výroba PLA

Syntéza PLA začíná výrobou mléčné kyseliny LA a končí jeho polymerací s mezikrokem tvorby laktidu. Syntéza probíhá ve třech krocích-výroba LA mikrobiální fermentací, čištění LA s následnou přípravou jejího cyklického laktidu anebo polymerace s otevřením kruhu (ROP) laktidů [15].

Většina komerční LA se vyrábí buď chemickou syntézou nebo i bakteriální fermentací sacharidů pomocí homofermentativních organismů patřících do rodu *Lactobacillus*, které produkují výhradně LA. Tyto kmeny vykazují vysokou konverzi uhlíku ze vstupních surovin za standardních fermentačních podmínek, jako je relativně nízké až neutrální pH, teploty kolem 40 °C a nízké koncentrace kyslíku [17]. V dnešních dnech se testují i jisté druhy hub, které by mohly fermentaci učinit méně nákladnou. Z mnoha důvodů nákladných procesů fermentace LA je vyšší počáteční koncentrace substrátu a inhibice konečného produktu (LA), což v konečném důsledku snižuje produkci, produktivitu a výtěžnost fermentace LA. Možností jak tyto problémy překonat, jsou fermentace s krmnou dávkou a opakované režimy fermentace. Dalším problémem je tvorba sádrovce – tento problém by vyřešilo, kdyby mohly být využity kmeny odolné kyselinám. Kyseliny by pak zrušily i mezikrok čištění LA při výrobě konečného PLA [20].



Obrázek 5 Syntéza PLA [17]

Při přímé kondenzaci je potřeba poměrně dlouhé reakční doby a rozpouštědla. Výsledným polymerem je materiál s nízkou až střední molekulovou hmotností. Laktid se získává depolymerizací PLA s nízkou molekulovou hmotností za sníženého tlaku za vzniku L-laktidu, D-laktidu nebo mesolaktidu. Různý poměr vzniklých izomerů laktidu závisí na výchozím izomeru kyseliny mléčné, teplotě a katalyzátoru. PLA může podléhat kationtové polymeraci s otevíráním kruhu. Polymerizace laktidu otevíráním kruhu (ROP) potřebuje katalyzátor, ale jejím výsledkem je PLA s vysokou molekulovou hmotností. V závislosti na použitém monomeru a reakčních podmínkách je možné řídit poměr a pořadí jednotek D- a L-mléčné kyseliny ve výsledném polymeru. Polymerizace laktidu otevíráním kruhu může probíhat v tavenině nebo v roztoku kationtovým, aniontovým a koordinačním mechanismem v závislosti na použitém iniciátoru. Nejvíce uvažovaným aktivním iniciátorem pro polymeraci s otevíráním kruhu L-laktidu je oktoát stanný, který způsobuje nízký stupeň racemizace při vysokých teplotách. Katalyzují ji přechodné kovy, jako je cín, hliník, olovo, zinek, vizmut, iont a yttrium [16] [17].

### 2.2.3 Degradace a hydrolýza PLA

Degradace probíhá jako štěpení na CO<sub>2</sub>, methan a vodu. V přírodě je degradace vyvolána tepelnou aktivací, hydrolýzou, biologickou aktivitou (tj. enzymy), oxidací, fotolýzou nebo radiolýzou [17]. Co se týče obecných vlastností, krystalická část je odolnější vůči degradaci než amorfni část, se zvyšující se krystalinitou degradace klesá [18]. Degradáční chování polymerů závisí také na jejich molekulové hmotnosti. Vysokomolekulární polymery se rozkládají pomaleji než polymery s nízkou molekulovou hmotností.

Degradace ve vodných roztocích probíhá dvoustupňovým procesem náhodným štěpením vazby. Obecně může hydrolytická degradace pevných polymerních matric na bázi PLA probíhat podle dvou různých mechanismů: a) povrchové neboli heterogenní reakce a b) objemové neboli homogenní eroze. Typ mechanismu lze předpovědět pomocí čtyř základních parametrů: množství absorbované vody, rychlost a koeficient difúze fragmentů řetězců v polymeru a rozpustnost degradačních produktů. První typ degradace obecně probíhá mnohem rychleji než degradace druhého typu. Při degradaci se zvyšuje počet konců řetězce karboxylových kyselin, o nichž je známo, že autokatalyzují hydrolýzu esterů. Reakce během hydrolýzy vytváří kyselé skupiny, které následně snižují pH a ionty  $H^+$ , což urychlí reakci [22]. Z matrice unikají pouze oligomery rozpustné v okolním vodném prostředí. Před dokončením rozkladu se mohou rozpustné oligomery blíže k povrchu vyplavit, zatímco ty v jádru matrice zůstávají zachyceny [23]. Rychlost hydrolýzy je urychlována kyselinami nebo zásadami a je závislá na obsahu vlhkosti a teplotě [24].

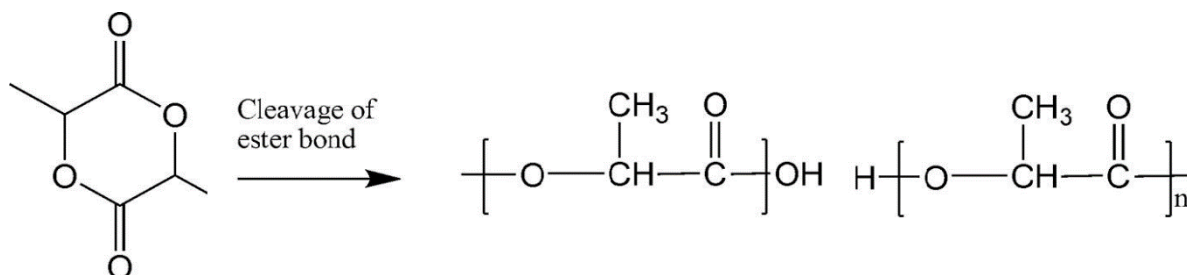
Biodegradace PLA je závislá na řadě faktorů-  $M_w$ , krystalinita, čistota, teplota, pH, přítomnost funkčních skupin, enzymy a bakterie. Přítomnost právě enzymů a bakterií degradaci PLA může výrazně urychlit. Biologická degradace semikrystalického PLA probíhá ve dvou fázích. V první fázi proniká voda do objemové části přednostně napadá chemické vazby v amorfní fázi (díky schopnosti vody prostupovat v amorfní fázi, ale nikoliv ve fázi krystalické) a přeměňuje délku polymerních řetězců na kratší, ve vodě rozpustné fragmenty. Protože k tomu dochází v amorfní fázi, dochází zpočátku ke snížení bez ztráty fyzikálních vlastností, protože matrice zařízení je stále ještě drží pohromadě díky krystalickým oblastem. Snížení  $M_w$  je následováno snížením fyzikálních vlastností. Ve druhé fázi dochází k enzymatickému napadení fragmentů. Metabolizace fragmentů vede k rychlému úbytku hmotnosti polymeru. Z počátku degradace probíhá rychleji na povrchu, kvůli větší dostupnosti vody. Produkty PLA se rychle rozkládají jak v aerobních, tak v anaerobních podmínkách. [24] [18]. Rychlost biodegradace může zpomalit použití změkčovadel, které pozitivně urychlují krystalizaci PLA [25].

### **2.2.3.1 Biodegradace in vivo a in vitro**

Rychlost degradace závisí na chemickém složení polymeru a jeho struktuře. Například PLA vlákna se plně degradují již mezi 42-70 dny. Naproti tomu PLA implantáty mají pouze 14% ztrátu po 3 měsících [26]. V jiných studiích je však deklarována plná degradace po 8 měsících [27]. Proces, který rozkládá PLA uvnitř organismu je hydrolýza esterové vazby, ke kterému nejdříve dochází v amorfních částech polymeru. Produkty rozkladu mohou být buď monomerní LA, nebo oligomery LA. Hydrolytická degradace je pak dále katalyzována nově vzniklými karboxylovými skupinami na terminálních koncích rozštěpených řetězců PLA. Na začátku procesu je patrné, že k rozkladu dochází hlavně na povrchu z důvodu absorpčního gradientu vody, ale jakmile se povrch rozloží koncentrace karboxylových skupin ve středu se zvyšuje, ty slouží jako katalyzátory procesu. Toto samokatalyzující chování ukázalo, že k němu obecně dochází během procesu degradace alifatických polyesterů. Nicméně proces závisí na chemické struktuře a konfiguraci polymerních řetězců. Ve stejné studii bylo zjištěno, že neporézní vzorky podléhají degradaci rychleji než porézní, protože neporézní vzorky usnadňují rozpouštění a šíření degradace [28]. Degradace PLA je značně závislá na pH. Při fyziologickém pH 7,4 má PLA dobu degradace 100 hodin, při kyselém pH 3 nedošlo k žádné velké degradaci ani po 400



hodinách. Při teplotě 37 °C byla rychlost degradace 4krát rychlejší než při 25 °C. Vlivu pH na dobu degradace by mohlo být využito při použití na jednotlivé tkáně, protože každá tkáň má své pH [26]. Při studiích bylo potvrzeno, že scaffoldy z PLA podporují vzájemné propojení a růst buněk [29].



Obrázek 6 Schéma biodegradční reakce [26]

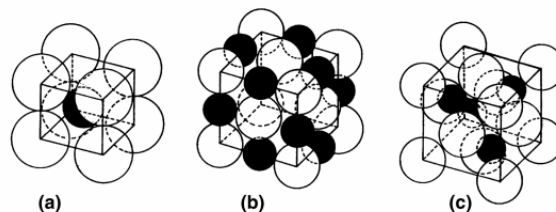
## 2.3 Biokeramika

Biokeramika je anorganický materiál, který lze aplikovat k živým tkáním jako jejich náhradu nebo jako jejich podporu (např. kosti a klouby). Mohou být bioinertní, bioaktivní nebo resorbovatelné. Bioaktivní, kam patří např. hydroxyapatit a fosforečnany, mají funkci mezifázového vázání s tkáněmi. Resorbovatelné neboli biodegradabilní reagují s tělesnou tkáňovou tekutinou a následně se rozkládají. Jsou schopny se zcela vstřebat a stát se součástí tvrdé tkáně. Mezi biodegradabilní biokeramiku patří hydroxyapatit, který je velmi významný v tkáňovém inženýrství. Syntetický hydroxyapatit je totiž velmi podobný přírodnímu apatitu v kostech [30].

Biokeramika se dnes běžně používá v lékařství jako zubní a kostní implantáty, pravidelně se používají chirurgické keramiky. Kloubní náhrady jsou běžně potahovány biokeramickými materiály, aby se snížilo opotřebení a zánětlivá reakce. Dalšími příklady lékařského využití biokeramiky jsou kardiostimulátory, přístroje pro dialýzu ledvin a respirátory [31].

### 2.3.1 Fyzikální a mechanické vlastnosti biokeramiky

Keramika se klasifikuje podle její struktury. Existují celkem 3 typy-krychlová, kubická s centrovaným čelem, též jinak struktura kamenné soli, která má pak ještě další dva typy. Rozdíl mezi těmito strukturami je způsoben relativní velikostí iontů. Tento rozdíl pak určuje, zda se kladné ionty mohou vejít do tetragonálních nebo oktagonálních prostorů vytvořených mezi většími ionty [32]. Viz. Obr. 7



Obrázek 7 Struktura keramiky a) CsCl b) NaCl c) ZnS [32]

Biokeramiku lze vyrábět v krystalické i amorfní formě. Její struktura závisí na materiálu a použitém procesu výroby [33]. Hlavní předností keramiky je vysoká mechanická pevnost a vysoká teplota tání. Naproti tomu jsou křehké [31]. Různé typy biokeramiky mají své jedinečné vlastnosti a přednosti viz Tab. 2. Tam můžeme vidět, že například hydroxyapatit byt' je chemicky velmi podobný tomu v kostech, kosti mají stále významně lepší mechanické vlastnosti [30].

Tabulka 2 Mechanické vlastnosti vybraných anorganických sloučenin [30]

Biomateriál	Hustota [g/cm <sup>3</sup> ]	Pevnost vazby [GPa]	Pevnost v tlaku [Mpa]	Youngův modul pružnosti [GPa]
Hliník	3,3- 3,9	300-400	2000-5000	260-410
Zirkon	6,0	200-500	2000	150-200
Biosklo	2,5	50	600	75
Hydroxyapatit	3,1	120	500-1000	73-117
Keramické sklo	2,8	215	1080	118
Kost	3,9	60-160	130-180	3-30

### 2.3.2 Výroba biokeramického materiálu

Biokeramika může procházet jak z přírodních, tak syntetických zdrojů. Přírodní zdroj jsou odumřelé organismy, biogenní oxid křemičitý a schránky pocházející z měkkýšů. V dnešní době se obliba získávání minerálů z hovězích kostí, šupin, řas nebo skořápek stále zvyšuje, protože se jedná o ekonomicky nejúspornější proces [34]. Syntetické biokeramické materiály se však vyrábějí hlavně z fosforečnanů vápenatých, křemičitanů vápenatých, uhličitanů vápenatých, HA, oxidů zirkonia apod. [30] [35].

### **2.3.2.1 Výroba hydroxyapatitu**

Syntetický HAP se nejčastěji syntetizuje suchým, mokrým nebo vysokoteplotním způsobem. Každý způsob poskytuje jinou velikost, morfologii a krystalinitu. Pro hromadnou výrobu prášků je vhodná suchá metoda. Při této metodě se smíchají pouze vápník a fosforečnan, které jsou v suché podobě. Vysokoteplotní metoda se skládá ze dvou procesů – spalování a pyrolýzy. Tato metoda je však obtížně kontrolovatelná [33]. Mezi mokré metody, které jsou nejlépe kontrolovatelnou syntézou HAP, patří chemické srážení, hydrolýza a hydrotermální metody. Mokré metody mohou kontrolovat morfologii a střední velikost prášku. Mezi nevýhody pak patří nízká krystalinita HAP v důsledku nízkých teplot zpracování. Při mokré chemické srážení se používá hydroxid vápenatý a kyselinu ortofosforečnou [36] [35].

### **2.3.2.2 Výroba fosforečnanu vápenatého**

Výroba fosforečnanů vápenatých probíhá hlavně vysokoteplotními procesy nad 750 stupňů. Jedná se o slinování neapatitických fosforečnanů vápenatých, jako jsou amorfní fosforečnan vápenatý nebo hydroxyapatitové fosforečnany s nedostatkem vápníku a také dvoustupňovým slinováním s mikrovlnným zářením. Mohou být použity i další procesy – reakce v pevném stavu, pyrolýza plamenem, metoda sol-gel apod. [34]. Sol-gel syntéza probíhá při použití dusičnanu vápenatého a hydrogenfosforečnanu amonného jako výchozích materiálů. S použitím vyšších teplot se pak může ovlivnit jakou krystalickou fází dostaneme [37].

### **2.3.3 Biologické vlastnosti a biodegradace *in vivo* a *in vitro***

Jak už bylo zmíněno, u biokeramiky je snahou vytvořit mechanické a biologické vlastnosti podobné živé tkáni. Pórovitost určuje, jakým způsobem můžeme tkáň s implantátem propojit. Makropórovitá (100-500  $\mu\text{m}$ ) struktura biokeramiky umožňuje prorůstání tkání, stejně jako mikrostruktura (1-10  $\mu\text{m}$ ) umožňuje prorůstání cév kolem tvrdé tkáně. In-vitro degradace a bioaktivita materiálu přírodního a syntetického původu závisí na specifickém povrchu, pórovitosti, krystalinitě a strukturním složení, fyzikálně-chemických morfologických charakteristik. Biokeramický scaffold pomáhá vytvářet novou kost tím, že umožňuje uchycení a migraci kostních buněk [30].

Biokeramika vytváří čtyři možnosti přichycení tkáně. Za první plně inertní a hustý povrch, který umožňuje snadné přichycení buněk a růst tkáně, za druhé pórovitost umožňuje prorůstání tkáně. Za třetí hustá struktura umožňuje prorůstání tkáně do tkáně a fáze umožňují povrchové uchycení tvorbou chemických vazeb a snadno se rozkládá a integruje s okolní tkání. Vnější pórovitost materiálu zvyšuje vzájemné propojení a vytváří spojení s okolní tkání [30] [32].

Biodegradace začíná v důsledku kyselosti kostní tkáně, která způsobuje rozpouštění keramiky. V roztoku SBF se začínají uvolňovat ionty již hned po několika hodinách, koncentrace těchto iontů se však následně snižuje, protože se začne na povrchu materiálu tvořit apatitová vrstva [38]. Výsledný hydroxyapatit vrstvy v SBF potvrzuje chemickou reaktivitu a funkční schopnost materiálů, tj. tvorbu vazeb mezi materiálem a buňkami hostitelské tkáně [30]. Podle pokusů na kryších lze biodegradaci zpomalit přidáním některých iontů kovů [38].

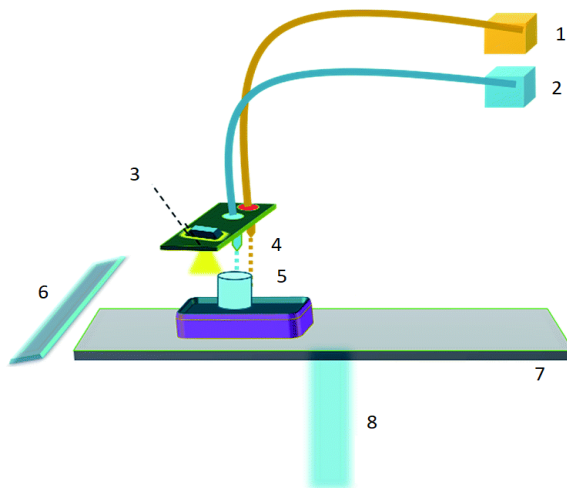
## 2.4 Trojrozměrný (3D) tisk

Jedná se o způsob nízkokapacitní výroby předem naprogramovaného tělesa, které je následně převedeno do trojrozměrného pole. 3D tisk má tu výhodu, že lze dostat výrobek na míru. První pokusy o technologii 3D tisku začínají počátkem 80. let 20. století, kdy byla vynalezena metoda stereolitografie (SLA). Postupně se princip zlepšoval a dnes již známe mnoho různých technologií, které mohou tisknout z velké škály materiálů od termoplastů až po kovy [39] [40].

3D tisk lze v medicíně využít např. ve stomatologii pro tisk implantátů. Dalším využitím může být tkáňové inženýrství pro tisk náhrad kostí a kloubů. V poslední době je snahou vytvářet funkční tkáň a orgány pro implantaci nebo pro zkoumání toxicity látek [41].

### 2.4.1 Material jetting

Tato metoda je obdobou inkoustových tiskáren. Jeho výhodou je, že lze tisknout z několika materiálů. Stejně jako inkoustové tiskárny stříkají inkoust na papír a nechávají jej zaschnout, 3D tiskárny pro materiálovou tryskovou polymeraci stříkají mikrokapičky tekuté fotopolymerní pryskyřice na konstrukční zásobník a polymerují ji pomocí UV světla. Při zahájení tisku tiskárna zahřeje pryskyřici na teplotu, kdy je požadována viskozita. Při pohybu nosiče z tiskových hlav vystřikují kapičky, které jsou následně hned vytvrzovány. Po dokončení celé vrstvy se sestavovací platforma sníží o výšku jedné vrstvy. Proces se pak opakuje, dokud není díl dokončen [42] [40]. Schéma na Obr. 8.

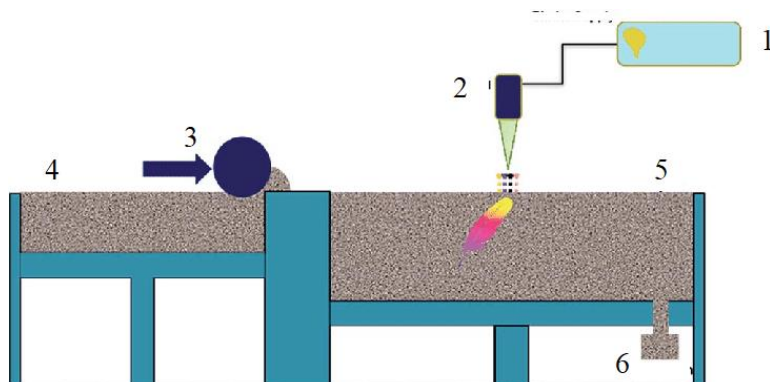


Obrázek 8 Schéma materiálu jettingu [43]; (1) podpůrný materiál; (2) stavební materiál; (3) UV vytvrzovací lampa; (4) tisková hlava; (5) výrobek; (6) vyrovnávací nůž; (7) platforma; (8) posuvné zařízení

### 2.4.2 Binder jetting

Tímto procesem se spojují částice prášku pomocí kapalného pojiva. Tento způsob tisku je vhodný na tisk barevných komponentů, naproti tomu nelze tisknout průsvitné komponenty. Tisková hlava snímá rovinu x-y a vystřikuje kapalné pojivo na lůžko z jemného prášku ve tvaru aktuálně tištěné vrstvy objektu. Pojivo selektivně spojuje prášek všude tam, kde je

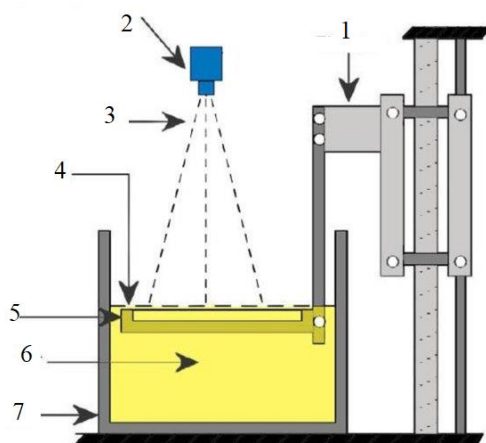
nanesen. Po spojení každé vrstvy se spustí konstrukční zásobník a pomocí válečku se nanese nová tenká vrstva prášku pokrývající tiskový zásobník. [42] [40]. Schéma je na Obr. 9.



Obrázek 9 Schéma binder jettingu [43]; (1) dodavač pojiva; (2) tisková hlava; (3) váleček; (4) práškové lůžko; (5) výrobek, (6) koš

### 2.4.3 Vat fotonpolymerizace

Fotopolymerizace je technika vytvrzování fotoreaktivních polymerů pomocí světla, laseru nebo UV záření. Jedná se o stereolitografii a digitální zpracování světla. Při stereolitografické metodě se využívají fotoiniciátory a jsou důležité konkrétní podmínky expozice záření. Digitální zpracování světlem využívá konvenčnější zdroj světla, například obloukovou lampu se zobrazovacím panelem z tekutých krystalů. Může se použít na celý povrch kádě s fotopolymerní pryskyřicí v jediném průchodu, díky čemuž je obecně rychlejší, než stereolitografie. Fotopolymerizace je vhodná pro výrobu prvotřídního výrobku s dobrými detaily a vysokou kvalitou povrchu [44].



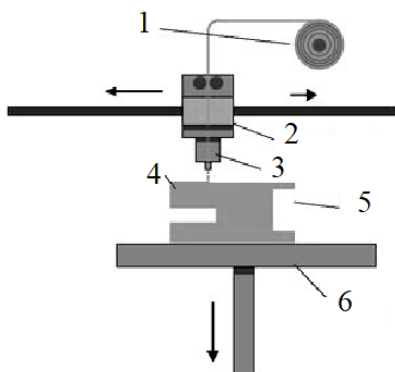
Obrázek 10 Schéma vat fotonpolymerizace [44]; (1) posuvné zařízení; (2) laserový zdroj; (3) laserový paprsek; (4) pryskyřicový povrch; (5) platforma; (6) fotopolymerní pryskyřice; (7) vat

#### 2.4.4 Metody tavení termoplastického prášku

Mezi metody tavení termoplastického prášku řadíme metody: selektivní tepelné slinování (SHS) a selektivní laserové slinování (SLS). SHS používá ke spékání termoplastického prášku tepelnou tiskovou hlavu, zatímco SLS používá ke spékání termoplastického prášku laser. Selektivní laserové spékání jsou hlavním příkladem 3D tisku na bázi práškové technologie. Selektivní laserové spékání je technologie 3D tisku, která je rychlá, má vysokou přesnost a různou kvalitu povrchu. SLS používá vysoce výkonný laser ke spékání polymerních prášků, aby vznikl 3D výrobek. Mezitím technologie SHS je další součástí technologie 3D tisku, která využívá tepelnou tiskovou hlavu v procesu roztavení termoplastického prášku k vytvoření 3D tištěného objektu [45].

#### 2.4.5 FDM tisk

Jedná se o nejrozšířenější a nejekonomičtější způsob výroby. Tato technologie se využívá i v domácnostech pro hobby tisk. V této technologii se používá jedna nebo více vyhřívaných vytlačovacích hlav k roztavení termoplastického filamentu a jeho přesného nanesení na konstrukční zásobník ve tvaru vrstvy tištěného objektu. Po vytlačení filament chladnutím ztvrdne. Kvalita povrchové úpravy modelů vytištěných touto technologií je obecně horší než u ostatních technologií, protože typická tloušťka vrstvy je přibližně 250  $\mu\text{m}$ , Tiskárny jsou však už nyní schopny tisknout s tloušťkou blízkou 100  $\mu\text{m}$  nebo menší, což nabízí lepší povrchovou úpravu [46].



Obrázek 11 Schéma FDM tisku [46]; (1) cívka s materiálem; (2+3) tisková hlava s topným tělesem; (4) výrobek; (5) podpůrný materiál; (6) platforma

## 3 PRAKTICKÁ ČÁST

### 3.1 Použité materiály

Pro práci bylo použito celkem 10 filamentů skládajících se z PHB, PLA, HAp a změkčovadla Syncroflex3114 (S3114) v různém poměru. Jednalo se o 7 směsí v podobě filamentů již připravených pro předchozí experimenty a o 3 optimalizované směsi, jejichž složení je výsledkem plánovaného experimentu, ze kterých byly filamenty připraveny dodatečně. Jednotlivé optimalizované směsi se pak vyznačovaly rozdílem v podobě jiných HAp od různých firem. Přesné poměry jsou uvedeny v Tab. 3.

Pro výrobu filamentů byl použit materiál P3HB šarže EDW 2394 Enmat™ od firmy TiaAn Biopolymer. PLA typu Ingeo™ Biopolymer 4060D byla zakoupena od firmy NatureWorks LLC. Použitá PLA je směsí L a D izomerů. HAp který byl použit pro směsi RP9-RP15 a směs OPTI Applichem byl zakoupen od firmy AppliChem, jeho velikost částic je 3,9 μm a byla měřena laserovou difrakcí na zařízení Helios. Pro optimalizovanou každou směs pak byly použity ještě další 2 druhy HAp. První od značky CN Lab s velikostí částic 8,2 μm, a druhý od značky Glentham s velikostí 3,2 μm. Poslední složkou je změkčovadlo S3114 od firmy Croda.

Tabulka 3 Procentuální složení všech směsí

Název vzorku	P3HB [%]	PLA [%]	S3114 [%]	HAp [%]
RP 9	70	4	9	18
RP 10	37	37	9	18
RP 11	57	30	9	5
RP 12	42	22	9	27
RP 13	50	26	6	18
RP 14	46	24	12	17
RP 15	48	25	9	18
CN LAB	35,2	30,8	5,6	28,3
OPTI APPLICHEM	35,2	30,8	5,6	28,3
GLENTHAM	35,2	30,8	5,6	28,3

### 3.2 Vzorky

#### 3.2.1 Příprava filamentů

Filamenty z optimalizovaných směsí Opti CN Lab, Opti Applichem a Opti Glentham byly připravovány v jednošnekovém extrudéru od firmy HAAKE Rheomex OS (Haake Technik GmbH). Průměr šneku je 19 mm. Poměr L/D je 30. Materiál byl v podobě granulí nasypán do násypky, následně zahříván nad teplotu tání. Připravená struna byla rovnou vedena do vany

s vodu, kde byla ochlazená. Struna byla naváděna přes optický snímač, který kontroloval správný průměr 1,75 mm, aby mohl být filament použit pro 3D tisk. Jednotlivé nastavení teplot, krouticí moment a otáčky jsou zobrazeny v Tab. 4.

Tabulka 4 Nastavení teplot extrudéru

vzorek	násypka [°C]	Zóna [°C]	Zóna [°C]	Tryska [°C]	otáčky [1/min]	Krout. moment [Nm]
OPTI Applichem	180	185	180	170	45	37
OPTI CN Lab	180	180	175	170	35	37
OPTI Glenthams	180	180	175	170	38	33,5

### 3.2.2 3D tisk testovacích těles

Všechny 3D tisky byly prováděny na FDM tiskárně Original Prusa i3 MK3s, která je znázorněna na Obr. 12. Tiskárnu lze využít pro tisk v širokém spektru termoplastů, včetně PLA, PC, PP, nylon. Základní charakterizace tiskárny je vyobrazena v Tab. 5.

Tabulka 5 Základní parametry tisku [47]

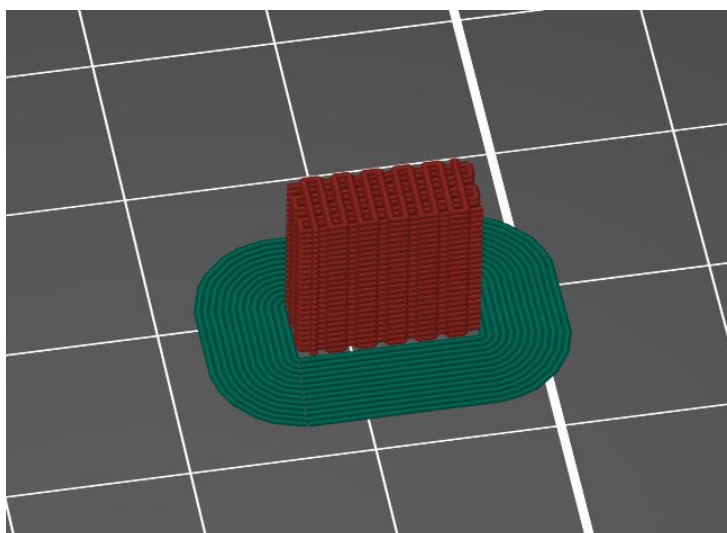
Max. rozměry tisku [mm]	250×210×210
Výška vrstvy [mm]	0,05 - 0,35
Tryska [mm]	0,4
Průměr filamentu [mm]	1,75
Max. rychlost posuvu [mm/s]	200+
Max. teplota trysky [°C]	300
Max. teplota podložky [°C]	120





Obrázek 12 FDM tiskárna Prusa i3 MK3s [47]

Ke každé směsi bylo vytisknuto celkem 18 plných a 18 porézních vzorků o rozměrech  $10 \times 4 \times 10$  mm. Porozita byla nastavena na 50 %, jednotlivé perimetry se pak tiskly jako mřížka (nastavení reactline), viz Obr. 13. Pro první vytištěná 100% a 50% tělesa ze směsi RP12 byl vytvořen G-code, který byl nastaven pro tisk 6 těles, která byla tisknuta po jednotlivých perimetrech. Brim kolem tělesa měřil 5mm. Pro první vrstvu hlava tiskla o  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  vyšší teplotou než zbytek tělesa.



Obrázek 13 Pohled na jednotlivé perimetry porézního tělesa

Zbytek těles ze směsi RP9-RP15 a ze směsi OPTI byl tisknut pomocí G-code, pomocí kterého se tisklo 9 těles a každé zvlášť. Tento G-code byl zvolen jako vhodnější díky tomu, že když se na nějakém tělese objevila závada mohl se zbytek těles bez problému dotisknout. Úspora u toho G-code byla tedy jak časová, tak materiálová. Podrobnější data pro tisk těles z jednotlivých směsí lze nalézt v Tab. 6.

Tabulka 6 Parametry 3D tisku testovacích těles z jednotlivých směsí

Vzorek	Teplota hlavy [°C]	Teplota podložky [°C]	Brim
RP 9 <sub>50</sub>	185	bez nahřívání	ano
RP 9 <sub>100</sub>	185	bez nahřívání	ano
RP 10 <sub>50</sub>	185	40	ano
RP 10 <sub>100</sub>	185	40	ano
RP 11 <sub>50</sub>	185	bez nahřívání	ano
RP 11 <sub>100</sub>	185	bez nahřívání	ano
RP 12 <sub>50</sub>	185	40	ne
RP 12 <sub>100</sub>	185	40	ano
RP 13 <sub>50</sub>	185	bez nahřívání	ano
RP 13 <sub>100</sub>	185	bez nahřívání	ano
RP 14 <sub>50</sub>	185	60	ano
RP 14 <sub>100</sub>	185	60	ano
RP 15 <sub>50</sub>	185	60	ano
RP 15 <sub>100</sub>	185	60	ano
OPTI CN <sub>50</sub>	185	bez nahřívání	ano
OPTI CN <sub>100</sub>	185	bez nahřívání	ano
OPTI APPLI <sub>50</sub>	185	bez nahřívání	ano
OPTI APPLI <sub>100</sub>	185	bez nahřívání	ano
OPTI GLEN <sub>50</sub>	185	bez nahřívání	ano
OPTI GLEN <sub>100</sub>	185	bez nahřívání	ano

U 3D tisku se u některých směsí bylo potýkáno s několika problémy. Prvním problémem byl ne příliš mechanicky odolný filament, který se lámal nejčastěji přímo v tiskové hlavě. S tímto problémem jsme se setkali převážně u vzorků RP9 a RP12. Důvodem je vysoký poměr P3HB a HAp, obě složky jsou totiž křehké. Problém byl zmírněn tím, že vždy před tiskem byl filament umístěn zhruba na 10 minut do sušárny, která byla zahřívána na 40 °C. Zahřátý filament byl poté plastičtější.

Dalším výrazným problémem byl warping. K tomuto nežádoucímu jevu, kterým je deformace a odlepení od podložky, obvykle dochází, když zahřejeme strunu nad teplotu tání, což způsobí jeho roztavení a roztažení. Po nanesení se materiál ochladí, ztuhne a smrští se v důsledku

teplotního a krystalizačního smrštění (u semikrystalických polymerů, jako je P3HB). Tento jev obvykle způsobí, že se rohy tištěného tělesa oddělí od podkladu, což vede k deformaci. Tomuto jevu jsme se snažili vyhnout přidáním tzv. brimu, jehož funkcí bylo těleso uchytit k podložce, dokud nebyl dokončen jeho tisk. S warpingem jsme se setkali především u RP9, protože se jedná o vzorek s největším procentuálním zastoupením P3HB (70 %).

### 3.2.3 Biodegradace *in vitro*

Biodegradací část experimentu byla provedena v inkubátoru, při 37 °C. Tato teplota byla zvolena jako simulace lidského těla. Jednalo se o neenzymatickou biodegradaci, která byla prováděna v SBF roztoku, který simuluje koncentraci iontů blízkou krevní plazmě. Pro každou směs se ze začátku inkubovalo celkem 15 vzorků plných těles a 15 vzorků porézních těles. Ty byly rozděleny na jedno až pět měsíců. Pro každé určené období se vždy inkubovaly 3 stejné vzorky. Aby bylo zabráněno záměně vzorků, bylo na 3D tiskárně vytisknuto těleso, které rozdělilo nádobu na vzorky na 3 stejné označené části. Těleso bylo tisknuto z polypropylenu, kvůli chemické rezistenci vůči vzorkům a médiu. Jeden měsíc se vždy počítal jako 30 dní. Všechny vzorky byly před vložením do inkubátoru promyty etanolem a dány na 24 hodin do sušárny, která byla vyhřívána na teplotu 60 °C. Po vysušení byly vzorky zváženy na analytických vahách a dány do nádoby na vzorky. Poté bylo do každé nádoby na vzorky aplikováno 15 ml média. Po vytažení, byly vzorky vždy promyty vodou, dány opět na 24 hodin do sušárny na 60 °C, zváženy a uskladněny pro další experimenty.

#### 3.2.3.1 SBF médium

Roztok SBF (stimulated body fluid) byl připraven čerstvý pro každý měsíc a vyměněn u vzorků, které v inkubátoru zůstávaly. Koncentrace jednotlivých iontů a navážky složek jsou napsány v Tab. 7.

Tabulka 7 Složení SBF roztoku [48]

Složka	Iont	Navážka složky [g]	Molarita [mM]
NaCl	Na <sup>+</sup>	8,04	142,0
KCl	K <sup>+</sup>	0,23	5,0
NaHCO <sub>3</sub>	Mg <sup>2+</sup>	0,36	1,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	Ca <sup>2+</sup>	0,23	2,5
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	Cl <sup>-</sup>	0,31	147,8
1M HCl	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	39 ml	4,2
CaCl <sub>2</sub>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,29	1,0
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,07	0,5
Tris	-	6,12	7,04

Pro přípravu roztoku byla používána plastová kádinka, u které se muselo zkontrolovat, aby neměla výrazné nedokonalosti. 700 ml destilované vody bylo zahřáto na 37 °C. Po zahřátí byly přidány navážky jedna po druhé, podle pořadí v Tab. 7, vždy po dokonalém rozpuštění. Po přidání síranu sodného, byl roztok doplněn na 900ml, po doplnění byl vložen pH metr, následně byl přidáván Tris po velmi malých dávkách, dokud pH nebylo 7,45, teplota neměla překročit 37 °C. Pomocí HCl bylo poté pH upraveno na 7,42, kdy nemělo pH klesnou pod 7,4. Poté bylo pH roztoku udržováno mezi 7,45-7,4 kdy byl vždy přidán Tris a následně HCl, dokud nebyl spotřebován všechn Tris. Celý objem roztoku poté doplněn na 1 litr pomocí destilované vody.

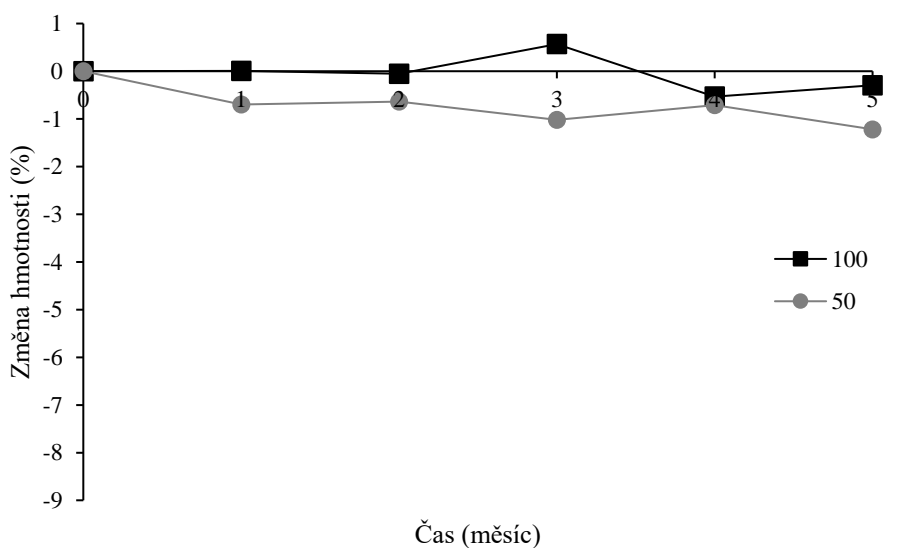
#### **3.2.4 Zkouška v tlaku**

Pro všechny vzorky byla provedena zkouška tlaku na zařízení Zwick Roell Z010, podle normy ČSN EN ISO 609. Zkouška se skládá z vložení testovaného tělesa mezi dvě rovné plochy. Spodní plocha geometrie, na kterou se vkládá testované těleso, je nepohyblivá. Druhá plocha geometrie na těleso poté aplikuje deformaci, tím že se příčnick postupně sesouvá dolů. Příčnick se přestane pohybovat, jakmile těleso dosáhne požadované procentuální deformace nebo poklesne síla (porušení vzorku). Tělesu byly před začátkem měření vždy naměřeny rozměry. Občas bylo nutné vršek tělesa seříznout kvůli nežádoucím nerovnostem na tělesu, které se vytvořily již při 3D tisku. Tyto nerovnosti ovlivňovaly výsledky měření, protože siloměrná hlava nemohla rovnoměrně dopadnout na horní plochu celého tělesa. Pre-load force, neboli předtížení které bylo nutno detekovat, aby začal přístroj měřit, činila 1N. Maximální deformace byla pro tělesa po biodegradaci nastavena na 15 %, u těles které nebyly vystaveny biodegradaci to bylo 40 %. Modul bylo potřeba odečítat z hodnot deformace v lineární oblasti- proto byl modul stanovován z hodnot deformace v rozmezí 1,5-1,75 %.

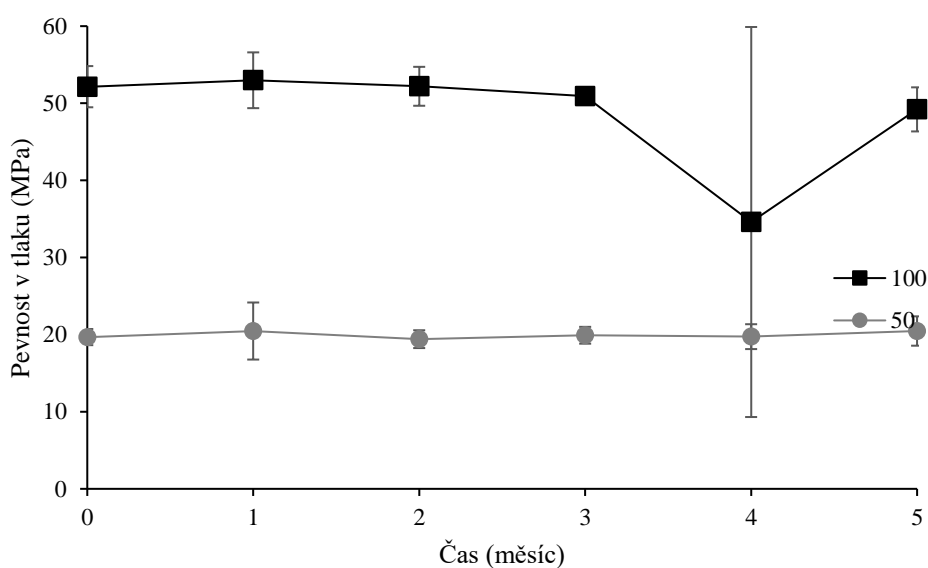
## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Vliv obsahu PHB a PLA na biodegradaci

V této části se zabývám vyhodnocením vlivu obsahu PHB a PLA na biodegradaci. Pro toto vyhodnocení byly použity směsi RP9 a RP10, které obsahují nejvyšší a nejnižší obsah PHB ze všech RP směsí. Pro ověření diskutovaných výsledků bude použita směs RP15, která má střední hodnoty těchto dvou látek. Výsledky se nachází na Obr. 14-19.



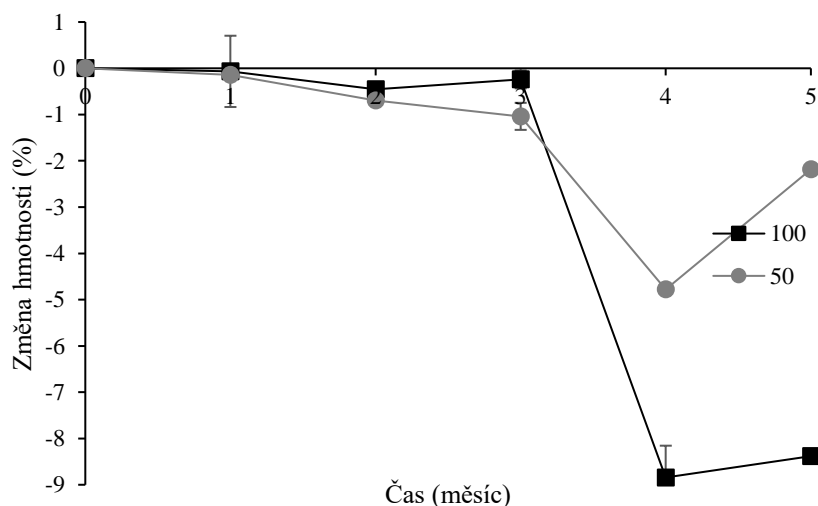
Obrázek 14 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP9



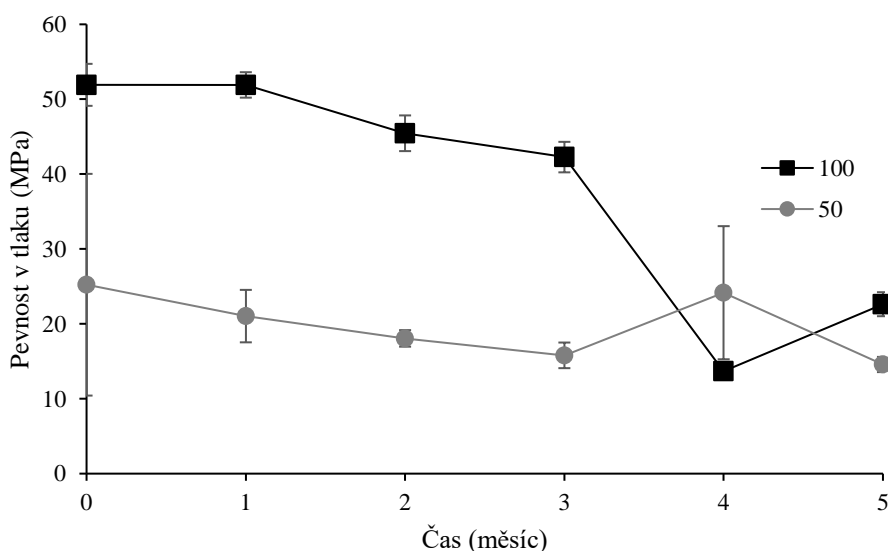
Obrázek 15 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP9

U RP 9 byl největší pokles hmotnosti pro plné těleso po 4. měsíci biodegradace a činil 0,29 %, u pevnosti v tlaku pak byl největší pokles 0,34 %, bez poměrně velké odchylky, opět po 4. měsíci biodegradace. U porézních těles to pak byl pokles hmotnosti o 1,21 % po 5. měsíci biodegradace a pevnosti o 0,013 % po 3. měsíci biodegradace.

Vzorek RP9 vykazoval naprosté odlišné vlastnosti oproti všem zbývajícím vzorkům. Důvodem je jeho složení, kdy se zde nachází směs nejvyššího zastoupení PHB a nejnižší obsah PLA. Z výsledků je patrné, že úbytek hmotnosti probíhá ve velmi malém rozmezí a pokles mechanických vlastností téměř neprobíhá, a je tedy zanedbatelný, u plných i porézních těles. Lze tedy usoudit, že vysoký obsah PHB není příliš vhodný, pokud je primárním cílem co nejrychlejší biodegradace. Tímto zjištěním byl potvrzen předpoklad velmi pomalé biodegradace PHB zmíněné již na začátku práce.

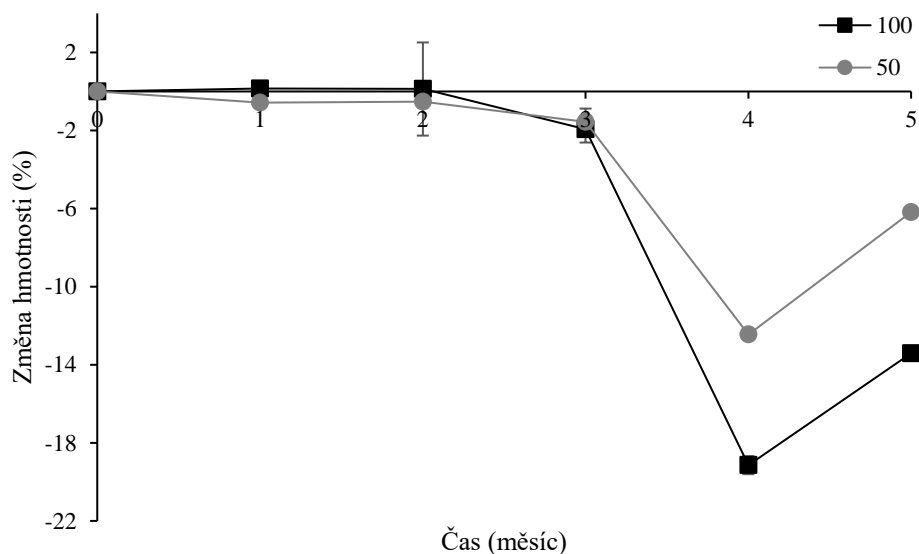


Obrázek 16 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP10

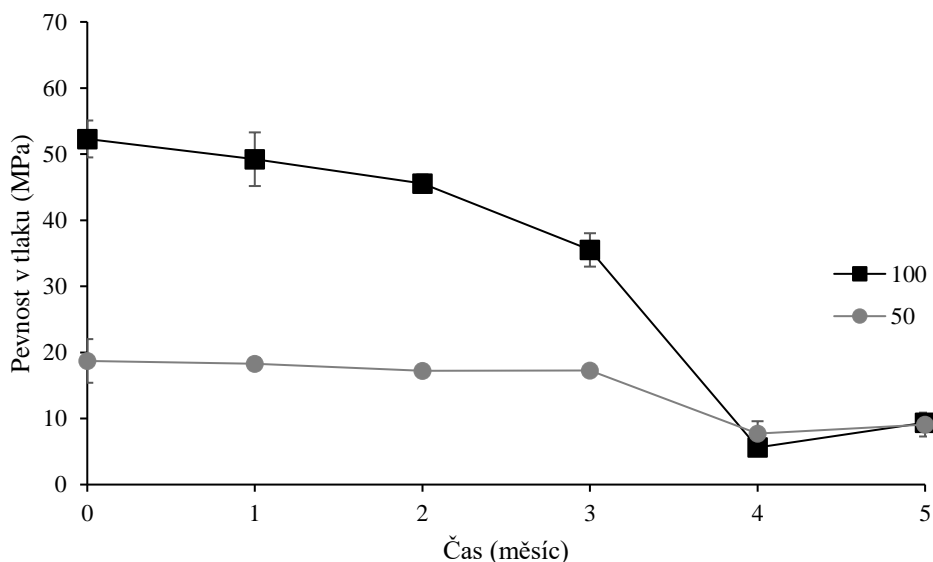


Obrázek 17 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP10

Vzorek RP10 byl druhý vzorek s krajním složením, které bylo svým poměrem velmi rozdílné oproti ostatním směsím. Jedná se o směs s největším zastoupením PLA a nejmenším zastoupením PHB. Z grafů je patrný úbytek hmotnosti i rozdíl mechanických vlastností. Pro hmotnost to činí maximální úbytek cca 8,42 % u pevnosti to pak činí pokles o 73,66 % po 4. měsíci biodegradace pro plné tělesa. U porézních těles se pak jedná o 4,78% úbytek hmotnosti a 73,66% pokles pevnosti po 4. měsíci biodegradace.



Obrázek 18 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP15



Obrázek 19 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP15

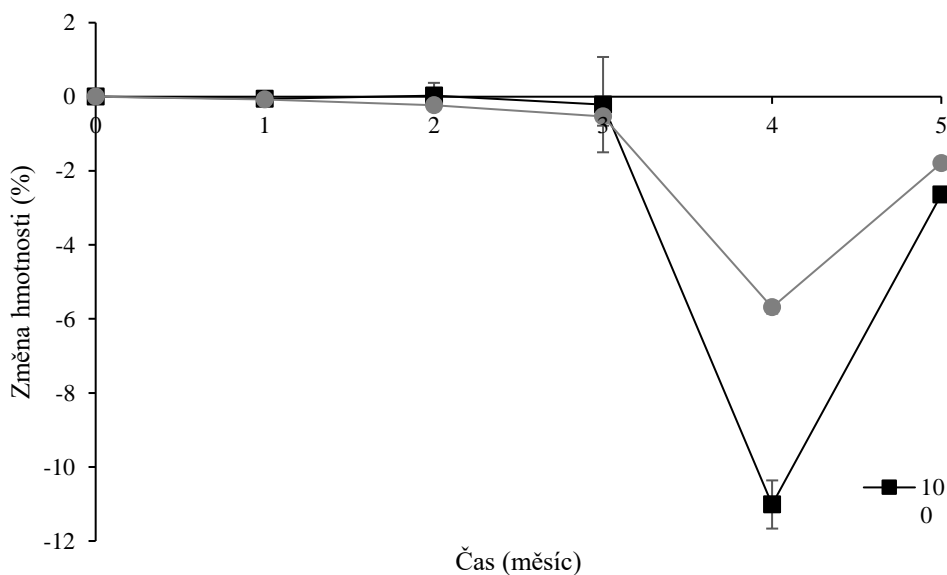
U směsi RP15 byl maximální hmotnostní úbytek 19,14 % a pokles pevnosti o 89,2 % u pevného tělesa po 4. měsíci biodegradace. U porézního tělesa to pak činilo 12,45 % u změny hmotnosti

a 61,11 % pro pokles pevnosti. Tato směs měla pro obě varianty těles nejvyšší úbytek hmotnosti a nejvyšší úbytek pevnosti v tlaku.

Z celkových výsledků biodegradace směsi RP10 a RP9 můžeme říci, že je na změnu vlastností rozhodující poměr složek, a to konkrétně PHB a PLA. Při stejném obsahu plniva a biokeramiky vykazovala výrazněji rychlejší biodegradaci směs RP10, která měla větší zastoupení PLA. Samotný obsah PLA však není pro směs stěžejní, jelikož u směsi RP15 proběhla větší míra biodegradace, i přesto, že tato směs měla menší obsah PLA ve směsi, než směs RP10. Pro nejrychlejší míru biodegradace bude nejdůležitější nejspíše samotný poměr PHB a PLA, tedy pro vyšší rychlost biodegradace je vhodný střední poměr PHB/PLA z testovaného rozsahu.

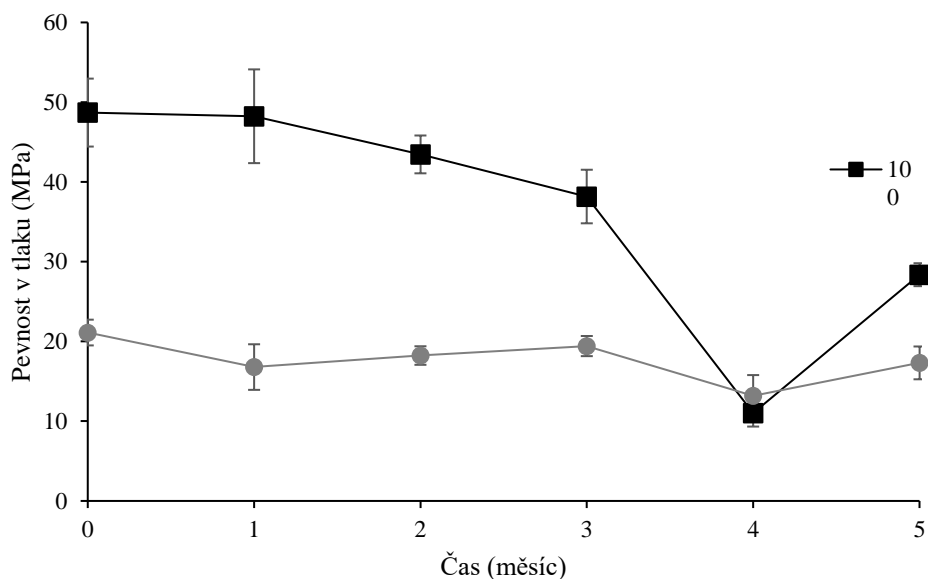
#### 4.2 Vliv obsahu HAp ve směsi na biodegradaci

V této podkapitole budu diskutovat směsi RP11 a RP12 kdy se jedná o směsi s nejnižším a nejvyšším podílem HAp ze všech RP směsí. Díky jinak podobnému poměru ostatních složek ve směsi bylo možno zjistit, jak velký má obsah HAp ve směsi vliv na průběh biodegradace. Dosažené výsledky pak budu diskutovat na směsi RP15, která má střední hodnotu HAp. Výsledky lze nalézt níže na Obr. 20-23.



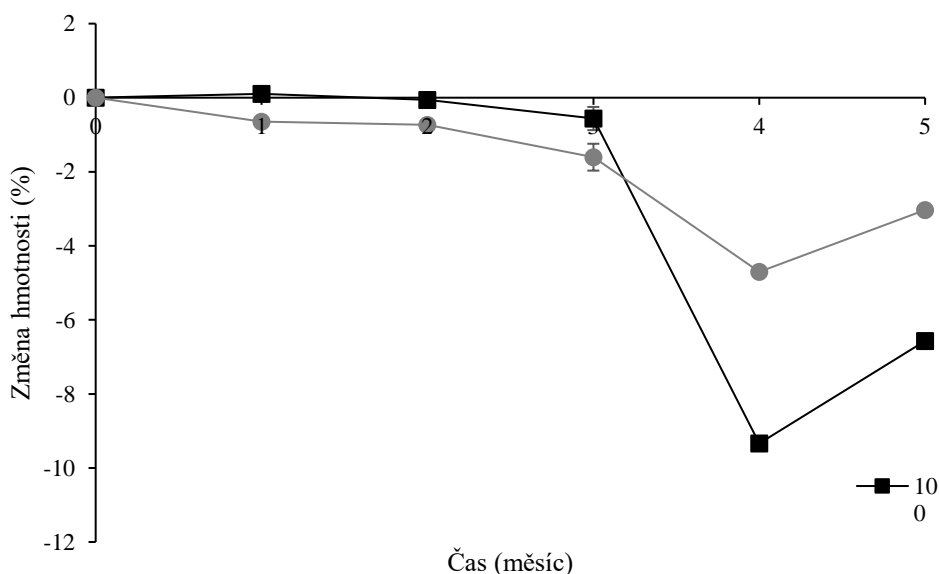
Obrázek 20 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP11



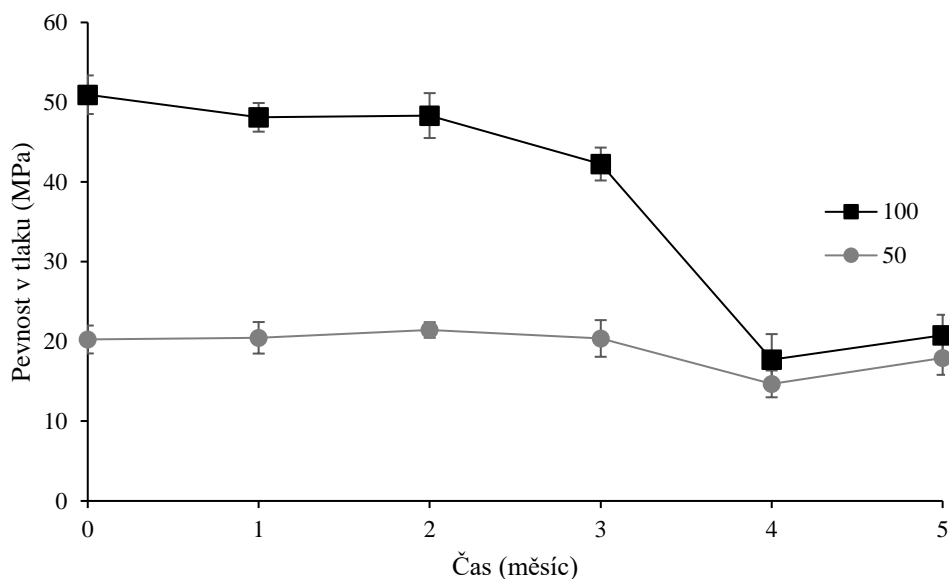


Obrázek 21 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP11

Směs RP11 se vyznačovala nejnižším obsahem HAp ze všech vzorků. Nejvyšší pokles hmotnosti činil 11,01 % a pevnost byla menší o 77 % po 4. měsíci biodegradace opět u plných těles. U porézniých těles činil maximální pokles pevnosti 37,57 % a pokles hmotnosti 5,69 % po 4. měsíci biodegradace. Byť se jedná o směs s velkým množstvím PHB je tu i velké zastoupení PLA, které se biodegraduje poměrně rychle, jak jsme již zjistili u rozdílných vlastností vzorků RP9 a RP10.



Obrázek 22 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP12



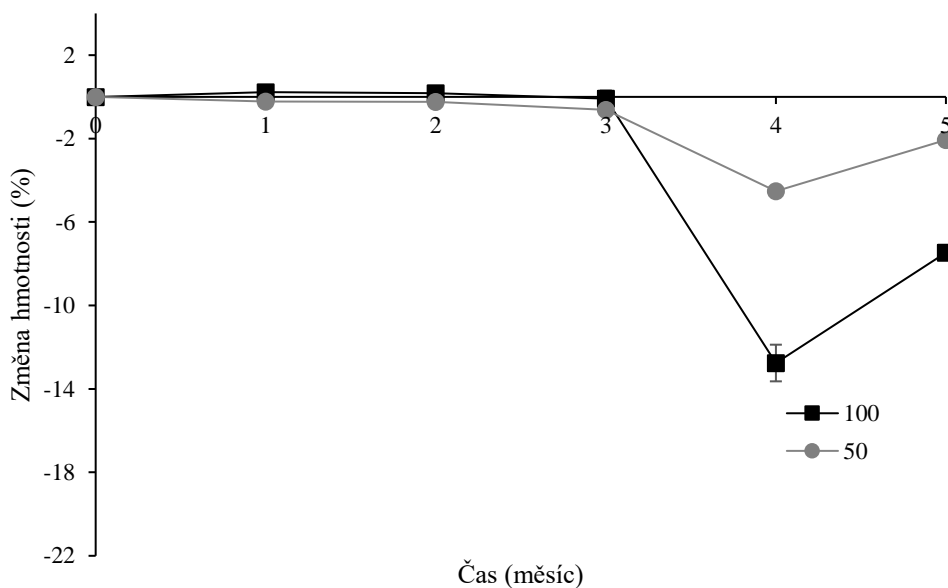
Obrázek 23 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP12

V RP12 se nachází zase oproti RP11 nejvíce HAp ze všech vzorků. Pokles hmotnosti činil 9,33 % a pokles pevnosti 66,6 % po 4. měsíci biodegradace u plných těles. Pro porézní tělesa to pak činí o 30 % menší pevnost a 4,7% úbytek hmotnosti po 4. měsíci biodegradace.

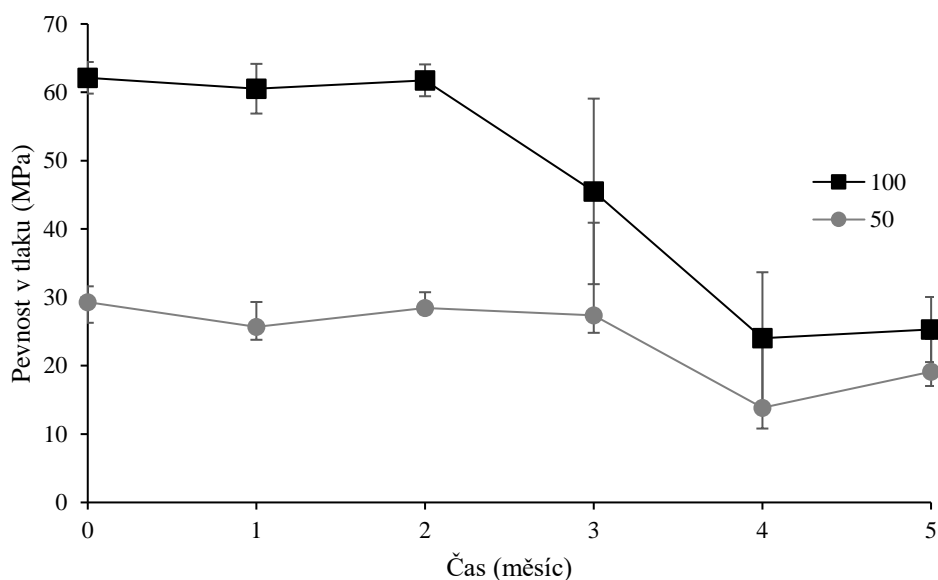
Při porovnání RP11 a RP12 lze vidět, že obsah HAp má ve směsi pro mechanické vlastnosti téměř zanedbatelné účinky. U porézních těles obě směsi před biodegradací dosáhly cca 20MPa v pevnosti v tlaku a na této hodnotě se držely i počas experimentu. Velmi podobné výsledky při uvážení odchylek můžeme pozorovat u úbytku hmotnosti jak u RP11 i RP12, u porézních i plných těles. U obou směsí můžeme taky pozorovat podobné klesání křivek pro pevnost pro plné i porézní tělesa. Lehce výraznější biodegradace proběhla u směsi RP11, kde se i nacházelo větší množství PLA. Při porovnání se směsí RP15 se nám tyto výsledky, že obsah HAp nemá příliš velký vliv na biodegradaci potvrdily, jelikož tato směs zaznamenala mnohem výraznější míru biodegradace, i přesto, že se hodnota HAp nachází mezi hodnotami směsi RP11 a RP12. Tudiž byla vyvrácena možnost přímé či nepřímé úměry mezi obsahem HAp a mírou biodegradace.

### 4.3 Vliv obsahu změkčovadla na biodegradaci

V této podkapitole se zabývám směsmi RP13, RP14. Jedná se o směsi s podobným poměrem látek PHB, PLA a HAp, lze tedy diskutovat vliv změkčovadla na biodegradaci. Výsledky jsou pak diskutovány se směsí RP15. Výsledky lze nalézt níže na Obr. 24-27.

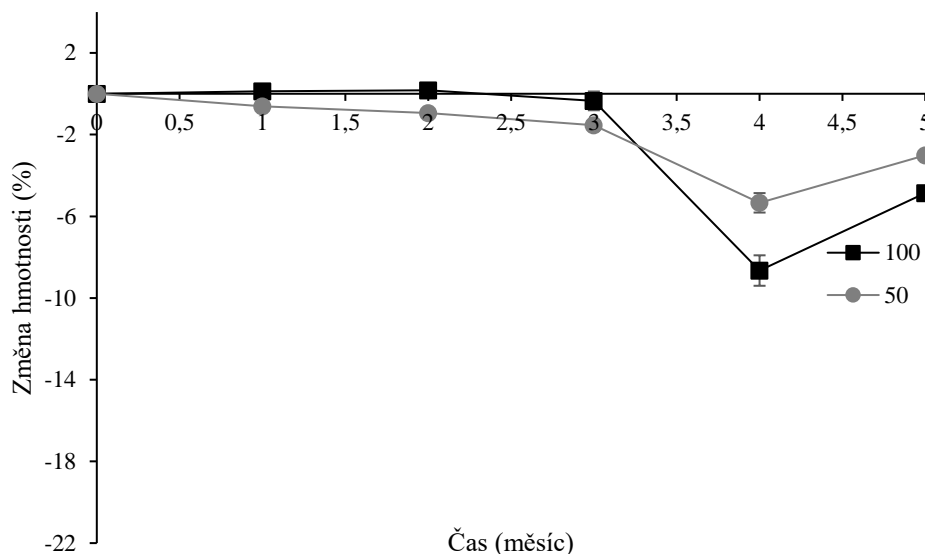


Obrázek 24 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP13

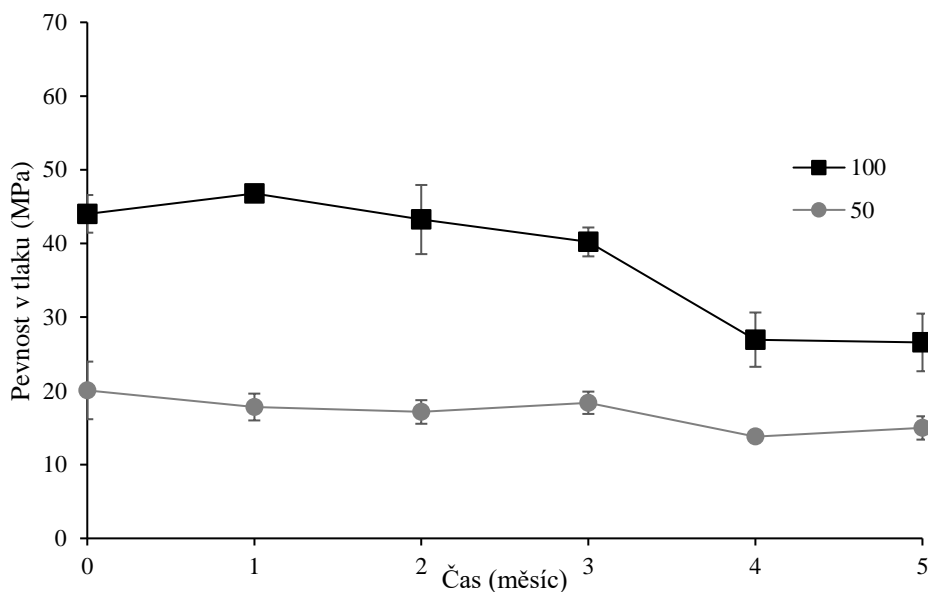


Obrázek 25 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP13

U směsi RP13 se pohyboval maximální pokles hmotnosti 12,75 % a 61,2% pokles pevnosti v tlaku u plného tělesa po 4. měsíci biodegradace. U této směsi lze pozorovat větší propad hmotnosti již po 3. měsíci biodegradace. U této směsi byl zpozorován i výraznější pokles pevnosti v tlaku pro porézní těleso, kdy se jedná o pokles zhruba 56,66 %, hmotnost pak byla menší o 4,5 %. Tato směs měla nejmenší zastoupení změkčovadla ze všech RP směsí.



Obrázek 26 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP14



Obrázek 27 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs RP14

U RP14 činil maximální pokles hmotnosti 8,65 % a pokles pevnosti v tlaku 40,9 % u pevného tělesa. Tato směs má největší obsah změkčovadla ze všech směsí. U porézního tělesa u pevnosti můžeme pozorovat nejvyšší úbytek hmotnosti 5,33 % a pokles pevnosti o 38,5 % po 4. měsíci experimentu. Pevnost u plného i porézního tělesa klesala konstantně.

Směsi RP13, RP14 a RP15 měly podobné složení v poměru látek PHB, PLA a HAp. Na těchto směsích můžeme tedy pozorovat vliv změkčovadla. Největší pokles hmotnosti byl u směsi RP15 u porézního i celého tělesa. Obsah změkčovadla v této směsi byl 9 %, což je střední hodnota v testovaném rozsahu. Nejmenší pokles hmotnosti pak byl u směsi RP14, která má největší obsah změkčovadla. Můžeme tedy zpozorovat, že obsah změkčovadla jako takový

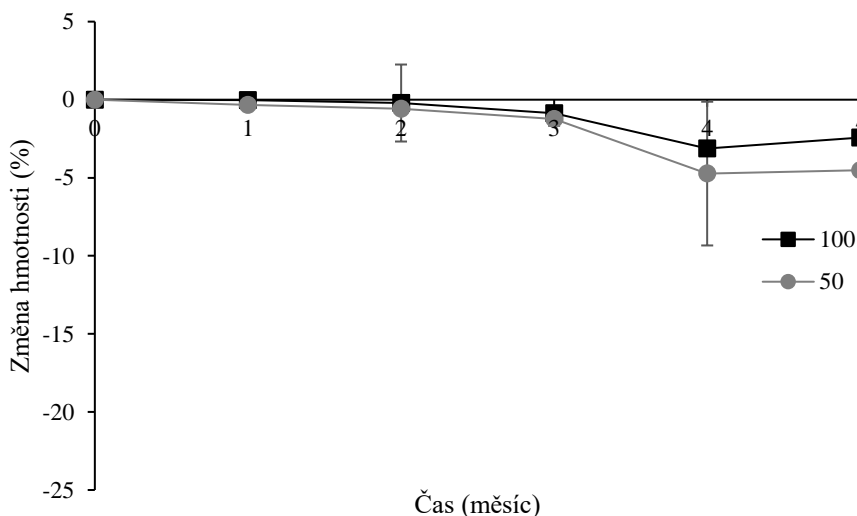
zásadně na změnu hmotnosti vliv téměř nemá, protože zde není žádná úměra, která by říkala, zda větší obsah změkčovadla snižuje nebo zvyšuje úbytek hmotnosti.

Když bychom však spolu porovnali směs RP13 a RP14, které mezi sebou mají poměr změkčovadla rozdílný o 6 %, můžeme si všimnout, že nějaké rozdíly patrné jsou. Směs RP13 biodegradovala mnohem rychleji i přesto, že je ve směsi vyšší podíl PHB než u směsi RP14, což jak už víme, obsah PHB je pro biodegradaci podstatný. Lze tedy říci, že by se zde nenachází žádná přímá úměra pro obsah změkčovadla ve směsi a rychlosti biodegradace, může ji negativně ovlivňovat, tedy vyšší procento změkčovadla zpomaluje biodegradaci. Tento jev byl rovněž nepředpokládaný, protože by se mělo změkčovadlo správně spotřebovat rychleji, tím pádem by ve vzorcích vznikly blokové trhliny a mechanické vlastnosti by byly o to více sniženy. Odůvodnit to můžeme i z pohledu, kdy obsah změkčovadla zvyšuje rychlost krystalizace PLA, s faktem, že k biodegradaci dochází nejprve v amorfní části, by tento aspekt mohl za pomalejší biodegradaci u vzorku s vyšším obsahem změkčovadla.

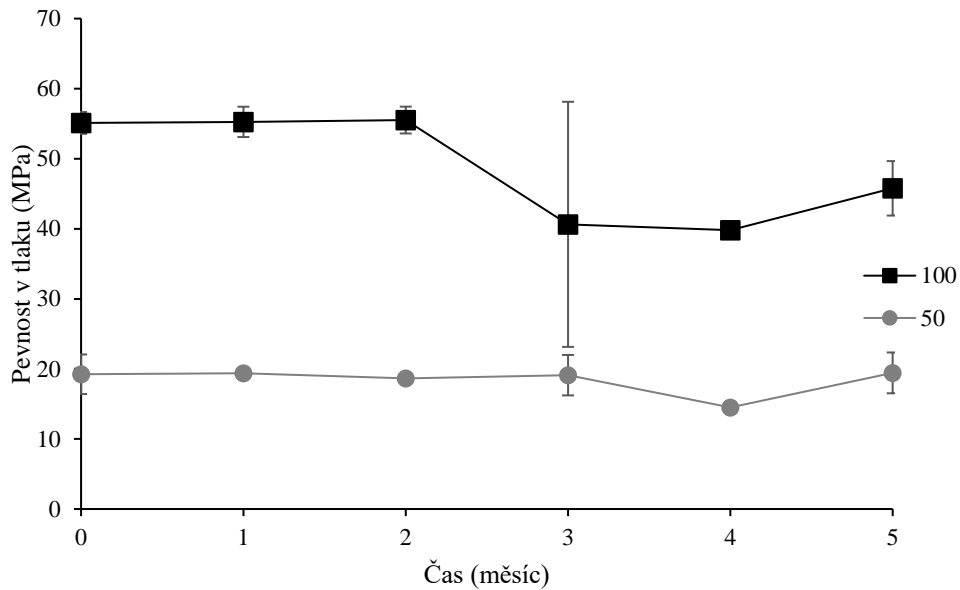
U pevnosti pak byl největší pokles opět u RP15 jak pro plné, tak porézní těleso. Nejmenší pokles pevnosti pak pro RP14 s tím, že RP14 měla největší zastoupení změkčovadla. Tento jev můžeme odůvodnit tvrzením již v teoretické části, že změkčovadlo zvyšuje krystalinitu PLA. S vyšší krystalinitou se pak pojí větší mechanické vlastnosti. Můžeme tedy říct, že na pokles pevnosti obsah změkčovadla vliv má. Vysokou rychlost biodegradace směsi RP15 lze odůvodnit tedy hlavně menším obsahem PHB a vyšší obsah PLA v poměru s ostatními látkami. Svou roli tam bude hrát i změkčovadlo, které je v nižších hodnotách.

#### 4.4 Vliv typu HAp na biodegradaci

V této podkapitole se zabývám vyhodnocením mechanických vlastností a úbytkem hmotnosti pro směsi OPTI CN LAB, OPTI Applichem a OPTI Glentham. Vzhledem k tomu, že směsi mají totožný poměr látek, mohli jsme pozorovat jaký mají vliv na biodegradaci rozdílné HAp, které se lišily jak velikostí částic, tak mírně i složením. Výsledky jsou zobrazeny na Obr. 28-33.

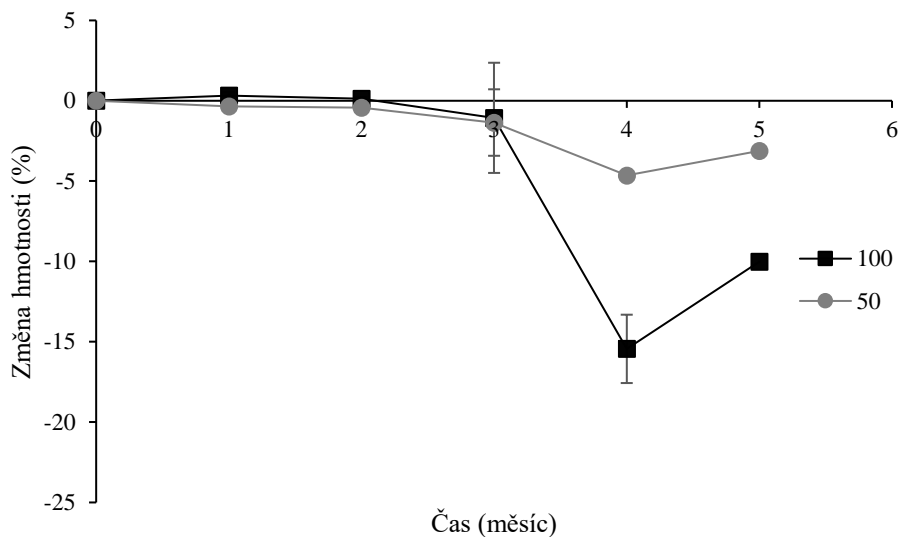


Obrázek 28 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs OPTI CN Lab

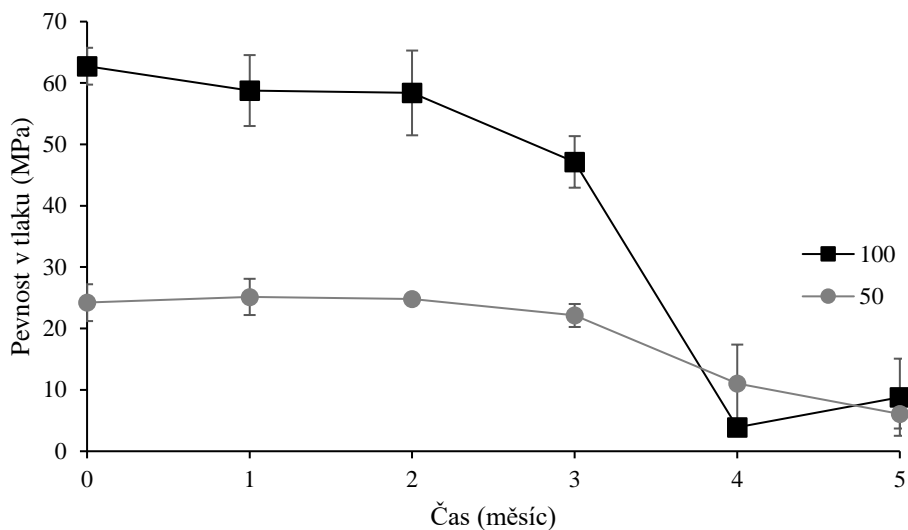


Obrázek 29 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs OPTI CN Lab

U směsi OPTI CN Lab byl maximální pokles hmotnosti 3,12 % a pevnosti 29 % u plných těles po 4. měsíci biodegradace. U porézních těles to pak činilo hmotnost menší o 4,73 % a pevnost o 26,3 %. Ze všech optimalizovaných směsí měla tato směs HAp s největší velikostí částic. Testovací tělesa si zanechala téměř celou svou počáteční hmotnost. Jedná se o jedinou směs, kde byl úbytek hmotnosti větší u porézních těles oproti tělesům plným. U tlaku pak u porézních těles pevnost klesla téměř zanedbatelně, u plných těles to bylo nejméně ze všech 3 směsí.

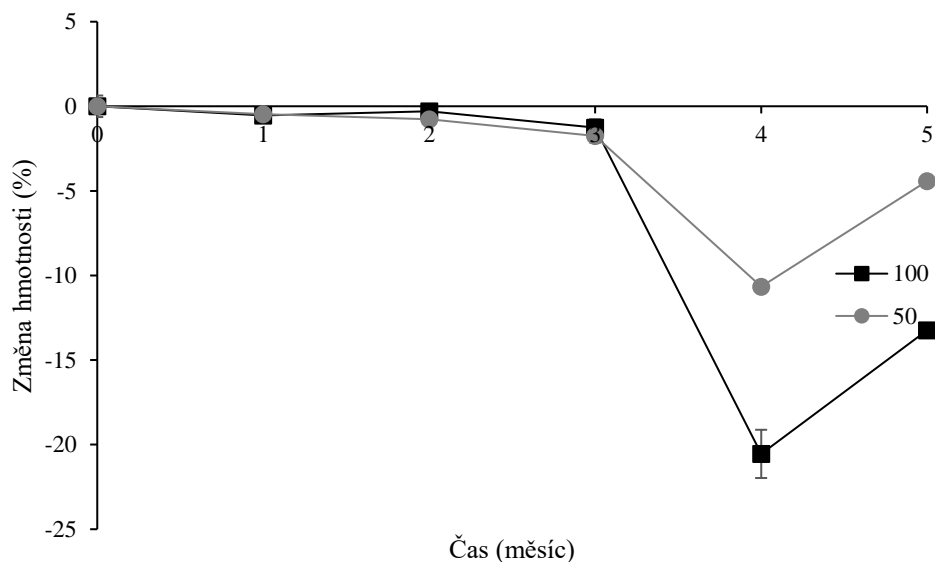


Obrázek 30 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs OPTI Applichem

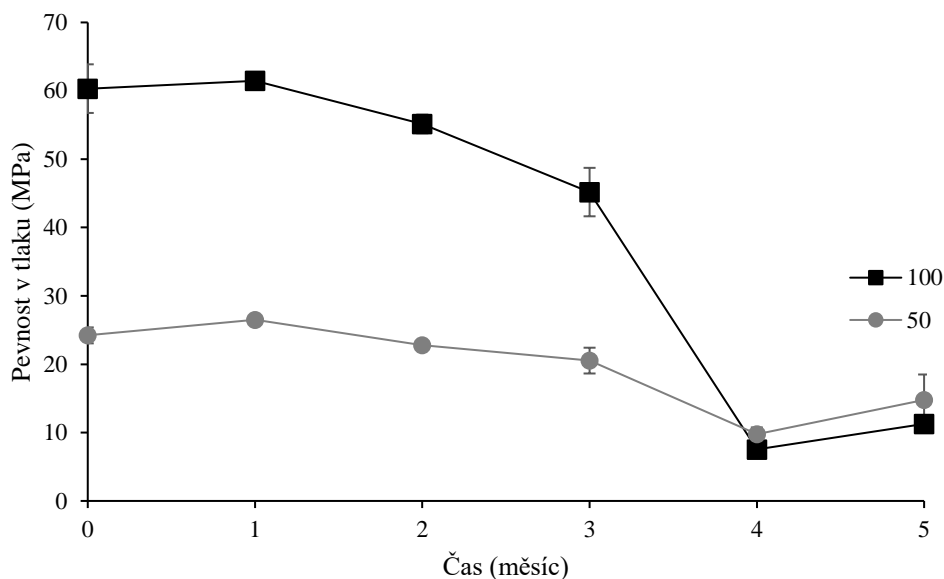


Obrázek 31 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs OPTI Applichem

U směsi OPTI Applichem byl největší pokles hmotnosti o 15,44 % a pevnosti o 93,78 % u plných těles po 4. měsíci biodegradace. Jedná se o největší pokles pevnosti u všech testovaných směsí. Pro porézní tělesa pak je úbytek hmotnosti o 4,64 % a pevnosti o 54,16 % po 4. měsíci biodegradace. Při ztrátě pevnosti se vzhledem k odchylkám tato směs chovala tak jak bylo predikováno, tedy pevnost klesala, u porézních těles konstantně, u plných byl opět největší pik poklesu během 4. měsíce.



Obrázek 32 Procentuální úbytek hmotnosti pro jednotlivé měsíce pro směs OPTI Glentham



Obrázek 33 Pokles pevnosti pro jednotlivé měsíce pro směs OPTI Glentham

U směsi OPTI Glentham byl pro plné těleso největší pokles po 4. měsíci o 20,47 %, což je největší pokles pro všechny směsi. U pevnosti to pak činí 84,6 %. Při uvážení odchylek, se jedná o druhou směs, která se v poklesu pevnosti chovala podle našeho předpokladu pro porézní i plná tělesa. Pro porézní tělesa pak činil úbytek hmotnosti 10,66 % a pevnosti 59,68 %.

Při vyhodnocení všech tří směsí si můžeme všimnout, že různé složení HAp a různé velikosti částic ovlivňuje víc, než by se dalo předpokládat. OPTI CN Lab, která měla velikost částic největší ztratila skoro 6x méně hmotnosti než tělesa ze směsi OPTI Glentham, kde byly částice naopak nejmenší. V poklesu hmotnosti můžeme tedy pozorovat úměru, kdy čím větší jsou částice, tím pomalejší je úbytek hmotnosti.

Rozdílné HAp nám pak ovlivňovala i mechanické vlastnosti. Pro HAp od firmy CN Lab ,která měla i největší velikost částic se pevnost v tlaku neměnila natolik, jako HAp od firmy Glentham která měla velikost částic nejmenší. S uvážením i rozdílných složení můžeme říci, že větší velikost částic s největší pravděpodobností nepříznivě ovlivňovala průběh biodegradace.

#### 4.5 Obecné poznatky

Cílem bylo zjistit změnu vlastností 10 směsí P3HB, PLA, HAp a změkčovadla v různém poměru po dobu 5měsíčního biodegradačního experimentu. Pro každou směs byla pozorována změna hmotnosti a pevnosti v tlaku.

Již při provádění zkoušky v tlaku bylo patrné rozdílné chování vzorků v závislosti na době biodegradace. Zatímco vzorky vytažené po měsíci či dvou se většinou pouze zdeformovaly, po třech měsících se začaly vyloženě rozpadat na malé kousky, viz Obr. 34. Některé vzorky vytažené po 5 měsících se následně rozpadaly i v ruce, vždy v rovině perimetru.

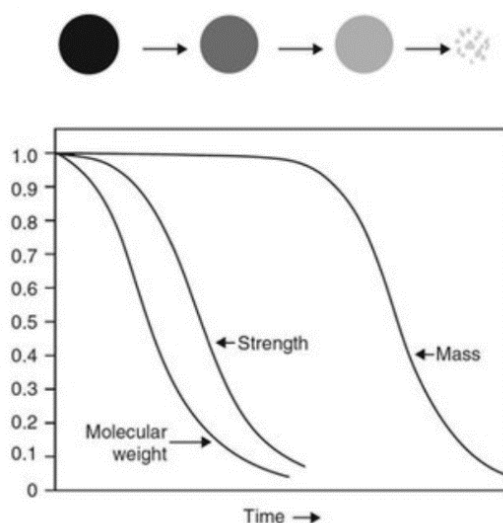




Obrázek 34 Tělesa ze směsi RP15 po tlakové zkoušce; vlevo- po měsíci biodegradace; uprostřed- po 4 měsících biodegradace; vpravo- po 5 měsících biodegradace

Předpokládané změny vlastností plných vzorků v rámci poklesu hmotnosti a pevnosti mělo následovat chování v tzv. bulk erosion. Během biodegradace jsou totiž štěpeny polymerní vazby. Výrazné změny v mechanických vlastnostech jsou pak vidět tedy až proběhne dostatek těchto reakcí, které jsou závislé na době biodegradace viz Obr.35 [49]. Podle změřených výsledků byl pro požadovanou změnu důležitý 4. měsíc biodegradace. Tento trend se potvrdil u všech směsí kromě RP9. U 100% těles byl u směsí RP9, RP12, RP13, RP14 a RP15 pozorován nárůst hmotnosti při prvních měsících biodegradace na některých vzorcích. Důvodem mohlo být ulpění částic SBF média na vzorku, jelikož se plné těleso nedalo zcela promýt vodou po vytažení z roztoku.

Pro 5. měsíc se u všech vzorků, opět až na RP9, objevil nepředpokládaný jev, kdy se hmotnost i pevnost oproti 4. měsíci nesnížila nýbrž zvýšila. Naměřené hodnoty byly pořád výrazně menší než u měsíce třetího, tudíž výsledky nijak neodporují teorii, že největší změny mechanických vlastností přichází až během 4. měsíce. Nedosáhli jsme tedy ideálních výsledků pro plné tělesa na základě průběhu tzv. bulk erosion.



Obrázek 35 Průběh bulk erosion [49]

Dalším obecným trendem byl mnohem větší pokles hmotnosti a mechanických vlastností u plných těles oproti tělesům porézním. I přesto, že bychom očekávali, díky větší reakční ploše porézních těles, jev opačný, tyto tělesa nespádají díky své struktuře pod bulk erosion. Neporézní vzorky totiž usnadňují rozpouštění a šíření degradace tím, že se voda dostane do tělesa a tam pak iniciuje degradaci. Tento jev odpovídá chování, které bylo zmíněno již v teoretické části práce.

Tabulka 8 Výsledky biodegradace

<b>Vzorek</b>	<b>Maximální pokles hmotnosti [%]</b>	<b>Maximální pokles pevnosti [%]</b>
RP 9 <sub>50</sub>	1,21	0,01
RP 9 <sub>100</sub>	0,29	0,34
RP 10 <sub>50</sub>	4,78	73,66
RP 10 <sub>100</sub>	8,42	73,66
RP 11 <sub>50</sub>	5,69	37,57
RP 11 <sub>100</sub>	11,01	77,00
RP 12 <sub>50</sub>	4,70	30,00
RP 12 <sub>100</sub>	9,33	66,6
RP 13 <sub>50</sub>	4,50	56,66
RP 13 <sub>100</sub>	12,75	61,20
RP 14 <sub>50</sub>	5,33	38,50
RP 14 <sub>100</sub>	8,65	40,90
RP 15 <sub>50</sub>	12,45	61,11
RP 15 <sub>100</sub>	19,14	89,20
OPTI CN <sub>50</sub>	4,73	26,30
OPTI CN <sub>100</sub>	3,12	29,00
OPTI APPLI <sub>50</sub>	4,64	54,16
OPTI APPLI <sub>100</sub>	15,44	93,78
OPTI GLEN <sub>50</sub>	10,66	59,68
OPTI GLEN <sub>100</sub>	20,47	84,60

## 5 ZÁVĚR

Biodegradačním experimentem *in vitro* bylo testováno 10 směsí z látek PHB, PLA, HAp a změkčovadla. Každá směs se lišila poměrem těchto látek, u optimalizovaných směsí jsme pak měli rozdíl v jednotlivých HAp. Výběr testovaných směsí byl učiněn tak, aby bylo možno porovnat každou jednotlivou složku a její vliv na průběh biodegradace, což byl i primární cíl této bakalářské práce. Pro prozkoumání biodegradace u optimalizovaných směsí bylo nejprve nutno vytvořit filament pro 3D na dvoušnekovém extrudéru z granulí, které byly namíchány v požadovaném poměru. 3D tiskem byly následně vytisknuty tělesa pro testování. Pro testování rychlosti biodegradace byly zvoleny 2 testy-pokles hmotnosti a zkouška v tlaku. Pro zkoušku v tlaku jsem pak vyhodnocovala pevnost a její pokles. V této práci se nachází, kromě literární rešerše, podrobný postup experimentu a následně vyhodnocení experimentu.

Při zpracovávání výsledků experimentu jsme si všimli několika nepředpokládaných jevů, prvním z nich byla mnohem větší míra biodegradace u plných těles i přes menší reakční plochu oproti tělesům porézním. Tento jev se nám potvrdil i pro pokles hmotnosti i pro pokles mechanických vlastností. Jako nechtěný jev se nám ukázala menší biodegradace pro vzorky, které se biodegradovaly po dobu 5 měsíců než pro vzorky 4měsíční. Tento jev se ukázal u všech vzorků vyjma směsí OPTI Applichem a OPTI CN Lab u porézních těles. Pro všechny směsi ale bylo potvrzeno, že zlomovým měsícem pro pokles hmotnosti a pevnosti je 4.měsíc biodegradace. U všech směsí přišel po 4. měsíci největší pík poklesu jak pro pevnost u plných těles, tak pro úbytek hmotnosti pro všechny tělesa. Jedinou směsí, která měla zcela odlišné chování byla směs RP9.

Směsi byly porovnávány tak, aby bylo možno vždy určit, jak moc velký vliv má na biodegradaci každá složka. Při porovnání směsí RP9, RP10 s RP15 bylo zjištěno, že jedním z největších kritérií je pro biodegradaci poměr obsahu PLA a PHB. Kdy je pro větší míru biodegradace nejjideálnější rozdílný poměr, který nesmí být stejný ani příliš rozdílný. U našich konkrétních výsledků to byl větší poměr PHB aspoň s 25% zastoupením PLA. Jedinou směsí, která nevykazovala téměř žádnou biodegradaci byla totiž směs RP9, která měla více než 70% zastoupení ve směsi sloučeninu PHB, tedy nejvyšší zastoupení ze všech směsí, a nejnižší obsah PLA z všech směsí. Rozdíl mezi úbytkem hmotnosti těchto dvou směsí činí 8,13 % u plného a 3,57 % u porézního tělesa. Pro mechanické vlastnosti je to rozdíl v poklesu pevnosti o 73,32 % pro plné těleso a 73,65 % pro porézní.

U směsí RP11, RP12 jsme mohli pozorovat, jak moc ovlivňuje biodegradaci větší či menší zastoupení HAp ve směsi. Z výsledků vyplynulo, že rozdílné zastoupení HAp ve směsi má na biodegradaci minimální vliv, což vyplývá z rozdílu poklesu hmotnosti o 1,68 % pro plné tělesa a 0,99 % pro tělesa porézní. Úbytek pevnosti pak byl rozdílný o 10,4 % u plných a 7,57 % u porézních těles. Tento výsledek jsme si taktéž mohli ověřit díky směsi RP15, která vykazovala mnohem vyšší míru biodegradace, přestože měla střední hodnotu zastoupení HAp ve směsi mezi směsmi RP11 a RP12.

Pro směsi RP13, RP14 a RP15 bylo možné sledovat vliv změkčovadla na biodegradaci. Vliv změkčovadla nalezen byl, nicméně podle výsledků se nejedná o moc zásadní dopad na naše vzorky. Pro tyto směsi byl vypořádan negativní vliv změkčovadla na biodegradaci, není však

potvrzena žádná přímá úměra, která by naznačovala, že čím více změkčovadla tím horší biodegradace. Rozdíl v hmotnosti mezi vzorkem s největším a nejmenším zastoupením změkčovadla činil 4,1 % u plných a 0,83 % u porézních těles. Pro pokles pevnosti to je pak rozdíl o 20,3 % pro plné a 18,16 % pro porézní tělesa.

Pro optimalizované směsi CN Lab, Applichem, a Glentham byl pozorován vliv různých HAp na biodegradaci při totožném poměru. HAp se lišil mírně složením, ale hlavně velikostí částic. V tomto případě byl pozorován vliv mnohem větší, než se předpokládalo. Bylo zjištěno, že větší velikost částic má na biodegradaci negativní vliv. Nejhůře se jako optimalizovaná biodegradační směs představila směs s HAp od firmy CN Lab, která taky měla největší velikost částic. U 2 zbývajících směsí byly výsledky obdobné. U směsi Applichem byla pak pozorována biodegradace v největším měřítku pro pokles pevnosti. Rozdíl úbytku hmotnosti činil 17,35 % pro plné těleso a 5,93 % pro těleso porézní. Pokles pevnosti pak byl rozdílný o 55,6 % pro plné těleso a 33,38 % pro těleso porézní.

Ze všech dosažených výsledků plyne, že pro vytvoření směsi, která se bude rychle degradovat nebo naopak si uchová co nejdéle své mechanické vlastnosti, musíme uvažovat spoustu proměnných. U každé složky a jejím vlivu na biodegradaci má velkou zásluhu následně i poměr ostatních látek.

## 6 POUŽITÉ ZDROJE

- [1] SANTOS, Antonio, Andrey SCHULZ, Luiz V. O. Dalla VALENTINA a Marcia Adriana Tomaz DUARTE. *From Obtaining to Degradation of PHB: Material Properties. Part I*. 2017. Dostupné z: doi:10.17230/ingciencia.13.26.10
- [2] RAZA, Zulfiqar Ali, Shanina RIAZ a Ibrahim M. BANAT. *Polyhydroxyalkanoates: Properties and chemical modification approaches for their functionalization*. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/btpr.2565
- [3] MCADAM, Blaithín, Margaret BRENNAN FOURNET, Paul MCDONALD a Marija MOJICEVIC. *Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics*. 2020. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122908
- [4] ALTAEE, Nadia, Gamal A. EL-HITI, Ayad FAHDIL, Kumar SUDESH a Emad YOUSIF. *Biodegradation of different formulations of polyhydroxybutyrate films in soil*. 2017. Dostupné z: doi:10.1186/s40064-016-2480-2
- [5] KESSLER, Birgit a Bernard WITHOLT. *Factors involved in the regulatory network of polyhydroxyalkanoate metabolism*. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00404-1
- [6] URTUVIA, Viviana, Pamela VILLEGAS, Myriam GONZÁLEZ a Michael SEEGER. *Bacterial production of the biodegradable plastics polyhydroxyalkanoates*. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.001
- [7] SEN, Khok Yong, M. Hazwan HUSSIN a Siti BAIDURAH. Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) by *Cupriavidus necator* from various pretreated molasses as carbon source. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. 51-59 [cit. 2023-02-17]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.006
- [8] VERLINDEN, R.A.J., D.J. HILL, M.A. KENWARD, C.D. WILLIAMS a I. RADECKA. *Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates*. 2007. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03335.x
- [9] POLYÁK, Péter, Dóra SZEMERSZKI, György VÖRÖS a Béla PUKÁNSZKY. Mechanism and kinetics of the hydrolytic degradation of amorphous poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Degradation and Stability*. 2017, **140**, 1-8. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2017.03.021
- [10] YU, Jian, David PLACKETT a Lilian X.L. CHEN. Kinetics and mechanism of the monomeric products from abiotic hydrolysis of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] under

- acidic and alkaline conditions. *Polymer Degradation and Stability*. 2005, **89**(2), 289-299. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.026
- [11] SADI, Roberta K., Guilhermino J.M. FECHINE a Nicole R. DEMARQUETTE. Photodegradation of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Degradation and Stability*. 2010, **95**(12), 2318-2327. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2010.09.003
- [12] SAYYED, R. Z., S. J. WANI, Abdullah A. ALARFAJ, Asad SYED a Hesham ALI EL-ENSHASY. *Production, purification and evaluation of biodegradation potential of PHB depolymerase of Stenotrophomonas sp. RZS7*. 2020. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220095
- [13] ARTSIS, M. I., A. P. BONARTSEV, A. L. IORDANSKII, G. A. BONARTSEVA a G. E. ZAIKOV. Biodegradation and Medical Application of Microbial Poly(3-Hydroxybutyrate). *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. 2012, **555**(1), 232-262. ISSN 1542-1406. Dostupné z: doi:10.1080/15421406.2012.635549
- [14] FREIERA, Thomas, Carmen KUNZE, Claudia NISCHAN, Sven KRAMER, Katrin STERNBERG, Marko SAß, Ullrich T. HOPT a Klaus-Peter SCHMITZ. In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate). *Biomaterials*. 2002. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00405-7
- [15] SINGHVI, M.S., S.S. ZINJARDE a D.V. GOKHALE. *Poly(lactic acid): synthesis and biomedical applications*. 2019. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/jam.14290
- [16] GUPTA, Bhuvanesh, Nilesh REVAGADE a Jöns HILBORN. Poly(lactic acid) fiber: An overview. *Progress in Polymer Science*. 2007. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.01.005
- [17] SINGHVI, Mamata a Digambar GOKHALE. *Biomass to biodegradable polymer (PLA)*. 2013. Dostupné z: doi:10.1039/C3RA41592A
- [18] TOKIWA, Yutaka a Buenaventurada P CALABIA. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-006-0488-1
- [19] FARAH, Shady, Daniel G. ANDERSON a Robert LANGER. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016.
- [20] INKINEN, Saara, Minna HAKKARAINEN, Ann-Christine ALBERTSSON a Anders SÖDERGÅRD. From Lactic Acid to Poly(lactic acid) (PLA): Characterization and Analysis of PLA and Its Precursors. *Biomacromolecules*. 2011.

- [21] ZAKIR HOSSAINA, Kazi M., Andrew J. PARSONS, Chris D. RUDD, Ifty AHMED a Wim THIELEMANS. Mechanical, crystallisation and moisture absorption properties of melt drawn polylactic acid fibres. *European Polymer Journal*. 2014. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.02.001>
- [22] ZAABA, Nor Fasahah a Mariatti JAAFAR. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. *Polymer engineering and science*. 2020, 2061-2075. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/pen.25511>
- [23] ELSAWY, Moataz A., Ki-Hyun KIM, Jae-Woo PARK a Akash DEEP. Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017, 1346-1352. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.143>
- [24] KUMAR KALITAA, Naba, Ninad ANIL DAMARE, Doli HAZARIKA, Purabi BHAGABATI, Ajay KALAMDHAD a Vimal KATIYAR. *Biodegradation and characterization study of compostable PLA bioplastic containing algae biomass as potential degradation accelerator*. 2021. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100067>
- [25] SEDNIČKOVÁ, Michaela, Silvie PEKAŘOVÁ, Pavel KUCHARCZYK et al. Changes of physical properties of PLA-based blends during early stage of biodegradation in compost. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018, **113**, 434-442. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:[10.1016/j.ijbiomac.2018.02.078](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.078)
- [26] DA SILVA, Dana, Maya KADURI, Maria POLEY, Omer ADIR, Nitzan KRINSKY, Janna SHAINSKY-ROITMAN a Avi SCHROEDER. *Biocompatibility, biodegradation and excretion of polylactic acid (PLA) in medical implants and theranostic systems*. 2018. Dostupné z: doi:[10.1016/j.cej.2018.01.010](https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.01.010)
- [27] GUO, Ziqi, Cheng YANG, Zuping ZHOU, Shan CHEN a Fan LI. Characterization of biodegradable poly(lactic acid) porous scaffolds prepared using selective enzymatic degradation for tissue engineering. *RSC Advances*. 2017, **7**(54), 34063-34070. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:[10.1039/C7RA03574H](https://doi.org/10.1039/C7RA03574H)
- [28] DUEK, E.A.R, C.A.C ZAVAGLIA a W.D BELANGERO. In vitro study of poly(lactic acid) pin degradation. *Polymer*. 1999, **40**(23), 6465-6473. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:[10.1016/S0032-3861\(98\)00846-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00846-5)
- [29] FINDRIK BALOGOVÁ, Alena, Marianna TREBUŇOVÁ, Gabriela IŽARÍKOVÁ et al. In Vitro Degradation of Specimens Produced from PLA/PHB by Additive Manufacturing in Simulated Conditions. *Polymers*. 2021, **13**(10). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:[10.3390/polym13101542](https://doi.org/10.3390/polym13101542)

- [30] KUMAR, Pawan, Brijnandan S DEHIYA a Anil SINDHU. *Bioceramics for Hard Tissue Engineering Applications: A Review*. 2018.
- [31] V. DOROZHKIN, Sergey. Current State of Bioceramics. *Journal of Ceramic Science and Technology*. 2018. Dostupné z: doi:10.4416/JCST2018-00026
- [32] PARK, Joon. *Bioceramics: Properties, Characterizations, and Applications*. 2008. ISBN 978-0-387-09545-5.
- [33] KUMARA, Anupam, Deepak KUMAR, Abhineet GOYAL, Sakshi MANHAS, Ankush KUMAR a Ajit SHARMA. *Trends, technology, and future prospects of bioceramic materials*. 2022. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89952-9.00017-8
- [34] KALBARCZYK, Marta, Aleksandra SZCZEŚ, Izolda KANTOR, Zoltan MAY a Dariusz STERNIK. *Synthesis and Characterization of Calcium Phosphate Materials Derived from Eggshells from Different Poultry with and without the Eggshell Membrane*. 2022. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.3390/ma15030934
- [35] YONG, Lengchuan, Md ENAMUL HOQUE a Nurul SAKINAH. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Bioceramic. *International Journal of Web Engineering and Technology*. 2014.
- [36] MOHD PU'ADA, N.A.S., R.H.Abdul HAQ, H.Mohd NOH, H.Z. ABDULLAH, M.I. IDRIS a T.C. LEEA. *Synthesis method of hydroxyapatite: A review*. 2020. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.536
- [37] ISHIKAWA, Kunio, Edita GARSKAITE a Aivaras KAREIVA. Sol–gel synthesis of calcium phosphate-based biomaterials—A review of environmentally benign, simple, and effective synthesis routes. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 2020. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1007/s10971-020-05245-8
- [38] ASKARIA, Shadi, Erfan YAZDANI, Lili ARABULI, Hamed GOLDADI, Seyed AMIR ABBAS SHAHIDI MARNANI a Mohammad EMAMI. In-vitro and in-vivo examination for bioceramics degradation. *Journal of Composites and Compounds*. 2022, **4**.
- [39] YANG, Jiquan, Jianping SHI, Gang ZHANG, Na LI, Wenlai TANG a Feng ZHANG. *Multimaterial 3D Printing Technology*. 2021. ISBN 978-0-08-102991-6.
- [40] MITSOURAS, Dimitrios a Peter C. LIACOURAS. *3D Printing in Medicine*. 2017. ISBN 978-3-319-61924-8.
- [41] LIAW, Chya-Yan a Murat GUVENDIREN. *Current and emerging applications of 3D printing in medicine*. 2007. Dostupné z: doi:10.1088/1758-5090/aa7279



- [42] SHAHRUBUDIN, N., T.C. LEEA a R. RAMLANA. An Overview on 3D Printing Technology: Technological, Materials, and Applications. *Procedia Manufacturing*. 2019. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.promfg.2019.06.089>
- [43] SIREESHA, Merum, Jeremy LEE, A. Sandeep Kranthi KIRAN, Veluru JAGADEESH BABU, Bernard B. T. KEE a Seeram RAMAKRISHNA. A review on additive manufacturing and its way into the oil and gas industry. *RSC Advances*. 2018. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1039/C8RA03194K>
- [44] KUMARESAN, Rajan, Mahendran SAMYKANO, Kumaran KADIRGAMA a Dr. A. K. PANDEY. *3D Printing Technology for Thermal Application: A Brief Review*. 2021. Dostupné z: doi:[10.37934/arfmts.83.2.8497](https://doi.org/10.37934/arfmts.83.2.8497)
- [45] RATNA, Debdatta. Properties and processing of thermoset resin. *Recent Advances and Applications of Thermoset Resins*. Elsevier, 2022, 173-292. ISBN 9780323856645. Dostupné z: doi:[10.1016/B978-0-323-85664-5.00003-X](https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85664-5.00003-X)
- [46] HAGHSEFAT, Kianoush a Liu TINGTING. *FDM 3D Printing Technology and Its Fundamental Properties*.
- [47] *Prusa RESEARCH by Josef Prusa* [online]. In: . [cit. 2023-05-15]. Dostupné z: <https://www.prusa3d.com/cs/>
- [48] KOKUBO, Tadashi a Hiroaki TAKADAMA. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*. 2006, **27**(15), 2907-2915. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:[10.1016/j.biomaterials.2006.01.017](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017)
- [49] VAN BOCHOVE, Bas a Dirk W. GRIJPMA. Photo-crosslinked synthetic biodegradable polymer networks for biomedical applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2019, **30**(2), 77-106. ISSN 0920-5063. Dostupné z: doi:[10.1080/09205063.2018.1553105](https://doi.org/10.1080/09205063.2018.1553105)

## 7 POUŽITÉ ZKRATKY

CoA	koenzym-A
FDM	fused filament fabrication
HAp	teplota tání
HDPE	vysokohustotní poly(ethylen)
KHB	kyselina 3-hydroxybutánová
LA	kyselina mléčná
LDPE	nízkohustotní poly(ethylen)
Mw	hmotnostně střední molekulová hmotnost
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát
P3HB	poly(3-hydroxybutyrát)
PET	poly(ethylenetereftalát)
PHA	poly(hydroxyalkanoáty)
PLA	kyselina poly(mléčná)
PP	poly(propylen)
SHS	selective heat sintering
SLS	selective laser sintering
SBF	stimulated body fluid
T <sub>d</sub>	teplota degradace
T <sub>g</sub>	teplota skelného přechodu
T <sub>m</sub>	teplota tání
UV	ultrafialové záření